



MEMOIRE

De fin d'étude
En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option : Microbiologie Appliquée

Thème :

Activité antioxydante et antibactérienne des feuilles
d'*Inula viscosa* L.

Présenté par : Mr. OULD MAMMAR NABIL

Mr. ABANE MALEK

Devant le jury :		
Mr HOUALI.K	Professeur à l'UMMTO	Président de jury
Mr MOUALEK. I	Maitre de conférence classe A à l'UMMTO	Promoteur
Mme IRATNI .G	Maitre de conférence classe B à l'UMMTO	Examinatrice

Soutenu le : 25 / 10 / 2021.

REMERCIEMENT

Tous d'abord ont remercié le dieu tout puissant de nous avoir donné le courage, la force, la santé et la capacité d'écrire et de réfléchir pour accomplir ce travail.

Nous tenons à remercier vivement notre encadreur Monsieur MOUALEK IDIR pour tous les efforts qu'il a fait à notre égard et d'encadrer ce modeste travail, nous le remercions pour son suivi, ses orientations, ses conseils qui nous ont servi de référence.

Nous tenons à remercier les membres du jury d'avoir répondu présent à l'évaluation de ce modeste travail de fin d'études.

Nos vifs remerciements à Mr SEBBANE ; Mme IRATNI.G ; M^{elle} LAHCENE.S pour leurs aides et leurs précieux conseils.

Nos sincères remerciement à tous les professeurs que nous avons rencontrés tout au long de notre cursus.

Nous tenons à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à concrétiser ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

À ma chère mère aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que t'as consenti pour mon instruction et j'espère que ta bénédiction mon bien être. Je te remercie pour tout le soutien et l'amour que tu me portes depuis mon enfance et m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de tes vœux tant formulés, le fruit de tes innombrables sacrifices, bien que je ne t'en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, le Très Haut, t'accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne te déçois.

À mon cher père aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices consenti pour me construire et m'aider à devenir ce que je suis aujourd'hui. Puisse dieu t'accorder santé ; bonheur ; et longue vie.

À mon cher frère AHCEN aucune dédicace ne saurait suffisante pour tous les encouragements ; la bonté ; l'amour ; l'affection que j'apprécie chaque jour dans ma vie.

À mes chères tantes et oncles.

À Tous mes amis

À mon binôme Malek.

NABIL

Dédicaces

Je dédie ce travail :

À ma chère mère aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que t'as consenti pour mon instruction et j'espère que ta bénédiction mon bien être. Je te remercie pour tout le soutien et l'amour que tu me portes depuis mon enfance et m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de tes vœux tant formulés, le fruit de tes innombrables sacrifices, bien que je ne t'en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, le Très Haut, t'accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne te déçois.

A mon père. Et à mon cher frère Menad.

A mes chères sœurs Ourdia et Kahina, et à mon petit neveu Aris.

A mes amis préférés, Massinissa, Yani, et mon binôme Nabil.

MALEK

Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction	1
--------------------	---

Chapitre I : Généralités sur *Inula viscosa* L.

I-1-Historique des plantes médicinales	2
I-2-Présentation de la plante.....	2
I-2-1-Etymologie.....	3
I-2-2-Taxonomie	3
I-3- Description botanique	4
I-4- Répartition géographique	5
I-5- Vertus thérapeutiques et usages traditionnels	6
I-6-Travaux réalisés sur <i>Inula viscosa</i> L.....	7

Chapitre II : Métabolites secondaires et activité biologique

II-1-Métabolites secondaires.....	9
II-1-1-Les composés phénoliques.....	10
II-1-1-1-Les principales classes des polyphénols.....	10
II-1-1-1-1-Les formes les plus simples.....	14
II-1-1-1-1-1-Les acides phénoliques.....	14
II-1-1-1-1-2-Les flavonoïdes.....	14
II-1-1-1-2-Les formes condensés.....	17
II-1-1-1-2-1-Les tanins.....	17
II-1-1-1-2-2-Les lignines.....	18
II-1-1-1-2-3-Les coumarines.....	18
II-1-1-2-La biosynthèse des composés phénoliques.....	18
II-1-1-2-1- La voie de l'acide shikimique (ShikimicAcidPathway)	19
II-1-1-2-2-La Voie de l'acide malonique (MalonylPathway)	20
II-1-2-Les terpènes.....	21
II-1-2-1-Définition.....	21
II-1-2-2-Classification.....	21
II-1-2-2-1- Les monoterpènes.....	21
II-1-2-2-2- Les sesquiterpènes	22
II-1-2-2-3- Les Diterpènes.....	22
II-1-2-2-4- Les triterpènes.....	22
II-1-2-2-5- Les tétraterpènes.....	23
II-1-3-Les alcaloïdes.....	24
II-1-3-1-Les alcaloïdes vrais.....	25
II-1-3-2-Les proto-alcaloïdes.....	25
II-1-3-3-Les pseudo-alcaloïdes.....	25
II-2-Activités biologiques	25
II-2-1-Activité antioxydante.....	26
II-2-1-1-Les trois types d'antioxydants.....	26
II-2-1-1-1-Antioxydants de type I.....	26
II-2-1-1-2- Antioxydants de type II.....	26
II-2-1-1-3- Antioxydants de type III	26
II-2-1-2-Mécanisme d'action des antioxydants	27
II-2-1-2-1-Défense enzymatique.....	27
II-2-1-2-2-Défense non enzymatique	28
II-2-2-Activité anti-inflammatoire	29

