

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biochimie et biologie cellulaire

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques.

Spécialité : biochimie.

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Étude théorique des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires
d'*Inula viscosa***

Présenté par : BOUABDALLAH Hanane
MEZICHE Chihabe

Le 17 /09/2023

Jury d'évaluation :

Président : BOUANIMBA Nour (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : KITOUNI Rachid (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur : BEZZI Tarek (MRB - Centre de Recherche en Biotechnologie Constantine).

Année universitaire

2022 – 2023

Remerciement

Nous devons remercier avant tout Allah le tout puissant pour toute la Volonté et le courage.

Nous tenons à remercier notre encadreur **Mr KITOUNI Rachid** pour sa patience et ces conseils précieuses tout au long la réalisation de ce travail.

Nous avons remercié également les membres de jury **Mr BEZZI Tarek** et **Mr BOUANIMBA Nour** pour leur temps consacré durant la lecture et l'évaluation de ce travail.

Merci à tous les membres de département de biochimie et biologie cellulaire et moléculaire.

Un grand remerciement à tous les responsables de bloc de science.

Dédicace

Au nom d'Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux,

À ma chère mère et à mon cher père,

Ce mémoire de fin d'étude est dédié à vous, mes plus grandes sources d'inspiration et de soutien. Que la grâce et la bénédiction d'Allah soient sur vous pour votre amour inconditionnel, votre encouragement constant et vos sacrifices qui ont été les piliers qui m'ont permis d'atteindre ce jalon important dans ma vie académique.

*Je tiens également à dédier ce mémoire à mes chers enfants, **Iyed**, **Fadi** et **Dina**, que la lumière et la guidance d'Allah vous accompagnent toujours. Votre présence lumineuse dans ma vie a apporté une dimension supplémentaire à mes efforts d'apprentissage, et je suis reconnaissant(e) de vous avoir comme mes précieux enfants.*

Avec tout mon amour,

Hanan

Résumé

Notre étude théorique porte sur l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de la plante *Inula viscosa*, afin d'explorer les composants et les propriétés bénéfiques de cette plante en termes de protection contre les dommages oxydatifs et l'inflammation.

De part, les extraits d'*Inula viscosa* ont démontré une activité anti-inflammatoire importante, attribuable à la présence de composés bioactifs tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins condensés. Ces composés ont la capacité de neutraliser les radicaux libres, d'inhiber les enzymes pro-inflammatoires et de réguler les voies de signalisation impliquées dans l'inflammation.

Selon les études, *Inula viscosa* présente une richesse en polyphénols, tanins et flavonoïdes modérés, ainsi que des glucosides, surtout dans les extraits méthanolique et aqueux. Une concentration élevée de polyphénols totaux, particulièrement dans les feuilles, est confirmée par des autres études ; d'autre part les études suggèrent que *Inula viscosa* (IVAE) possède des propriétés anti-inflammatoires potentielles en réduisant la production de NO, en modulant l'expression de l'iNOS et en atténuant l'œdème dans un modèle murin d'inflammation induite par la carraghénane. Cependant, les effets sont plus marqués à une concentration de 100 µg/ml d'IVAE. Ces résultats indiquent un potentiel thérapeutique de l'IVAE dans la modulation de la réponse inflammatoire.

Ces résultats renforcent le potentiel de *Inula viscosa* comme source naturelle de composés bénéfiques pour des applications médicales et nutraceutiques variées et pourrait être utilisée comme une source naturelle d'antioxydants et d'agents anti-inflammatoires.

Mots clés : *Inula viscosa* .L – métabolites secondaires – huiles essentielles – méthodes d'évaluation - activités antioxydantes – activités anti-inflammatoires.

Abstract

Our theoretical study focuses on the antioxidant and anti-inflammatory activity of the plant *Inula viscosa*, aiming to explore its components and beneficial properties in terms of protection against oxidative damage and inflammation.

Moreover, *Inula viscosa* extracts have demonstrated significant anti-inflammatory activity, attributable to the presence of bioactive compounds such as polyphenols, flavonoids, and condensed tannins. These compounds have the ability to neutralize free radicals, inhibit pro-inflammatory enzymes, and regulate signaling pathways involved in inflammation.

According to the studies, *Inula viscosa* is rich in moderate levels of polyphenols, tannins, flavonoids, and glucosides, particularly in methanolic and aqueous extracts. A high concentration of total polyphenols, especially in the leaves, is confirmed by other studies. Additionally, studies suggest that *Inula viscosa* aqueous extract (IVAE) has potential anti-inflammatory properties by reducing NO production, modulating iNOS expression, and attenuating edema in a murine model of carrageenan-induced inflammation. However, the effects are more pronounced at a concentration of 100 µg/ml of IVAE. These results indicate a therapeutic potential of IVAE in modulating the inflammatory response.

These findings reinforce the potential of *Inula viscosa* as a natural source of beneficial compounds for various medicinal and nutraceutical applications and could be utilized as a natural source of antioxidants and anti-inflammatory agents.

Keywords: *Inula viscosa* L., secondary metabolites, essential oils, evaluation methods, antioxidant activity, anti-inflammatory activity.

ملخص

درستنا النظرية تركز على النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للالتهابات لنبات الإينولا فيسكوزا، بهدف استكشاف مكوناته وخصائصه المفيدة من حيث الحماية ضد الضرر التأكسدي والالتهاب.

علاوةً على ذلك، أظهرت مستخلصات الإينولا فيسكوزا نشاطاً مضاداً للالتهابات ملحوظاً، يُعزى إلى وجود مركبات حيوية مثل البوليفينولات والفلافونويدات والتانينات المكثفة. تتمتع هذه المركبات بالقدرة على تحييد الجذور الحرة، وتثبيط الإنزيمات المؤثرة بشكل إيجابي على الالتهاب، وضبط مسارات الإشارة المتضمنة في الالتهاب.

ووفقاً للدراسات، فإن الإينولا فيسكوزا غنية بمستويات معتدلة من البوليفينولات والتانينات والفلافونويدات والجلوكوزيدات، وخاصة في المستخلصات الميثانولية والمائية. يتم تأكيد وجود تركيز عالٍ من البوليفينولات الإجمالية، خاصة في الأوراق، من خلال دراسات أخرى. بالإضافة إلى ذلك، تشير الدراسات إلى أن استخراج الإينولا فيسكوزا المائي (IVAE) يمتلك خصائص مضادة للالتهابات بالإمكان خفض إنتاج أكسيد النيتريك، وتنظيم تعبير iNOS، والتخفيف من الوذمة في نموذج فأري للالتهاب المستحث بالكاراجينان. ومع ذلك، تكون الآثار أكثر وضوحاً عند تركيز 100 ميكروغرام/مل من IVAE. تشير هذه النتائج إلى إمكانية علاجية لـ IVAE في تنظيم الاستجابة الالتهابية.

تعزز هذه النتائج إمكانية إينولا فيسكوزا كمصدر طبيعي للمركبات المفيدة لمجموعة متنوعة من التطبيقات الطبية والصحية، ويمكن استخدامها كمصدر طبيعي للمضادات الأكسدة ومواد مضادة للالتهابات.

الكلمات المفتاحية: المركبات الثانوية - الزيوت العطرية - طرق التقويم - النشاط المضاد للأكسدة - النشاط المضاد للالتهاب.

Liste des figures

Figure 1: Structures des flavonoïdes .("Flavonoïde," 2022)	5
Figure 2 la réaction de Fenton (Meng et al., 2020)	9
Figure 3: Les différentes causes de l'inflammation et ses effets physiopathologiques	12
Figure 4: classification des antioxydants.(Munteanu and Apetrei, 2021)	17
Figure 5: le mécanisme d'action des antioxydants enzymatiques.(Aziz et al., 2019)	18
Figure 6: Modification du DPPH• lors du transfert électronique.(Thomas, 2016)	21
Figure 7: Structure chimique du Trolox	21
Figure 8: Concentrations de polyphénols dans les feuilles et les tiges d' <i>Inula viscosa</i> (mg GAE / g).	25
Figure 9: Concentrations de flavonoïdes dans les feuilles et les tiges d' <i>Inula viscosa</i> (mg EC / g).	26
Figure 10: La plante séchée	30
Figure 11: La poudre de la plante	30

Liste des tableaux

Tableau 1: différents composés phénoliques de l'espèce <i>Inula viscosa</i> .(Celia, 2018)	4
Tableau 2: Les principaux constituants des huiles essentielles d' <i>Inula viscosa</i> (Madani et al., 2014)	7
Tableau 3: Les résultats de la caractérisation des différents groupes chimiques dans les feuilles et les tiges d' <i>Inula viscosa</i> .	23
Tableau 4: Effets de l'IVAE sur l'expression de l'ARNm de TLR-4, MyD88 et TNF- α induit par le LPS dans les cellules J774A.1(Lounis et al. 2018a)	34

Liste des abréviations :

•OH : les radicaux hydroxyles.

•ROO : les peroxydes.

1O₂ : l'oxygène singulet.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AGPI : Acides gras polyinsaturés.

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdiens

AIS : Anti-inflammatoire stéroïdiens

ArO• : radical aryloxyle.

ArOH : genre de phénols.

CAT : catalase enzyme

Cox : cyclo oxygénase

DMEM : Milieux d'Eagle Modifiés de Dulbecco

DPPH• : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

EDTA : Éthylène Diamine Tétra-Acétique.

EROs : Les espèces réactives de l'oxygène.

FBS: Fetal bovine serum

FRAP: Ferric Reducing Ability of Plasma.

GPx: enzymes glutathion peroxydase.

GR: Glutathione reductase.

GSH: glutathione.

GSSG-R: enzymes glutathion réductase.

HAT: transfert de l'atome d'hydrogène

HO• : Le radical hydroxyle.

HOCl : L'acide hypochloreux.

HORAC : Capacité Antioxydante Réactive de Peroxydation des Hydrocarbures.

HPLC: high-performance liquid chromatography.

IC50: concentration inhibitrice médiane.

IgG : les immunoglobulines G

IL : Interleukine

iNOS : inductible nitrique oxyde synthase

IVAE : *Inula viscosa* extrait aqueux

J774A.1 : est une lignée cellulaire isolée en 1968 de l'ascite d'une souris femelle adulte atteinte d'un sarcome des cellules du réticulum. Cette lignée cellulaire peut être utilisée dans la recherche en immunologie.

LDL: low-density lipoproteins.

LIPO: Lipioxygénase

LOX : Lipooxygénases

LPS : Les lipopolysaccharides

My88 : Réponse Primaire Myéloïde de Différenciation 88

NaNO₂ : Nitrite de sodium

NO : Le monoxyde d'azote

NOS : L'oxyde nitrique synthase

PAN : Permanent Account Number

PBS: Phosphate Buffered Saline

PLA: Phospholipase A2

PRDX : Les peroxyredoxines.

RNA: Acide ribonucléique

ROS : espèces réactives de l'oxygène.

RT-PCR: Réaction d'Amplification en Chaîne par Polymérase Transcriptase inverse

SOD: Les superoxydes dismutases.

TEAC : Capacité Antioxydante Équivalente Trolox

TLR : Récepteur de type Toll

TNF - α : Facteur de Nécrose Tumorale alpha

TNF : Facteur de nécrose tumorale

TRAP : Potentiel Antioxydant Total.

TRX : L'enzyme de La thiorédoxine.

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Etude bibliographique

Introduction 1

Chapitre I compositions et propriétés pharmacologique de l'espèce *Inula viscosa*

1	Compositions chimiques de l'espèce <i>Inula viscosa</i>	4
1.1	Métabolites secondaires.....	4
1.1.1	Les composés phénoliques	4
1.1.2	Les huiles essentielles	6
1.1.3	Sesquiterpènes lactones :.....	7
1.1.4	Polyphénols :.....	7
2	Propriétés pharmacologiques d' <i>Inula viscosa</i>	7
2.1	Activité antioxydante.....	8
2.2	Activité antiinflammatoire.....	11

Chapitre II Activité antioxydant d'*Inula viscosa*

1	Le système antioxydant.....	16
1.1	Système endogène	16
1.2	Système exogène	17
1.3	Mécanismes d'actions des antioxydants.....	18
1.4	Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant :	19
1.5	Résultats et discussion des études sur l'activité antioxydant d' <i>inula viscosa</i>	23

Chapitre III Activité anti-inflammatoire d'*Inula viscosa*

1	Activité anti-inflammatoire d' <i>inula viscosa</i>	28
1.1	Mécanismes d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire	28
1.2	Partie expérimentale	29
1.3	Résultats des études de l'activité anti-inflammatoire d' <i>inula viscosa</i>	32
1.4	Discussion sur les résultats obtenus.....	35

Conclusion et prescriptive

Conclusion.....	39
Prescriptives	Error! Bookmark not defined.

Introduction

Introduction

En Algérie, la diversité des plantes est remarquable et s'accompagne d'une longue tradition d'utilisation de ces végétaux. Il est donc essentiel d'explorer cette richesse botanique pour découvrir de nouvelles molécules, en nous appuyant sur des connaissances ethnobotaniques.

Parmi les plantes médicinales importantes en Algérie, nous trouvons l'espèce *Inula viscosa* (L) ou *Dittrichia viscosa* L, une plante vivace au parfum aromatique, dotée de glandes et d'une texture visqueuse. Elle est utilisée depuis longtemps pour soulager et traiter divers maux. C'est la raison pour laquelle nous avons choisi d'étudier *Inula viscosa* spécifique à l'Algérie. (Haoui et al., 2015)

Elle se caractérise par:

Les Feuilles sont alternées, allongées et lancéolées, 3 à 7 cm de long, 6 à 12 mm de large devenant plus petites vers le haut, parfois à dents écartées. Elles dégagent une forte odeur caractéristique.

Les inflorescences sont longuement paniculées, nombreuses, capitules de 1.5 cm de large, fleurs ligulées jaunes, 10-12 mm de long Elles se montrent depuis la fin du mois d'août et persistent jusqu'au début du mois d'octobre.

Les figes sont dressées simples ou ramifiées, lignifiées à la base Elles sont densément feuilles (Topakci, 2016).

Elle est originaire du bassin méditerranéen, distribuée largement dans le Sud d'Espagne, le Nord de l'Afrique et du Moyen Orient (Wang et al., 2004).

