



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie Appliquée

قسم : البيولوجيا التطبيقية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologie et Biothérapie

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Évaluation des activités biologiques de *Dittrichia viscosa* L. en vue de son application en biothérapie.

Présenté par : BAHRI Alaa Nor El Hayat

Le : 11/06/2024

KAOUA Rayene

Jury d'évaluation :

Président Dr Latreche Asma (MCB-U-Constantine 1 Frères Mentouri)

Encadrant Dr Meziani D. Yasmina (MCB-U-Constantine 1 Frères Mentouri).

Examineur Mme Belloum Zahia (MAA-U-Constantine 1 Frères Mentouri).

Année universitaire :
2023 – 2024

Remerciement

Avant tout, nous remercions **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donné le courage, la patience et la force d'accomplir ce projet de fin d'étude.

Nous tenons à exprimer nos plus vifs remerciements à notre promotrice

Dr MEZIANI Dahbia Yasmina, pour avoir accepté d'encadrer ce travail. Elle s'y est grandement impliquée par ses remarques et ses encouragements.

Nous sommes reconnaissantes pour la confiance et le degré d'autonomie qu'elle nous a accordé tout au long de nos travaux.

Nos remerciements les plus dévoués aux membres du jury **Dr Latreche Asma** et **Mme Belloum Zahia** pour avoir accepté la lourde tâche de lire l'intégralité de ce manuscrit et d'examiner ce travail. Merci infiniment.

Avec pleine de gratitude nous tenons à remercier le **professeur KACEM CHAOUCHE Noredine**, directeur du département de Biologie Appliquée pour la qualité de son enseignement, son encouragement ainsi que l'intérêt qu'il porte à tous les étudiants.

Nous exprimons nos remerciements profonds **Dr MBAREK Saad**, qui nous a donné la chance de travailler au sein du Laboratoire 2 du Centre de Recherche de Biotechnologie de Constantine. Il nous a tellement aidés et épaulés pour accomplir ce travail.

Nos sincères remerciements vont également à madame **BENLAHRACHE Houda**, ingénieure principale du laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire pour ses efforts et son aide, et ses conseils.

Nous adressons nos remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné tout au long de notre parcours scolaire primaire jusqu'à l'université, en espérant que ce modeste travail soit preuve de notre gratitude.

Dédicace

Je dédie ce mémoire à ...

*À la plus belle créature que Dieu a créé sur terre, À la fleur qui rehausse et aromatise mes jours et la lumière de mes yeux, Ma chère mère **AOUANE AMEL**.*

Symbole de tendresse et de sacrifice, ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles. Merci pour ton soutien moral pendant toutes mes longues années d'études et pour tout l'amour que tu m'as donné.

Que dieu te garde pour nous.

*À la personne la plus précieuse que j'ai, qui m'a donné la vie, Mon cher père **KAOUA ALAOUA**, qui a été mon ombre durant toute ma vie, qui s'est sacrifié pour mon bonheur et ma réussite. Merci papa. Que dieu te protège et te donne longue vie.*

*À mes chères sœurs **DARINE** et **RIMES**.*

*Mon cher frère **WAIL ALA EDDINE**.*

*À mes précieuses copines **Amina**, **Malak**, **Nesrine** et **Djihene** qui ont partagé tous les bons et les mauvais moments avec moi.*

*À mon binôme **Alaa** avec qui j'ai partagé les joies et les difficultés au suivi de notre travail.*

À tous mes collages et camarades pour les sympathiques moments qu'on a passés ensemble.

À toute personne qui occupe une place dans mon cœur

Rayene ♥

Dédicace

Avec un cœur ouvert et un énorme plaisir, je remercie D'abord Dieu le puissant de m'avoir donné la volonté, la force et le courage pour accomplir ce modeste travail.

Et avec une profonde gratitude et des paroles sincères je dédie ce travail à :

***Mes chers parents** qui se sont sacrifiés pour me voir arriver là et qui*

M'ont aidé pour faire face aux difficultés au cours de mes longues années d'études, si je suis arrivé là, c'est grâce à eux, que dieu les bénisse et leur accorde longue vie pleine de bonheur et bonne santé.

*À mes chères sœurs d'amour : **Samar** et **Aya**.*

*À mes frères : **Saad Eddine**, **Taha**, et **Yahia**, qui m'aiment et apprécient mes efforts, je leurs souhaite un éclat et succès infini dans leurs vies.*

À toute ma famille sans exception.

*À mes chers amis : **Chaima**, **Aya** et **Wail** qui m'ont encouragé et soutenu surtout dans mes pires moments, merci d'être toujours à mes côtés.*

À tous les professeurs qui m'ont instruit.

À tous ceux qui nous sont chers... merci infiniment !!

Alaa ♥

Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Revue Bibliographique	
1. La phytothérapie et les plantes médicinales.....	4
1.1. Phytothérapie	4
1.2. Les Différents Types de Phytothérapie	4
1.3. Plante médicinale	4
1.3.1. Définition	4
1.3.2. Préparation des plantes médicinales.....	5
1.3.2.1. Récolte	5
1.3.2.2. Séchage	5
1.3.2.3. Conservation.....	5
1.3.3. Composition des plantes médicinales.....	5
1.3.3.1. Huiles essentielles.....	5
1.3.3.2. Alcaloïdes.....	5
1.3.3.3. Flavonoïdes	6
1.3.3.4. Phénols	6
1.3.3.5. Tannins	7
1.3.4. Utilisation historique des plantes médicinales en Algérie	7
2. <i>Dittrichia viscosa</i>	7
2.1. Généralités	7
2.2. Taxonomie.....	8
2.3. Dénomination.....	8
2.4. Répartition géographique.....	9
2.5. Les caractéristiques de <i>D. viscosa</i>	10
2.5.1. La tige	10
2.5.2. Les feuilles :	10
2.5.3. Le fruit	11
2.5.4. Les fleurs	11
2.5.5. Les racines	12
2.6. Domaines d'utilisation	12
2.6.1. Agroalimentaire.....	12
2.6.2. Cosmétique	12
2.6.3. Pharmaceutique	12
2.7. Intérêts de <i>D. Viscosa</i>	12
2.7.1. Intérêt apicole.....	12

2.7.2.	Intérêt insecticide :	13
2.7.3.	Intérêt herbicide	13
2.8.	Les effets thérapeutiques de <i>D.viscosa</i> dans la pharmacopée.....	13
2.9.	Les différentes maladies traitées par <i>D.viscosa</i> dans la médecine traditionnelle :	14
2.10.	Utilisation traditionnelle et médicinale de <i>D.viscosa</i>	14
3.	Activités biologiques des extraits.....	14
3.1.	Activité anti-inflammatoire.....	15
3.2.	Activité antibactérienne	15
3.3.	Activité antifongique	15
3.4.	Activité antioxydante.....	16
3.4.1.	Composés phénoliques	16

Matériel et méthodes

1.	Matériel biologique	20
1.1.	Matériel végétal.....	20
2.	Méthode d'extraction.....	21
2.1.	Préparation de la plante	21
2.2.	Préparation de l'extrait totale aqueux et de l'extrait éthanolique	22
2.2.1.	Extraction par macération à l'aide de l'éthanol aqueux (extraction solide/liquide)	22
2.2.3.	Récupération des extraits	23
3.	Evaluation des activités biologiques	24
3.1.	Activité anti-inflammatoires in vitro.....	24
3.2	Activité antibactérienne.....	25
3.2.1.	Souches bactériennes testées.....	25
3.2.2.	Préparation des dilutions.....	25
3.2.3.	Ensemencement de la gélose MH	25
3.2.4.	Ensemencement et dépôt des disques.....	25
3.3.	Activité antifongique	26
3.3.1.	Souches fongiques.....	26
3.4.	Estimation des polyphénols totaux et des flavonoïdes	27
3.4.1.	Estimation du contenu total en polyphénols	28
3.4.2.	Estimation du contenu total en flavonoïdes	28
3.5.	Activité antioxydant	29
3.5.1.	Piégeage du radical DPPH.....	29
3.5.2.	Estimation de l'activité ABTS	29
3.5.3.	Estimation de l'activité phénanthroline	29
3.5.4.	Activité du pouvoir réducteur	30

Résultats

1. Détermination des rendements	33
3. Activité antibactérienne :	34
4. Activité antifongique	36
5. Teneur en polyphénols.....	37
5.1. Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes	37
5.1.1. Courbes d'étalonnages.....	37
5.1.1.1. Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux	37
5.1.1.2. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes.....	38
5.2. Teneur en polyphénols totaux	38
6. Activité Antioxydante.....	39
6.1. Piégeage du radical DPPH.....	39
6.2. L'activité ABTS	40
6.3. L'Activité phénantroline.....	41
Discussion.....	44
Conclusion	48
Références bibliographiques	50
Résumé	63
Abstract.....	65
المخلص	66
Annexes.....	67

Liste des figures

Figure 1: Structure de morphine et de quinine (Boutefnouchet et al., 2020).....	6
Figure 2 : Structure générale des flavonoïdes (Heim <i>et al.</i> , 2002).....	6
Figure 3 : Structure générale des phénols (Laurent, 2017).....	6
Figure 4 : Structure générales des tannins (Kavitha et Kandasubramanian, 2020).	7
Figure 5 : Structure du capitule du genre Inula.	8
Figure 6: Carte géographique de <i>D.viscosa</i> (L.) (Benyahia ,2014).....	9
Figure 7 : La tige de <i>D. viscosa</i> . (Nature jardin).....	10
Figure 8 : Les feuilles de <i>D. Viscosa</i> (Nature jardin).	10
Figure 9: Le Fruits de <i>D.viscosa</i> (Nature jardin).	11
Figure 10 : La floraison de l' <i>D. viscosa</i> (Gerbeaud, 2021).....	11
Figure 11 : Miel d'inule (Boumaza, 2011).	13
Figure 12 : Photo de la plante <i>D.viscosa</i> dans la région de récolte (original 2023)	20
Figure 13 : Photo après récolte de <i>D.viscosa</i> (Originale, 2023).	20
Figure 14 : Photo au moment de séchage (original 2023).	21
Figure 15: préparation de la plante (original).....	22
Figure 16: préparation pour la macération. (Original).	23
Figure 17 : Récupération de l'extrait éthanolique (original).	23
Figure 18: les échantillons après l'incubation à 72°C.....	24
Figure 19: Photo des délutions pour les deux extraits.....	26
Figure 20: Photo du dépôt de l'extrait sur le disque.	27
Figure 21: Dosage des polyphénols totaux de l'extrait hydro-éthanolique	28
Figure 22: Evaluation comparative de l'activité anti-inflammatoire in vitro	34
Figure 23 : Test de diffusion de <i>E.coli</i> en milieu MH de l'extrait aqueux (originale).	34
Figure 24 . Test de diffusion de <i>E.coli</i> en milieu MH de l'extrait éthanolique (originale).....	35
Figure 25 : Test de diffusion de <i>S.Aureus</i> en milieu MH de l'extrait aqueux (originale).....	35
Figure 26: Test de diffusion de <i>S.Aureus</i> en milieu MH de l'extrait éthanolique (originale).....	35
Figure 27 : Résultats d'inhibitions de l'extrait aqueux (originale)	36
Figure 28: Résultats d'inhibitions de l'extrait éthanolique (originale).....	36
Figure 29: Croissance radiale de l'agent Phytopathogène (contrôle positif).....	36
Figure 30 : Evaluation comparative de l'activité antifongique in vitro	37
Figure 31 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.	38
Figure 32 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des Flavonoïdes.	38
Figure 33: Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes entre les deux extraits.	39

Liste des tableaux

Tableau 1. Classification de <i>D. viscosa</i> (L.) (Boubakr <i>et al.</i> , 2015).....	8
Tableau 2. Les différents noms vernaculaires de <i>D. viscosa</i>	9
Tableau 3: maladies traitées par <i>D.viscosa</i> (krispil, 1982).	14
Tableau 4: Les utilisations traditionnelles de <i>D.viscosa</i> selon différentes régions	14
Tableau 5 : Caractéristiques de la région de récolte de <i>D.viscosa</i>	21
Tableau 6 : Référence des souches bactériennes TESTÉES.	25
Tableau 7 : Le rendement d'extraits hydro-éthanolique et aqueux de la plante.	33
Tableau 8 : Taux d'inhibitions des extraits et du standard.	33
Tableau 9 : Taux d'inhibitions des extraits de <i>D.viscosa</i> de l'ACTIVITÉ antifongique	36
Tableau 10 : Taux de polyphénols totaux et des flavonoïdes.	39
Tableau 11 : Résultats de l'ACTIVITÉ antiradicalaire DPPH et Pourcentage d'inhibition.	39
Tableau 12: Résultats de test ABTS et Pourcentage d'inhibition des extraits.	40
Tableau 13 : Résultats de test phénantroline et Pourcentage d'inhibition des extraits.	41
Tableau 14 : Résultats d'ACTIVITÉ de pouvoir réducteur des extraits.....	41

Liste des abréviations

% : Pourcentage
°C : Degré celsius
µl : Microlitre
Abs : Absorbance
ABTS : Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
FRAP : Pouvoir réducteur
Al³⁺ : L'ion aluminium
BHA : Butylhydroxyanisole
BHT : Butylhydroxytoluène
BSA : L'albumine sérum bovin
Cm : Centimètre
CRBT : Centre de recherche et de biotechnologie
D.viscosa : *Dittrichia viscosa*
DPPH : α, α-diphényl-β-picrylhydrazyl
E. coli:*Escherichia coli*
F: *Fusarium*
FCR : Réactif de Folin-Ciocalteu
FeCl₂ : Chlorure de fer
FeCl₃ : Ferric chloride
FRAP : Activité du pouvoir réducteur
G : Gramme
H₂O : L'eau
IC₅₀ : Concentration inhibitrice de 50%
mg: Milligramme
MH: Mueller Hinton
min: Minute
ml : Millilitre
nm: Nanometer
PDA: Potato Dextrose Agar
Ph : Potentiel hydrogène
R : Rendement
ROS : Radicaux libres
S. aureus : *Staphylococcus Aureus*
S.D : Standard Deviation
TFC : Contenu total en flavonoïdes
TPC : Contenu total en polyphénols
Tris-HCl: Tris (hydroxyméthyl) aminométhane (THAM) hydrochloride

Introduction

Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales et aromatiques ont joué un rôle essentiel dans les systèmes de santé traditionnels à travers le monde en raison de leurs propriétés thérapeutiques utilisées en phytothérapie (**Franck et al.**, 2020). Ces plantes ont une importance vitale pour les populations, offrant un recours précieux pour soulager diverses affections lorsque l'accès aux médicaments modernes est limité (**Sema et al.**, 2018 ; **Tittikpina et al.**, 2013).

De nos jours, la médecine traditionnelle à base des plantes reste un pilier du secteur de santé en Afrique, où environ 90% des soins sont dispensés selon ces approches ancestrales (**OMS**, 2002).

Plusieurs facteurs expliquent la popularité croissante de la phytothérapie à l'échelle mondiale. Parmi eux, le fait que les plantes médicinales sont généralement mieux tolérées que les médicaments synthétiques et présentent moins d'effets secondaires. Par ailleurs, un grand nombre de pays en voie de développement manquent cruellement à l'accessibilité aux médicaments conventionnelle (**Prescrire Rédaction**, 2006)

D'autres part, les progrès scientifiques ont permis une meilleure compréhension et une meilleure exploitation de leurs propriétés pharmacologiques (**Newman et al.**, 2020). En effet, près de 75% des médicaments actuellement disponibles contiennent au moins une molécule d'origine végétale (**Adossides**, 2003 ; **Boindin et al.**, 2010).

L'Algérie, avec sa grande diversité climatique et sa situation géographique, abrite un ensemble considérable d'espèces naturelles qui représentent un patrimoine phylogénétique d'une valeur inestimable, tant en termes de répartition spatiale que de rôle dans l'équilibre écologique (**Snoussi et al.**, 2003).

Dans ce contexte, notre étude se concentre sur la plante *Dittrichia viscosa* L, une espèce d'intérêt médicinal utilisée principalement dans les pays en voie de développement comme remède populaire pour traiter de nombreuses maladies à l'aide de différentes méthodes traditionnelles de préparation, notamment l'infusion, la décoction et l'application externe.

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer les activités biologiques des extraits de *Dittrichia viscosa*, dans le but de palier aux problèmes d'intolérance aux médicaments synthétiques ainsi qu'à leur inaccessibilité dans les pays de tiers-monde.

Nous avons choisi de travailler spécifiquement sur les feuilles de cette plante en raison de leur richesse en métabolites actifs et de leur utilisation traditionnelle dans la médecine populaire (**Kattouf**

et al., 2009). Nous avons également choisi de réaliser deux types d'extraction (hydroéthanolique et aqueuse) en raison de la neutralité des solvants utilisés.

Dans le cadre de notre étude, nous effectuerons également des dosages colorimétriques des polyphénols et des flavonoïdes ainsi qu'une étude des activités antioxydants, anti-inflammatoire, antibactérienne et antifongiques présentes dans les extraits afin de caractériser ces métabolites spécifiques.

Cette approche nous permettra d'explorer de manière approfondie les propriétés biologiques des feuilles de la plante et de déterminer leur potentiel thérapeutique et ainsi valoriser la richesse de la flore algérienne potentiellement médicinale.