II-2-3- Effet d' <i>Inula viscosa</i> L sur le système cardiovasculaire.....	30
II-2-4- Activités antibactériennes et antifongiques des Polyphénols.....	31
II-2-4-1- Activité antibactérienne	32
II-2-4-2-Activité antifongique.....	32

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre III : Matériels et méthodes

III-1-Matériels	34
III-1-1- Matériel végétal.....	34
III-1-2-Souches bactériennes.....	34
III-2-Méthodes	35
III-2-1-Préparation de l'extrait	35
III-2-2-Dosage des polyphénols totaux	35
III-2-3- Test du pouvoir antioxydant par réduction du fer (FRAP).....	37
III-2-4-Test de capacité antioxydante totale (TAC)	39
III-2-5-Activité antibactérienne	39
III-2-6-Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	40

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV-1-Analyses biochimiques.....	41
IV-1-1-Teneur en polyphénols totaux	41
IV-1-2-Réduction du fer.....	42
IV-1-3-Capacité antioxydante totale	43
IV-2-Activité antibactérienne.....	45
IV-2-1-Détermination de l'activité antibactérienne	45
IV-2-2-Détermination de la CMI	45
Conclusion.....	48

Références Bibliographiques

Annexes

Liste des figures

Figure 1 : Images représentant les différentes parties d' <i>Inula viscosa</i> L.....	5
Figure 2 : Les différentes classes des composés phénoliques.....	11
Figure 3 : Squelette des flavonoïdes.....	14
Figure 4 : forme anionique de l'acide shikimique	20
Figure 5 : Conversion du 3-déshydroquinone en 3-déshydroshikimate puis en shikimate	20
Figure 6 : molécule d'isoprène	21
Figure 7 : Représentation des monoterpènes.....	22
Figure 8 : Exemple d'alcaloïdes	24
Figure 9 : l'effet protecteur enzymatique contre le stress oxydatif	28
Figure 10 : structure d'acétate de Bornéol.	31
Figure 11 : Protocole de dosage des polyphénols. (LI et al., 2007)	36
Figure 12 : Protocole du test de réduction du Fer (FRAP) (YILDIRIM et al., 2001)	38
Figure 13 : Courbe d'étalon d'acide gallique	41
Figure 14 : Courbes de réduction du fer de l'extrait d' <i>inule visqueuse</i> comparé à la vitamine C(référence).	42
Figure 15 : Courbes du molybdène de l'extrait d' <i>inule visqueuse</i> comparé à la vitamine C(référence)	44

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification des polyphénols	12
Tableau 2 : Classes des composés flavonoidiques (BICHA, 2003).....	16
Tableau 3 : Classification des terpènes d'après MARIOTTA et <i>al.</i>,2001	23
Tableau 4 : Souches bactériennes testées.	34
Tableau 5: CMI de l'extrait vis-à-vis des souches utilisées	46

Liste des abréviations

ATB : Antibiotique.

ATCC : American Type Culture Collection.

BHIB : Brain Heart Infusion Broth.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

Chr : Chromatographie.

EAG/g .MS : Equivalent d'Acide Gallique par gramme de Matière Sèche.

ED : Eau Distillée.

ERO : Espèces Réactives d'Oxygène.

FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power.

PPT : Polyphénols Totaux.

Qst : Quantité suffisante.

ROS : Reactive Oxygen Species.

SM : Solution Mère.

TAC : Total Antioxydant Capacity.

UFC : Unité Formant Colonie.

ERN : Espèces réactives azotées.

CP : Composé phénolique.

Partie bibliographique

Introduction

Introduction

Actuellement, plusieurs questions sont soulevées concernant la sécurité des produits chimiques utilisés en médecine ou dans l'industrie alimentaire. En effet, la peroxydation des lipides produites au cours des processus de fabrication et de stockage des aliments sous l'action des radicaux libres de l'oxygène (ROS) conduit à la perte de la qualité et de la sécurité des aliments. Les antioxydants de synthèse généralement utilisés en industrie alimentaire pour inhiber l'oxydation des lipides se sont avérés responsables d'effets indésirables. De plus, l'usage excessif d'agents antibactériens en médication humaine et animal qui conduit à l'apparition de souches bactériennes multi-résistantes.