D'après **Fournier (1947)**, la systématique d'*Inula viscosa* L. est la suivante :

Règne : Plantae

Embranchement : Spermaphytes

Sous-Embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotyledones

Sous Classe : Astéridées

Ordre : Astérales.

Introduction

Famille : Astéracées.

Genre : *Inula*

Espèce : *Inula viscosa* L.

Dont le synonyme est Magramen.

Les maladies chroniques constituent un problème croissant pour la santé publique, nécessitant une approche globale de la prévention et du traitement. Dans ce contexte, il est primordial d'explorer de nouvelles sources thérapeutiques naturelles. *Inula viscosa* présente des propriétés remarquables en termes d'activité antioxydante et anti-inflammatoire, qui pourraient jouer un rôle clé dans la prévention et le traitement de maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète de type 2, le cancer et les maladies neurodégénératives, souvent associées à un stress oxydatif et à une inflammation chronique dans l'organisme (Lounis et al., 2018).

Les antioxydants sont des substances présentes dans les aliments, tels que les fruits, les légumes, les noix et les graines, ainsi que dans certains compléments alimentaires. Ils neutralisent les radicaux libres, réduisant ainsi les dommages causés par le stress oxydatif. En intégrant régulièrement des aliments riches en antioxydants dans notre alimentation, nous renforçons notre système de défense antioxydante naturel (Zhang et al., 2015).

Parallèlement, l'activité anti-inflammatoire revêt une importance tout aussi cruciale. L'inflammation chronique est un facteur clé dans le développement des maladies chroniques. Les aliments riches en composés anti-inflammatoires, tels que les acides gras oméga-3 présents dans les poissons gras, les légumes à feuilles vertes foncées et les épices comme le curcuma, peuvent réduire l'inflammation dans l'organisme (Shin et al., 2020).

Notre étude est basée sur les objectifs suivants :

- Un screening phytochimique dans le but d'identifier les métabolites secondaires présents dans la plante.
- Identifier les différentes propriétés antioxydantes et anti inflammatoires de l'espèce *inula viscosa* puis étudier leur mécanismes d'actions.
- Evaluer les résultats obtenus par cette étude.

Chapitre I
compositions et propriétés
pharmacologique de l'espèce
Inula viscosa

1 Compositions chimiques de l'espèce *Inula viscosa*

1.1 Métabolites secondaires

Les plantes produisent des composés appelés métabolites secondaires, qui appartiennent à divers groupes chimiques et sont souvent présents en faibles quantités. Ces métabolites secondaires jouent un rôle crucial dans l'adaptation des plantes à leur environnement, dans leur défense contre les prédateurs et les pathogènes, ainsi que dans l'attraction des agents responsables de la pollinisation (Celia, 2018).

Dans le cas spécifique de la plante *Inula viscosa*.L, la partie aérienne de la plante est principalement composée de composés phénoliques (Grande et al., 1985), de terpénoïdes, de tanins, de glycosides et de caroténoïdes.(Mahendran and Rahman, 2020).

1.1.1 Les composés phénoliques

Tableau 1: différents composés phénoliques de l'espèce *Inula viscosa*.(Celia, 2018)

	Flavonoïdes	les flavonols	flavanonols	les flavones
Exemples	aglycone, hétéroside, méthyle, hydroxyle et/ou acétyle.	La quercétine, la quercétine glucoside, la 3-méthoxyquercétine, la 3-méthoxyquercetine-7-glucoside, la quercétine glucuronide , la quercétine diméthyle éther; l'isorhamnétine.	la taxifoline et l'acétyle taxifoline	la lutéoline ; la népétine (methoxylutéoline), l'apégénine

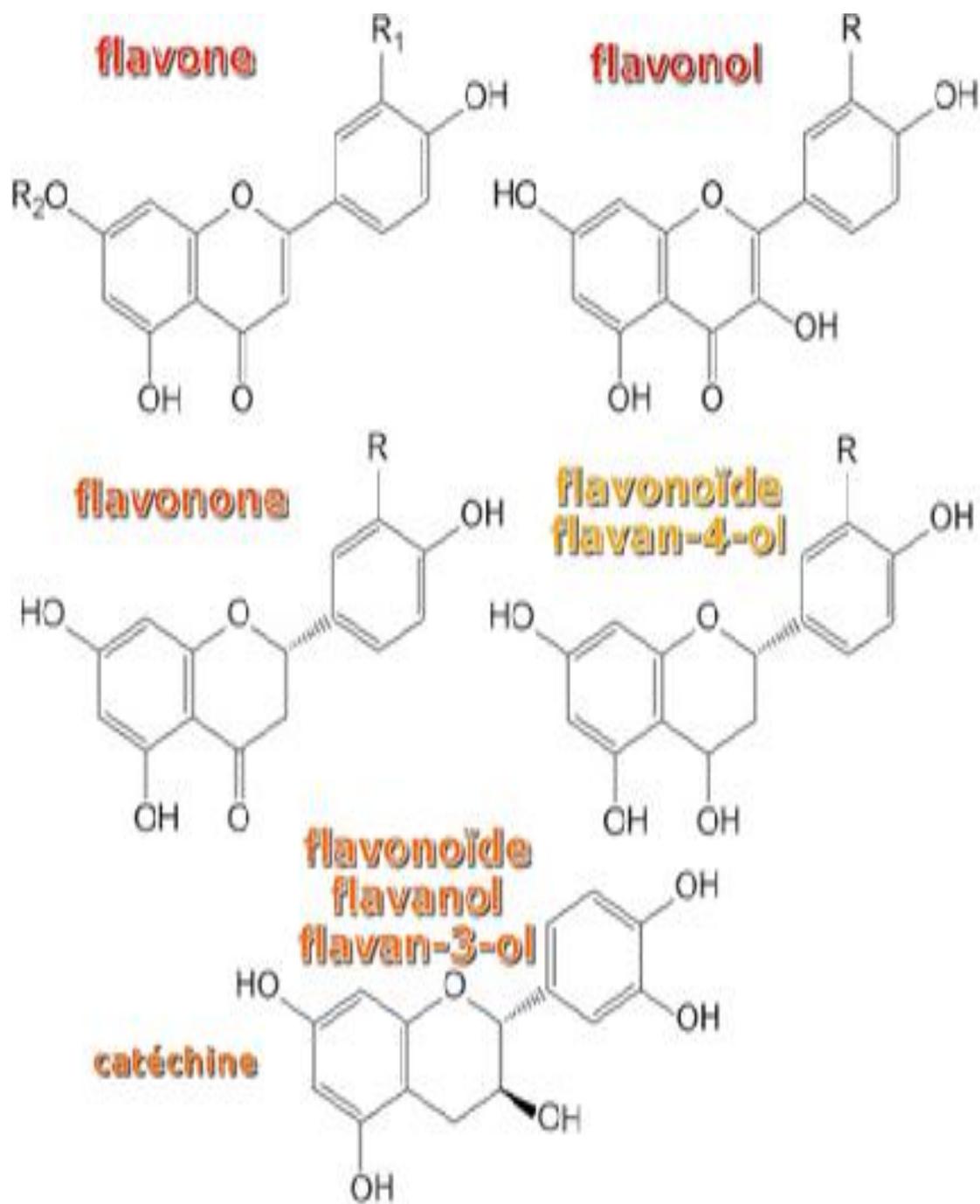


Figure 1: Structures des flavonoïdes .("Flavonoïde," 2022)

1.1.2 Les huiles essentielles

L'huile d'*Inula viscosa* varie considérablement d'une région à une autre, les huiles obtenues à partir de différentes origines de plantes présentent d'importantes différences quantitatives et qualitatives, en raison de facteurs tels que les conditions environnementales et le génotype des plantes. Les techniques analytiques et les méthodes d'extraction utilisées dans différentes études peuvent également contribuer aux variations des constituants rapportés.

Les huiles essentielles d'*Inula viscosa*, extraites des parties aériennes de la plante, possèdent une composition complexe et renferment une variété de composés chimiques actifs. Parmi ces composés, on trouve fréquemment des sesquiterpènes, des monoterpènes, des alcools terpéniques et des esters.

Ces huiles essentielles sont connues pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et antifongiques. Elles sont souvent utilisées en aromathérapie et dans des préparations topiques pour leurs bienfaits sur la santé.

L'huile d'*Inula viscosa* peut être utilisée pour soulager les affections respiratoires telles que la toux, la bronchite et la congestion, ainsi que pour apaiser les douleurs musculaires et articulaires, réduire l'inflammation cutanée et favoriser la cicatrisation des plaies.

Cependant, il est important de noter que l'utilisation des huiles essentielles d'*Inula viscosa* doit être effectuée avec précaution, car les huiles obtenues à partir de différentes régions peuvent présenter des variations en termes de composition. Il est recommandé de faire un test de sensibilité cutanée préalable avant leur utilisation et de respecter les dilutions appropriées.

En conclusion, les huiles essentielles d'*Inula viscosa* offrent un large éventail d'applications potentielles en raison de leurs propriétés bénéfiques. Cependant, en raison des variations observées dans la composition des huiles d'une région à une autre, il est important d'obtenir des informations spécifiques sur la source de l'huile et de consulter un professionnel de la santé qualifié pour une utilisation appropriée et sécuritaire. (Madani et al., 2014)

tableau 2 Les principaux constituants des huiles essentielles d'*Inula viscosa*(Madani et al., 2014)

Major Constituants	% Zone Algérie (Alger)	%Zone Jordanie (Ibrid)	%Zone Italie (Sardaigne)	% Zone Italie (Bari. Pouilles)	%Zone Turquie (Fethiye)	%Zone Espagne (Jaén)	%Zone France (Corse)
Acide isocostique	56.83	–	–	62.37	–	–	–
Fokiénoï	14.6	20.87	–	–	–	38.8	21.1
T-cadinol	–	–	–	–	tr	–	–
Nérolidol	0.56	–	1.9	2.09	1.5	7.1	–
α-Copaène	tr	1.15	–	–	tr	0.2	0.2
E-Nérolidol	–	19.75	1.9	–	–	7.1	8.6
B-Eudesm-6-en-4 a-ol	–	5.64	–	–	–	–	–
α -Vetivone	–	3.60	–	–	–	–	–
α -Eudesmol	–	2.68	2.0	0.15	0.3	–	2.2
Oxyde de caryophyllène	–	2.57	8.0	0.84	1.5	–	2.5
Selin-11-en-4 a-ol	–	2.18	1.8	–	–	–	1.6
Cedren-14-ol-acétate	–	2.00	–	–	–	–	–
Khousimol	–	1.80	2.6	–	–	0.4	–
Bornéol	–	1.79	16.8	–	25.2	tr	–
Acétate d'isobornyle	–	–	–	–	22.2	–	–
Acétate de bornyle	–	–	–	–	19.5	–	–
&-Cadinene	–	–	3.9	tr	–	1.7	0.2
7-cadinène	–	–	1.4	–	0.1	–	0.2
Valérianol	–	–	12.0	–	–	–	–

1.1.3 Sesquiterpènes lactones

Les principaux constituants chimiques de *Inula viscosa* sont les sesquiterpènes lactones, qui incluent l'hélénaline, l'isoalantolactone et l'alantolactone. Ces composés ont montré des activités anti-inflammatoires, antitumorales et antioxydantes.(Kenny et al., 2022)

1.1.4 Polyphénols

Inula viscosa contient également des polyphénols, tels que les acides caféiques et chlorogénique, qui possèdent des propriétés antioxydantes. Ces composés contribuent à neutraliser les radicaux libres et à réduire les dommages oxydatifs dans l'organisme.(Chahmi et al., 2015).

2 Propriétés pharmacologiques d'*Inula viscosa*

Les composés actifs présents dans *Inula viscosa* ont suscité un intérêt croissant en raison de leurs propriétés médicinales potentielles. Des études scientifiques ont démontré que cette plante présente des activités antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antioxydantes, antivirales,

antifongiques et antitumorales.(Seca et al., 2014) De plus, *Inula viscosa* a montré des effets bénéfiques dans le traitement des affections respiratoires, des troubles gastro-intestinaux, des maladies de la peau et des problèmes hépatiques.(Mohammed et al., 2021b)

2.1 **Activité antioxydante**

2.1.1 **Stress oxydatif**

Le stress oxydant est défini comme étant un déséquilibre entre la présence d'espèces réactives de l'oxygène et de nitrogène et la capacité de l'organisme à neutraliser leur action par les systèmes antioxydants. Ce déséquilibre peut endommager certaines macromolécules (acides nucléiques, lipides et protéines), conduisant à l'apparition des diverses maladies. (Smaga et al., 2015) (Pisoschi and Pop, 2015)

2.1.2 **Les radicaux libres**

Les radicaux libres sont omniprésents dans notre corps et sont générés par des processus physiologiques normaux, y compris le métabolisme aérobie et de réponses inflammatoires, pour éliminer les microorganismes pathogènes envahisseurs. Les radicaux libres sont des espèces très réactives compte tenu de l'existence d'au moins un électron libre sur leur orbitale électronique externe (Govindarajan et al., 2005).

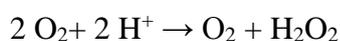
Parce que les radicaux libres peuvent également causer des dommages cellulaires, plusieurs moyens de défense ont évolué pour protéger nos cellules contre les radicaux et pour réparer les dommages de l'ADN (Hussain et al., 2003).

2.1.3 **Les espèces réactives de l'oxygène (EROs)**

a. *Le radical superoxyde, O₂*

L'anion superoxyde est une ERO primaire, formée par l'acquisition d'un électron par l'oxygène moléculaire. Radical ayant la réactivité la plus faible parmi les radicaux libres du stress oxydant, il est généré à partir de différentes sources dans les conditions physiologiques et physiopathologiques (Barouki, 2006). Il est cependant hautement réactif avec certains métaux de transition comme le cuivre, le fer et le manganèse (Abreu and Cabelli, 2010).