Revue
Bibliographique

1. La phytothérapie et les plantes médicinales

1.1. Phytothérapie

La phytothérapie désigne le traitement thérapeutique fondé sur les plantes, leurs extraits et les principes actifs naturels, dans le but de guérir, soulager ou prévenir une maladie. Est classée parmi les médecines alternatives ou douces. En Occident, la pratique de la phytothérapie en consultation est généralement réservée aux médecins, tandis que les pharmaciens et herboristes sont responsables des conseils lors de l'achat de produits phytothérapeutiques (**Larousse Médical**). Cette discipline nécessite une connaissance approfondie des composés chimiques présents dans les différentes parties des plantes et leur utilisation thérapeutique (**Kansole, 2009**).

1.2. Les Différents Types de Phytothérapie

Il existe plusieurs catégories de thérapies utilisant les plantes :

- ❖ **La Phytothérapie** : Elle implique l'utilisation de différentes parties de plantes (racines, feuilles, fleurs ou la plante entière) sous diverses formes galéniques (**Scimeca, 2005**).
- ❖ **La Gemmothérapie** : Cette pratique se concentre sur l'utilisation des bourgeons de plantes (**Andrienne, 2001**).
- ❖ **L'Aromathérapie** : Elle utilise des huiles essentielles obtenues par divers procédés d'extraction (**Vernex - Lozet, 2011**).
- ❖ **La Phytothérapie Pharmaceutique** : Cette branche utilise des produits d'origine végétale obtenus par extraction, dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits, dosés en quantités suffisantes pour garantir une action efficace et rapide, sont disponibles sous forme de sirops, de gouttes, de gélules, etc... (**Strang, 2006**).

1.3. Plante médicinale

1.3.1. Définition

Une plante est qualifiée de médicinale lorsqu'elle renferme, au sein de ses différents organes, un ou plusieurs principes actifs pouvant être exploités à des fins thérapeutiques. Cela inclut toutes les plantes contenant des substances utilisables pour des traitements médicaux, ou celles servant de précurseurs dans la synthèse de composés pharmacologiquement actifs (**Sofowora, 2010**).

Les plantes médicinales sont riches en diverses molécules qui peuvent avoir des propriétés préventives ou curatives (**Djidda et Nait Chalal, 2020**). L'action thérapeutique des plantes médicinales est souvent le résultat de l'interaction complexe de plusieurs composés présents dans la plante, plutôt qu'une seule molécule active isolée (**Bonnaïfous, 2013 ; Bellamine, 2017**).

1.3.2. Préparation des plantes médicinales

1.3.2.1. Récolte

La récolte des plantes médicinales est cruciale pour assurer la qualité et l'efficacité des remèdes. Elle doit être effectuée à des moments spécifiques du cycle de croissance pour maximiser la concentration en principes actifs, en tenant compte de la saison, des conditions météorologiques et de la phase de croissance de la plante (**Debuigne et Couplane, 2013**).

1.3.2.2. Séchage

Le séchage des plantes médicinales est crucial pour préserver leurs propriétés thérapeutiques. Des conditions de séchage appropriées, incluant une température stable entre 30 et 40°C et un contrôle strict de l'humidité relative, sont essentielles pour éviter la dégradation des composés actifs et prévenir la croissance de moisissures, garantissant ainsi l'efficacité thérapeutique des plantes (**Debuigne et Couplane, 2013**).

1.3.2.3. Conservation

La conservation adéquate des plantes médicinales après le séchage est indispensable pour préserver leurs propriétés thérapeutiques. Les conditions de stockage des plantes médicinales, comme l'utilisation de récipients en verre ou de sacs en papier, sont essentielles pour préserver leurs composés actifs en les protégeant de l'humidité et de la lumière (**OMS, 2003**).

1.3.3. Composition des plantes médicinales

Les plantes médicinales contiennent en effet une grande variété de composants chimiques, dont certains sont des substances bioactives qui jouent un rôle crucial dans leurs propriétés thérapeutiques. Les substances bioactives sont des composés chimiques présents naturellement dans les plantes qui ont un impact sur les processus biologiques du corps humain (**Rombi et Robert, 2015 ; Debuigne et Couplan, 2013**).

1.3.3.1. Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des composés aromatiques volatils présents dans diverses parties de la plante. Ces composés sont essentiels pour la protection des plantes contre les agressions environnementales et jouent également un rôle dans la communication avec d'autres organismes, comme les insectes pollinisateurs (**Iserine et al., 2001**).

1.3.3.2. Alcaloïdes

Les alcaloïdes ont des molécules à bases azotées sont réputés pour leur vaste gamme d'effets physiologiques, allant de médicamenteux à toxiques. En médecine, de nombreux alcaloïdes ont été utilisés pour leurs propriétés thérapeutiques, parmi lesquels les quinine et les morphine (Figure 1)

(Boutefnouchet et al., 2020).

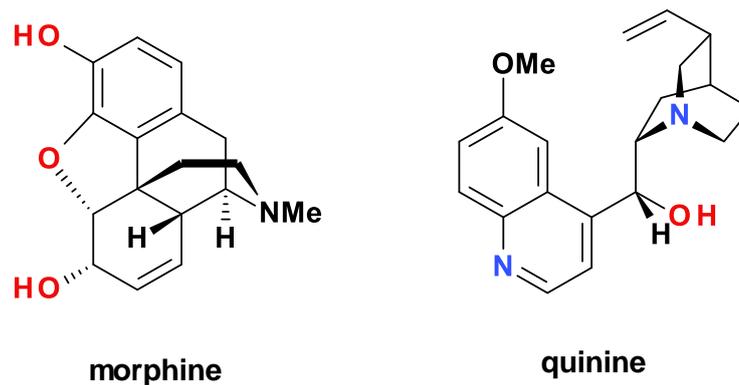


Figure 1: Structure de morphine et de quinine (Boutefnouchet *et al.*, 2020).

1.3.3.3. Flavonoïdes

Les flavonoïdes dont la structure générale est présentée sur la [figure 2](#), sont des composés polyvalents présents dans les plantes, qui offrent une gamme d'avantages pour la santé et ont des applications potentielles dans diverses industries, notamment cosmétique, alimentaire et pharmaceutique (Wichtl et Anton, 2009).

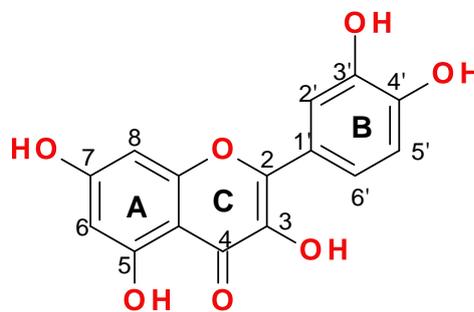


Figure 2 : Structure générale des flavonoïdes (Heim *et al.*, 2002).

1.3.3.4. Phénols

Les phénols ([Figure 3](#)) sont des composés chimiques présents dans les plantes, caractérisés par un noyau benzénique et au moins un groupe hydroxyle (Laurent, 2017). Solubles dans l'eau, ils sont réputés pour leurs diverses activités biologiques bénéfiques pour la santé (Iserin *et al.*, 2001).

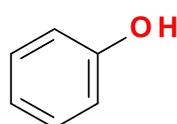


Figure 3 : Structure générale des phénols (Laurent, 2017).

1.3.3.5. Tannins

Les tannins (Figure 4), sont des composés phénoliques couramment trouvés dans le règne végétal, présents dans diverses parties des plantes telles que les racines, l'écorce, les feuilles et parfois les fruits (Baba Aïssa, 2011). Propriétés astringentes comme antidiarrhéiques, vasoconstricteurs, hémostatiques et surtout comme protecteurs veineux.

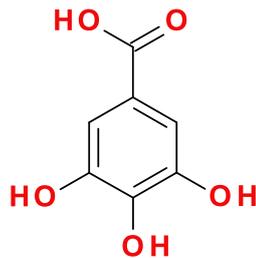


Figure 4 : Structure générales des tannins (Kavitha et Kandasubramanian, 2020).

1.3.4. Utilisation historique des plantes médicinales en Algérie :

L'utilisation des plantes médicinales est vieille d'un millier d'années, les premières écritures sur les plantes médicinales en Algérie et dans le Maghreb remontent au 9ème siècle. Parmi les pionniers, Ishâ -Amran qui a laissé bons nombres de traités sur la médecine et les drogues simples (Baba Aïssa, 2000). Des botanistes ont réussi à cataloguer un grand nombre d'espèces médicinales. Ils ont mentionné 200 espèces décrites et étudiées, la plupart d'entre elles existent dans le Nord de l'Algérie et seulement 6 espèces au Sahara. Aujourd'hui, en Algérie, la phytothérapie est très répandue pour traiter plusieurs maladies telles que le diabète, le rhumatisme, la minceur et même les maladies incurables (Belkhodja, 2016).

2. *Dittrichia viscosa* L.

2.1. Généralités

Dittrichia viscosa L., également connue sous le nom d'*Inula viscosa* L. (Greuter), est une plante médicinale appartenant à la famille des *Asteraceae*, largement utilisée dans la médecine populaire pour traiter diverses pathologies. Cette plante, qui se distingue par ses fleurs généralement jaunes, est composée de capitules formés de nombreux fleurons entourés d'un involucre de bractées. Le fruit, caractérisé par une aigrette de soies, est distinctivement étranglé puis élargi au sommet. Les feuilles sont alternes. Fréquente en région méditerranéenne où elle fleurit à la fin de l'été et au début de l'automne. C'est une plante toute glanduleuse visqueuse, à forte odeur (Kaur et Chahal, 2014).

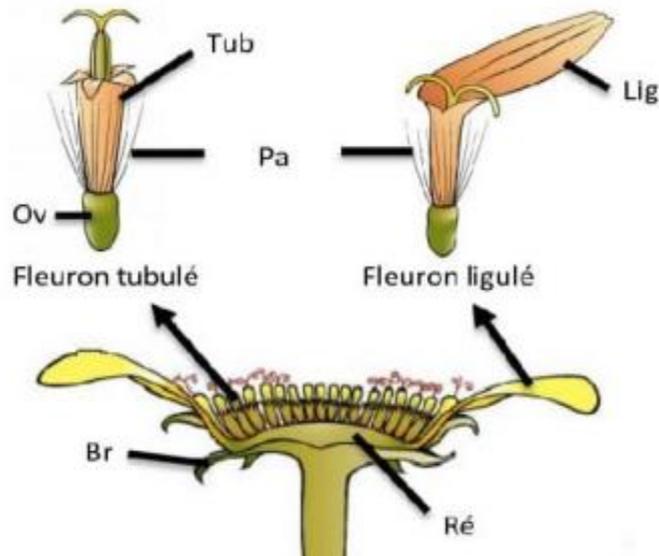


Figure 5 : Structure du capitule du genre *Dittrichia*

(Br) bractées, (Ré) réceptacle pileux, (Lig) fleurons périphériques mâles ligulés, (Tub) fleurons du centre hermaphrodite tubulés, (Ov) Ovaire, (Pa) Pappus. (Abid et Qaiser, 2003 ; Seca *et al.*, 2014).

2.2. Taxonomie

Tableau 1. Classification de *D. viscosa* (L.) (Boubakr *et al.*, 2015).

Règne	<i>Végétale</i>
Sous règne	<i>Trachéobionta</i>
Sous embranchement	<i>Angiosperme</i>
Classe	<i>Magnolispsida (Dicotylédones)</i>
Sous classe	<i>Astériidae</i>
Ordre	<i>Astérales</i>
Famille	<i>Astéracées</i>
Genre	<i>Inula</i>
Espèce	<i>Viscosa</i>

2.3. Dénomination

D'après Brullo et de Marco (2000) cette plante est connue également sous les noms suivants :

- *Inula viscosa* L.
- *Cupularia viscosa* G.
- *Dittrichia viscosa* L Greuter.
- *Erigeron viscosa* L.

- *Solidago viscosa* L.
- *Paniopsis viscosum* Raf.
- *Pulicaria viscosa* L.

Tableau 2. Les différents noms vernaculaires de *D. viscosa*.

Région	Nom vernaculaire
Français	Inule visqueuse (Baba Aissa , 1991)
Anglais	Sticky fleabane (Wang et al. , 2004)
Berbère	Ele campagne, Rock flea-bane (Quezel et Santa, 1963). Amagramane (Baba Aissa , 2000)
Arabe	Rassendbek, Tioune, Tebak, Mersitt. Magramane (Baba Aissa , 1991)
Algérie	Hfina, Safsaf, Magrane (Zeguerrou et al. , 2013)
Maroc	Teraha, Magraman (Zeggwagh et al. , 2006)
Kabylie	Telrine, Nriette, Annielle, Serchil (Baba Aissa , 1999)

2.4. Répartition géographique

D. viscosa est une plante largement répandue dans le bassin méditerranéen, ainsi qu'en Asie, avec une présence notable en Espagne, en France, en Algérie et au Maroc, et également en Chine, au Japon et en Corée. En Algérie, elle est retrouvée avec une concentration significative dans le nord (**Parolin et al.**, 2014). Ses habitats typiques incluent les rivières asséchées, les champs abandonnés, les bords de routes et les zones urbaines, avec une préférence pour les sols argileux et sableux, ainsi que pour les zones humides et ensoleillées (**Bakkara et al.**, 2008).

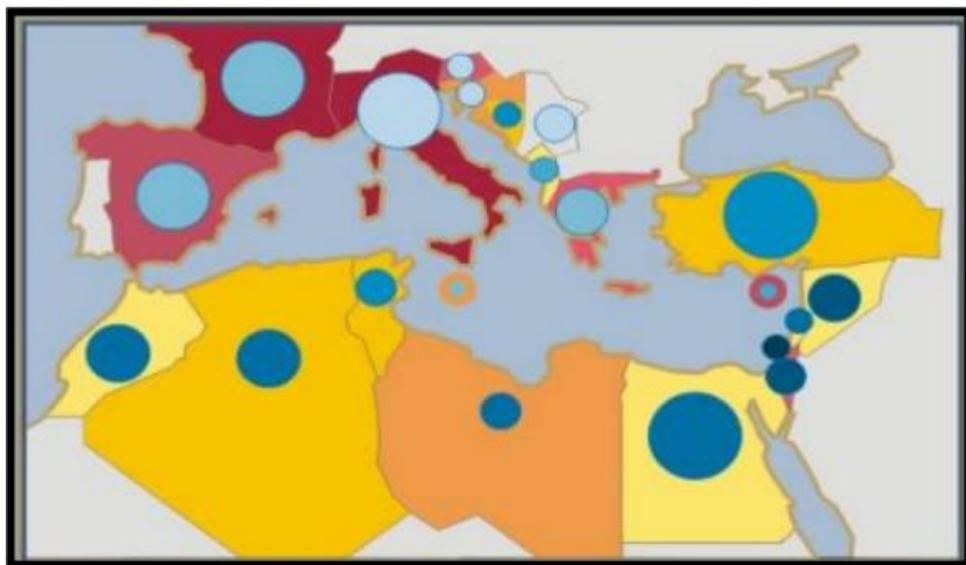


Figure 6 : Carte géographique d'*D. viscosa* (L.) (**Benyahia** ,2014).

Les points bleus représentent la présence de *D. viscosa* dans la région méditerranéenne.

2.5. Les caractéristiques de *D. viscosa*

2.5.1. La tige

Dressée en éventail, très ramifiée. Avec le temps, elle devient ligneuse et d'une couleur plus foncée à la base. Elle est recouverte d'un poil glanduleux, libérant une résine collante, à forte odeur (odeur de camphre), présente sur toute la plante.



Figure 7 : La tige de *D. viscosa*. (Nature jardin, 2024).

2.5.2. Les feuilles :

De taille moyenne (larges de 5 mm), denses, alternes, lancéolées, glanduleuses. Les feuilles de l'inule visqueuse n'ont pas de pétioles. Elles sont rattachées directement à la tige. Leurs marges peuvent être dentées ou lisses (Bssaibis *et al.*, 2009).



Figure 8 : Les feuilles de *D. viscosa* (Nature jardin, 2024).

2.5.3. Le fruit

Généralement portant des fruits secs longs de 2 mm et sont regroupés sur le capitule. Ces fruits contiennent une graine unique surmontée d'un pappus (une petite touffe de poils) (Baba Aïssa, 1991).



Figure 9: Le Fruits de *D. viscosa* (Nature jardin, 2024).

2.5.4. Les fleurs

Regroupées en inflorescences, elles forment des grappes de capitules d'un diamètre de 10-20 mm. Elles sont de deux types : jaune orange en tubes et jaunes à pétales. Les premières (les tubulées) sont situées au centre du capitule et les secondes (les ligulées) à l'extérieur (Garbari F, 2007).



Figure 10 : La floraison de l'*D. viscosa* (Gerbeaud, 2021).

2.5.5. Les racines

Peuvent atteindre 30 cm de long et présente la particularité d'être pivotantes. Parmi leurs caractéristiques elles sont fortes, visqueuses, glanduleuses, odoriférantes (**Bartëlsa**, 1997).

2.6. Domaines d'utilisation

Les composés naturels d'extraits de *D. viscosa* présentent une diversité d'applications bénéfiques dans plusieurs domaines.

2.6.1. Agroalimentaire

Dans l'industrie alimentaire, jouent un rôle essentiel en tant qu'agents de renforcement du goût, de parfum et de coloration des aliments (**la Confédération Suisse**, 2009).

2.6.2. Cosmétique

Depuis des siècles, *D. viscosa* a été largement utilisée comme ingrédients de base dans la fabrication des parfums et des savons, une pratique répandue à travers différentes civilisations (**Elhaib**, 2011).

2.6.3. Pharmaceutique

Les huiles essentielles utilisées à des fins médicinales sont souvent disponibles en petits flacons ou en vaporisateurs. Leur utilisation est polyvalente : elles peuvent être inhalées pour soulager les difficultés respiratoires, ajoutées à l'eau comme dentifrice, ou utilisées pour rafraîchir et apaiser la gorge (**Turgeon**, 2001).