Les extraits bruts des plantes commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle en molécules naturelles bioactives. Elles font l'objet d'études pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses et pour la protection des aliments contre toute combustion et comme des anti-inflammatoires, et des anti-analgésiques.

Considérant l'importance de ce potentiel naturel dont une partie des plantes sont réputées pour leur pouvoir thérapeutique, nous nous sommes intéressées à une plante particulière, dénommée « *Inula viscosa* », qui est très répandue en Algérie et principalement en Kabylie.

Ainsi, le présent travail est axé sur l'étude des activités antimicrobiennes de l'extrait aqueux de cette plante. Dans ce cadre, on a réparti notre mémoire en deux parties distinctes, à savoir :

- ✓ La première partie consacrée à la synthèse bibliographique. Elle comprend trois chapitres :
 - Le premier : Porte sur l'étude botanique de l'*inule visqueuse* ainsi qu'aux travaux antérieurs et vertus médicinales de la plante.
 - Le second : S'intéresse aux principales classes de métabolites secondaires, comme les composés phénoliques, les huiles essentielles et les alcaloïdes.
 - Le troisième : Fait un état des lieux des différentes activités de la plante.
- ✓ La deuxième partie de ce travail est consacrée à la partie pratique ainsi qu'aux résultats obtenus lors de cette étude.

CHAPITRE I :

Généralités sur *Inula* *viscosa* L

I-1-Historique des plantes médicinales :

Depuis l'antiquité ; il existe une connaissance rationnelle des plantes médicinales qui détermine des milliers de plantes ; En 1635, LOUIS XIII crée à Paris le célèbre jardin royal des plantes médicinales riche de plus de 2300 espèces végétales (DELAVEAU *et al.*, 1983).

En 18^{ème} siècle, les plantes acquièrent leurs identités telles qu'elles sont connues aujourd'hui, à savoir un double nom indiquant le genre et l'espèce (BENROKIA et AOUAR, 2015).

En 18^{ème} siècle, ils ont découvert d'autres plantes naturelles, qui font la valeur thérapeutique des drogues héroïques et impressionnantes dont la morphine fut isolée par SERTUNER en 1817, la codéine par ROBIQUET en 1832, il isola aussi l'asparagine de l'asperge. La papavérine par MERCK en 1848. C'est aussi l'époque de l'isolement de l'inuline à partir de l'année en 1804. En 1820, il y'a eu isolement de la quinine et de la caféine. En 1860, isolement de la cocaïne de la feuille de coca et en 1879, isolement de la trinitrine (DJEDIOUI *et al.*, 2010).

En 19^{ème} siècle, les scientifiques découvrirent les principes actifs des plantes et isolèrent leurs propriétés essentielles à fin qu'ils les utilisent comme un traitement direct pour des différentes maladies tels que la plante '*Inula viscosa* L.' appelée « *Dittrichiaviscosa* (L) » découverte par GREUTER en 1973 et elle est nommée en l'honneur du botaniste allemand MANFRED DITTRICH (1934), spécialiste des Asteraceae à l'Herbier du Conservatoire et Jardin botanique de Genève, Suisse .(JEAN LECOMTE, 2015 et CATHERINE REEB, 2010 et RAYMOND GIMILIO, 2010 et SOL FRANCO-MICAN, 2008).

Toutes les civilisations antiques : mésopotamienne, égyptienne, chinoise, indienne, précolombienne avaient respectivement leurs propres panoplies de remèdes végétaux (MEKKIOU, 2005).

A ce jour, 20000 à 25000 plantes seraient utilisées dans la pharmacopée humaine. Environ 75 % des médicaments auraient une origine végétale dont 25 % d'entre eux contiendraient au moins une molécule active d'origine végétale (FOUCHE *et al.*, 2000).

I-2-présentation de la plante :

L'inule visqueuse L est une plante des régions méditerranéennes, très connue et largement utilisée en médecine traditionnelle. Elle appartient à la grande famille des composées, cette famille est l'une des plus distribuées dans le règne végétal et représentée

principalement dans les régions tempérées et froides du globe. Cette grande famille comprend plus de 13 tribus répartis en 1500 genres et 23000 espèces. En Algérie, il en existe 109 genres répartis en 408 espèces. Parmi les genres appartenant à la famille Compositae, le genre *Inula* comprend une variété d'environ 90 espèces. Il est largement distribué dans le bassin méditerranéen. (REEB et al., 2010).

D'après les recherches de CICCARELLI (2007), l'*inule visqueuse* L a été rattachée au genre *Dittrichia* (*Dittrichiaviscosa*) car elle possède des poils glanduleux sur l'ovaire, ce qui n'est pas le cas des autres plantes du genre *Inula*.