Le radical superoxyde ne traverse pas rapidement la membrane plasmique et se dismute spontanément au pH physiologique en produisant du peroxyde d'hydrogène :



Bien que le radical superoxyde ne soit pas considéré comme particulièrement réactif, son principal danger vient de sa réaction de neutralisation productrice de peroxyde d'hydrogène ou d'acide hypochloreux nettement plus puissants.

b. Le peroxyde d'hydrogène, H₂O₂

Bien que le peroxyde d'hydrogène ne puisse être considéré comme un radical au sens propre, cette molécule dérivée de l'oxygène joue un rôle central dans le phénomène du stress oxydant. Tout système produisant le radical superoxyde générera par voie de conséquence du peroxyde d'hydrogène. Ainsi, les cellules phagocytaires produisent et relèguent de grandes quantités de H₂O₂ au cours de l'inflammation. Bien qu'il induise des atteintes aspécifiques et irréversibles des cellules épithéliales (Mulier et al., 1998), le peroxyde d'hydrogène est généralement considéré comme une ERO relativement faible. Hautement réactive, en particulier dans sa capacité à réagir avec les ions partiellement réduits Fe²⁺ et Cu⁺ formant le radical hydroxyl dans la réaction de Fenton (Wardman et al. 1996) :

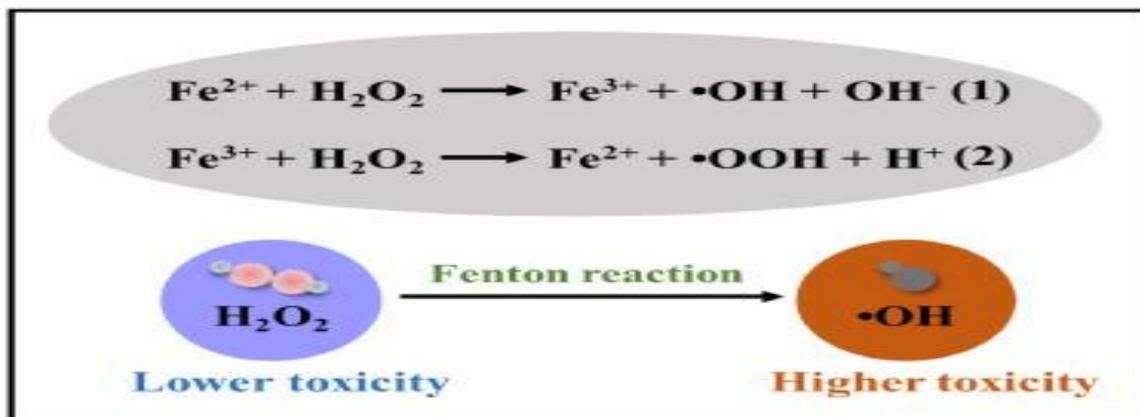
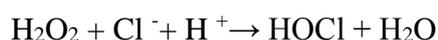


Figure 2 la réaction de Fenton (Meng et al., 2020)

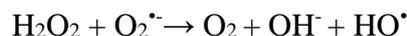
c. L'acide hypochloreux, HOCl

Comme le peroxyde d'hydrogène, l'acide hypochloreux ne rentre pas dans la définition stricte du radical. Cependant, au cours de l'inflammation, la métabolisation du peroxyde d'hydrogène en acide hypochloreux par l'enzyme MPO est élevée et l'acide hypochloreux est un agent chlorant et oxydant fort.



d. *Le radical hydroxyle, HO•*

Comme indiqué précédemment, le radical hydroxyle est formé à partir du peroxyde d'hydrogène au cours de la réaction de Fenton ou à partir de l'anion superoxyde dans la réaction d'Haber-Weiss :

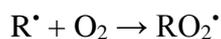


HO• est considéré comme l'ERO la plus réactive (Lubec 1996), inactivant la pyruvate-déshydrogénase de la mitochondrie, dépolymérisant le mucus du tractus gastro-intestinal ou induisant directement des atteintes oxydatives à l'ADN.

Le radical hydroxyle est produit durant l'inflammation en grande quantité lors des interactions entre l'anion superoxyde et l'acide hypochloreux, entre l'acide hypochloreux et les ions ferreux (Fe^{2+}) ou le peroxyde d'hydrogène et le monoxyde d'azote (Kruidenier et al. 2002).

e. *Les radicaux peroxydes*

Les radicaux peroxydes sont des radicaux secondaires issus de l'addition de l'oxygène sur les radicaux centrés sur le carbone (R^\bullet). Les radicaux R^\bullet sont issus de l'action des radicaux hydroxyles sur les substrats biologiques (par arrachement d'atome d'hydrogène ou addition sur les doubles liaisons). (Gardès-Albert et al. 2005)



2.1.4 Dommage causé par les radicaux libres

Les molécules biologiques telles que les lipides, les protéines, les acides nucléiques et les glucides peuvent subir des dommages causés par les radicaux libres. (Favier, 2003)

- Au niveau de l'ADN, les radicaux libres peuvent induire des effets oxydatifs et mutagènes ou un arrêt des réplifications. Ils agissent en provoquant des altérations de bases, des pontages ADN-protéines ou des ruptures de brins
- Les radicaux libres ont une affinité particulière pour les lipides, ce qui entraîne l'oxydation des acides gras poly-insaturés (AGPI) présents dans les phospholipides des membranes cellulaires, ainsi que dans les organites cellulaires et les noyaux. Ce processus est connu sous le nom de peroxydation lipidique ou lipopéroxydation, qui conduit à la formation de LDL oxydées. Ces LDL oxydées sont ensuite captées par les macrophages, formant ainsi les dépôts lipidiques responsables de la formation des plaques d'athérome dans les maladies

cardiovasculaires. De plus, cette oxydation des phospholipides membranaires peut altérer la fluidité de la membrane, affectant ainsi le fonctionnement de nombreux récepteurs, transporteurs et la transmission des signaux.(Rice-Evans and Burdon, 1993).

- Les radicaux libres attaquent les macromolécules importantes, ce qui entraîne des dommages cellulaires et une perturbation de l'homéostasie. Les radicaux libres ciblent toutes sortes de molécules dans le corps, parmi lesquelles les lipides, les acides nucléiques et les protéines sont les principales cibles.(Lobo et al., 2010).

2.2 **Activité antiinflammatoire**

L'organisme dispose d'un système de défense contre les agents pathogènes qui menacent son intégrité. La connaissance du processus inflammatoire s'est améliorée au fil des siècles : jusqu'au 19e siècle, l'inflammation était définie par les signes cardinaux *rubor* (rougeur), *tumor* (gonflement), *calor* (fièvre) et *dolor* (douleur), ceux-ci sont connus par Cornelius *Celsus* dans son antiquité. Plus tard, Claudius Galien a ajouté un cinquième signe, la *functio laesa* (perte de fonction)(Meyer 1998).

2.2.1 **L'inflammation**

a. Définition

L'inflammation est une réaction normale du corps qui se protège en cas de lésion. Il s'agit d'une réponse protectrice aux lésions tissulaires (exposition à la chaleur ou au froid, reperfusion, ischémie, traumatisme, etc.) dans laquelle une tentative de l'organisme pour ramener les tissus à son état d'origine. L'inflammation caractérisée par de la fièvre, des douleurs, des rougeurs et des gonflements (Sharma et Singh 2013).La figure représente les différentes causes de l'inflammation et ses effets physiopathologiques.

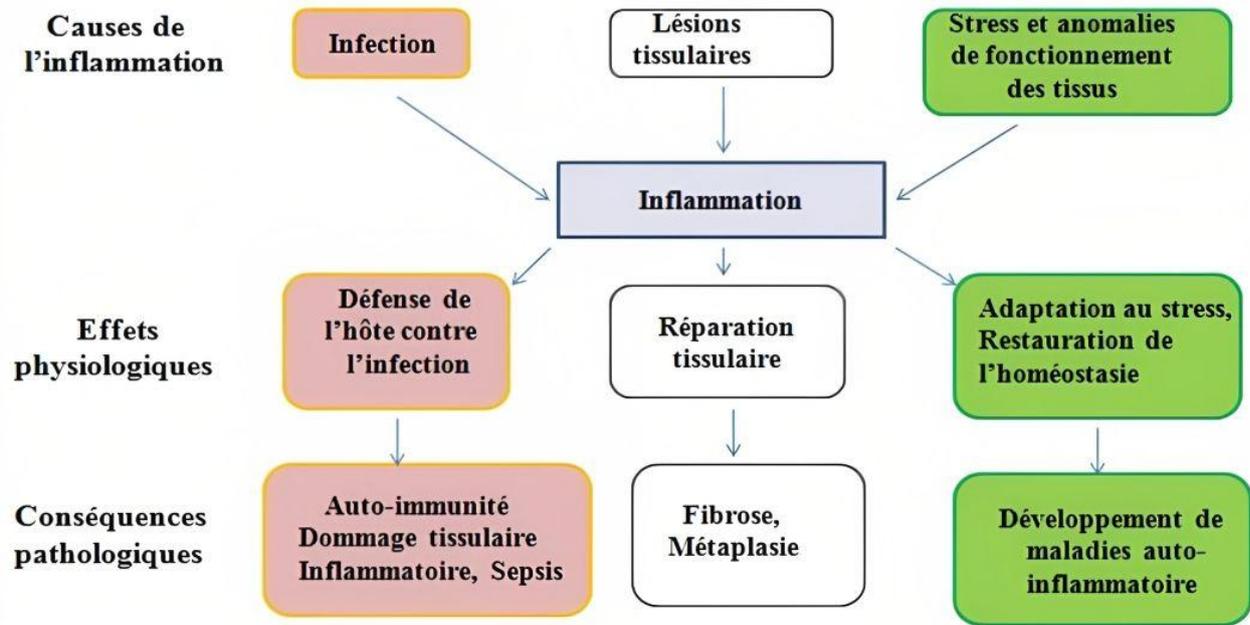


Figure 3 Les différentes causes de l'inflammation et ses effets physiopathologiques

b. Types d'inflammation

L'inflammation est classée en deux catégories selon la durée et la cinétique du Processus inflammatoire :

Inflammation aiguë

L'inflammation aiguë est la réaction immédiate de l'organisme à une substance active.

Les attaquants qui apparaissent généralement quelques minutes ou heures après qu'un agent a été attaqué. Une fois retiré, l'inflammation disparaît.

Le processus inflammatoire aigu est initié par : cellules transmissibles par le sang (lymphocytes et globules blancs) ou tissu conjonctif local (Mastocytes et macrophages), caractérisé par une vasodilatation augmentée, perméabilité capillaire induite par l'action de divers médiateurs Inflammatoires (Akinwunmi et Oyedapo 2015) (Anosike, Obidoa, et Ezeanyika 2012)

Inflammation chronique

L'inflammation chronique est une réponse inflammatoire prolongée qui conduit à modification progressive des types cellulaires présents au site de l'inflammation, il peut durer de longues périodes (mois ou années). Réaction inflammatoire chronique se caractérise par la prédominance de la présence de lymphocytes, macrophages et plasmocytes dans les tissus lésés (Anosike, Obidoa, et Ezeanyika 2012).

Agents anti-inflammatoires

Ce sont des médicaments qui antagonisent les processus inflammatoires. On distingue les anti-inflammatoires stéroïdiens, dérivés de la cortisone et les non stéroïdiens et les anti-inflammatoires naturels à base de plantes

Anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont largement prescrits en raison de leur efficacité dans le contrôle de la douleur, de la fièvre, de l'inflammation et des troubles rhumatismaux (Ouedraogo et al. 2012).

L'administration d'AINS à des adultes, qu'ils soient prescrits ou recommandés, n'est pas un exercice anodin. Cette classe thérapeutique est particulièrement large car les agents qui la composent ont des propriétés et des indications différentes.(Mrozovski 2022)

Les Cox est présentes en permanence dans différents tissus tels que le rein, l'estomac, l'intestin (Cox-1), ou n'apparaît que dans les macrophages mononucléaires après activation de cytokines pro-inflammatoires (facteur de nécrose tumorale [TNF] α , interleukines) (Cox-2). [IL] 1 ou 6, etc.).

Les Cox-1 et 2 sont impliqués dans l'une des voies métaboliques de l'acide arachidonique obtenue par conversion des phospholipides membranaires à l'aide de la phospholipase A2 (Mrozovski 2022).

Anti-inflammatoire stéroïdien

Les anti-inflammatoires (AIS) sous stéroïdes ou corticoïdes constituent une large gamme de substances dérivées du cortisol qui agissent pour réduire la migration des monocytes et les macrophages qui atteignent le site de l'inflammation et bloquent la production des médiateurs tels que la sérotonine, l'histamine et les cytokines. Ces anti-inflammatoires ont un mécanisme d'action agissent en inhibant la production des prostaglandines en bloquant la phospholipase A2. Ce blocage est obtenu par induction de l'inhibition directe de la synthèse de lipocortine (protéine de 40 kDa) à partir de PLA2 (Peltier, Russo-Marie, et Polla 1998)

Anti-inflammatoires poly phénoliques d'origine végétale

Les plantes sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies inflammatoires. Les principes actifs des plantes ont des propriétés chimiques différentes. Plusieurs études ont démontré que les polyphénols, en particulier les flavonoïdes, ont des

propriétés anti-inflammatoires dans différents modèles animaux d'inflammation (Benkhaled,A 2019).

Ces propriétés anti-inflammatoires sont liées à sa capacité à réguler le fonctionnement du système immunitaire. De nombreux mécanismes d'action cellulaire (Benkhaled,A 2019).

Chapitre II
Activité antioxydant
d'Inula viscosa

1. Le système antioxydant

L'organisme se défend contre la formation et la propagation des radicaux libres par deux mécanismes distincts. L'intervention des enzymes qui catalysent une réaction éliminant les molécules réactives, l'utilisation des substances qui piègent les radicaux libres dès leur apparition, des antioxydants (Poortman, 2009) Ces molécules antioxydantes ont une activité antiradicalaire qui s'exprime aussi bien au niveau de la protection de l'aliment contre l'oxydation, qu'au niveau de la protection des cellules animales contre le vieillissement, le cancer et d'autres maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives (Powers et al., 1994 ; Medjeldi, 2012)

1.1. Système endogène

1.1.1. Système endogène enzymatique

On distingue classiquement deux catégories d'antioxydant endogène : les systèmes enzymatiques et les systèmes non-enzymatiques (Aziz et al., 2019).