2.7. Intérêts de *D. Viscosa*

Les parties aériennes de *D. viscosa*, telles que les feuilles et les tiges, sont largement exploitées. Elles peuvent être séchées et transformées en poudre, ou utilisées fraîches (**Boukemaya** et **Messaoudi**, 2016).

2.7.1. Intérêt apicole

D. viscosa est un ingrédient clé des miels d'automne méditerranéens, contribuant à en faire un miel uniflore rare. Elle est souvent associée à d'autres plantes telles que l'arbousier et le lierre, notamment en Afrique du Nord, où elle joue un rôle essentiel en tant que plante mellifère (**Baydar**,

1998).



Figure 11 : Miel d'inule (Boumaza, 2011).

2.7.2. Intérêt insecticide :

D. viscosa est reconnue comme un "insecticide végétal" efficace contre la mouche de l'olivier. Des observations en Grèce ont montré qu'après l'arrachage de l'inule dans une oliveraie, une attaque de la mouche de l'olivier a suivi, confirmant une relation entre l'inule et l'olivier connue depuis longtemps. En hébergeant divers parasites, elle contribue également au contrôle des populations de mouches nuisibles (Bssaibis *et al.*, 2009).

2.7.3. Intérêt herbicide

D. viscosa est largement utilisée comme herbicide naturel grâce à ses propriétés allopathiques, réduisant la germination et l'émergence de plusieurs mauvaises herbes, telles que *Raphanus sativus*, *Peganum harmala* et *Silybum marianum*. (Omezzine *et al.*, 2011).

2.8. Les effets thérapeutiques de *D. viscosa* dans la pharmacopée

Les propriétés thérapeutiques de *D. viscosa* sont diverses et bien établies dans la médecine traditionnelle depuis longtemps. De nombreuses études ont mis en lumière sa large gamme d'activités biologiques, comprenant des effets anti-inflammatoires (Zeggwagh *et al.*, 2006 ; Hernandez *et al.*, 2007), antiviraux (Sassi *et al.*, 2008), antitumoraux, antiseptiques, antibactériens, cicatrisants et antifongiques (Bssaibis *et al.*, 2009). De plus, *D. viscosa* est utilisée pour prolonger la conservation des aliments, ce qui présente un intérêt particulier pour l'industrie agroalimentaire (Side Larbi *et al.*, 2016).

2.9. Les différentes maladies traitées par *D. viscosa* dans la médecine traditionnelle :

Tableau 3: maladies traitées par *D. viscosa* (krispil, 1982).

Utilisation	Description
Plaies	L'application de feuilles fraîches, ou une poudre de feuilles sèches, sur des plaies ouvertes ou des brûlures, permet d'arrêter l'hémorragie et sert d'antiseptique.
Peaux sèches et rugueuses	La poudre des feuilles sèches de <i>D. viscosa</i> est mélangée avec de l'huile et appliquée sur les parties touchées du corps.
Hémorroïdes	Une pâte préparée à partir de feuilles broyées, mélangée avec de l'huile d'olive, est appliquée comme une pommade.
Hypertension artérielle et diabète	Les feuilles de <i>D. viscosa</i> sont cuites dans de l'eau et le tonique obtenu est consommé.

2.10. Utilisation traditionnelle et médicinale de *D. viscosa*

D.viscosa est souvent appelée « la reine des plantes médicinales » en raison de son utilisation étendue dans la thérapie traditionnelle. Selon Ait Youssef (2006), elle possède des propriétés anti-inflammatoires, antigale, antiseptiques ect ... en Algérie, elle est utilisée pour arrêter les hémorragies, activer la cicatrisation, prévenir les inflammations et comme analgésique externe pour soulager les céphalées et les douleurs abdominales, ainsi que pour ses propriétés antirhumatismales (Kaddem, 1990).

Tableau 4: Les utilisations traditionnelles de *D. viscosa* selon différentes régions.

Région	Utilisation	Référence
Espagne	Traitement des troubles gastroduodénaux	Lastra <i>et al.</i> , 1993
Jordanie	Avortement et stérilité des femelles	Al-Khalil <i>et al.</i> , 1992
Bassin méditerranéen	Anti-inflammatoire, traitement du diabète	Lauro <i>et al.</i> , 1990 ; Yaniv <i>et al.</i> , 1987
Algérie	Hypoglycémiant, infections urinaires, analgésique, antiseptique, diurétique, hémostatique, vermifuge, céphalées, douleurs rhumatismales, cicatrisation, antihémorragique.	Baba Aissa, 2000
Espagne	Traitement des troubles gastroduodénaux	Lastra <i>et al.</i> , 1993

3. Activités biologiques des extraits

Les produits naturels, en particulier ceux d'origine végétale, ont toujours été une source importante d'agents thérapeutiques. Le stress oxydatif, un facteur majeur, peut provoquer diverses

maladies chroniques humaines telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives, l'inflammation et le diabète. Actuellement, la plupart des médicaments disponibles dépendent des plantes médicinales, lesquelles constituent une source essentielle de l'arsenal thérapeutique humain. Les polyphénols, en particulier, sont des molécules d'intérêt en raison de leurs nombreuses propriétés bénéfiques pour la santé, et pourraient prévenir divers troubles et maladies (Scalbert *et al.*, 2005)

3.1. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est la réponse des tissus vivants et vascularisés à une agression, visant à éliminer le pathogène et à réparer les dommages tissulaires. Toutefois, ce processus peut avoir des effets négatifs en raison de divers facteurs tels que l'agressivité et la persistance du pathogène, ou la dérégulation du processus inflammatoire. Les plantes anti-inflammatoires regroupent des espèces variées, dont les principes actifs responsables de l'activité anti-inflammatoire sont de nature chimique diverse. Des études ont montré que les extraits de plantes médicinales, riches en composés phénoliques, présentent un intérêt réel pour le traitement de l'inflammation aiguë et chronique (Willoughby *et al.*, 2000 ; Pan *et al.*, 2010).

3.2. Activité antibactérienne

Les acides phénoliques, en particulier les acides cinnamiques et caféiques, sont efficaces contre de nombreuses souches bactériennes (Daglia *et al.*, 2012). Les flavonoïdes, avec leurs différentes classes, possèdent également un grand potentiel antibactérien (Rezaire *et al.*, 2012). Ils peuvent inhiber la croissance de diverses bactéries, notamment *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, et *Proteus mirabilis* (Akroum *et al.*, 2011). Les tanins jouent un rôle crucial en conférant un avantage adaptatif aux plantes contre les agents pathogènes, exerçant leur activité antibactérienne en interagissant avec la membrane cellulaire, induisant des changements morphologiques des bactéries et inhibant des protéines essentielles (Chaouche, 2014).

3.3. Activité antifongique

Les champignons sont des organismes végétaux sans chlorophylle, qui doivent obtenir leur carbone à partir de composés organiques. Cela influence souvent leur mode de vie, qu'il soit saprophytique ou parasitaire (Bossokpi, 2003). Les antifongiques sont des substances capables de détruire, de manière sélective ou non, divers types de champignons étudiés en mycologie (Gnanou, 2001). Le mécanisme d'action des polyphénols contre ces agents pathogènes n'est pas entièrement compris, mais il est supposé qu'ils perturbent la membrane plasmique des micro-organismes, entraînant une perméabilité accrue et la perte d'organites intracellulaires (Dixon *et al.*, 2005).

3.4. Activité antioxydante

L'oxygène est indispensable aux processus vitaux, notamment à la respiration cellulaire. Cependant, son métabolisme peut générer des radicaux libres (ROS) hautement réactifs, causant le stress oxydatif. Ce stress résulte d'un déséquilibre entre la production et l'accumulation des ROS dans les cellules et les tissus, et leur élimination par les systèmes de défense antioxydants. Ce phénomène peut causer des dommages fonctionnels au corps humain, tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires, neurologiques, Alzheimer, Parkinson, les troubles cognitifs légers, la colite ulcéreuse et l'hépatie alcoolique (**Pizzino et al.**, 2017). Les antioxydants peuvent inhiber ou retarder l'oxydation des lipides et d'autres biomolécules :

- Les antioxydants naturels, tels que les vitamines C et E, la provitamine A, les oligoéléments et le glutathion, ainsi que les enzymes spécifiques (catalases, superoxyde Dismutases, glutathion peroxydases), jouent un rôle crucial dans la protection contre le stress oxydatif (**Wollinger**, 2016 ; **He et al.**, 2017 ; **Bensakhria**, 2018).
- Les antioxydants synthétiques sont des composés chimiques fabriqués en laboratoire. Ils aident à prévenir ou ralentir l'oxydation des autres substances. Les antioxydants synthétiques sont largement utilisés dans diverses industries, notamment l'alimentation, les cosmétiques, et les produits pharmaceutiques, étant souvent nocifs et cancérigènes, il est essentiel de rechercher des alternatives naturelles (**Luis et al.**, 2016 ; **Hellali**, 2016).

Au cours des dernières décennies, les tests d'activité antioxydante ont été largement développés pour évaluer l'efficacité des nouveaux composés. Diverses méthodologies permettent d'évaluer les différents aspects physico-chimiques du potentiel antioxydant dans diverses conditions (**Thomas**, 2016).

De nombreuses techniques existent pour évaluer l'activité antioxydante des substances ou des extraits naturels. En raison de la diversité et de la complexité des mécanismes d'oxydation, ces méthodes sont difficiles à standardiser, et aucun test unique ne peut être considéré comme idéal. Pour obtenir une évaluation précise du potentiel antioxydant d'un échantillon, il est possible de combiner plusieurs méthodes. Ces méthodes reposent sur l'utilisation de radicaux libres (TEAC, DPPH, TRAP) ou d'ions métalliques (Folin-Ciocalteu, FRAP) (**MERCK**, 2017).

3.4.1. Composés phénoliques

Les polyphénols sont une classe de métabolites secondaires très présents dans le règne végétal et donc dans notre alimentation, notamment dans les fruits et légumes. Leur structure contient un ou plusieurs groupes phénoliques. Leur étude a augmenté ces dernières décennies en raison de leurs bienfaits pour la santé, notamment grâce à leur pouvoir antioxydant et à leur rôle dans la prévention ou le traitement de nombreuses pathologies telles que les cancers, les maladies cardiovasculaires ou

dégénératives. Ils sont également utilisés en agroalimentaire, en cosmétique et dans l'industrie pharmaceutique comme additifs (**McCall** et **Frei**, 1999).

Matériel et méthodes

Le présent travail porte sur l'étude de quelques activités biologiques de l'extrait total aqueux et l'extrait hydroéthanolique de la plante *D. viscosa*. L'étude s'est étalée sur une période allant du Février jusqu'à Mai 2024, et l'ensemble des manipulations ont été effectuées dans les différentes structures.

1. Matériel biologique

1.1. Matériel végétal



Figure 12 : Photo de la plante *D. viscosa* dans la région de récolte (originale 2023).

Les échantillons de *D. viscosa* ont été collectés dans l'Est de l'Algérie dans la wilaya de Mila, Oued Athmenia ([figure 12](#)), le 9 novembre 2023. La collecte a été effectuée en prélevant la partie aérienne de la plante, comprenant les tiges, feuilles, et les fleurs. Après la récolte, les échantillons ont été soigneusement placés dans un sac alimentaire de grande taille ([figure 13](#)) et transportés dans une chambre dédiée au séchage de la plante où les échantillons ont été disposés sur une couche de tissu sec et épais, sans humidité, et laissés à sécher complètement à température ambiante ([figure 14](#)).



Figure 13 : Photo après récolte de *D. viscosa* (Originale, 2023).



Figure 14 : Photo au moment de séchage (originale 2023).

La provenance ainsi que les données géographiques et bioclimatiques de la station de Récolte sont mentionnées dans le tableau 5 (**Météo et climat : Oued athmenia (Algérie)**, 2024).

Tableau 5 : Caractéristiques de la région de récolte de *D. viscosa*. (**Météo et climat : Oued athmenia (Algérie)**, 2024).

Zone	Oued Athmania
Localisation	Wilaya de Mila Algérie
Date et temps de récolte	9 novembre 2023 à 14 :00
Longitude	6.28624 36°
Latitude	36.2498
Étage bioclimatique	Climat méditerranéen avec été chaud
Altitude	Minimale 663 m, Maximale 1 268 m, Moyenne 966 m

2. Méthode d'extraction

2.1. Préparation de la plante

Après avoir terminé le processus de séchage complet de la plante, on a procédé à la collecte sélective des feuilles uniquement. On a soigneusement placé ces feuilles dans des sacs en papier pour préserver leur qualité. Lorsqu'on a entamé la phase expérimentale de notre recherche, on a utilisé un broyeur électrique pour réduire les feuilles en une fine poudre. Cette méthode de broyage nous a permis d'obtenir une poudre homogène qui serait utilisée ultérieurement dans notre étude scientifique.



Figure 15: Préparation de la plante (originale).

2.2. Préparation de l'extrait totale aqueux et de l'extrait éthanolique

La préparation des extraits a été réalisée dans le laboratoire de Biologie moléculaire et cellulaire.

2.2.1. Extraction par macération à l'aide de l'éthanol aqueux (extraction solide/liquide)

Cette méthode d'extraction a été réalisée en suivant le protocole décrit par **Hamia et al.** (2014), avec quelques modifications. Pour cela, nous avons ajouté 20g de matière végétale à 200 ml d'éthanol aqueux (70 :30) dans un Erlenmeyer (figure 16). Après agitation pendant 1 heure, le mélange a été laissé en macération pendant 24 heures. Ensuite, nous avons procédé à la filtration du mélange à l'aide d'un papier filtre Whatman n°1, récupérant ainsi le filtrat dans un flacon. Cette procédure a été répétée 3 fois, et les différentes fractions filtrées ont été regroupées dans un seul récipient. Le contenu du récipient a été réparti dans des boîtes de Pétrie en verre, puis incubé à 40°C pendant 5 jours afin de permettre l'évaporation des solvants. Seul l'extrait sec a été conservé à l'issue de cette étape.

2.2.2. Extraction par macération dans l'eau distillée (Extraction solide/liquide)

Le protocole de macération utilisé est identique à celui de l'éthanol aqueux, à une seule différence près : l'éthanol aqueux a été remplacé par de l'eau distillé.



Figure 16: Préparation pour la macération (Originale).

2.2.3. Récupération des extraits

Une fois que le solvant s'est évaporé et que seul l'extrait est resté dans les boîtes de Pétrie, une spatule a été utilisée pour extraire le composé de chaque boîte. Cette opération est répétée pour toutes les boîtes. Ensuite, la quantité d'extrait prélevée a été pesée afin de déterminer le rendement final. Ensuite nous avons stocké ce dernier dans des flacons opaques de petite taille.



Figure 17 : Récupération de l'extrait éthanolique (originale).

3. Evaluation des activités biologiques

3.1. Activité anti-inflammatoire *in vitro*

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire a été réalisée au niveau du laboratoire de biochimie du Centre de recherche en biotechnologie de Constantine (CRBT).

Les extraits de notre plante ont été réalisés en utilisant la méthode de dénaturation du sérum d'albumine Bovine (BSA) (**Sunmathi et al.**, 2016).

Des solutions mères d'extraits aqueux et éthanolique ont été préparées à une concentration de 1000 µg/ml, puis des dilutions successives ont permis d'obtenir des solutions aux concentrations de 1000, 500, 250 µg/ml pour les deux extraits. Une solution tampon Tris-HCl (pH 6,6 ; M=0.05). Parallèlement, une solution d'albumine sérique bovine (BSA) à 0.05% a été préparée dans ce tampon Tris-HCl, ainsi qu'une solution de diclofénac de sodium à 250 µg/ml qui a servent de référence.

Un blanc a été préparé avec 0,6 ml de BSA et 0,4 ml de tampon, en triplicat. Les solutions de contrôle pour chaque extrait ont été préparées en mélangeant 0,4 ml d'extrait et 0,6 ml de BSA, aux concentrations précédemment citées et en triplicat. De même, les solutions standard de diclofénac de sodium ont été préparées à (1, 0.5, 0.25, 0.125 et 0.0625) mg/ml.

Tous les échantillons ont été incubés à 37°C pendant 20 minutes, puis à 72°C pendant 5 minutes dans le bain marie. Par la suite L'absorbance de chaque échantillon a été mesurée à 660 nm au spectrophotomètre (**Annexe1**).



Figure 18: Les échantillons après l'incubation à 72°C (originale).

3.2 Activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été effectuée au sein du (CRBT). Cette activité a été réalisée en suivant le protocole décrit par **Modzelewska et al.**, (2005), avec quelques modifications. Le principe de ce test repose sur la diffusion de différents agents antibactériens à des concentrations variables sur un milieu solide, en l'occurrence la gélose Mueller Hinton (MH). Après un temps de contact déterminé entre les composés antibactériens et les souches bactériennes, l'effet se manifeste sous la forme d'une zone d'inhibition.

3.2.1. Souches bactériennes testées

Deux souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus Aureus*) de référence ATCC ont été utilisées pour évaluer l'activité antibactériennes des deux extraits.

Tableau 6 : Références des souches bactériennes testées.

Bactéries à Gram positif	Bactéries à Gram négatif
<i>Staphylococcus Aureus</i> ATCC 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922

3.2.2. Préparation des dilutions

Pour chaque extrait, une quantité de 0,2 g a été dissoute dans 2 ml d'eau distillée stérilisée, donnant ainsi une solution mère de concentration de 0,1 g/ml à partir de cette solution mère, une série de dilutions décimales a été réalisée, couvrant des concentrations allant de 10^{-1} à 10^{-6} .

3.2.3. Ensemencement de la gélose MH

Les souches bactériennes de référence ont été préalablement cultivées et un bouillon a été préparé, ajusté pour atteindre une turbidité équivalente à 0,5 sur l'échelle de McFarland. Par la suite, 15 ml de MH ont été aseptiquement versés dans des boîtes de Pétrie. Ces boîtes de Pétrie contenant le milieu de culture ont été laissées à refroidir et à solidifier.

3.2.4. Ensemencement et dépôt des disques

Les tests ont été réalisés sur les deux extraits. Pour chaque extrait, deux suspensions bactériennes (*S. aureus*, *E. coli*) ont été étalées en stries sur la surface de la gélose MH à l'aide d'écouvillons stériles. Par la suite, les disques préparés, soigneusement séchés, ainsi que des écouvillons stériles, ont été délicatement déposés sur la surface de la gélose MH dans les boîtes de Pétrie. Pour chaque disque, 15 microlitres de la dilution correspondante de l'extrait ont été déposés. Il convient de noter que chaque disque était associé à une seule dilution de l'extrait. Des boîtes de Pétrie contenant des disques témoins positifs (Amoxicilline + Acide clavulanique) ainsi qu'un témoin

négatif imprégné d'eau distillée stérile ont également été préparées. Les boîtes de Pétrie ont été incubées pendant 24 heures à 37°C, Cette expérience a été répétée trois fois pour chaque extrait et pour chaque espèce bactérienne.

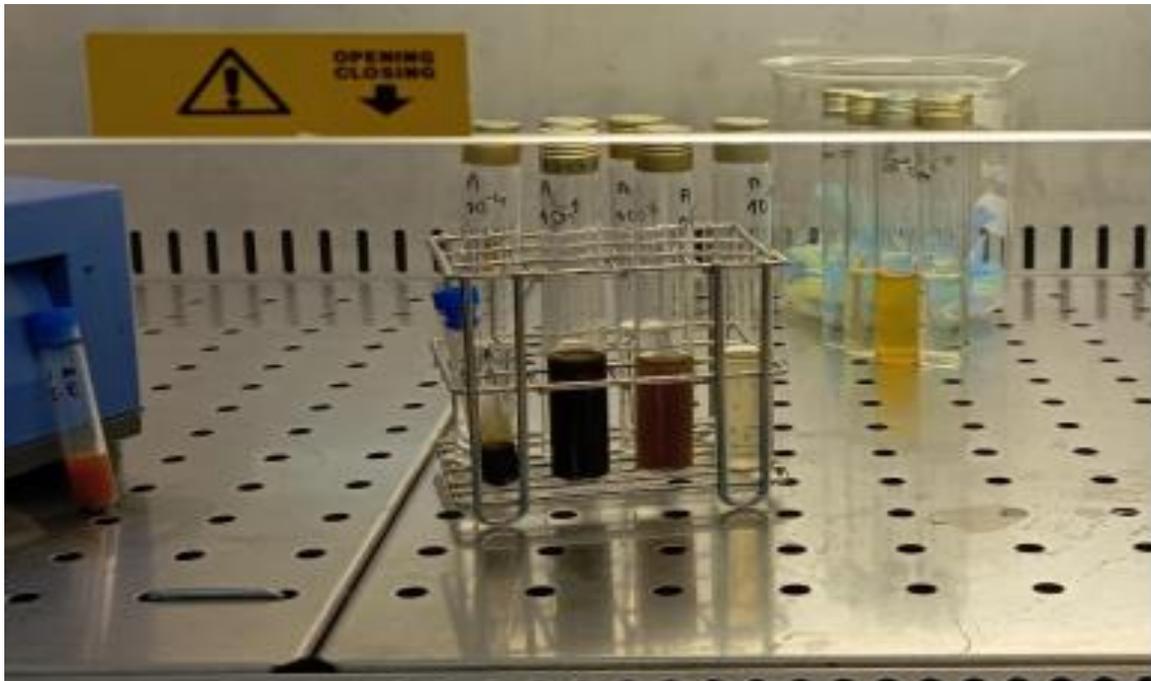


Figure 19: Photo des déluions pour les deux extraits (originale).

3.3. Activité antifongique

3.3.1. Souches fongiques

Cette activité a été réalisée en utilisant une espèce de champignon phytopathogène nommée *Fusarium oxysporum f. sp. Radicis-lycopersici*, fournie par le laboratoire de mycologie du CRBT là où a été réalisée l'étude, L'inhibition de la croissance mycélienne de ce champignon par nos extraits végétaux a été testée, L'activité inhibitrice des différents composés sur la croissance du mycélium des agents phytopathogène a été déterminée en mesurant la croissance radiale du champignon sur un milieu Potato Dextrose Agar (PDA) contenant le complexe à tester.

3.3.2. La technique :

Un disque de 5 mm de diamètre a été prélevé sur une jeune culture fongique et déposé aseptiquement au centre de la boîte de pétri contenant 20 ml de milieu PDA solidifié.

Des solutions mères des extraits ont été préparées séparément en dissolvant 100 mg de chaque extrait dans 1 ml de méthanol, soit une concentration de 100 mg/ml. Par la suite, 35 microlitres de

chaque extrait ont été prélevés et déposés sur les disques de champignons. Cette étape a été répétée trois fois afin d'effectuer des mesures répétées et de garantir la fiabilité des résultats.



Figure 20: Photo du dépôt de l'extrait sur le disque (originale).

Après 2 jours d'incubation à 25 °C, la croissance mycélienne du champignon phytopathogène a été évaluée à l'échelle millimétrique. En l'absence de croissance observable à l'œil nu après 2 jours, la durée d'incubation peut être prolongée jusqu'à 6 jours.

Les résultats ont été exprimés en pourcentage de croissance inhibée de chaque champignon, par chaque extrait, par rapport au diamètre moyen des colonies de chaque champignon cultivé dans le milieu témoin.

L'activité d'inhibition a été exprimée en pourcentage et calculée selon la formule suivante (Dennis et al., 1971).

$$I = [(C-T) / C] \times 100$$

I : Taux d'inhibition en %

C : Croissance radiale de l'agent phytopathogène en mm sur milieu PDA avec méthanol (contrôle positif).

T : Croissance radiale en mm de l'agent phytopathogène sur milieu PDA contenant l'extrait à tester.

3.4. Estimation des polyphénols totaux et des flavonoïdes

Cette étape du travail a été réalisée au niveau du laboratoire d'analyse de la qualité du CRBT.

3.4.1. Estimation du contenu total en polyphénols (TPC)

La quantité totale de polyphénols présente dans les extraits de plante est mesurée par la méthode du réactif de Folin-Ciocalteu (FCR), telle que décrite par **Muller et al.**, (2010). Un volume de 20 μl de l'extrait végétal (1 mg d'extrait dissous dans 1 ml de méthanol) est mélangé à 100 μl de FCR dilué (1 :10). Puis, 75 μl de solution de carbonate de sodium (7,5%) sont ajoutés. Le mélange réactionnel est laissé à l'obscurité pendant 2 heures à température ambiante. L'intensité de la coloration bleue résultante est mesurée par absorbance (ABS) à 765 nm.

Un échantillon témoin est préparé de la même manière, mais en remplaçant l'extrait végétal par le solvant d'extraction (méthanol), l'acide gallique est utilisé comme composé de référence, et une courbe d'étalonnage est établie à partir de ce composé (**Annexe 3**).

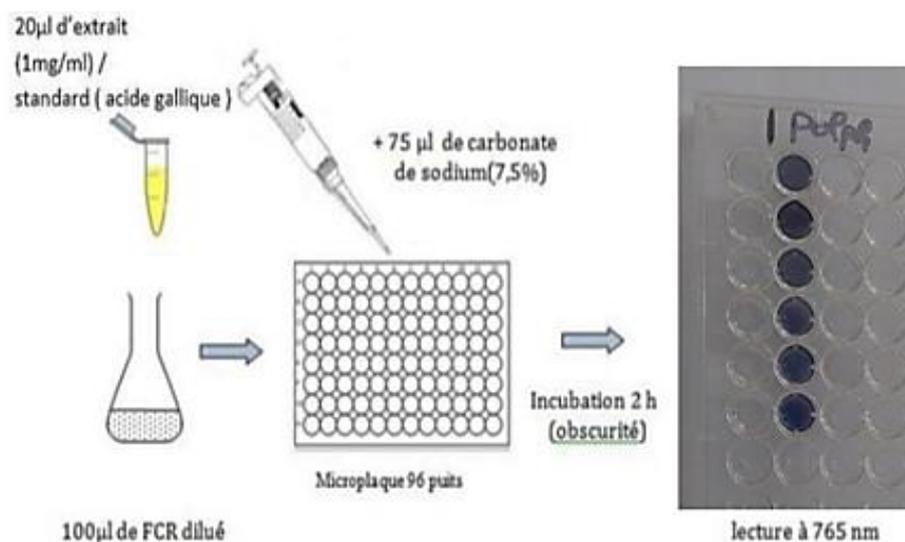


Figure 21: Dosage des polyphénols totaux de l'extrait hydroéthanolique.

3.4.2. Estimation du contenu total en flavonoïdes (TFC)

La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminée en se basant sur la formation d'un complexe entre les flavonoïdes et l'ion aluminium (Al^{3+}), selon la méthode décrite par **Topçu et al.**, (2007) et adaptée pour une analyse en microplaque. Un volume de 50 μL d'extrait a été mélangé avec 130 μL de méthanol, 10 μL d'acétate de potassium (1M) et 10 μL de nitrate d'aluminium (10%). Après 40 minutes d'incubation à température ambiante à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 415 nm. La quercétine a été utilisée comme composé de référence pour établir une courbe d'étalonnage (**Annexe 4**).

3.5. Activité antioxydant

L'évaluation de cette activité a été réalisée dans le laboratoire d'analyse de la qualité du CRBT.

3.5.1. Piégeage du radical DPPH

L'activité antiradicalaire des extraits a été évaluée par la méthode au radical DPPH, telle que décrite par **Blois** (1958). Un volume de 160 µL de solution de DPPH a été mélangé avec 40 µL de différentes concentrations de l'extrait, dans une microplaque 96 puits. Un échantillon témoin a été préparé de la même manière, en remplaçant l'extrait par le solvant d'extraction (méthanol).

Après 30 minutes d'incubation à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance du mélange a été mesurée à 517 nm.

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été calculé selon la formule suivante.

$$\% \text{ d'inhibition} = [(ABS \text{ témoin} - ABS \text{ échantillon}) / Abs \text{ témoin}] \times 100$$

3.5.2. Estimation de l'activité ABTS

L'activité antiradicalaire a été évaluée selon la méthode décrite par **Re et al.**, (1999). Dans une microplaque, 160 µl de solution d'ABTS ont été mélangés avec 40 µl d'extrait à différentes concentrations. Les absorbances ont été mesurées à 734 nm après 10 minutes d'incubation à température ambiante et à l'obscurité. Le contrôle a été préparé de la même manière, mais l'extrait a été remplacé par le solvant d'extraction (méthanol). (**Annexe 5**).

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition, calculé à l'aide de la formule suivante.

$$\% \text{ d'inhibition} = [(ABS \text{ du contrôle} - ABS \text{ de l'échantillon}) / ABS \text{ du contrôle}] \times 100$$

3.5.3. Estimation de l'activité phénanthroline

L'activité phénanthroline est déterminée par la méthode de **Szydłowska-Czerniak et al.**, (2008).

Un mélange réactionnel contenant 10 µl de l'extrait à différentes concentrations, 50 µl de chlorure de fer (FeCl₂) (0,2%), 30 µl de phénanthroline (0,5%) et 110 µl de méthanol a été déposé

dans la microplaque. Les absorbances ont été Mesurées à 734 nm après une incubation de 20 minutes à l'étuve à 30°C.

Les résultats ont été calculés à titre d'ABS 0.50 ($\mu\text{g/ml}$), correspondant à la concentration indiquant 0.50 d'absorbance (**Annexe 6**).

3.5.4. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

Le pouvoir réducteur des extraits a été déterminé selon la méthode d'**Oyaizu** (1986).

Le mélange réactionnel contient les solutions suivantes : 10 μl de l'extrait, 40 μl d'une Solution tampon phosphate (pH 6,6) et 50 μl d'une solution de ferricyanide de potassium (1%). L'ensemble a été incubé à l'étuve à 50°C pendant 20 min. par la suite, 50 μl d'acide tri-Chloroacétique (10%), 40 μl H₂O, 10 μl ferric chloride FeCl₃ (0.1%) ont été ajoutés.

L'absorbance a été mesurée à 700 nm par comparaison d'un blanc préparé en remplaçant l'extrait par le méthanol. L'acide ascorbique et l' α tocophérol ont été utilisés comme standards. Les Résultats ont été calculés à titre de A_{0,50} ($\mu\text{g/ml}$).

Résultats

1. Détermination des rendements

Les taux de rendement des extraits hydroéthanolique et aqueux de *D. viscosa* ont été évalués. Après une évaporation complète et soigneuse des solvants. L'extrait a été récupéré à partir des boîtes de pétri. En effectuant le calcul en pourcentage par rapport au poids sec de la poudre végétale (20 g) (voir Tableau 7), il a été observé que l'extrait hydroéthanolique affiche un rendement de 30,32 %, tandis que l'extrait aqueux présente un rendement de 25,8 %.

Tableau 7 : Le rendement d'extraits hydroéthanolique et aqueux de la plante.

Extraits	Poids des extraits (g)	Rendement (%)
Hydroéthanolique	6.064	30.32
Aqueux	5.160	25.8

2. L'activité anti-inflammatoire in vitro par la méthode de dénaturation du sérum d'albumine bovine (BSA)

Le taux maximum d'inhibition de dénaturation du BSA par l'extrait hydroéthanolique, à la concentration de 1000 µg/mL était de 37.55%, et de l'extrait aqueux était de 80.07% alors que le standard du diclofénac à la même concentration a montré une inhibition de 99,36% (Tableau 8). La Corrélation entre la concentration et le pourcentage d'inhibition a montré que la capacité inhibition de la dénaturation de la BSA dépend de la concentration de l'extrait (Figure 22), ceci est confirmé en comparant la IC₅₀ de l'extrait aqueux (IC₅₀=370 µg/ml) avec celle du diclofénac (IC₅₀=230 µg/mL). En revanche, concernant l'extrait hydroéthanolique l'IC₅₀ n'a pas pu être calculé car son taux d'inhibition n'a pas pu dépasser les 50%.

Le paramètre de la IC₅₀ a été utilisé pour classer l'extrait aqueux avec le diclofénac, selon l'ordre suivant : Diclofénac > extrait aqueux.

Tableau 8 : Taux d'inhibitions des extraits et du standard.

Concentration de l'extrait (ug/ml)	% d'inhibition de l'extrait Hydro-éthanolique	% d'inhibition de l'extrait aqueux	% d'inhibition de Diclofénac sodium
125	10.34	22.13	27.95
250	22.35	35.70	52.45
500	27.78	65.11	97.73
1000	37.55	80.07	99.36

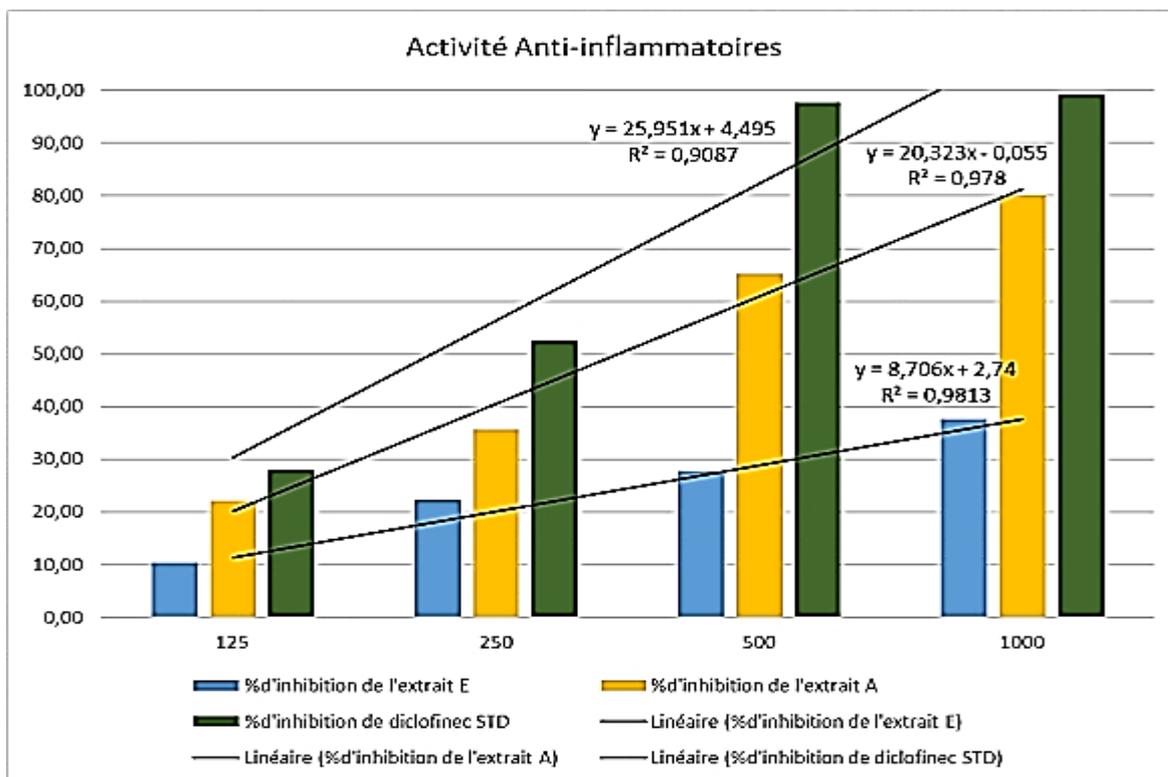


Figure 22: Evaluation comparative de l'activité anti-inflammatoire in vitro d'extraits de *D. viscosa* et du standard.