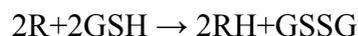
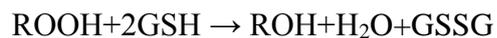
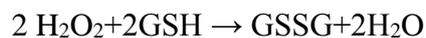
a. *Système endogène enzymatique*

Il contient les éléments suivants :

- Les superoxydes dismutases SOD (Younus, 2018).
- Les enzymes de catalases selon les réactions suivants : (Matés et al., 1999)



- Les enzymes glutathion peroxydase (GPx) et réductase (GSSG-R) selon la réaction : (Lenzi, 2011)



- L'enzyme de La thiorédoxine (TRX). (Lu and Holmgren, 2014)
- Les peroxyredoxines (PRDX).
- L'hème oxygénase.

b. Système endogène non enzymatique

- Le glutathion : C'est un tri peptide dont la concentration intracellulaire est importante. La fonction thiol confère au glutathion un rôle d'antioxydant.(Gardès-Albert et al., 2003)
- Les protéines de stress thermique qui se sont des protéines interviennent dans la réparation des dommages oxydatifs induits au niveau des protéines par un stress oxydant ((Milane, 2004), *In* Kebieche, 2009).
- L'Acide urique qui joue un rôle en tant que donneur d'électrons, ce qui lui permet de stabiliser les radicaux hydroxyles (OH[•]), les peroxydes (ROO[•]) et l'oxygène singlet (¹O₂). (Lenzi, 2011 ; Benaissa, 2012).

Système exogène

Il contient :

- Les polyphénols.
- Les vitamines antioxydantes telles que les vitamines E, C et A.
- Les oligoéléments comme le cuivre (Cu), le zinc(Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) qui sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant, favorisent le système endogène enzymatique. (Aziz et al., 2019)

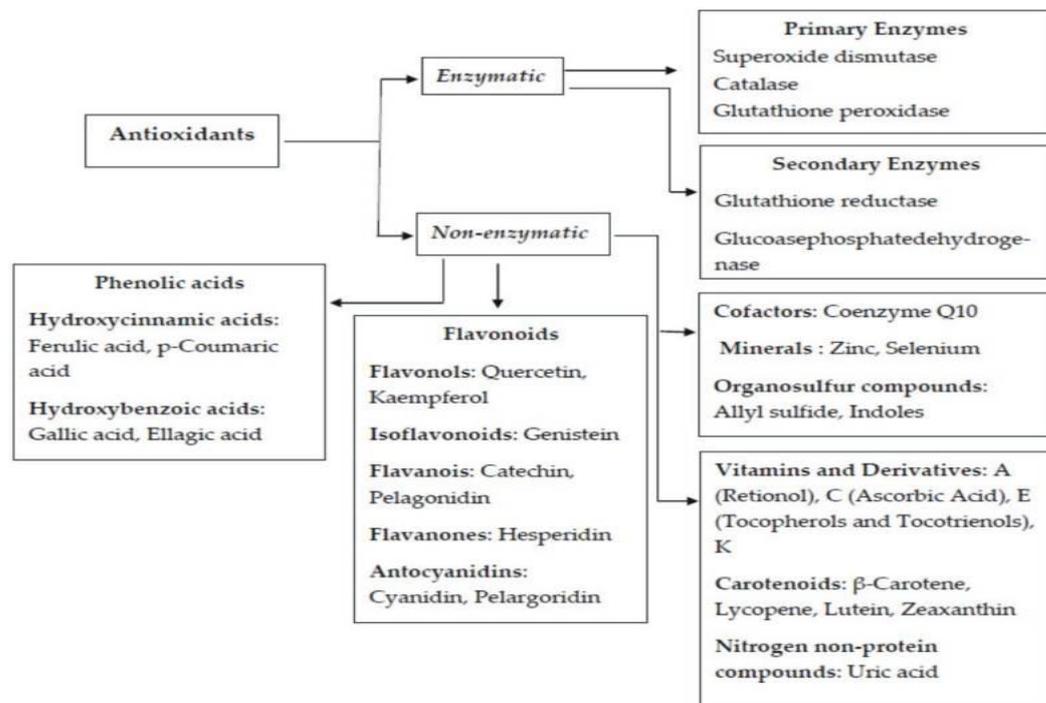


Figure 4 classification des antioxydants.(Munteanu and Apetrei, 2021)

2. Mécanismes d'actions des antioxydants

De manière générale, les antioxydants protègent contre les dommages oxydatifs causés par les radicaux libres en utilisant différents mécanismes, comme expliqué dans les sections suivantes : Le système enzymatique antioxydant convertit l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) grâce à l'enzyme SOD. Le H_2O_2 résultant est ensuite neutralisé en eau par les enzymes CAT et GPx. Ainsi, les espèces toxiques $O_2^{\bullet-}$ et H_2O_2 sont transformées en un produit inoffensif, l'eau. En parallèle, GPx utilise le H_2O_2 en prenant de l'hydrogène des molécules de GSH, formant de l'eau et du GSSG. Le GSH est régénéré par l'enzyme GR à partir du GSSG. CAT joue également un rôle essentiel en neutralisant directement le H_2O_2 en eau. La réaction de Fenton peut également convertir le H_2O_2 en radical hydroxyle (OH^{\bullet}) hautement réactif, qui est ensuite transformé en eau par l'oxydation du Fe^{2+} en Fe^{3+} (figure). (Aziz et al., 2019)

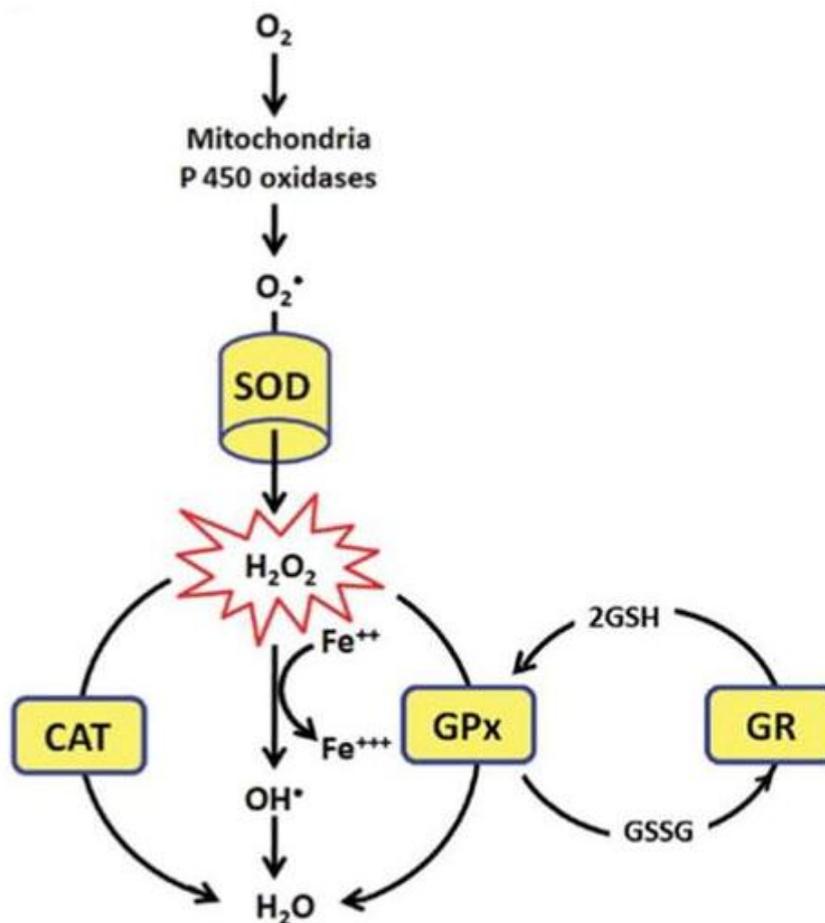


Figure 5: le mécanisme d'action des antioxydants enzymatiques. (Aziz et al., 2019)

- Neutralisation des radicaux libres par don d'électrons pour stabiliser leur réactivité.

- Inhibition des réactions en chaîne radicalaire en empêchant la propagation des réactions d'oxydation.
 - Chélation des ions de métaux de transition pour prévenir la formation de radicaux libres via la réaction de Fenton.
 - Régénération d'autres antioxydants épuisés, tels que la vitamine C et la vitamine E.
 - Modulation de l'expression génique en influençant les voies de signalisation cellulaire et les facteurs de transcription.
 - Réduction de l'inflammation en inhibant la production de cytokines pro-inflammatoires.
 - Protection des membranes cellulaires et des structures cellulaires contre les dommages oxydatifs.
 - Amélioration de l'efficacité des systèmes de défense antioxydants endogènes de l'organisme.
 - Activation des enzymes antioxydantes, telles que le superoxyde dismutase et la catalase.
- (Diallo, 2005 ;Favier, 2006)).

3. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant

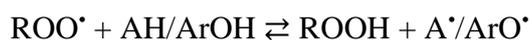
Les méthodes et les instruments utilisés pour mesurer l'activité des antioxydants ont connu des avancées significatives. Les premières méthodes étaient axées sur la mesure de l'oxydation des lipides et l'efficacité des antioxydants contre la formation de produits d'oxydation.(Munteanu and Apetrei, 2021)

Les différentes méthodes d'évaluation de la capacité antioxydante se regroupent en trois catégories distinctes : la spectrométrie, les essais électrochimiques et la chromatographie.

3.1. Évaluation de l'activité antioxydant

3.1.1. Les tests HAT

Elles évaluent la capacité d'un antioxydant à éliminer les radicaux libres en donnant un atome d'hydrogène. Ce mécanisme d'action antioxydante est illustré par la réaction suivante, où un phénol (ArOH), qui est un antioxydant, donne un atome d'hydrogène à un radical peroxyde (ROO[•]) pour former un radical aryloxyde (ArO[•]) stabilisé par résonance. Les biomolécules protégées (AH) participent également à cette réaction.(Reşat Apak et al., 2017)



La capacité d'absorption des radicaux d'oxygène (ORAC) est un exemple typique de tests basés sur les HAT. Cette méthode évalue la capacité d'un composé à neutraliser les radicaux oxygénés, tels que les radicaux hydroxyles et peroxyde. (Munteanu and Apetrei, 2021)

1. Le test HORAC (Capacité Antioxydante Réactive de Peroxydation des Hydrocarbures)

Est une méthode utilisée pour évaluer la capacité antioxydante d'un échantillon. Il se concentre spécifiquement sur la capacité de l'échantillon à protéger contre la peroxydation des hydrocarbures. Dans ce test, un hydrocarbure insaturé est exposé à un radical peroxy, qui est généré en présence d'un initiateur de peroxyde. Lorsque l'échantillon antioxydant est ajouté, il réagit avec le radical peroxy, neutralisant ainsi son effet oxydant. La mesure de la diminution de la peroxydation de l'hydrocarbure permet d'estimer l'activité antioxydante de l'échantillon.

2. Le test TRAP (Potentiel Antioxydant Total)

Est une méthode utilisée pour évaluer le potentiel antioxydant d'un échantillon. Il mesure la capacité de l'échantillon à neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans un système réactionnel. En ajoutant l'échantillon à un générateur de ROS, il réagit avec ces radicaux libres et les neutralise, ce qui est mesuré par la diminution de leur intensité. Le test TRAP permet une évaluation globale du potentiel antioxydant en prenant en compte la capacité à neutraliser différents types de ROS. Il permet d'estimer l'activité antioxydante de l'échantillon et sa capacité à réduire les dommages oxydatifs. (Thomas, 2016)

3. Test DPPH

Le DPPH[•] (ou 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical stable à température ambiante, de couleur bleue caractéristique. Sa stabilité est due à la délocalisation élevée des électrons π le long de la molécule. Il a été l'un des premiers radicaux utilisés pour étudier la relation entre la structure et l'activité antioxydante des composés phénoliques. Dans sa structure, il possède un électron non apparié sur un atome du pont azote-azote. Une particularité du DPPH[•] est la modification de ses propriétés d'absorption UV/visible en fonction de son état : sa forme réduite absorbe à 515-518 nm, tandis que sa forme oxydée ne présente pas de pic d'absorption.

L'efficacité d'un antioxydant peut être mesurée par sa capacité à réduire le radical DPPH[•]. Cette réduction se manifeste historiquement par un changement de couleur, passant du bleu-violet (forme oxydée) au jaune (forme réduite) (figure). (Thomas, 2016)

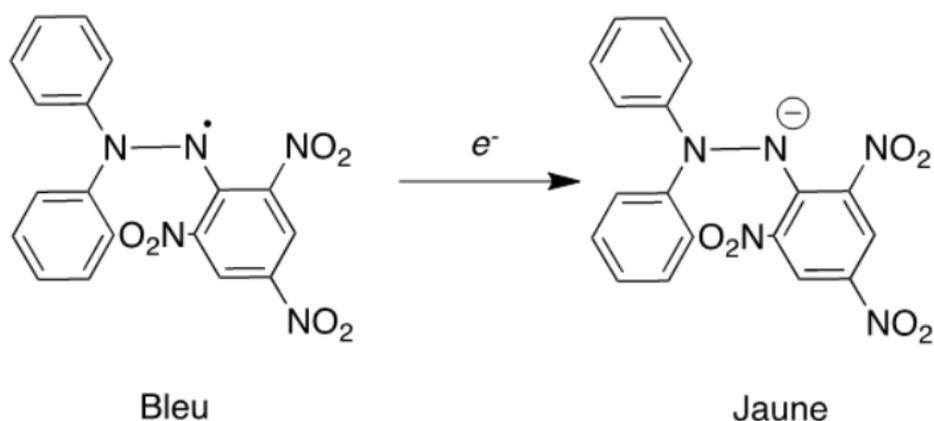


Figure 6: Modification du DPPH• lors du transfert électronique.(Thomas, 2016)

4. Test TEAC

La méthode TEAC (Capacité Antioxydante Équivalente Trolox) est utilisée pour évaluer la capacité d'un composé à piéger le radical cation $ABTS^{•+}$ (obtenu à partir de sels d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). Cette méthode présente une particularité compétitive, car la mesure est comparée à la capacité d'un antioxydant de référence, le Trolox. Il est important de noter que le Trolox est un analogue chimique de la vitamine E.(Pellegrini et al., 2003)

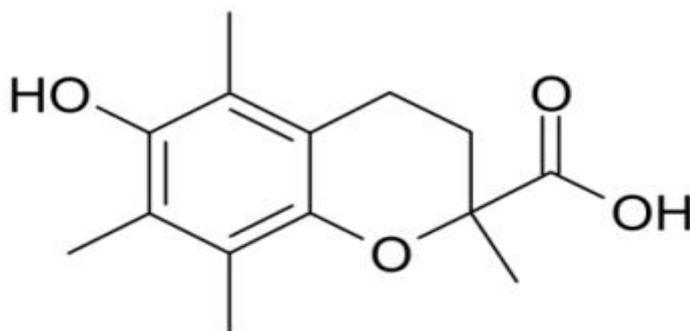


Figure 7: Structure chimique du Trolox

Il est également une méthode colorimétrique utilisée pour évaluer la capacité d'un composé à piéger le radical cation $ABTS^{•+}$. La décoloration de la solution contenant $ABTS^{•+}$ est mesurée spectrophotométrique à 734 nm, et la valeur TEAC obtenue correspond à la concentration de Trolox nécessaire pour avoir la même activité que le composé testé. Cette méthode est simple à mettre en place et rapide, mais elle est limitée par l'instabilité des radicaux $ABTS^{•+}$ qui doivent être générés juste avant l'analyse.(Thomas, 2016)

5. Test FRAP

Le test FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) est une méthode qui se base sur le changement de couleur lors de la réduction du fer, où l'ion ferrique (Fe^{3+}) est converti en ion ferreux (Fe^{2+}) par transfert d'électrons en présence d'un antioxydant. Cette réaction de réduction nécessite que l'antioxydant soit capable de donner des électrons, tandis que le transfert d'atome d'hydrogène n'est pas le mécanisme privilégié. L'absorbance est mesurée à 593 nm.