3. Activité antibactérienne :

Les deux extraits, testés à différentes concentrations, ont été évalués pour leur activité antibactérienne. Après d'incubation, il a été constaté que les extraits n'ont pas inhibé significativement la croissance bactérienne par comparaison aux témoins. Ces résultats indiquent l'absence d'effet inhibiteur notable des extraits testés contre les souches bactériennes étudiées.



Figure 23 : Test de diffusion d'E.coli en milieu MH de l'extrait aqueux (originale).

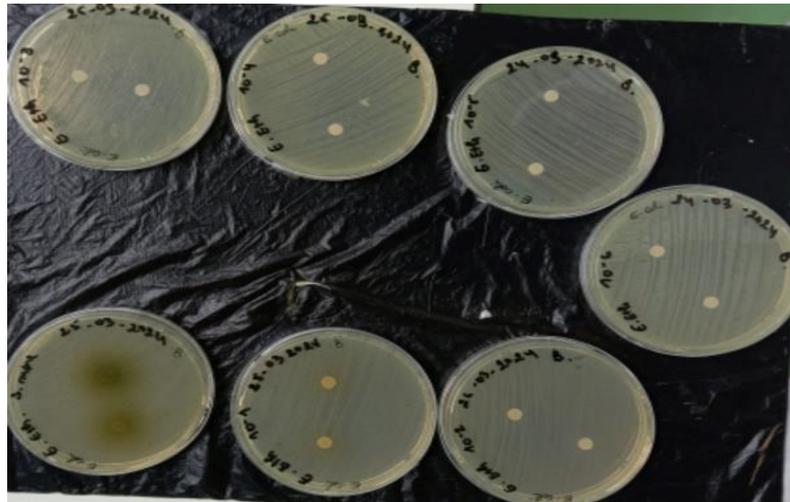


Figure 24 .Test de diffusion d'E.coli en milieu MH de l'extrait éthanolique (originale).

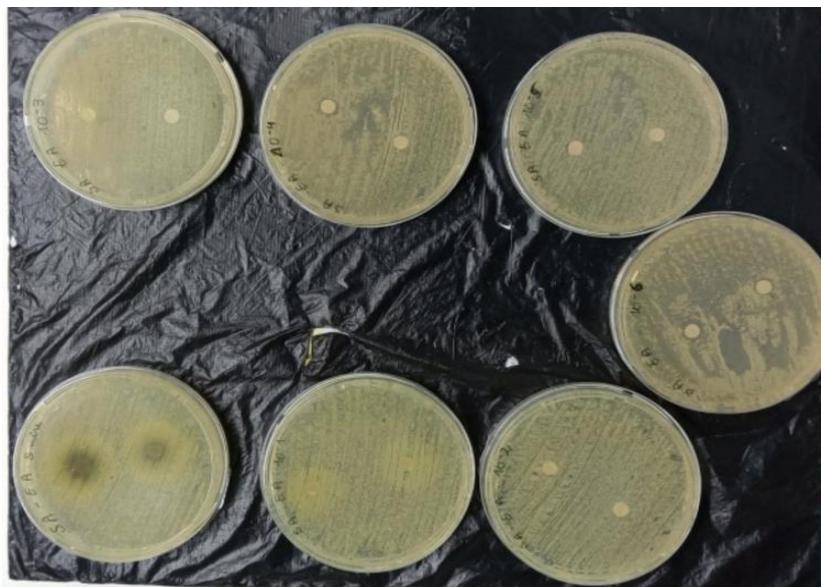


Figure 25 : Test de diffusion de *S. Aureus* en milieu MH de l'extrait aqueux (originale).

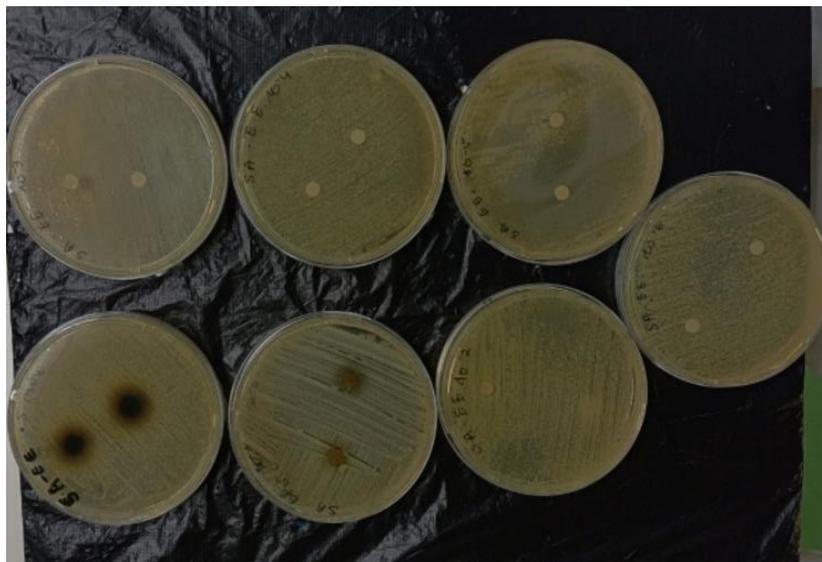


Figure 26: Test de diffusion de *S. Aureus* en milieu MH de l'extrait éthanolique (originale).

4. Activité antifongique

Après une incubation de 2 jours, aucune croissance mycélienne du champignon n'a été observée. Par conséquent, la durée d'incubation a été prolongée jusqu'à 6 jours. Après ce délai l'activité antifongique a été évaluée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de croissance en millimètres. Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition, calculé selon la formule adéquate.

Nos résultats ont révélé un taux d'inhibition considéré comme efficace pour les deux extraits mais légèrement plus significatif pour l'extrait aqueux comparait à l'extrait hydroéthanolique (tableau9).

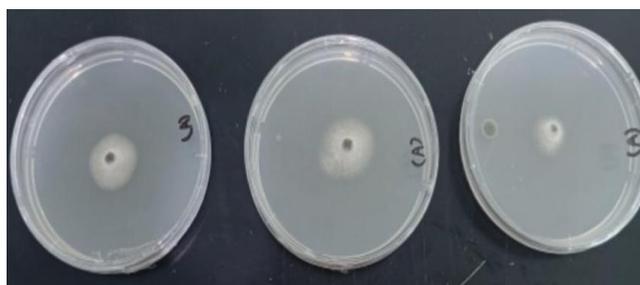


Figure 27 : Résultats d'inhibitions de l'extrait aqueux (originale).



Figure 28: Résultats d'inhibitions de l'extrait éthanolique (originale).

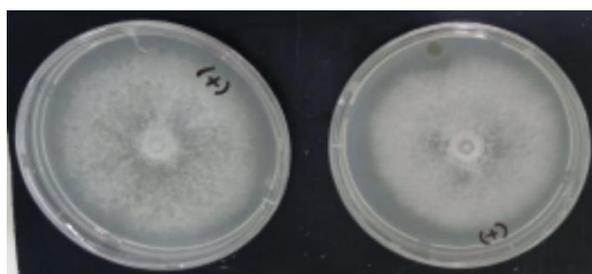


Figure 29 : Croissance radiale de l'agent Phytopathogène (contrôle positif) (original).

Tableau 9 : Taux d'inhibitions des extraits de *D. viscosa* de l'activité antifongique (**Annexe 2**).

L'extrait	Taux d'inhibition %
Hydroéthanolique	68
Aqueux	75

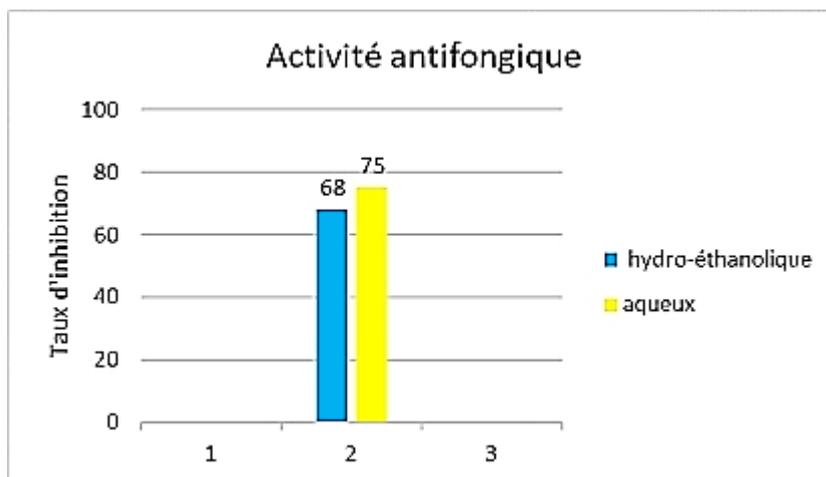


Figure 30 : Evaluation comparative de l'activité antifongique in vitro d'extraits de *D. viscosa*.

5. Teneur en polyphénols

Dans le but de déterminer la teneur totale des polyphénols des deux extraits, un dosage a été effectué par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. Les résultats et sont exprimés en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg}$ extrait) (Figure 26) du dosage des polyphénols totaux ont été obtenus par extrapolation de L'absorbance des extraits sur la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Les résultats montrent que l'extrait hydroéthanolique est le plus riche en polyphénols avec une teneur de ($736.67 \pm 46.69 \mu\text{g EAG/mg}$), suivi par l'extrait aqueux ($736.67 \pm 46.69 \mu\text{g EAG/mg}$).

1. Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes

5.1.1. Courbes d'étalonnages

Les courbes d'étalonnage sont élaborées par des solutions standards de l'acide Gallique pour le dosage des polyphénols et de la quercétine pour le dosage des Flavonoïdes préparés à des concentrations différentes.

5.1.1.1. Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est calculé à partir de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique et est exprimée en μg d'équivalent d'acide gallique par mg d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait).

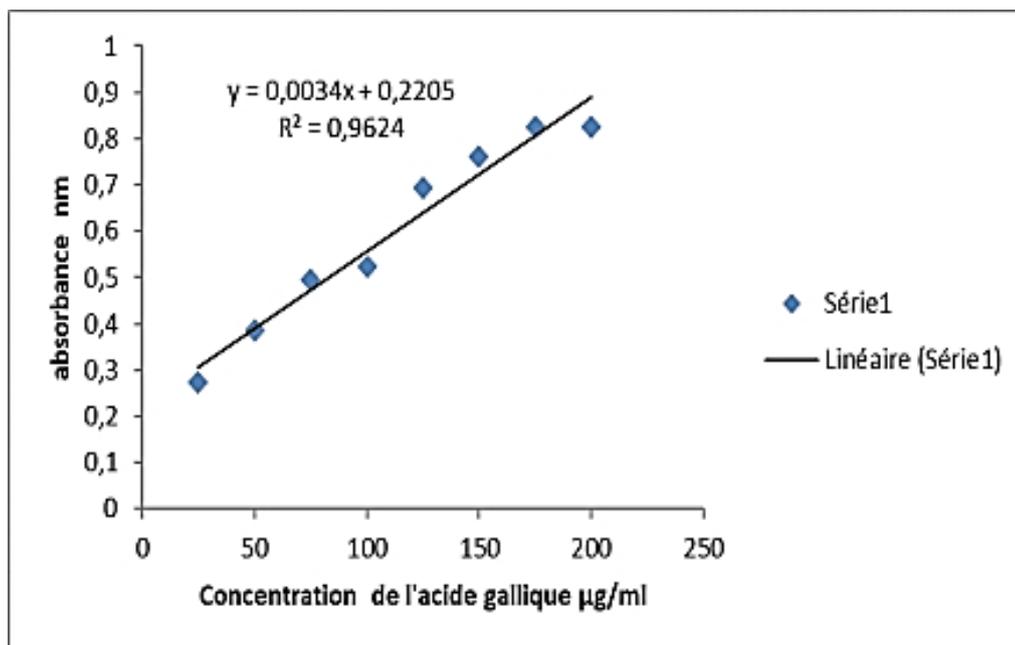


Figure 31 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.

5.1.1.2. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes

Le taux des flavonoïdes est calculé à partir de la gamme d'étalonnage de la quercétine et est exprimée en µg d'équivalent de quercétine par mg d'extrait (µg EQ/mg) (Figure 27).

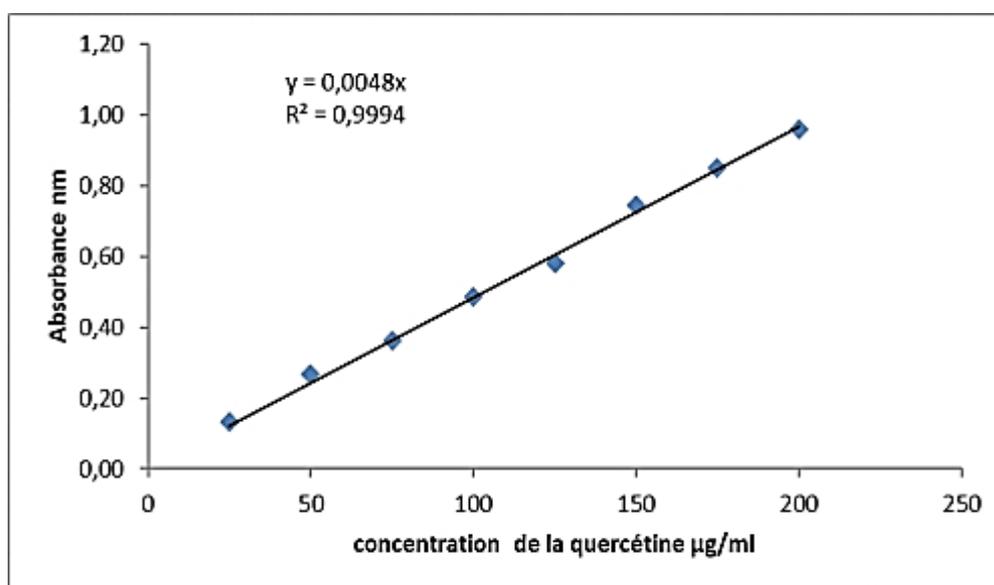


Figure 32 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des Flavonoïdes.

2. Teneur en polyphénols totaux

Les extraits ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre (lecteur de Microplaque). Les valeurs exprimées représentent la moyenne des trois répétitions. Les Contents en polyphénols et en flavonoïdes sont calculés et représentés dans le tableau ci-dessous et illustrés graphiquement.

Tableau 10 : Taux de polyphénols totaux et des flavonoïdes.

Extrait	Polyphénols totaux ($\mu\text{g GAE/ mg}$)	Flavonoïdes ($\mu\text{g QE/ mg}$)
Extrait Hydroéthanolique	736.67 \pm 46.69	266.38 \pm 43.89
Extrait aqueux	39.09 \pm 3.09	169.79 \pm 21.94

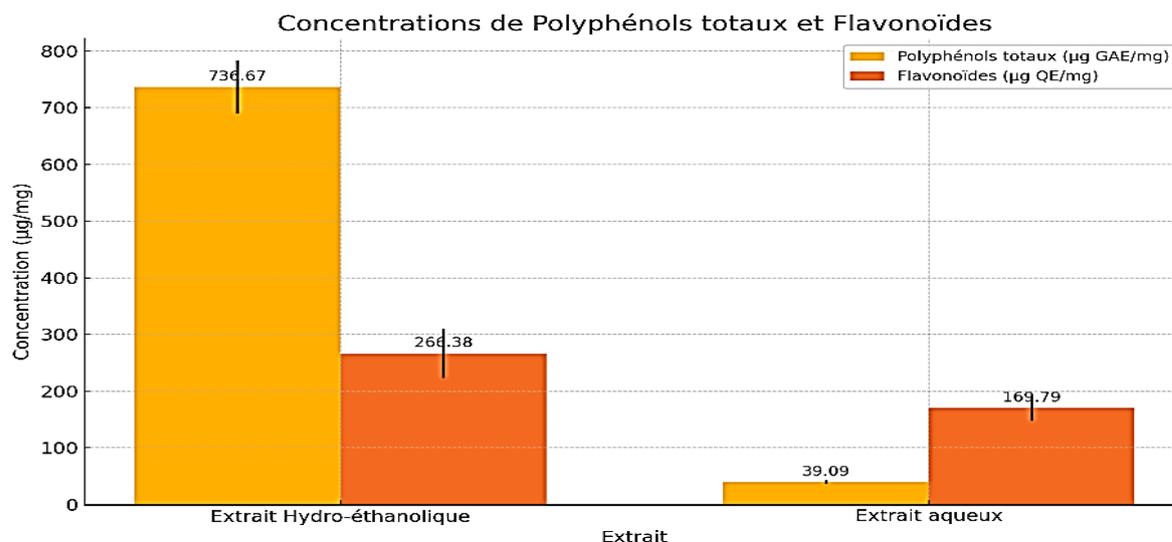


Figure 33: Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes entre les deux extraits.

6. Activité Antioxydante

Les valeurs exprimées représentent la moyenne \pm l'écart type (S.D) des trois répétitions pour chaque essai.

1. Piégeage du radical DPPH

Les résultats de l'activité antiradicalaire au DPPH sont représentés dans le tableau suivant pour chaque concentration ainsi que les valeurs de la concentration d'inhibition de 50%.