Ce test est économique, simple, reproductible et rapide. Cependant, il n'est pas capable d'évaluer l'activité antioxydante des thiols (SH), ce qui inclut les polypeptides et les protéines contenant des groupes cystéine. (Pellegrini et al., 2003)

6. Test à l'hémolyse des globules rouges

Ce test implique de prélever du sang contenant de l'EDTA (Éthylène Diamine Tétra-Acétique), qui sera ensuite centrifugé à 3000 tours/minute pendant 10 minutes afin d'obtenir un culot de globules rouges. Ce culot est ensuite lavé et mis en contact avec un générateur de radicaux libres AAPH à une température de 37°C.

Lorsque les antioxydants endogènes sont épuisés, les radicaux libres agissent sur les parois des érythrocytes, entraînant leur éclatement. L'hémoglobine est alors libérée dans le milieu. Ce phénomène d'hémolyse est suivi par spectrophotométrie à 545 nm. Si des composés ayant une activité antioxydante sont présents dans le milieu, l'hémolyse sera logiquement retardée. Cette méthode nécessite un étalonnage en utilisant la vitamine C comme référence. (Mpiana et al., 2016)

7. Méthodes de dosage des antioxydants

Les méthodes de dosage des antioxydants comprennent différentes techniques.

- Pour **les phénols totaux**, on utilise le réactif de Folin-Ciocalteu, qui est transformé en oxydes colorés de tungstène et de molybdène par les antioxydants présents. La quantification est réalisée à 750 nm en utilisant l'acide chlorogénique comme étalon. (Boizot, 2006)
- Pour **la vitamine C**, on effectue une réaction d'oxydoréduction avec le 2,6-dichloroindophénol, qui se décolore lors de la réaction.
- **Les flavonols** sont séparés et dosés par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) avec un détecteur à barrettes de diode, nécessitant une hydrolyse acide préalable pour séparer les sucres liés.

- **Les anthocyanes** sont également dosés par HPLC après hydrolyse acide.
- **Le sélénium total** est dosé par HPLC en utilisant une méthode en plusieurs étapes, impliquant la dégradation des matrices organiques, la réduction du sélénium hexavalent et la formation d'un composé fluorescent appelé piazséléniol. La concentration de sélénium est déterminée en comparant les résultats avec des solutions étalons. (Thomas, 2016)

b. Résultats et discussion des études sur l'activité antioxydant d'*Inula viscosa*

D'après l'étude ethnobotanique et phytochimique d'*Inula viscosa* L dans l'ouest de l'Algérie (Mohammed et al., 2021)

Différents extraits ont été obtenus à partir de l'*Inula viscosa*, une plante médicinale. Pour cela, des solvants tels que l'hexane, l'éthanol, le méthanol et l'eau ont été utilisés. L'extraction hexanique a permis d'obtenir un extrait riche en composés lipophiles, tandis que l'extraction éthanolique, méthanolique et aqueuse a permis d'extraire une gamme de composés hydrophiles. Ces extraits sont utilisés pour étudier les propriétés bioactives et les applications thérapeutiques potentielles de l'*Inula viscosa*. Ils ont obtenu les résultats suivants

Tableau 2: Les résultats de la caractérisation des différents groupes chimiques dans les feuilles et les tiges d'*Inula viscosa*.

extrait d'hexane		
organes	Les feuilles	tiges
métabolites		
terpénoïdes	+	-
Tanins	-	-
phénols	-	-
flavonoïdes	++	+++
glucosides	+	+++
Caroténoïdes	+++	+++
Extrait éthanolique		
terpénoïdes	+	+
Tanins	+++	+++
phénols	+	+
flavonoïdes	+	+

glucosides	+++	+++
Caroténoïdes	+	+
Extrait méthanolique		
terpénoïdes	+++	+++
Tanins	+++	+++
phénols	++	++
flavonoïdes	++	++
glucosides	++	+++
Caroténoïdes	+	+
Extrait aquatique		
terpénoïdes	+++	+++
Tanins	+++	+++
phénols	-	-
flavonoïdes	+	+
glucosides	-	-
Caroténoïdes	-	+

Les résultats expérimentaux l'étude (tableau 2), montrent que *Inula viscosa* est riche en polyphénols et tanins, avec une présence modérée de flavonoïdes. Les glucosides en tant que terpénoïdes sont également présents, en particulier dans l'extrait méthanolique et aqueux. L'hexane est le meilleur solvant pour extraire les caroténoïdes, tandis que les phénols sont principalement détectés dans l'extrait méthanolique. Ces résultats fournissent des informations précieuses sur la composition chimique de *Inula viscosa* et peuvent être utiles pour comprendre ses propriétés et son utilisation potentielle.

i. Pour les polyphénols :

L'estimation de la teneur totale en polyphénols (Fig.7) des différents extraits a été obtenue selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus ont été exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg AGE/g), en utilisant l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée pour l'acide gallique selon

$$y = 0,011x + 0,091, R^2 = 0,997$$

Compte tenu des résultats obtenus, les concentrations les plus élevées en phénols totaux sont enregistrées dans l'extrait aqueux et éthanolique des deux organes. La concentration de polyphénols dans l'extrait d'éthyl acétate était plus intéressante dans les feuilles ($95,47 \pm 4,7$ mg AGE/g) par rapport aux tiges ($73,49 \pm 2,2$ mg AGE/g) et aux cônes ($61,62 \pm 5,7$ mg AGE/g). En comparant les résultats concernant les feuilles avec ceux de l'étude réalisée par Benaïssa Keddar (2014) où la concentration de phénols totaux dans les feuilles était de ($85,20 \pm 0,07$ mg AGE/g), ils ont constaté que les phénols totaux ici étaient plus faibles. Cette différence peut être due à l'effet du stress climatique.

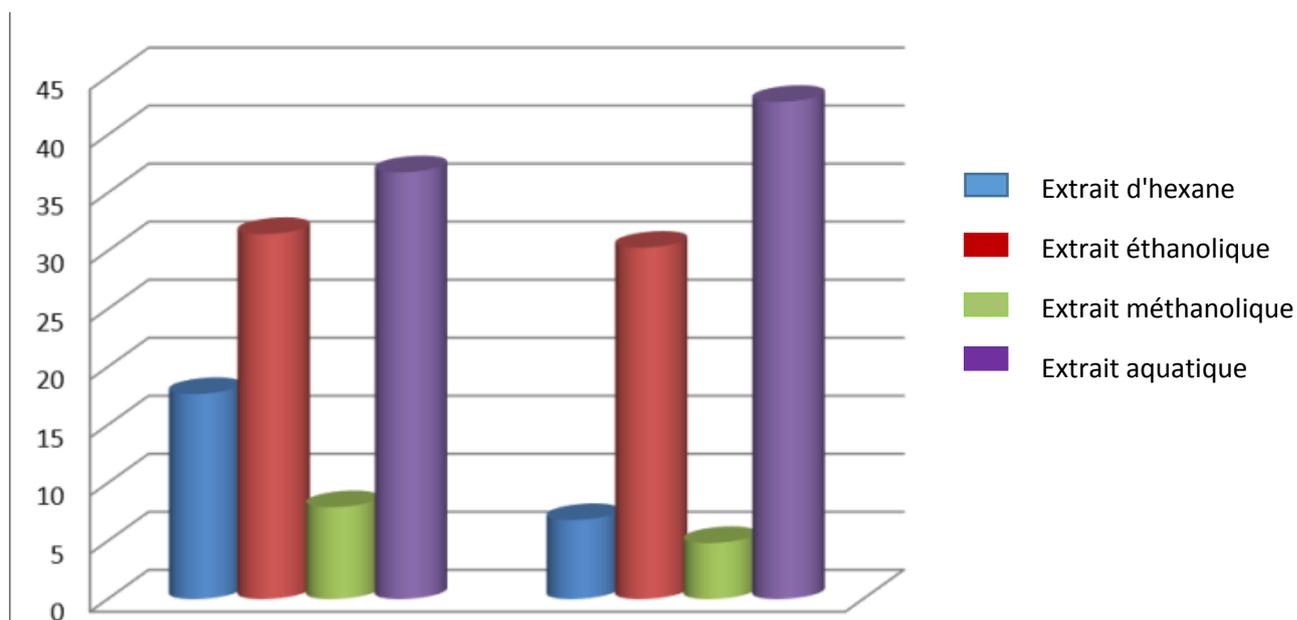


Figure 8: Concentrations de polyphénols dans les feuilles et les tiges d'*Inula viscosa* (mg GAE / g).

ii. Pour les flavonoïdes :

Les flavonoïdes ont été quantitativement déterminés dans les quatre extraits à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire. Les résultats, exprimés en milligrammes équivalents de catéchine par gramme d'extrait (mg CE/g), ont été présentés dans la Figure 8. L'extrait éthanolique des feuilles présente la plus haute teneur en flavonoïdes ($133,93 \pm 3,12$ mg CE/g), suivi de près par l'extrait aqueux des feuilles ($61,17 \pm 3,96$ mg CE/g) et celui des tiges ($51,61 \pm 12,87$ mg CE/g). Les tiges montrent une faible concentration de flavonoïdes dans l'extrait aqueux ($37,12 \pm 1,09$ mg CE/g). Les extraits méthanoliques ont des teneurs en flavonoïdes plus faibles, tant dans les feuilles ($24,35 \pm 1,70$ mg CE/g) que dans les tiges ($5,04 \pm 2,13$ mg CE/g). L'extrait d'hexane présente également une faible teneur en flavonoïdes, en particulier dans les tiges ($10,64 \pm 0,33$ mg CE/g). Ainsi, on peut conclure que les feuilles contiennent une concentration moyenne plus élevée de flavonoïdes par rapport aux tiges, ce qui est cohérent avec les travaux antérieurs de

Benaïssa Keddar (2014) où une concentration élevée de flavonoïdes a été observée dans les feuilles.

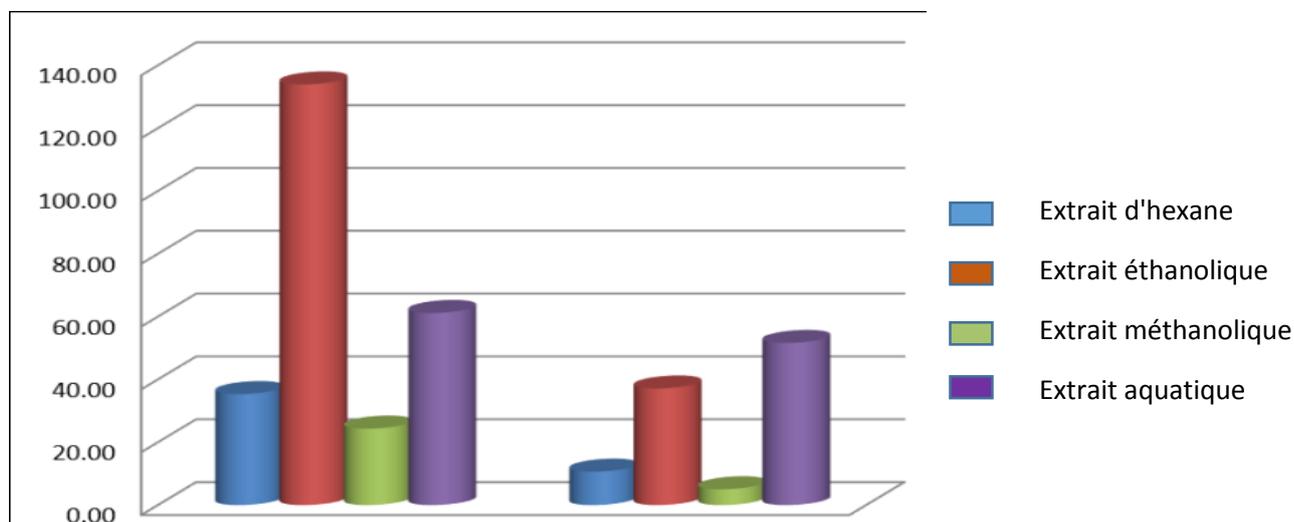


Figure 9: Concentrations de flavonoïdes dans les feuilles et les tiges d'*Inula viscosa* (mg EC / g).

iii. Pour les Tanins :

Les extraits de feuilles et de tiges d'*Inula viscosa* ont été étudiés pour leur contenu en phénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés. Les résultats montrent que les feuilles contiennent une plus grande quantité de ces composés par rapport aux tiges. Les extraits d'hexane des feuilles présentent une concentration élevée en tanins condensés ($638,52 \pm 10,64$ mg EC/g), suivis des extraits éthanoliques ($363,41 \pm 37,12$ mg EC/g) et méthanoliques ($75,80 \pm 5,04$ mg EC/g) des feuilles. Les extraits de tiges ont des concentrations plus faibles en tanins condensés, allant de $68,13 \pm 16,24$ mg EC/g (éthanol) à presque négligeable (hexane). Les autres extraits ont des concentrations de tanins condensés encore plus faibles. Ces résultats mettent en évidence la richesse en composés phénoliques des feuilles d'*Inula viscosa*, en particulier en tanins condensés, par rapport aux tiges.

iv. Pour L'activité antioxydants :

Les résultats de l'activité antiradicalaire avec le DPPH sont représentés par les pourcentages d'inhibition pour chaque concentration, ainsi que les valeurs de la concentration d'inhibition à 50% (IC50) (Fig. 10). Pour chaque extrait, Ils ont déterminé la valeur de l'IC50, qui correspond à la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire de 50% le radical DPPH. Les valeurs d'IC50 sont calculées graphiquement à partir des régressions linéaires des graphiques tracés.

Chapitre III
Activité anti-inflammatoire
*d'*Inula viscosa**

1 Activité anti-inflammatoire d'*Inula viscosa*

1.1 Mécanismes d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire

Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer divers processus biochimiques impliqués dans l'activité anti-inflammatoire.

1.1.1 Stabilisation membranaire

La stabilisation membranaire est le processus qui permet de maintenir l'intégrité des membranes biologiques, comme celles des érythrocytes et des membranes lysosomales, en les protégeant contre l'osmose et les ruptures dues à la chaleur. Les membranes biologiques ont une structure asymétrique qui est thermodynamiquement stable et métaboliquement active, formant des frontières closes entre les différents compartiments composés principalement de protéines et de lipides. Plusieurs facteurs peuvent influencer l'état physique global de la membrane, tels que la température, les ions présents dans l'environnement et la composition en acides gras et phospholipides, ainsi que la présence ou l'absence de cholestérol. Il existe de nombreux agents stabilisateurs des membranes, tels que l'acide métonymique et la phénylbutazone, ainsi que des agents déstabilisateurs, comme la vitamine A et les sels biliaires, qui peuvent agir sur l'intégrité et la fluidité des membranes cellulaires (Rajan 2014).

1.1.2 Inhibition des enzymes pro-inflammatoires

L'inflammation déclenchée par le stress oxydatif est principalement médiée par l'activation d'enzymes pro-inflammatoires telles que la phospholipase A2 (PLA2), les cyclooxygénases (Cox), les lipooxygénases (Lox) et l'oxyde nitrique synthase (NOS) qui produit le monoxyde d'azote (NO). Plusieurs études ont démontré que certaines substances médicinales, notamment les polyphénols, ont la capacité d'inhiber l'action de la phospholipase A2 (PLA2), des cyclooxygénases (Cox) et de la 5-lipoxygénase (5-LPO) (Clavin et al. 2007; Cai et al. 2016).

En effet, dans une étude réalisée par (Kim et al. 2004), il a été démontré que certains flavonoïdes tels que la sakuranétine, la 7-O-méthylaromadendrine, la népétine et la 3,3'-di-O-méthylquercétine ont un effet inhibiteur sur le métabolisme de l'acide arachidonique en bloquant l'activité de la Cox-2.

1.1.3 Inhibition de la dénaturation protéique

Lors de l'inflammation, la formation de peroxydes et de radicaux hydroxyles peut entraîner l'oxydation, la décarboxylation, la désamination et des dommages structurels aux acides aminés. Cela peut se manifester par la rupture et la modification des chaînes polypeptidiques

(Fuchs 2001). La présence de médiateurs de l'inflammation peut entraîner des modifications des protéines, pouvant conduire à leur dénaturation et potentiellement les rendre non fonctionnelles. Par exemple, la carboxylation de la lysine peut affecter les fonctions protéiques impliquées dans les processus de signalisation. On observe fréquemment ces protéines modifiées chez les patients atteints de maladies telles que la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer et le cancer (Roy, Bagchi, et Raychaudhuri 2012).

D'après (Lemke et al. 2013) lorsque les protéines subissent une dénaturation, elles deviennent antigéniques. Cela déclenche une réaction immunitaire et entraîne des changements biochimiques dans les tissus, pouvant éventuellement conduire à des affections telles que le rhumatisme articulaire.

Le facteur rhumatoïde est un type d'anticorps qui cible les immunoglobulines G (IgG) du corps lui-même et est souvent présent dans le sérum des patients atteints de maladies auto-immunes. L'antigénicité des IgG du corps est provoquée par une altération de leur structure immunoglobulinale (Fuchs 2001).

1.2 Partie expérimentale

Afin de comprendre l'activité anti-inflammatoire de la plante *Inula viscosa*, nous avons utilisé une étude menée en 2018 sous le titre : Anti-inflammatory and antioxidant activities of *Inula viscosa* and *Senecio anteuphorbium*. (Lounis et al. 2018a)

1.2.1 Matériels et méthodes

1.2.1.1 Le matériel végétal

Les feuilles ont été recueillies à partir d'*Inula viscosa* en avril 2013 de Lazib département Béjaïa (Algérie). Les feuilles étaient séchées à l'air température ambiante, puis broyées en poudre (Lounis et al. 2018a).



Figure 10: La plante séchée



Figure 31: La poudre de la plante

1.2.1.2 Préparation des extraits aqueux

Dix grammes de poudres de feuilles séchées d'*Inula viscosa*. Ils ont été bouillis dans 100 ml d'eau distillée pendant 15 minutes puis filtré sur filtre Whatman (Millipore 0,25 mm, Allemagne) et centrifugé. Les extraits ont été concentrés à 40°C pendant trois jours. Ils ont ensuite été lyophilisés (rendement 14,2% pour *I. viscosa*)(Lounis et al. 2018a)

1.2.2 Les activités anti-inflammatoires

1.2.2.1 J774A.1 stimulé avec LPS et traité avec l'extrait d'*Inula viscosa*

Les cellules de macrophages J774A.1 cultivées sontensemencées dans des plaques à 6 puits à une densité de 25x10⁴ cellules/puits avec 2 ml de milieu DMEM (PAN) supplémenté de 10 % de sérum de veau foetal (FBS) et 1 % de pénicilline/streptomycine jusqu'à atteindre 70 % de confluence. Les cellules sont pré-incubées avec différentes concentrations d'extrait aqueux d'*Inula viscosa* (0,1, 1, 10, 100 µg/ml) à 37 °C pendant deux heures. Ensuite, elles sont traitées avec 25 ng/ml de lipopolysaccharide (LPS ; Escherichia coli O111:B4) pendant 18 heures. Différentes concentrations de LPS (6,25 ; 12,5 ; 25 ; 50 ; 100 et 200 ng/ml) sont testées afin de

trouver une concentration significative produisant une forte concentration de NO, et la dose de 25 ng/ml est sélectionnée. Après l'incubation, 100 µl de milieu sont prélevés immédiatement pour la détection du niveau de nitrite, tel que déterminé par un kit de réactif de Griess (Promega). Les cellules sont lysées avec du Trizol (In vitro gen) pour l'extraction de l'ARN. Les extraits végétaux utilisés dans les expériences de culture cellulaire n'affectent pas la viabilité cellulaire, comme évalué par le test d'exclusion de bleu trypan. En bref, les cellules sont traitées avec différentes concentrations d'extraits, après 18 heures d'incubation, elles sont rincées avec du PBS, du bleu trypan (0,1 %) est ajouté et laissé pendant 2 minutes. Ensuite, les monocouches lavées sont fixées avec du formaldéhyde à 4 % et le pourcentage de viabilité cellulaire est déterminé en comptant les cellules mortes au moins 5 champs microscopiques avec un minimum de 50 cellules par champ. Les mêmes positions de champs doivent être maintenu pour tous les puits (Lounis et al. 2018a).

1.2.2.2 Mesure de la production de NO

La concentration de nitrite dans le milieu de culture a été mesurée comme indicateur de la production de NO par le système de réaction de Griess (Promega). Le surnageant cellulaire a été mélangé avec le même volume de réactif de Griess et incubé à température ambiante pendant cinq minutes. La concentration de nitrite a été déterminée en mesurant l'absorbance à 540 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques ELISA. La quantité de nitrite présente dans les échantillons a été calculée à l'aide d'une courbe standard générée à partir de dilutions sérielles de NaNO₂ dans un milieu de culture frais (Lounis et al. 2018a).

1.2.2.3 Isolation d'ARN et réaction d'amplification en chaîne par polymérase transcriptase inverse (RT-PCR)

L'isolation d'ARN et la RT-PCR ont été précédemment décrites par (Kanuri et al. 2009). Le mélange PCR a été préparé en utilisant le SYBR Green Supermix (Agilent Technologies, Böblingen, Allemagne). Les niveaux d'expression de TNF- α , iNOS, TLR-4 et MyD88 ont été normalisés en utilisant S18 comme témoin interne (Lounis et al. 2018b).

1.2.2.4 Œdème de la patte de souris induit par le carragheen

Une expérience sur des souris visant à évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux d'*I. viscosa* sur l'œdème de la patte induit par le carragheen. Les souris ont été réparties en différents groupes et ont reçu des doses d'extraits aqueux ou de diclofénac. L'œdème a été induit par l'injection de carraghénane dans la patte des souris, et les diamètres des pattes ont été mesurés à plusieurs intervalles de temps. L'activité anti-inflammatoire des extraits a été mesurée

en pourcentage de réduction de l'œdème par rapport au groupe témoin. Les résultats ont montré une réduction significative de l'œdème en présence des extraits, indiquant leur potentiel anti-inflammatoire (Lounis et al. 2018a).

1.3 Résultats des études de l'activité anti-inflammatoire d'*Inula viscosa*

- Effet de l'extrait d'IVAE sur la production de NO

La stimulation des cellules J774A.1 par le LPS a entraîné une augmentation significative des niveaux de nitrite cellulaire par rapport au témoin non stimulé. Le prétraitement avec les extraits a entraîné une réduction significative du NO dans le milieu. Plus précisément, comme le montre la figure, l'IVAE a eu un effet inhibiteur sur la production de NO à 100 µg/ml (Lounis et al. 2018a).

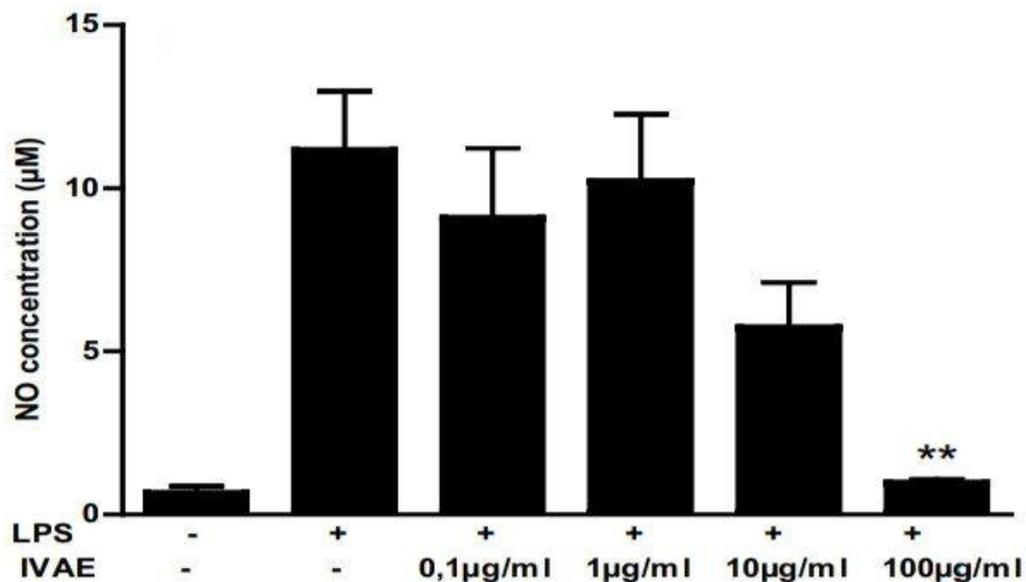


Figure 12: Effets de l'IVAE sur la production de NO induite par le LPS dans les cellules J774A.1. Les cellules étaient prétraitées avec les concentrations indiquées d'IVAE pour 1 h avant la stimulation par le LPS (25 ng/ml) et incubé pendant 18 h. Les niveaux de nitrite ont été mesurés dans les milieux de culture par les réactifs de Griess (Lounis et al. 2018a).

- Effet de l'IVAE sur l'expression des ARNm de l'iNOS, TNF- α , TLR-4 et MyD88

Pour étudier le mécanisme responsable de l'atténuation observée de la libération de NO en réponse au LPS, l'expression de l'iNOS est étudiée au niveau transcriptionnel en quantifiant les niveaux d'ARNm. L'expression de l'iNOS induite par le LPS a été significativement atténuée

dans les cellules prétraitées avec l'IVAE (Figure); cependant, un effet significatif n'a été observé que lorsque les cellules étaient traitées avec 100 µg/ml d'IVAE (Lounis et al. 2018a).

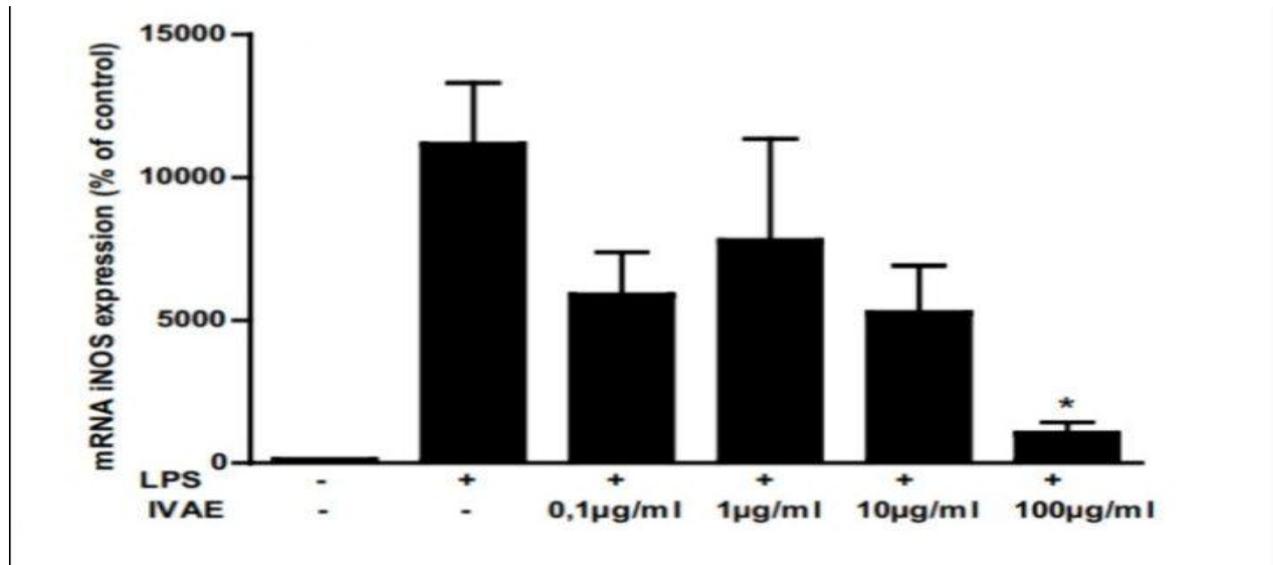


Figure 13 : Les niveaux d'expression de l'ARNm d'iNOS ont été déterminés par analyse RT-PCR. Les données présentées sont la moyenne \pm S.E.M. de différents échantillons. * $p < 0,05$ et ** $p < 0,01$ ont été comparés au LPS- cellules stimulées. IVAE *Inula viscosa* extrait aqueux.