Tableau 11 : Résultats de l'activité antiradicalaire DPPH et Pourcentage d'inhibition Des extraits de feuilles de *D. viscosa*.

Concentration de l'extrait								
	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	100	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
Extrait aqueux	7,37 \pm 2,32	15,81 \pm 2,23	32,53 \pm 5,61	67,50 \pm 9,41	81,13 \pm 0,28	83,01 \pm 1,03	80,08 \pm 0,18	9,46 \pm 0,93
Extrait éthanolique	6,53 \pm 9,05	10,62 \pm 5,35	14,02 \pm 4,11	25,03 \pm 7,88	41,81 \pm 3,56	71,38 \pm 7,21	86,36 \pm 0,21	32,42 \pm 3,69
Concentration de standard								
	0.78125	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
Trolox	6.42 \pm 0.91	13.33 \pm 2.14	30.19 \pm 0.67	61.48 \pm 2.98	87.16 \pm 0.28	88.46 \pm 0.11	87.72 \pm 0.47	5.12 \pm 0.21
Acide ascorbique	0.31 \pm 1.02	12.90 \pm 0.28	29.69 \pm 0.39	76.67 \pm 0.37	84.94 \pm 0.84	87.78 \pm 0.49	86.36 \pm 0.21	4.39 \pm 0.01

D'après les résultats du tableau, nous constatons que l'extrait hydroéthanolique possède des propriétés antioxydantes forte ($IC_{50}=9.46 \pm 0.93\mu\text{g/ml}$) en le comparant au standard Trolox ($IC_{50}=5.12\pm 0.21\mu\text{g/ml}$) et à l'acide ascorbique ($IC_{50}=4.39\pm 0.01\mu\text{g/ml}$). Ont Montré que l'autre extraits aqueux possèdent une activité oxydante moins actives que celle de Trolox et acide ascorbique (des standards deux antioxydants de référence couramment utilisés). Et que celle de l'extrait hydroéthanolique ($IC_{50} = 32.42\mu\text{g/ml}$, $IC_{50} = 5.12\mu\text{g/ml}$, $IC_{50} = 4.39\mu\text{g/ml}$, $IC_{50} = 9.46\mu\text{g/ml}$) respectivement.

2. L'activité ABTS

L'activité antioxydante des de extraits a également été évaluée par la méthode ABTS (2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate)). Les résultats sont présentés dans (tableau 12).

Tableau 12: Résultats de test ABTS et Pourcentage d'inhibition des extraits.

Concentration de l'extrait								
	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	100	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Extrait aqueux	15,92±0,58	25,79±2,3 6	43,35±2,9 5	59,70±2,8 2	59,44±1,3 8	73,27±9,97	79,52±5,1 4	9,33±0,77
Extrait éthanoli que	9,04±0,78	12,63±0,7 8	21,83±1,4 5	35,03±1,8 3	57,85±4,7 9	66,72±10,8 3	66,46±1,2 6	20,87±1,4 8
Concentration de standard								
	0.78125	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Trolox	14.74±0.37	26.15±0.6 5	51.70±1.5 1	89.72±0.6 7	92.89±0.1 9	92.89±0.19	91.84±1.1 9	3.21±0.06
Acide ascorbique	13.43±0.82	28.76±0.6 7	52.94±0.9 4	93.21±0.1 1	93.08±0.1 9	92.40±0.88	92.96±0.1 1	3.04±0.05

D'après les résultats du Tableau 12, nous avons constaté que l'extrait hydroéthanolique a montré une activité antiradicalaire ABTS très intéressante, avec une valeur d' IC_{50} de $9,33 \pm 0,77 \mu\text{g/ml}$. Cette activité est proche de celle du standard Trolox ($IC_{50} = 3,21\pm 0,06 \mu\text{g/ml}$) et de l'acide ascorbique ($IC_{50} = 3,04\pm 0,05 \mu\text{g/ml}$), deux antioxydants de référence.

L'extraits aqueux est également présenté une activité antiradicalaire ABTS, mais de manière moins importante que l'extrait hydroéthanolique et les standards. Leurs valeurs d' IC_{50} respectives sont :

($IC_{50} = 20.87\mu\text{g/ml}$, $IC_{50} = 3.21\mu\text{g/ml}$, $IC_{50} = 3.04\mu\text{g/ml}$, $IC_{50} = 9.33\mu\text{g/ml}$) respectivement.

Ces résultats indiquent que l'extrait hydroéthanolique possède une très forte capacité de piégeage du radical ABTS, reflétant une activité antioxydante élevée.

3. L'Activité phénantroline

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée également par la méthode à la phénantroline. Les résultats sont présentés dans (tableau 13).

Tableau 13 : Résultats de test phénantroline et Pourcentage d'inhibition des extraits.

Concentration de l'extrait								
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	A _{0,5} (µg/ml)
Extrait aqueux	0,37±0,03	0,46±0,01	0,63±0,06	0,89±0,06	1,42±0,24	2,28±0,12	3,20±0,05	7,97±0,90
Extrait éthanolique	0,36±0,01	0,42±0,02	0,43±0,03	0,66±0,05	1,18±0,11	1,79±0,06	3,46±0,32	14,32±2,00
Concentration de standard								
	0.0976µg	0.195µg	0.390 µg	0.781 µg	1.562 µg	3.125 µg	6.25 µg	A _{0,5} (µg/ml)
Trolox	0.25±0.01	0.24±0.01	0.26±0.01	0.26±0.00	0.32±0.01	0.38±0.01	0.56±0.02	5.21±0.27
Acide ascorbique	0.26±0.01	0.29±0.00	0.29±0.02	0.31±0.01	0.37±0.01	0.50±0.00	0.80±0.00	3.08±0.02

D'après les résultats du (Tableau 13), L'extrait hydroéthanolique a montré une activité antioxydante élevée, avec une valeur d'IC₅₀ de (7,97±0,90 µg/ml). Cette activité est proche de celle du Trolox (IC₅₀ = 5,21 ± 0,27 µg/ml) et de l'acide ascorbique (IC₅₀ = 3,04 ± 0,02 µg/ml).

L'extrait aqueux a également présenté une activité antioxydante, mais de manière moins importante que l'extrait hydroéthanolique et les standards, avec une valeur d'IC₅₀ de (14,32±0,41 µg/ml).

Ces résultats indiquent que l'extrait hydroéthanolique possède une forte capacité antioxydante, reflétant une activité élevée dans ce test.

4. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

L'activité antioxydante des extraits a également été évaluée par la méthode Activité du pouvoir réducteur (FRAP). Les résultats sont présentés dans (tableau 14).

Tableau 14 : Résultats d'Activité de pouvoir réducteur des extraits.

Concentration de l'extrait								
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	A _{0,5} (µg/ml)
Extrait aqueux	0,21±0,00	0,18±0,03	0,18±0,01	0,20±0,01	0,23±0,03	0,29±0,00	0,36±0,03	>200
Extrait éthanolique	0,29±0,04	0,34±0,02	0,46±0,04	0,39±0,00	0,50±0,06	0,53±0,00	0,60±0,13	44,24±0,00
Concentration de standard								
	0.0976µg	0.195µg	0.390 µg	0.781 µg	1.562 µg	3.125 µg	6.25 µg	A _{0,5} (µg/ml)
Trolox	0.07±0.00	0.08±0.00	0.09±0.01	0.13±0.00	0.19±0.02	0.28±0.05	0.60±0.04	5.25±0.20
Ascorbique acid	0.07±0.00	0.09±0.01	0.12±0.01	0.17±0.01	0.25±0.02	0.47±0.03	0.79±0.09	3.62±0.29

Les résultats montrent que l'extrait hydroéthanolique de *D. viscosa* a présenté une très faible activité de pouvoir réducteur, avec une valeur d'IC₅₀ supérieure à 200 µg/ml. Cette valeur d'IC₅₀ est nettement plus élevée que celles du Trolox ($5,25 \pm 0,20$ µg/ml) et de l'acide ascorbique ($3,62 \pm 0,29$ µg/ml), deux antioxydants de référence couramment utilisés.

L'extrait aqueux a montré une activité de pouvoir réducteur plus importante que l'extrait hydroéthanolique, avec une valeur d'IC₅₀ de ($44,24 \pm 1,72$ µg/ml). Bien que supérieure à celle de l'extrait hydroéthanolique, cette activité reste néanmoins faible comparée aux standards de référence.

Ces résultats indiquent que les composés antioxydants présents dans les extraits de *D. viscosa* ont une capacité de réduction limitée, en particulier pour l'extrait hydroéthanolique. Cela suggère que ces extraits ne possèdent pas une activité antioxydante élevée dans ce test spécifique du pouvoir réducteur.

Discussion

Les plantes médicinales sont une source inépuisable de substances bioactives grâce aux principes actifs qu'elles renferment. Des recherches scientifiques sont en cours pour découvrir des agents naturels d'origine végétale possédant des activités biologiques et présentant moins d'effets néfastes. Dans notre étude la plante *D. viscosa* en raison de ces diverses utilisations traditionnelles et modernes.

Les différences de rendement observées dans notre étude, entre l'extraction à l'éthanol aqueux (30,32%) et l'extraction à l'eau distillée (25,8%) de la plante *D. viscosa* peuvent s'expliquer par les propriétés physicochimiques des composés extraits. Selon une étude menée par **Dahmoune et al.**, (2015), l'utilisation de solvants hydro alcooliques comme l'éthanol aqueux permet généralement une extraction plus efficace des métabolites secondaires polaires et apolaires présents dans les plantes médicinales, en comparaison à l'utilisation de l'eau seule.

De plus, l'étude réalisée par **Bssaibis et al.**, (2009) sur *D. viscosa* le rendement obtenu par extraction éthanolique (31,72%) été nettement meilleur que ceux obtenus par d'autres solvants. Par comparaison à notre étude, ce taux est très proche de nos résultats, ce qui confirmant la précision de notre travail.

Nos résultats montrent que l'extrait aqueux a une meilleure activité anti-inflammatoire avec un taux maximal d'inhibition de la dénaturation de la BSA de 80,07% contre seulement 37,55% pour l'extrait hydroéthanolique. La différence de résultats entre les deux extraits peut s'expliquer par l'effet lié au solvant utilisé qui pourrait dégrader les principes actifs. De ce fait, l'extrait aqueux pourrait contenir une plus grande proportion de composés polaires, qui possède des propriétés anti-inflammatoires (**Maguirge et al.**, 2022 ; **Bentabet et al.**, 2023)

De plus, la valeur de CI50 de l'extrait aqueux (370 µg/ml) est supérieure à celle du diclofénac (230 µg/ml), Cela suggère que cette plante recèle d'un grand nombre de principes actifs, potentiellement plus efficaces que certains médicaments conventionnels tels que l'acide acétylsalicylique (1.503×10^6 µg) plus connu sous le nom d'aspirine (**Ounaissa et al.**, 2021).

D'autres travaux récents, comme ceux menés par **Ainseba et al.**, (2023) et **Ouahchia et al.**, (2020), ont révélé des propriétés anti-inflammatoires prometteuses des extraits de *D. viscosa*, suggérant que son activité anti-inflammatoire pourrait être liée à sa capacité à inhiber la libération des enzymes lysosomales des neutrophiles, réduisant ainsi les dommages tissulaires.

Les résultats obtenus pour le dosage des polyphénols révèlent que l'extrait hydroéthanolique possède une teneur nettement plus appréciable (736.67 ± 46.69 mg GAE /g) comparé à celle de

l'extrait aqueux (39.09 ± 3.09 mg GAE /g). De plus, nos résultats ont aussi révélé que la teneur en flavonoïdes de l'extrait hydroéthanolique (266.38 ± 43.98) est légèrement plus élevée que celle de l'extrait aqueux (169.79 ± 21.94). En effet, les études réalisées par **Nguyen et al.**, (2020) ; **Ozkan et al.**, (2019) suggèrent que les solvants organiques comme l'éthanol et le méthanol permettent d'extraire de manière plus efficace composés phénolique et flavonoïque de la plante *D. viscosa* par rapport à l'eau permet une haute récupération des composés phénoliques par comparaison à d'autres solvants. De plus, l'utilisation d'éthanol dilué ainsi que l'extraction des polyphénols à température ambiante permettent d'obtenir une quantité importante de polyphénols (**Antony et al.**, 2022).

Par comparaison, nos résultats sont similaires à ceux mentionnés par **Chahmi et al.**, (2015) ; **Mohti et al.**, (2019) ; **Qneibi et al.**, (2021) et **Bayar et al.**, (2021) confirmant la haute valeur des polyphénole et des flavonoïdes contenus dans les feuilles de *D. viscosa*.

Notre étude a révélé l'absence de l'activité antibactérienne sur les deux souches testées, Ces résultats sont cohérents avec l'étude menées par Bekkara et al., (2008). D'autres études réalisées par Benseguni-Tounsi (2001) et Ghalem et al., (2015), menée à l'aide d'huile essentielle de *D. viscosa* ont révélé une résistance à *E. coli*, mais une Forte sensibilité à *S. aureus*. En outre, d'après Bssaibis et al., (2009), l'extrait méthanolique des fleurs de *D. viscosa* ont révélé une activité variable contre différentes souches bactériennes, avec une inhibition d '*E. coli* ainsi que *S. aureus*.

Cela pourrait suggérer que les extraits des feuilles de *D. viscosa* ne possèdent pas d'activité antibactérienne significative contre *S. aureus* et *E. coli* comparais à d'autres parties de la plante. D'autre part, l'absence de l'activité antibactérienne de notre étude pourrait être due aux types d'extractions réalisées ainsi que des solvants utilisés qui n'ont pas pu réussir à extraire les métabolites responsables de cette activité.

L'activité antifongique réalisée sur *Fusarium oxysporum f. sp. Radicis-lycopersici* a révélé un taux d'inhibition considéré comme efficace pour les deux extraits mais légèrement plus significatif pour l'extrait aqueux (75%) comparait à l'extrait hydroéthanolique (68%). Plusieurs études menées sur différents types d'extrait de *D. viscosa* ont rapporté une activité antifongique élevée pour différentes espèces du genre *Fusarium* (F) telles que : *F. oxysporum f sp. Melonis* et *F. Oxysporum f sp. Cucumerinum* (**Bayar et al.**, 2021) ; *F. polyphialidicom*, *F. oxysporum*, *F. equiseti*, *F. accuminatum* (**Mahmoudi et al.**, 2016) ; *F. oxysporum* (**Prisa et al.**, 2023) ; ou encore *F. culmorum* et *F. graminearum* (Haoui et al., 2016). Par comparaison, l'étude réalisée par **Benhammou et al.**, (2006) sur deux espèces de moisissures phytopathogènes différentes (*Microsporium canis* et *M. gypseum*) a révélé un pouvoir antifongique élevé, atteignant 100% d'inhibition.

Les extraits des feuilles de *D. viscosa* ont été soumis à une évaluation de leurs activités antioxydantes à l'aide de plusieurs tests : DPPH, ABTS, phénoltralone et FRAP. Les résultats ont révélé une activité antioxydante significative pour les trois premiers tests dans les deux extraits. Il est également important de noter que l'extrait hydroéthanolique a présenté la plus grande capacité antioxydante, dont les valeurs IC50 sont proches des standards utilisés. Ce qui corrobore les résultats précédemment rapportés par **Albano et al.**, (2011) au Portugal, ainsi que ceux de **Brahmi-Chendouh et al.**, (2019) collectés en Algérie.

En outre, d'autres études menées par **Mohti et al.**, (2019) Et **Chahmi et al.**, (2015) confirme que les extraits des feuilles de cette espèce donnent une évaluation excellente par rapport aux valeurs rapportées dans les standards.

Il convient également de souligner que l'évaluation peu satisfaisante de l'activité antioxydante par le test de FRAP ne signifie pas que les extraits de la plante n'ont pas de capacité antioxydante. Cela pourrait s'expliquer plutôt par le fait que cette technique n'a pas permis d'évaluer adéquatement l'activité antioxydante des extraits. Les trois premières techniques étaient suffisantes pour démontrer la puissance des extraits en termes d'activité antioxydante.

Conclusion

La phytothérapie consiste à utiliser des plantes ou des extraits de plantes médicinales pour traiter diverses maladies. Cette méthode est largement adoptée car leurs substances sont d'origine naturelle et n'ont généralement pas d'effets nocifs.

Notre étude s'est axée sur l'espèce *Dettrichia viscosa* L., une plante largement répandue en Algérie. Les activités biologiques de ces deux extraits ont été évaluées. Une première constatation a été faite sur la différence de rendement observé avec une légère hausse pour l'extrait hydroéthanolique (30,32%) en comparaison avec l'aqueux (25,8%).

Nos résultats ont révélé que cette plante a un fort pouvoir anti-inflammatoire avec une inhibition de la dénaturation du BSA nettement plus élevée pour l'extrait aqueux de l'ordre de 80,07% par rapport à l'hydroéthanolique avec 37,55%. De plus, la valeur de IC50 de l'extrait aqueux (383,96 µg/ml) était supérieure à celle du diclofénac (232,32 µg/ml). En revanche, le dosage des polyphénols et des flavonoïdes a montré une grande teneur mais plus appréciable dans l'extrait hydroéthanolique que dans l'aqueux.

Les résultats obtenus apportent des éléments de preuves concernant les propriétés antioxydantes de cette espèce via les tests ; DPPH, ABTS, phénoltrolone. L'extrait hydroéthanolique a révélé la plus grande capacité antioxydante.

L'activité antifongique réalisée dans notre étude a révélé un taux d'inhibition significatif mais légèrement plus élevé pour l'extrait aqueux (75%) comparait à l'extrait hydroéthanolique (68%). Par contre, les résultats n'ont pas montré une activité antibactérienne sur les deux souches testées.

Nos travaux apportent des résultats prometteurs sur le potentiel de la plante *D. viscosa* par rapport aux différentes activités étudiées avec plus au moins de différence en fonctions du type d'extraction réalisé. Il est important d'orienter une prospection plus approfondie de cette plante, notamment en réalisant et comparant différents types d'extractions par l'utilisation d'autres solvants et méthodes de purification dans le but de maximiser l'extraction des composés actifs de la plante et d'améliorer leur activité antibactérienne. En outre, il serait intéressant d'effectuer des études supplémentaires pour examiner l'efficacité *in vivo* de ces extraits contre la souche phytopathogène *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicis-lycopersici*, dans la perspective de synthétiser et développer un aérosol fongicide destiné à combattre les pathogènes fongiques qui infectent les plantes.

Des recherches ultérieures devraient explorer d'autres activités biologiques afin de renforcer et d'élargir le champ d'action de cette espèce. À l'avenir, il serait souhaitable de conserver et valoriser la richesse des plantes médicinales de la flore algérienne dans l'intérêt de développer de nouveaux principes actifs dans un but thérapeutique.

*Référence
bibliographique*

- Abid, R., et Qaiser, M. (2003). Chemotaxonomic study of *Inula* L. (s. str.) and its allied genera (Inuleae-Compositae) from Pakistan and Kashmir. *Pak J Bot*, 35, 127–140.
- Adossides A. (2003). Plantes Aromatiques et Médicinales, Projet « Assistance au Recensement Agricole », p 69.
- Ainseba, N., Soulimine, A., Dib, M. E. A., Djebbar, N., et Muselli, A. (2023). Comparative study of the antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory activity between essential oil and hydrosol extract of the aerial parts of *Inula viscosa* L. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 10, 1169-1175.
- Ait Youssef, M. (2006). *Plantes médicinales de Kabylie* (Édition.). Ibis Press, Paris.
- Akroum, (2011). *Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels* (Thèse de doctorat). Université Mentouri de Constantine, Algérie.
- Albano, S. M., et Miguel, M. G. (2011). Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. *Industrial Crops and Products*, 33, 338-343.
- Ali-Dellile, L. (2013). *Les plantes médicinales d'Algérie* (3ème édition). Ed. BERTI.
- Andrienne, P. (2001). *La Gemmothérapie : Médecine des Bourgeons*. Paris : Éditions Amyris.
- Antony, A., et Farid, M. (2022). Effect of temperatures on polyphenols during extraction. *Applied Sciences*, 12(4), 2107.
- Baba Aïssa, F. (1991). *Les plantes médicinales en Algérie*. Coédition Bouchène et AdDiwan.
- Baba Aïssa, F. (2011). *Encyclopédie des plantes utiles, flore méditerranéenne (Maghreb, Europe méridionale). Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident*. Ed. El Maarifa.
- Bakkara, F. A., Benhammou, N., et Panoska, T. K. (2008). Biological activities of the essential oil and ethanolic extract of *Inula viscosa* from the Tlemcen region of Algeria. *Advances in Food Sciences*, 30(3), 132-139.
- Bartëlsa. (1997) Guide des plantes du bassin méditerranéen. Ed Eugenulmer, paris, 172p
- Bayar, Y., et Genç, N. (2021). Total phenolic, total flavonoids, antioxidant and antifungal activities of extracts from Turkey. *Agrica*, 10, 46-54.

Référence bibliographique

Bekkara, F. A., Benhammou, N., et Kadifkova Panovska, T. (2008). Biological activities of the essential oil and ethanolic extract of *Inula viscosa* from the Tlemcen region of Algeria. *Advances in Food Sciences*, 30(3), 132-138.

Belkhodja, H. (2016). Effet des biomolécules extraites à partir de différentes plantes de la région de Mascara : Évaluation biochimique des marqueurs d'ostéo articulation et de l'activité biologique (Thèse de doctorat LMD 3ème Cycle en sciences biologiques). Université de Mustapha Stambouli, Mascara.

Bellamine, K. (2017). La phytothérapie clinique dans les affections dermatologiques (Thèse de

Benhammou, N., et Bekkara, F. A. (2006). Contribution à l'étude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle d'*Inula viscosa*.

Bensakhria, A. (2018). *Toxicologie Générale*. Universidad Católica San Antonio de Murcia, Spain.

Bentabet, N., Younes, I., et Meftahi, C. (2023). Évaluation de l'activité anti-inflammatoire et de la toxicité in vitro des extraits d'écorce de grenade *Punica granatum*, sur la stabilité membranaire des globules rouges. *Phytothérapie*, 21(1), 19-28.

Benyahia, A. (2014). Contribution à Benayache S., Benayache F., Dendougui H., & Jay M. (1991). Les flavonoïdes d'*Inula viscosa* L. *Plantes médicinales et phytothérapie*. [Mémoire de Master en Chimie]. Université de Tlemcen, 53.

Blois M.S., (1958) *Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical*. *Nature*, 4617 (181) : 1119-1200.

Boindin, B., et Lesaffre, L. (2010). L'accès des pays pauvres aux médicaments et la propriété intellectuelle : quel apport des partenariats multiacteurs ? *Revue internationale de droit économique*, 24(3), 325-350.

Bonnafous, C. (2013). *Traité scientifique AROMATHERAPIE : AROMATOLOGIE ET AROMACHOLOGIE*. Ed. Dangles, pp. 89-94.

Bossokpi, L. (2003). *Etude des activités biologiques de fagara zanthoxyloides Lam (Rutaceae)* (Thèse de doctorat). Université de Bamako.

Référence bibliographique

- Boubakr, S., Ali, L., Mahmoud, D. M., et Zahra, H. (2015). Phytoecological and phytogeographical study on Asteraceae family of Tessala Mount (Western Algeria).
- Boukemaya F., et Messaoudi F, 2016. Etude phytochimique de la plante *Inula viscosa* L. Ait. (Asteraceae) et évaluation des activités insecticide et antimicrobienne de son extrait éthanolique brut. Mémoire de Master en Biochimie Appliquée. Université de Boumerdés., p (48)
- Boumaza D, 2011. Séparation et caractérisation chimique de quelques biomolécules actives de deux plantes médicinales : *Inula visqueuse*, *Rosmarinus officinalis* de la région d'Oran. Mémoire de Master en Chimie. Université d'Oran., p (44)
- Boutefnouchet, S., Erwan, Poupon, E., Girard C., Thierry, H., Seguin, E. (2020).
- Brahmi-Chendouh, N.; Brahmi-Chendouh, N.; Piccolella, S.; Crescente, G.; Pacifico, F.; Boulekbatche, L.; Hamri-Zeghich, S.; Akkal, S.; Madani, K.; Pacifico, S. A nutraceutical extract from *Inula viscosa* leaves: UHPLC-HR-MS/MS based polyphenol profile, and antioxidant and cytotoxic activities. *J. Food Drug Anal.* 2019, 27, 692–702.
- Brullo, S. et De Marco, G., «Taxonomical revision of the genus *Dittrichia* (Asteraceae), Portugaliae Acta Biology», Vol 19, (2000), 341-354.
- Bssaibis F., Gmira N., Meziane M. 2009. Activity antibacterienne de l'*Inula viscosa*. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.* Vol 3, N°1. Maroc, pp 44-55. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème Ed Lavoisier Paris. pp199-398.
- Chahmi N., Anissi J., et EL Hassouni M, 2015. Antioxidant activities and total Phenol content of *Inula viscosa* extracts selected from the region of Morocco. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5 (3)., p (228-233).
- Chaouche T.M. (2014). Contribution à l'étude des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de quelques plantes médicinales. Thèse de doctorat. Université Abou- Bakr- Belkaid. Tlemcen.
- Daglia M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23 (2): 174-181.

Référence bibliographique

Dahmoune, F., Nayak, B., Moussi, K., Remini, H., et Madani, K. (2015). Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Myrtus communis* L. leaves. *Food chemistry*, 166, 585–595.

Debuigne, G. et Couplan, F. (2013). *Le petit Larousse des plantes qui guérissent : 500 plantes et leurs remèdes*.

Dennis C, Webster J (1971). Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* II. *Prod.Müller L., Gnoyke S., Popken A.M., V. Böhm V. (2010.) Antioxidant capacity and related Parameters of different fruit formulations. LWT – Food Science and Technology*, 43: 992–999.

Dixon R A, Marais J P J, Deavours B et Ferreira D. (2006). *The Stereochemistry of Flavonoïds in the science of flavonoïds*. Edition : BS/DH. USA, 1-46.

Djidda, A., Nait Chalal, L., 2020. *Extraction de biomolécules actives à partir d'une plante médicinale : Carthamuscaeruleus L. Université Mouloud Mammeri*.

El Haib, A. (2011). *Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques*. Thèse, Doctorat De l'Université de Toulouse. 158p.

Franck E.E., Atakpama W., Tchacondo T., Batawila K. et Akpagana K. (2020). Importance du temps en médecine Traditionnelle : Cas de l'usage de trois Plantes de la pharmacopée togolaise. *Nutrition & Santé* 9(2) : 94-105.

Gerbeaud, 2021. *Inule visqueuse : insecticide et fongicide naturel ? [WWW Document]*. URL <https://www.gerbeaud.com/nature-environnement/inule-visqueuse-fongicide-insecticide-naturel,1650.html> (accessed 6.3.24).

Ghalem, B. R., et Halima, N. (2015). Antibacterial and Antioxidant Activities of Essential Oil of *Inula viscosa* L. from Northwest of Algeria. *Advances in Pharmacognosy and Phytomedicine*, 1(1), 10-16.

Hamia, H., Guergab, A., Rennane, N. E., et Birache, M. (2014). Influence des Solvants sur le Contenu en Composés Phénoliques et l'Activité Antioxydante des Extraits du *Rhanterium Adpressium*. *Influence des recherchesgate.net*, 6(1),33-39.

Référence bibliographique

- Haoui, Imad Eddine, Derriche, Ratiba, Madani, Leila, et Oukali, Zahia. (2016). Extraction of Essential Oil from *Inula viscosa* (L.) Leaves: Composition, Antifungal Activity and Kinetic Data. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 19(1), 108-118.
- Heim, E.K., Tagliaferro, A.R., and Bobilya, D.J., (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. Vol.13, p.p. 572-584.
- Hellali N., Mahammed M.H., Ramdane F., Talli A. (2016). Antimicrobial and antioxidant activities of *Cymbopogon schoenanthus* (L.) spreng essential oil, growing in Illizi – Algeria. *Journal of medicinal plant research*.10 :188-194.
- Hernandez, R.M. Giner, J. Rios, and R. Mariadel Carmen. 2007. *Les Plantes Aromatiques et Les Huiles Essentielles Fitoterapia*.
- Iserine, P., Masson, M., Restellini, J. P., Ybert, E., De Laage De Meux, A., Moulard, F.,
- Kaddem, S. (1990). *Les plantes médicinales en Algérie*. 3ème CIMT : 87.
- Kansole, M.M.R. (2009). *Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Karthala*: p 22.
- Kattouf, J., Belmokhtar, M., Harnafi, H., Mekhfi, H., Ziyat, A., Aziz, M., et Legssyer, A. (2009). Antihypertensive effect of an aqueous extract of *Inula viscosa* leaves. *Phytothérapie*,7(5), 309-312.
- Kaur R., Chahlal K Chahal. 2014. *Chemistry and biological activity of some alantoloid from Inula species-A REVIEW*
- Kavitha, V.U., et LimKandasu bramanian, B. (2020). Tannins for wastewater treatment. *SN Appl. Sci.* 2, 1081 (2020). <https://doi.org/10.1007/s42452-020-2879-9>
- Khalil, F., Enam, A., Afifi, U., Al-hussaini, M. (2007). Evaluation of the wound healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in Pluronic F127 using mice (*Mus musculus*). *Journal of Ethnopharmacology*; 109: p 104–112.
- Krispil, N. (1982). *Herbs pouch*. Cana publishing house; 5: p 1955. In Ramli, B. (2013). Extraction des flavonoides de la plante *Inula viscosa* de la région d’Oran et mise en évidence de l’activité microbienne. *Mémoire de Magister*. Université d’Oran : p 86.

- Larousse Médical. (Édition 2020). Inflammation. Paris : Éditions Larousse.
- Lastra, C., Lopez, A., Motilva, V., 1983. Gastroprotection and prostaglandin E2 generation in rats by flavonoids of *Dittrichia viscosa*. *Planta Med.* 59, 497–501.
- Laurent J., (2017). Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. (Thèse de doctorat). Université de Toulouse III, France, 225p.
- Lauro Let Rolih C., (1990). Tableau des échantillons biologiques *Bollettino Societa Italiana*.66,
- Lawrence, B. M. (1993). Essential oils: an overview. In R. H. Müller & G. E. Schubert (Eds.), *Flavour and Fragrance Chemistry* (pp. 199-223). Springer.
- Li, H., et Deng, Z. (2003). Separation and identification of flavonoids from *Inula viscosa* using liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1010(1), 195-203.
- Lu, Y., et Foo, L. Y. (2001). Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. *Food Chemistry*, 68(1), 81-85.
- Luis, A.A., Duarte, A., Gominho, b. J., Domingues, A. F and Paula-Duarte, A. (2016). Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus radiata* essential oils. *Industrial Crops and Product*.79 :274-283
- Mahmoudi H., Hosni K., Zaouali., Amri I., Zargouni H., Ben Hamida N., Kaddour R., Hamrouni L., Ben Nasri M., Ouerghi Z. 2016. Comprehensive phytochemical analysis, Antioxidant and antifungal activities of *Inula viscosa* aiton leaves. *Physiologie et Biochimie* 36: 77-88.
- Mccall, M. R., et Frei, B. (1999). Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans? *Free Radical Biology and Medicine*, 26(7-8), 1034-1053.
- MERCK, F. (2017). La biodiversité végétale au service des ingrédients naturels : Étude des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes d'extraits végétaux et développement d'un conservateur naturel pour l'industrie cosmétique. L'UNIVERSITÉ CÔTE D'AZUR.
- Météo et climat : Oued Athmenia (Algérie) – Quand partir à Oued Athmenia. (2024). Récupéré de https://planificateur.acontresens.net/afrique/algerie/wilaya_de_mila/oued_athmenia/2485661.html

- Modzelewska, A.; Sur S Fau – Kumar, S. K.; Kumar Sk Fau – Khan, S. R. and Khan, S. R. (2005). Sesquiterpenes: Natural products that decrease Cancergrowth. *Cure Med Chem Anticancer Agents*, 5(5), 477-499.
- Mohti, H., Taviano, M. F., Cacciola, F., Dugo, P., Mondello, L., et Marino, A. (2019). *Inula viscosa* (L.) Aiton leaves and flower buds: Effect of extraction solvent/technique on their antioxidant ability, antimicrobial properties and phenolic profile. *Natural Product Research*, 34(5), 670-718.
- Nature et Jardin. (n.d.). Accueil. Nature et Jardin. <http://nature.jardin.free.fr>
- Newman, D. T., Fast, N. J., et Harmon, D. J. (2020). When eliminating bias isn't fair: Algorithmic reductionism and procedural justice in human resource decisions. *Organizational Behavior and Human Decision Processes*, 160, 149-167.
- Nguyen, N. Q., Nguyen, M. T., Nguyen, V. T., Le, V. M., Trieu, L. H., Le, X. T., Khang, T. V., Giang, N. T. L., Thach, N. Q., et Hung, T. T. (2020). The effects of different extraction conditions on the polyphenol, flavonoids components and antioxidant activity of *Polyscias fruticosa* roots. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 736, 022067.
- OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (2002). Stratégie de l'OMS pour la Médecine traditionnelle pour 2002-2005. WHO/EDM/TRM/2002.1. Genève, Suisse. P. 135. Prescrire Rédaction. (2006). Phytothérapie : rarement signalée spontanément. *Revue Prescrire*, 26(268), 27.
- Ouahchia, C., Hannachi-Cherguif, H. S., Cherif, R., Remmal, I., Negab, K., Azine, F., et Saidi, F. (2020). Total phenolic content, anti-inflammatory, analgesic, and antipyretic activities of some extracts of *Inula viscosa* (L.) from Algeria. *Phytotherapie*, 18(3-4), 82-91.
- Ounaissa, K., Berrandane, N., Ziane, C., Gouasmi, Z., et Hadj, Y. (2021). Total phenol content, antioxidant and anti-inflammatory activities of *Inula viscosa* from Guelma-Algeria. *International Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 14(3), 186-193.
- Oyaizu M. (1986)., Studies on products of browning reactions :antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, Vol.44, 307–315p.

- Ozkan, E., Karakaş, F. P., Yildirim, A. B., Tas, I., Eker, I., et Zeybek, M. Z. (2019). Promising medicinal plant *Inula viscosa* L.: Antiproliferative, antioxidant, antibacterial and phenolic profiles. *Progress in Nutrition*, 21(3), 653-661.
- Pan, M. H., Lai, C. S., et Ho, C. T. (2010). Anti-inflammatory activity of natural dietary flavonoids. *Food & Function*, 1(1), 15-31
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D and Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 1-14.
- Prisa, D., et Attanasio, F. (2023). INORT: Biofertilizer based on *Inula viscosa* L. (*Dittrichia viscosa* L.), algae and microorganisms for growth, *Fusarium oxysporum* defence and water stress resistance of *Plumeria frangipani*. *International Journal of Biological and Pharmaceutical Sciences Archive*, 6(02), 047-053.
- Qneibi, M., Hanania, M., Jaradat, N., Emwas, N., et Radwan, S. (2021). *Inula viscosa* (L.) Greuter, phytochemical composition, antioxidant, total phenolic content, total flavonoids content and neuroprotective effects. *European Journal of Integrative Medicine*, 42, 101291.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice.evans C. (1999).Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26 (9/10) : 1231-1237.
- REZAIRE A. (2012). Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Thèse de doctorat. Université des Antilles et de la Guyane. France.
- Ríos, J. L., et Recio, M. C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1-2), 80-84.
- Rombi, M., Robert, D. (2015). Le dictionnaire des plantes médicinales. Ed : alpéne.
- Sati, S. C., et Joshi, S. (2010). Antibacterial activity of the Himalayan lichen *Parmelia cirrhata* against pathogenic bacteria. *Journal of Environmental Biology*, 31(4), 509-512.
- Scalbert, A., Johnson, I. T., et Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 215S-217S.