Dans le même ensemble d'expériences, l'IVAE n'a montré aucun effet sur l'expression de TLR-4, MyD88 et TNF- α en réponse à la stimulation par le LPS pendant 18 heures (Tableau) (Lounis et al. 2018a).

Tableau 3: Effets de l'IVAE sur l'expression de l'ARNm de TLR-4, MyD88 et TNF- α induit par le LPS dans les cellules J774A.1(Lounis et al. 2018a)

	Extrait de plante	contrôle	LPS 0 μ g/ml	LPS+ 0.1 μ g/ml	LPS+ 1 μ g/ml	LPS+ 10 μ g/ml	LPS+ 100 μ g/ml
TLR-4, % de contrôle	IVAE	100	74.65 \pm 4.30	44.94 \pm 4.90	50.13 \pm 3.87	46.10 \pm 17.77	88.95 \pm 24.94
MyD88, % de contrôle	IVAE	100	113.68 \pm 11.3	56.70 \pm 11.6	46.26 \pm 14.1	44.66 \pm 19.55	81.05 \pm 9.56
TNF- α , % de contrôle	IVAE	100	189.93 \pm 23.9	128.08 \pm 83	93.18 \pm 27.8	152.45 \pm 48.9	242.95 \pm 20.4

- Œdème de la patte de souris induit par la carraghénane

Le modèle d'œdème de la patte de souris induit par la carraghénane a été utilisé pour évaluer l'effet anti-inflammatoire *in vivo* des extraits à la dose de 200 mg/kg et les résultats sont résumés dans la figure . Les résultats ont montré que l'injection de carragheen a stimulé une inflammation locale et a induit un œdème des tissus de la patte, qui était le plus prononcé après 6 heures. Après 3 heures, le traitement par diclofénac, un médicament anti-inflammatoire standard, a atténué de manière significative les signes d'inflammation ($p < 0,1$), et cet effet était encore plus prononcé après 6 heures ($p < 0,001$). L'IVAE a modérément inhibé l'œdème de la patte de souris induit par le carragheen après 6 heures (Lounis et al. 2018a).

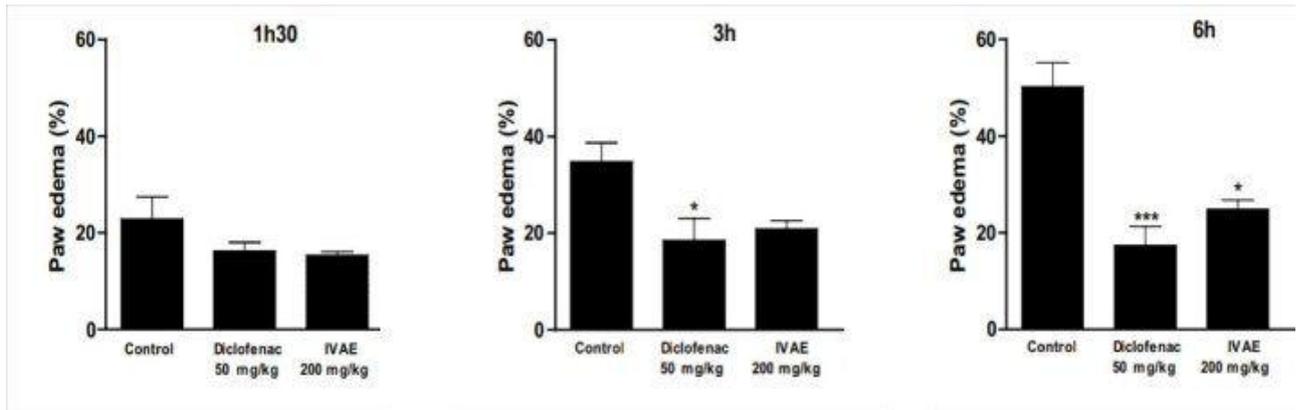


Figure 14 : Effet de l'IVAE sur la circonférence de la patte chez les souris témoins et expérimentales. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM de six souris. Les médicaments ont été administrés par gavage 1 heure avant l'injection sous-plantaire de 0,1 ml de carrageen (1% p/v dans du sérum physiologique à 0,9 %) ; * $p < 0,05$. ** $p < 0,01$ et *** $p < 0,01$ ont été comparés au témoin.

1.4 Discussion sur les résultats obtenus

Dans les cellules macrophages, lorsque le LPS se lie à TLR-4, cela active la voie de signalisation dépendante de MyD88 de TLR-4. En conséquence, des cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α , l'IL-12 et les ROS (Nagy 2003) sont produites. Le NO, produit par la iNOS, joue également un rôle essentiel dans les réactions inflammatoires des macrophages activés (Pokharel et al. 2007; Tilg et Moschen 2010; Spruss et al. 2011).

Pour étudier l'effet anti-inflammatoire potentiel de l'IVAE, nous avons induit des cellules macrophages J774A.1 avec le LPS. Les résultats ont montré que l'IVAE réduit significativement la production de NO dans les cellules J774A.1 activées et diminue l'expression de la iNOS. Ces observations suggèrent que cette réduction du NO peut être due à la suppression de l'expression de l'ARNm de la iNOS et à l'action antioxydante de l'IVAE.

Ils ont également évalué l'effet de l'IVAE sur les cytokines pro-inflammatoires TNF- α et TLR4 MyD88 dans les cellules J774A.1 stimulées par le LPS, mais les extraits n'ont pas influencé leur expression.

Un autre modèle standard pour tester les médicaments anti-inflammatoires est l'étude de l'œdème de la patte postérieure induit par la carrageen. Dans cette étude, les chercheurs ont utilisé ce modèle pour déterminer la phase aiguë de l'inflammation. La carrageen est un agent

inflammatoire puissant, et cet œdème de la patte est un modèle bien connu largement utilisé pour évaluer de nouveaux composés anti-inflammatoires.

Nos analyses statistiques ont révélé que l'IVAE à 200 mg/kg et le diclofénac à 50 mg/kg inhibent significativement l'œdème de la patte induit par la carragheen. Cette constatation suggère que l'IVAE pourrait inhiber l'expression de l'iNOS et la production de NO, comme observé dans le modèle de cellules de macrophages. Cette inhibition pourrait expliquer la réduction de l'œdème. Cependant, il est intéressant de noter que l'IVAE n'a montré une inhibition significative qu'après six heures d'administration de la carragheen, contrairement au diclofénac qui a montré une inhibition dès les trois premières heures. Cela peut être expliqué par les propriétés pharmacocinétiques des métabolites actifs et du diclofénac, car la biodisponibilité de ce dernier est plus élevée.

En résumé, nos résultats suggèrent que l'IVAE présente un potentiel anti-inflammatoire élevé en réduisant la production de NO et en inhibant l'expression de la iNOS. Cependant, des recherches supplémentaires sur les mécanismes d'action et les propriétés pharmacocinétiques de l'IVAE sont nécessaires pour mieux comprendre son efficacité et son potentiel clinique en tant qu'agent anti-inflammatoire. Ces résultats ouvrent des perspectives intéressantes pour l'utilisation de l'IVAE comme traitement naturel contre les maladies inflammatoires.

Comparaison des résultats

- **pour l'activité antioxydant :**

Dans la première étude L'IVAE (extrait d'*Inula viscosa*) a montré une forte capacité à neutraliser les radicaux DPPH[·] et ABTS^{·+} avec des valeurs IC₅₀ respectives de $11,4 \pm 1,28$ µg/ml et $11,25 \pm 2,03$ µg/ml. Similairement à la 2^{ème} étude qui a également montré une forte activité antioxydante contre DPPH[·] et ABTS^{·+}.

Par rapport à la concentration des compositions chimique de la plante il est remarquable que L'IVAE soit riche en polyphénols, tanins et présente une présence modérée de flavonoïdes. Les glucosides (terpénoïdes) étaient également présents, en particulier dans l'extrait méthanolique et aqueux ; la deuxième étude montrent un accord avec l'étude précédent, il a révélé des concentrations plus élevées de polyphénols totaux dans l'IVAE. Les feuilles ont montré les concentrations les plus élevées en polyphénols totaux par rapport aux tiges.

- **pour l'activité anti-inflammatoire :**

Les observations des études menées sur *Inula viscosa* (IVAE) révèlent des correspondances avec les conclusions d'autres recherches dans le domaine de l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits de plantes. Cependant, il convient de noter que les effets peuvent fluctuer en fonction de la plante examinée et de sa composition chimique. Voici une synthèse comparative des résultats obtenus avec d'autres investigations similaires :

1. Impact sur la production de NO : Des études analogues portant sur divers extraits de plantes ont également témoigné d'une capacité à réduire la production de l'oxyde nitrique (NO) en réponse à des agents inflammatoires. Cette tendance suggère un potentiel anti-inflammatoire, mais il est primordial de considérer que l'efficacité peut varier en fonction de la source végétale et de la concentration de l'extrait employé.

2. Influence sur l'expression génique liée à l'inflammation: De nombreuses plantes médicinales ont fait l'objet d'études visant à évaluer leur aptitude à moduler l'expression des gènes associés à l'inflammation, notamment l'iNOS, le TNF- α , le TLR-4 et le MyD88. Les résultats démontrent fréquemment une régulation à la baisse de l'expression de ces gènes, ce qui sous-entend une contribution à l'effet anti-inflammatoire.

3. Modèle murin d'œdème induit par la carraghénane: L'utilisation de modèles murins d'œdème demeure courante pour évaluer l'effet anti-inflammatoire des extraits végétaux. Plusieurs extraits ont présenté une aptitude à atténuer l'œdème induit par divers agents inflammatoires, bien que l'ampleur de cet effet puisse varier.

Conclusion et prescriptives

Conclusion

Dans l'ensemble, les résultats de notre étude théorique sur *Inula viscosa* suggèrent que cet extrait présente des activités anti-inflammatoires et antioxydantes potentielles, soutenant ainsi son intérêt en tant que source prometteuse d'agents thérapeutiques pour combattre les effets nocifs du stress oxydatif et de l'inflammation. Pour poursuivre la recherche dans cette direction prometteuse, plusieurs perspectives et directives futures peuvent être envisagées :

Premièrement, les résultats encourageants obtenus jusqu'à présent incitent à la poursuite de la recherche sur les composés spécifiques présents dans *Inula viscosa*. Une meilleure compréhension des mécanismes d'action de ces composés permettrait de renforcer leur potentiel en tant que traitements anti-inflammatoires et antioxydants, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles approches thérapeutiques pour les maladies inflammatoires.

Deuxièmement, pour consolider les preuves concernant l'activité antioxydante de *Inula viscosa*, il serait bénéfique d'évaluer cette activité *in vitro* à l'aide de tests complémentaires. Les dosages des marqueurs du stress oxydant permettraient de fournir des données plus approfondies et précises sur l'effet antioxydant de cet extrait, renforçant ainsi la crédibilité de son utilisation potentielle comme agent thérapeutique.

Enfin, des études supplémentaires devraient être menées pour explorer l'efficacité de *Inula viscosa* dans d'autres modèles inflammatoires, afin d'élargir son champ d'application et de déterminer ses limites d'utilisation. Ces études pourraient également inclure des évaluations de la toxicité potentielle de l'extrait, ainsi que des études pharmacocinétiques pour optimiser les prescriptions et les posologies.

En conclusion, notre étude théorique sur *Inula viscosa* a révélé des propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes prometteuses. Les perspectives futures de recherche sur cette plante résident dans la poursuite de l'exploration de ses composés actifs, l'évaluation *in vitro* de son activité antioxydante et l'approfondissement de ses applications thérapeutiques dans différents modèles inflammatoires. Ces efforts pourraient ouvrir de nouvelles opportunités dans la recherche de traitements naturels contre les maladies liées à l'inflammation et au stress oxydatif.

Références

Références

A.

Abreu, I.A., Cabelli, D.E., 2010. Superoxide dismutases-a review of the metal-associated mechanistic variations. *Biochim Biophys Acta* 1804, 263–274.

URL: <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2009.11.005>

Akinwunmi, K., Oyedapo, O., 2015. In vitro anti-inflammatory evaluation of African nutmeg (*Monodora myristica*) seeds. *European Journal of Medicinal Plants* 8, 167–174.

Al-Majed, A.A., Khattab, M., Raza, M., Al-Shabanah, O.A., Mostafa, A.M., 2003. Potentiation of diclofenac-induced anti-inflammatory response by aminoguanidine in carrageenan-induced acute inflammation in rats: the role of nitric oxide. *Inflammation Research* 52, 378–382.

Anosike, C.A., Obidoa, O., Ezeanyika, L.U., 2012. Membrane stabilization as a mechanism of the anti-inflammatory activity of methanol extract of garden egg (*Solanum aethiopicum*). *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences* 20, 1–7.

Aziz, M.A., Diab, A.S., Mohammed, A.A., Aziz, M.A., Diab, A.S., Mohammed, A.A., 2019. Antioxidant Categories and Mode of Action, in: *Antioxidants*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.83544>

B.

Barouki, R., 2006. Stress oxydant et vieillissement. *Med Sci (Paris)* 22, 266–272.

URL: <https://doi.org/10.1051/medsci/2006223266>

Benkhaled, A., 2019. Activités anti-inflammatoire, anti-oxydante et antimicrobienne de l'extrait aqueux de *Limoniastrum guyonianum* [WWW Document].