Référence bibliographique

- Sema M., Atakpama W., Kanda M., Koumantiga D., Batawila K. et Akpagana K. (2018). Une forme de spécialisation de La médecine traditionnelle au Togo : cas de La préfecture de Doufelgou. *J. Rech. Sci. Univ. Lomé (Togo)* 20(4) : 47-61.
- Side Larbi K., Meddah, B., Tir Touil Meddah, A. et Sonnet, P., « Central Analgesic Property of Extracts and Essential Oils from *Inula viscosa* And *Anacyclus valentinus* (Asteraceae) In Wistar Rats», *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, Vol 6, n°9, (2016), 72-77.
- Snoussi S.A., Djazouli Z.E., Aroun M.E.F., Sahli Z. (2003). Les plantes Maraichères, industrielles, condimentaires, aromatiques, médicinales et ornementales. Annexes sur La Biodiversité Importante pour l'Agriculture en Algérie MATE-GEF/PNUD : Projet ALG/97/G31.
- Sofowora, A. (2010). *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique*. Eds,
- Strang C, (2006) *Larousse médical*. Ed Larousse.
- Sunmathi, D., Sivakumar, R., et Ravikumar, K. (2016). In vitro Anti-inflammatory and Antiarthritic activity of ethanolic leaf extract of *Alternanthera sessilis* (L.) R.Br. ex DC and *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb. *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry*, 5(2),229-240.
- Thomas, D. (2016). *Les antioxydants de nos jours : Définition et applications*. 88.
- Tittikpina, N. K., Agban, A., Gbogbo, K. A., Hoekou, Y. P., Pereki, H., et Batawila, K.(2013). Évaluation des propriétés antimicrobiennes de *Pterocarpus erinaceus*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 7(4), 1586-1594.
- Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarıkürkcü C., Öztürk M., and Ulubelen A. 2007. A new Flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry* 103 : 816–822.
- Turgeon, M. (2001). *Profil des produits forestiers première transformation : huiles essentielles*. Ministère des Ressources naturelles, Secteur des forêts, Direction du développement de l'industrie des produits forestiers. Québec.
- Turkmen, N., Sari, F., et Velioglu, Y. S. (2005). The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry*, 93(4), 713-718.
- Van Vuuren, S. F. (2008). Antimicrobial activity of South African medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(3), 462-472.

Référence bibliographique

Vernex-Lozet C. (2011) Les possibilités de la phytothérapie en Geriatrie canine. Thèse de doctorat Université de Lyon

Wichtl, M. et Anton, R. (2003). Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, 2ème édition, Ed. TEC & DOC.

Willoughby, D. A., Moore, A. R., et Colville-Nash, P. R. (2000). COX-1, COX-2, and inflammation: Implications for therapeutic intervention. *The Lancet*,

Xu, B. J., et Chang, S. K. C. (2007). A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *Journal of Food Science*, 72(2), S159-S166.

Yaniv, Z., Dafni, A., Friedman, J., Palevitch, D., 1987. Plants used for the treatment of diabetes in Israel. *J. Ethnopharmacol.* 19, 145–151

Zeggwagh, M. L. Ouhadi, A. Lemhadri, M. Eddouks, J. *Ethno.*, 2006, 108, 223-227.

Résumé

Résumé

L'espèce *Dittrichia viscosa* L. est une plante d'intérêt médicinal utilisée principalement dans les pays en voie de développement comme remède populaire pour traiter de nombreuses maladies à l'aide de différentes méthodes traditionnelles de préparation,

Cette étude porte sur l'extraction de substances bioactives issues de la plante *D. viscosa*, provenant de la région de la wilaya de Mila, afin d'exploiter ses propriétés dans le but de l'utilisée à des fins thérapeutiques. Plusieurs axes ont été suivis pour atteindre cet objectif ; nous avons réalisé deux types d'extraction (hydro-éthanolique et aqueuse) sur lesquels nous avons évalué différentes activités biologiques.

Les résultats obtenus montrent que l'espèce *D. viscosa* recèle plusieurs propriétés parmi elles ; anti-inflammatoires, antifongiques et antioxydantes. De plus, nos recherches ont également révélé une grande teneur en polyphénols et des flavonoïdes.

Ces découvertes confirment le potentiel thérapeutique de cette plante et justifient son utilisation dans la médecine traditionnelle et cela dans l'intérêt de palier aux différents problèmes de la médecines conventionnelle.

Les mots clés : *Dittrichia viscosa* L. _Anti-inflammatoire _ Antifongique _ Antioxydante _Polyphénols flavonoïdes

Abstract

The species *Dittrichia viscosa* L. is a medicinal plant mainly used in developing countries as a popular folk remedy to treat many diseases using different traditional preparation methods.

This study focuses on extracting bioactive substances from the *D. viscosa* plant, originating from the Mila region of Algeria, in order to exploit its properties for therapeutic purposes. Several approaches were followed to achieve this objective; we performed two types of extraction (hydroethanolic and aqueous) on which we evaluated various biological activities.

The results obtained show that the *D. viscosa* species has several properties including anti-inflammatory, antifungal and antioxidant activities. Furthermore, our research also revealed a high content of polyphenols and flavonoids.

These findings confirm the therapeutic potential of this plant and justify its use in traditional medicine, which could help address various issues in conventional medicine.

The keywords: *Dittrichia viscosa* L. _Anti-inflammatory _ Antifungal _ Antioxidant _Polyphenols flavonoids.

المخلص

النوع *Dittrichia viscosa* L. هو نبات ذو أهمية طبية يستخدم بشكل رئيسي في البلدان النامية كعلاج شعبي لمجموعة متنوعة من الأمراض، باستخدام طرق تقليدية للتحضير.

تتناول هذه الدراسة استخلاص المركبات الحيوية الفعالة من نبات *D. viscosa* المتواجد في منطقة ولاية ميلا، بهدف استغلال خصائصها لتوظيفها في العلاج. تم اتباع عدة مسارات لتحقيق هذا الهدف، حيث تم إجراء استخلاصين مختلفين (بالماء وبالكحول الهيدرو-إيثيلي) تم تقييمها لأنشطة مختلفة.

أظهرت النتائج المستخلصة أن نوعية *D. viscosa* تتمتع بعدة خصائص، بما في ذلك خصائص مضادة للالتهابات والفطريات والأكسدة. بالإضافة إلى ذلك، كشفت أبحاثنا أيضًا عن وفرة البوليفينولات والفلافونويدات في هذا النبات.

تؤكد هذه الاكتشافات الإمكانيات العلاجية لهذا النبات وتبرر استخدامه في الطب التقليدي، وذلك لتفادي المشاكل العديدة التي تواجه الطب التقليدي.

الكلمات الرئيسية: مضاد للالتهاب _ مضاد للفطريات _ مضاد للأكسدة _ البوليفينولات _ الفلافونويدات

Annexes

Les Annexes

Annexe 1 :

Activité anti-inflammatoire :

1. Préparation d'une solution tampon Tris-HCl (0,05 M) (pH=6,6) :

- Peser 0,342 grammes de Tris
- Ajouter 40 mL d'eau distillée
- Ajuster le pH en ajoutant de l'HCl à l'aide d'un pH-mètre
- Suivre le pH jusqu'à ce qu'il atteigne une valeur de 6,6
- À ce stade, arrêter l'ajout d'HCl et compléter le volume final à 50 mL en ajoutant plus d'eau distillée

Cela nous donne une solution tampon Tris-HCl avec la polarité (0.05mol) et le pH à demander de 6,6

2. Préparation d'une solution de BSA à une concentration de 0,5% :

- Peser 0,5 g de BSA
- Ajouter 101 mL d'une solution tampon Tris-HCl 0,05M pH 6.6
- Laisser dissoudre complètement la solution BSA sous agitation magnétique

Cela permet d'obtenir une solution homogène de BSA à 0,5%

3. Méthode de calcul du pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique :

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique se calcule comme suit :

Pourcentage d'inhibition = 100 – [{(densité optique de la solution test – densité optique du contrôle) / densité optique du test} x 100]

Cette formule permet de calculer le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines en soustrayant la variation de densité optique entre l'échantillon test et le contrôle par rapport à la densité optique du test, le tout multiplié par 100 pour obtenir un pourcentage. La densité optique est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre et permet d'évaluer la dénaturation des protéines. Cette formule est couramment utilisée dans les tests biochimiques évaluant l'activité protectrice d'agents potentiels contre la dénaturation protéique.

Les Annexes

4. Mesure des absorbances et détermination des taux d'inhibition obtenus pour chaque extrait à différentes concentrations :

Extrait hydroéthanolique

Concentration µg/ml	Moyenne d'absorbance	Blanc extrait	% d'inhibition
1000	1.36	1.261	37.55
500	1.35	0.080	27.78
250	2.149	0.069	22.35
125	1.730	0.05	10.34

Extrait aqueux

Concentration µg/ml	Moyenne d'absorbance	Blanc extrait	% d'inhibition
1000	0.65	0.022	80.07
500	0.90	0.124	35.70
250	1.49	0.047	65.11
125	1.73	0.020	80.07

Les Annexes

Annexe 2

Activité antifongique

1-préparation de milieu de culture PDA

On a préparé le milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar)

Sur une plaque chauffante en fait bouillir 340 grammes de la pomme de terre dans 1500 ml d'eau distillée à 400 C° pendant 30 minutes. Une filtration est faite pour enlever la pomme de terre et récupérer l'eau.

Dans un bécher on a ajouté 34 g d'agar sur l'eau de pommes de terre avec agitation. On a ajusté avec la chaleur pour éviter les grumeaux et remplir avec le reste de 200 ml d'eau Distillée et bien mélanger le tout.

On a versé 100 ml de la solution obtenue dans des Erlenmeyer et mise dans l'autoclave A 121 C° pendant 30min à une pression de 1,2 bar pour la stérilisation. On a laissé refroidir Jusqu'à 55 C° pour éviter la condensation de vapeur.

On obtient donc 17 Erlenmeyers remplis de 100 ml de milieu de culture préparer est

Mesure et détermination des taux d'inhibition obtenus pour chaque extrait hydroéthanolique

Moyenne des diamètres de la croissance de l'agent phytopathogène (mm)	Moyenne des diamètres de témoin négatif
2.3	7.21

Mesure et détermination des taux d'inhibition obtenus pour chaque extrait aqueux

Moyenne des diamètres de la croissance de l'agent phytopathogène (mm)	Moyenne des diamètres de témoin négatif
1.8	7.221

Annexe 3

Total Phénolique, TPC (Total Phenolic Content)

Réactifs utilisés :

- 1- Eau distillée, Méthanol
- 2- FCR (Folin-Ciocalteu réactif)
- 3- Na_2CO_3 de 7,5% (Carbonate de sodium)
- 4- Acide Gallique
- 5- Extrait de plante

Préparation des solutions :

1- Préparation de Carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5% :

7,5 grammes de Na_2CO_3 et sont dissouts dans 100 ml d'eau distillé.

2- Préparation de l'extrait de plante :

Une masse de 1 mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de l'eau distillée (ou éthanol)

3- Préparation de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois

1ml de la solution FCR concentré (2M) est complété à 10ml avec l'eau distillée (9ml).

Gamme d'étalonnage de l'acide gallique :

Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique :

On prend 1 mg de l'acide gallique et on le dissolvé dans 5 ml de Méthanol pour obtenir la solution S_1 (0,2mg/ml). Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs comme la suite :

25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ----- 25 μl de S_1 + 175 μl de MeOH

50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ----- 50 μl de S_1 + 150 μl de MeOH

75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ----- 75 μl de S_1 + 125 μl de MeOH

100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ----- 100 μl de S_1 + 100 μl de MeOH

Les Annexes

125µg /ml ----- 125µl de S1+ 75µl de MeOH

150µg /ml ----- 150µl de S1+ 50µl de MeOH

175 µg /ml ----- 175µl de S1+ 25µl de MeOH

200µg /ml ----- 200µl de S1

20µl de chaque dilution sont transférés dans une microplaque + 100µl FCR (1 :10) + 80µl de Na₂CO₃ (7,5%) + incubation 2h + lecture à 765nm.

Annexe 4

Total Flavonoïde, TFC (Total Flavonoid Content)

Réactifs utilisés :

- 1- Méthanol
- 2- Eau distillée
- 3- 10% nitrate d'aluminium ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3, 9\text{H}_2\text{O}$)
- 4- 1 M Potassium acétate (CH_3COOK)
- 5- Quercetin (Flavonoïde)
- 6- Extrait de plante

Préparation des solutions :

Pour 1 M Potassium acétate (CH_3COOK) on dissout 9.80 grammes de (CH_3COOK) dans 100 ml d'eau distillé pour obtenir la solution S1 pour 10% nitrate d'aluminium ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3, 9\text{H}_2\text{O}$) on pèse 10g de ce produit dans 100ml d'eau distillée.

Préparation de l'extrait de plante :

Une masse de 1 milligramme d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de méthanol pour obtenir la solution (S2).

Annexe 5

Test ABTS (acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique))

Procédure : préparation de (ABTS⁺) (solution)

A partir de l'ABTS et du persulfate de potassium $K_2S_2O_8$: les deux produits en solution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12- 16H ; l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée par (Ethanol ou H_2O) à 0.700 ± 0.020 à 734 nm avant l'usage.

(ABTS⁺) → 19,2 mg (7 mM) ABTS + 5 ml H_2O + 3,3 mg (2.45 mM) ($K_2S_2O_8$) +5 ml H_2O +

Attendre 16 heures à l'abri de la lumière

M (ABTS) = 548, 68 g/mol

M ($K_2S_2O_8$) = 270, 32 g/mol

La mesure de l'absorbance de l'ABTS avec le spectrophotomètre comme suit :

1 ml (ABTS) + 50 μ l H_2O ----- 1.41 nm

1 ml (ABTS) + 75 μ l H_2O ----- 0.98 nm

1 ml (ABTS) + 85 μ l H_2O ----- 0.87 nm

1 ml (ABTS) + 90 μ l H_2O ----- 0.83 nm

1 ml (ABTS) + 100 μ l H_2O ----- 0.73nm

Annexe 6

Test de phenanthroline

Préparation :

_ Phenanthroline (0.5%)

0.05g de 1,10-Phenanthroline dans 10ml de MeOH

_ Ferricchloride FeCl₂ (0.2%)

0.02g de FeCl₂ dans 10ml de H₂O

Préparation de réactif Mayer :

(10 g de KI +2.70 g de HgCl₂+20 ml de l'eau distillé)

KI : iodure de potassium.

HgCl₂ : chlorure de mercure

_ Préparation de NaOH :

1N 40 g 1000 ml (eau distillée).

1N 2 g 50 ml.

0.1 N 0.2 g 50 ml.

<p style="text-align: center;">.....</p> <p>Année universitaire : 2023-2024</p>	<p>Présenté par : KAOUA Rayene BAHRI Alaa Nor El hayat</p>
<p style="text-align: center;">Évaluation des activités biologiques de <i>Dittrichia viscosa L.</i> en vue de son application en biothérapie.</p>	
<p style="text-align: center;">Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et bithérapies</p>	
<p>L'espèce <i>Dittrichia viscosa L.</i> est une plante d'intérêt médicinal utilisée principalement dans les pays en voie de développement comme remède populaire pour traiter de nombreuses maladies à l'aide de différentes méthodes traditionnelles de préparation,</p> <p>Cette étude porte sur l'extraction de substances bioactives issues de la plante <i>D. viscosa</i>, provenant de la région de la wilaya de Mila, afin d'exploiter ses propriétés dans le but de l'utilisée à des fins thérapeutiques. Plusieurs axes ont été suivis pour atteindre cet objectif ; nous avons réalisé deux types d'extraction (hydroéthanolique et aqueuse) sur lesquels nous avons évalué différentes activités biologiques.</p> <p>Les résultats obtenus montrent que l'espèce <i>D. viscosa</i> recèle plusieurs propriétés parmi elles ; anti-inflammatoires, antifongiques et antioxydantes. De plus, nos recherches ont également révélé une grande teneur en polyphénols et des flavonoïdes.</p> <p>Ces découvertes confirment le potentiel thérapeutique de cette plante et justifient son utilisation dans la médecine traditionnelle et cela dans l'intérêt de palier aux différents problèmes de la médecine conventionnelle.</p>	
<p>Mots-clefs : <i>Dittrichia viscosa L.</i> ; Anti-inflammatoire ; Antifongique ; Antioxydante ; Polyphénols Flavonoïdes.</p>	
<p>Laboratoires de recherche : Laboratoire de biologie moléculaire et cellulaire. (U Constantine 1 Frères Mentouri).</p>	
<p>Président du jury : Latreche A (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).</p>	
<p>Encadrant : Meziani D.Y (MCB - Université Frères Mentouri Constantine 1).</p>	
<p>Examineur : Belloum Z (MAA - Université Frères Mentouri Constantine 1).</p>	