URL: https://scholar.google.com/scholar?hl=en&as_sdt=0%2C5&q=Benkhaled%2C+A.+%282018%29.+Activit%C3%A9s+anti-inflammatoire%2C+anti-oxydante+et+antimicrobienne+de+l%E2%80%99extrait+aqueux+de+Limoniastrum+guyonianum.+Universit%C3%A9+Ferhat+Abbas+S%C3%A9tif+1+Facult%C3%A9+des+Sciences+de+la+Nature+et+de+la+Vie.&btnG= (accessed 7.3.23).

Boizot, N., 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier.

C.

Cai, H., Huang, X., Xu, S., Shen, H., Zhang, P., Huang, Y., Jiang, J., Sun, Y., Jiang, B., Wu, X., 2016. Discovery of novel hybrids of diaryl-1, 2, 4-triazoles and caffeic acid as dual inhibitors of cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase for cancer therapy. *European journal of medicinal chemistry* 108, 89–103.

Celia, O., 2018. EXTRACTION, CARACTÉRISATION ET IDENTIFICATION DE QUELQUES COMPOSÉS (METABOLITES) SECONDAIRES DE INULA VISCOSA (L'INULE VISQUEUSE) ET EFFETS THÉRAPEUTIQUES.

Chahmi, N., Anissi, J., Jennan, S., Farah, A., Sendide, K., Hassouni, M.E., 2015. Antioxidant activities and total phenol content of *Inula viscosa* extracts selected from three regions of Morocco. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 5, 228–233.

URL: [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(15\)30010-1](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(15)30010-1)

Clavin, M., Gorzalczany, S., Macho, A., Munoz, E., Ferraro, G., Acevedo, C., Martino, V., 2007. Anti-inflammatory activity of flavonoids from *Eupatorium arnottianum*. *Journal of Ethnopharmacology* 112, 585–589.

F.

Favier, A., 2006. Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises* 64, 390–396.

URL: [https://doi.org/10.1016/S0003-4509\(06\)75334-2](https://doi.org/10.1016/S0003-4509(06)75334-2)

Favier, A., 2003. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique.

Flavonoïde : définition et explications □ [WWW Document], 2022. . AquaPortail.

URL: <https://www.aquaportail.com/definition-10084-flavonoide.html> (accessed 6.23.23).

Fuchs, J., 2001. Environmental stressors in health and disease. CRC Press.

Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., 2003. Espèces réactives de l'oxygène.

G.

Govindarajan, R., Vijayakumar, M., Pushpangadan, P., 2005. Antioxidant approach to disease management and the role of “Rasayana” herbs of Ayurveda. *J Ethnopharmacol* 99, 165–178.
URL: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.02.035>

Graefe, E.U., Wittig, J., Mueller, S., Riethling, A.-K., Uehleke, B., Drewelow, B., Pforte, H., Jacobasch, G., Derendorf, H., Veit, M., 2001. Pharmacokinetics and bioavailability of quercetin glycosides in humans. *The Journal of Clinical Pharmacology* 41, 492–499.

H.

Haoui, I.E., Derriche, R., Madani, L., Oukali, Z., 2015. Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *Inula viscosa* (L.) Aiton. *Arabian Journal of Chemistry* 8, 587–590.

URL: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.05.005>

Hussain, S.P., Hofseth, L.J., Harris, C.C., 2003. Radical causes of cancer. *Nat Rev Cancer* 3, 276–285.

URL: <https://doi.org/10.1038/nrc1046>

K.

Kanuri, G., Weber, S., Volynets, V., Spruss, A., Bischoff, S.C., Bergheim, I., 2009. Cinnamon extract protects against acute alcohol-induced liver steatosis in mice. *The Journal of nutrition* 139, 482–487.

Kenny, C.-R., Stojakowska, A., Furey, A., Lucey, B., 2022. From Monographs to Chromatograms: The Antimicrobial Potential of *Inula helenium* L. (Elecampane) Naturalised in Ireland. *Molecules* 27, 1406.

URL: <https://doi.org/10.3390/molecules27041406>

Kim, H.P., Son, K.H., Chang, H.W., Kang, S.S., 2004. Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *Journal of pharmacological sciences* 96, 229–245

L.

Lemke, T.L., Williams, D.A., Roche, V.F., Zito, S.W., 2013. Foye's Principles of Medicinal Chemistry, SEVENTH EDITION.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N., 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev* 4, 118–126.

URL: <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>

Lounis, H., Bergheim, I., Bouhaimi, A., Guigonis, J.-M., Belhamel, K., 2018a. Anti-inflammatory and antioxidant activities of *Inula viscosa* and *Senecio anteuphorbium*. *Orient Pharm Exp Med* 18, 225–236.

URL: <https://doi.org/10.1007/s13596-018-0307-0>

Lounis, H., Bergheim, I., Bouhaimi, A., Guigonis, J.-M., Belhamel, K., 2018b. Anti-inflammatory and antioxidant activities of *Inula viscosa* and *Senecio anteuphorbium*. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine* 18, 225–236.

Lu, J., Holmgren, A., 2014. The thioredoxin antioxidant system. *Free Radic Biol Med* 66, 75–87.

URL: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.07.036>

M.

Madani, L., Derriche, R., Haoui, I.E., 2014. Essential oil of Algerian *Inula viscosa* leaves. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 17, 164–168.

URL: <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.884778>

Mahendran, G., Rahman, L.-U., 2020. Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological updates on Peppermint (*Mentha × piperita* L.)-A review. *Phytother Res* 34, 2088–2139. URL: <https://doi.org/10.1002/ptr.6664>

Matés, J.M., Pérez-Gómez, C., Núñez de Castro, I., 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem* 32, 595–603.

URL: [https://doi.org/10.1016/s0009-9120\(99\)00075-2](https://doi.org/10.1016/s0009-9120(99)00075-2)

Meng, X., Zhang, X., Liu, M., Cai, B., He, N., Wang, Z., 2020. Fenton reaction-based nanomedicine in cancer chemodynamic and synergistic therapy. *Applied Materials Today* 21, 100864.

URL: <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2020.100864>

Meyer, P., 1998. Russo-Marie F., Peltier A., Polla B., *L'inflammation*, John Libbey Eurotext, Baltimore (1998).

Mohammed, T., Benchohrahadria Amel, B., Mahmoud, D., 2021a. Ethnobotanical and Phytochemical Study of *Inula viscosa* L of the Western of Algeria. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. C, Physiology and Molecular Biology* 13, 199–210.

URL: <https://doi.org/10.21608/eajbsc.2021.207511>

Mohammed, T., Benchohrahadria Amel, B., Mahmoud, D.M., 2021b. Ethnobotanical and Phytochemical Study of *Inula viscosa* L of the Western of Algeria. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. C, Physiology and Molecular Biology* 13, 199–210.

URL: <https://doi.org/10.21608/eajbsc.2021.207511>

Mpiana, P.T., Ngbolua, K.-N., Tshibangu, S.T.D., 2016. Les alicaments et la drépanocytose : une mini-revue. *Comptes Rendus Chimie, Chemistry and Natural Resources/Chimie et ressources naturelles* 19, 884–889.

URL: <https://doi.org/10.1016/j.crci.2016.02.019>

Mrozovski, J.-M., 2022. Pour une utilisation raisonnée des anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Actualités Pharmaceutiques* 61, 47–51.

URL: <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2022.02.012>

Mulier, B., Rahman, I., Watchorn, T., Donaldson, K., MacNee, W., Jeffery, P., 1998. Hydrogen peroxide-induced epithelial injury: The protective role of intracellular nonprotein thiols (NPSH). *The European respiratory journal : official journal of the European Society for Clinical Respiratory Physiology* 11, 384–91.

URL: <https://doi.org/10.1183/09031936.98.11020384>

Munteanu, I.G., Apetrei, C., 2021. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int J Mol Sci* 22, 3380.

URL: <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>

N.

Nagy, L.E., 2003. Recent insights into the role of the innate immune system in the development of alcoholic liver disease. *Experimental biology and medicine* 228, 882–890.

O.

Ouedraogo, N., Lompo, M., Sawadogo, R.W., Tibiri, A., Hay, A.-E., Koudou, J., Dijoux, M.-G., Guissou, I.P., 2012. Étude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir.(Fabaceae). *Phytothérapie* 10, 286–92.

Oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease — radicals or ridiculous? - Kruidenier - 2002 - *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* - Wiley Online Library [WWW Document], 2002.

URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1365-2036.2002.01378.x> (accessed 6.24.23).

P.

Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., Brighenti, F., 2003. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J Nutr* 133, 2812–2819.

URL: <https://doi.org/10.1093/jn/133.9.2812>

Peltier, A.-P., Russo-Marie, F., Polla, B., 1998. *L'inflammation*. John Libbey Eurotext.

Pisoschi, A.M., Pop, A., 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem* 97, 55–74.

URL: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>

Pokharel, Y.R., Liu, Q.-H., Oh, J.W., Woo, E.-R., Kang, K.W., 2007. 4-Hydroxykobusin inhibits the induction of nitric oxide synthase by inhibiting NF- κ B and AP-1 activation. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 30, 1097–1101.

R.

Rajan, T., 2014. Phytochemical Screening and in-vitro Anti-inflammatory Activity of *Trigonella foenum-graecum* Leaves Extracts.

Reşat Apak, Capanoglu, E., Shahidi, F., 2017. Measurement of antioxidant activity and capacity: Recent trends and applications.

Rice-Evans, C., Burdon, R., 1993. Free radical-lipid interactions and their pathological consequences. *Prog Lipid Res* 32, 71–110.

URL: [https://doi.org/10.1016/0163-7827\(93\)90006-i](https://doi.org/10.1016/0163-7827(93)90006-i)

Roy, S., Bagchi, D., Raychaudhuri, S.P., 2012. Chronic inflammation: molecular pathophysiology, nutritional and therapeutic interventions. CRC Press.

S.

Seca, A.M.L., Grigore, A., Pinto, D.C.G.A., Silva, A.M.S., 2014. The genus *Inula* and their metabolites: From ethnopharmacological to medicinal uses. *Journal of Ethnopharmacology* 154, 286–310.

URL: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.04.010>

Sharma, V., Singh, M., 2013. In vitro antiarthritic and hemolysis preventive: Membrane stabilizing efficacy of ethanolic root extract of *Operculina turpethum*. *WJPPS* 2, 302–312.

Shin, S.A., Joo, B.J., Lee, J.S., Ryu, G., Han, M., Kim, W.Y., Park, H.H., Lee, J.H., Lee, C.S., 2020. Phytochemicals as Anti-Inflammatory Agents in Animal Models of Prevalent Inflammatory Diseases. *Molecules* 25, 5932.

URL: <https://doi.org/10.3390/molecules25245932>

Smaga, I., Niedzielska, E., Gawlik, M., Moniczewski, A., Krzek, J., Przegaliński, E., Pera, J., Filip, M., 2015. Oxidative stress as an etiological factor and a potential treatment target of psychiatric disorders. Part 2. Depression, anxiety, schizophrenia and autism. *Pharmacol Rep* 67, 569–580.

URL: <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2014.12.015>

Spruss, A., Kanuri, G., Uebel, K., Bischoff, S.C., Bergheim, I., 2011. Role of the inducible nitric oxide synthase in the onset of fructose-induced steatosis in mice. *Antioxidants & redox signaling* 14, 2121–2135.

T.

Thomas, D., 2016. Les antioxydants de nos jours : définition et applications.

Tilg, H., Moschen, A.R., 2010. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology* 52, 1836–1846.

Topakci, N., 2016. Sticky Elecampane, *Inula viscosa* (L.) Aiton (Asteraceae) 5.

W.

Wang, W., Ben-Daniel, B.H., Cohen, Y., 2004. Control of Plant Diseases by Extracts of *Inula viscosa*. *Phytopathology*® 94, 1042–1047.

URL: <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.10.1042>

Y.

Younus, H., 2018. Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *Int J Health Sci (Qassim)* 12, 88–93.

Z.

Zhang, Y.-J., Gan, R.-Y., Li, S., Zhou, Y., Li, A.-N., Xu, D.-P., Li, H.-B., 2015. Antioxidant Phytochemicals for the Prevention and Treatment of Chronic Diseases. *Molecules* 20, 21138–21156.

URL: <https://doi.org/10.3390/molecules201219753>

Année universitaire : 2022-2023	Présenté par : BOUABDALLAH Hanane MEZICHE Chihabe
Thème : Étude théorique des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires d' <i>Inula viscosa</i>	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie	
Résumé	
<p>Notre étude théorique porte sur l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de la plante <i>Inula viscosa</i>, afin d'explorer les composants et les propriétés bénéfiques de cette plante en termes de protection contre les dommages oxydatifs et l'inflammation.</p> <p>De part, les extraits d'<i>Inula viscosa</i> ont démontré une activité anti-inflammatoire importante, attribuable à la présence de composés bioactifs tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins condensés. Ces composés ont la capacité de neutraliser les radicaux libres, d'inhiber les enzymes pro-inflammatoires et de réguler les voies de signalisation impliquées dans l'inflammation.</p> <p>Selon les études, <i>Inula viscosa</i> présente une richesse en polyphénols, tanins et flavonoïdes modérés, ainsi que des glucosides, surtout dans les extraits méthanolique et aqueux. Une concentration élevée de polyphénols totaux, particulièrement dans les feuilles, est confirmée par des autres études ; d'autre part les études suggèrent que <i>Inula viscosa</i> (IVAE) possède des propriétés anti-inflammatoires potentielles en réduisant la production de NO, en modulant l'expression de l'iNOS et en atténuant l'œdème dans un modèle murin d'inflammation induite par la carraghénane. Cependant, les effets sont plus marqués à une concentration de 100 µg/ml d'IVAE. Ces résultats indiquent un potentiel thérapeutique de l'IVAE dans la modulation de la réponse inflammatoire.</p> <p>Ces résultats renforcent le potentiel de <i>Inula viscosa</i> comme source naturelle de composés bénéfiques pour des applications médicinales et nutraceutiques variées et pourrait être utilisée comme une source naturelle d'antioxydants et d'agents anti-inflammatoires.</p>	
Mots clés : <i>Inula Viscosa</i> .L – métabolites secondaires – huiles essentielles – méthodes d'évaluation - activités antioxydantes – activités anti-inflammatoires.	
Président BOUANIMBA Nour	MCA. Univ. Frères Mentouri- Constantine 1.
Encadreur KITOUNI Rachid	MCB. Univ. Frères Mentouri- Constantine 1.
Examineur BEZZI Tarek	MRB. Centre de Recherche en Biotechnologie Constantine.