I-2-1-Etymologie :

Le nom *Inula* vient du grec « *Inéo* » qui signifie « je purge », faisant allusion à une propriété thérapeutique de la plante (FAURON et MOATI, 1983) d'où le nom d'*Aunée visqueuse* (FOURNIER et al., 1947).

I-2-2-Taxonomie :

D'après (FOURNIER et al., 1947), la position systématique de l'*inule visqueuse* L, est comme suite :

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous Classe : Gamopetales

Ordre : Campanulales

Famille : Compositae

Genre : *Inula*

Espèce : *viscosa* - L -

Synonymie : *Dittrichiaviscosa* L

Nom commun : *Inule*, *Aunée visqueuse*

Noms vernaculaires (QUEZEL et SANTA, 1963) : Magramane ou amagramane (en Afrique du Nord).

I-3-Description botanique :

L'espèce *Dittrichia viscosa*, communément appelée *inule visqueuse* L, est une plante vivace à souche ligneuse, d'une hauteur moyenne de 50 à 70 cm (elle peut toutefois atteindre jusqu'à 1,20 m) sur autant de large (AIT YOUSSEF et al., 2006).

Elle se distingue par une racine pivotante, une silhouette érigée et évasée et un feuillage caduc dense, visqueux et dont l'odeur forte rappelle celle du camphre. *Inula viscosa* L se développe rapidement et fait preuve d'une excellente rusticité, supportant des températures négatives jusqu'à -20 °C.

Les feuilles de l'*inule visqueuse* L (figure 1) sont alternes, sessiles (sans pétiole) et allongées à *lancéolées*. Elles mesurent de 3 à 7 cm de longueur et offrent une bordure ondulée et dentée pour les feuilles inférieures. Des poils glanduleux recouvrent non seulement le feuillage mais toute la plante, libérant une résine collante et odorante, justifiant le nom d'espèce « *viscosa* » (AIT YOUSSEF et al., 2006).

La floraison intervient en fin d'été, d'août à novembre. La plante se couvre de nombreux capitules jaune vif de 1 à 2 cm de diamètre et réunis en racèmes allongés au bout des tiges. Les fleurs du centre du *capitule* sont tubulées et jaune vif tandis que celles du pourtour sont ligulées et jaune pâle (figure 1) (AIT YOUSSEF et al., 2006).



(A)

(B)



(C)

Figure 1: Images représentant les différentes parties d'*Inula viscosa* L (photos personnelles).

I-4-Répartition géographique :

L'espèce *Inula viscosa* L est répandue dans tout le bassin méditerranéen. Cet arbrisseau pousse dans les champs denses et sauvages, sur les sols secs et calcaires.

L'*inule visqueuse* L se rencontre dans les lieux incultes : bords de chemins, décombres, terrains abandonnés, jachères, arrière-dunes ou garrigues bien ouvertes. Elle affectionne les milieux fraîchement perturbés par des travaux ou le passage du feu. Elle se rencontre autant sur sols argileux que sableux. C'est une espèce peu exigeante, on peut la trouver un peu partout en Algérie notamment dans les wilayas de Tizi Ouzou et Tlemcen ; ainsi c'est une plante mellifère se trouve généralement dans tous le bassin méditerranéen du monde entier mais plus particulièrement en corse et en Afrique du Nord.

I-5-Vertus thérapeutique et usages traditionnels :

Les plantes médicinales traditionnelles sont une puissante ressource de produits naturels biologiquement actifs avec de forts effets thérapeutiques qui pourraient être utilisés dans le traitement de différentes maladies, y compris le cancer.

Inula viscosa L est une plante vivace considérée comme l'une des plantes médicinales les plus essentielles du bassin méditerranéen (AIT YOUSSEF et *al.*, 2006).

Les feuilles sont utilisées séchées en tisanes ou des huiles essentielles en sont extraites. Citons, parmi les dizaines d'indications référencées, le traitement des rhumatismes, des bronchites, des maladies du système urinaire, digestif et même du paludisme. Les principes actifs de l'inule sont notamment le camphre, l'eucalyptol, le thymol (AIT YOUSSEF et *al.*, 2006).

Différentes plantes de ce genre, sont une source de sesquiterpénoïdes ayant un large spectre d'activités biologiques, appliqué depuis longtemps en médecine populaire pour ses activités anti-inflammatoires, anthelminthiques, antipyrétiques, antiseptiques et antiphlogistiques, et dans le traitement du diabète et des troubles pulmonaires (AIT YOUSSEF et *al.*, 2006).

Les feuilles de l'*inule visqueuse* L secrètent un mélange de résines tout au long de la durée de leur vie. Ces exsudats se composent de plusieurs flavonoïdes aglycones ainsi que de nombreux terpénoïdes. Ils ont une activité allélopathique et un effet inhibiteur vis-à-vis des microorganismes phytopathogènes. Ces feuilles sont utilisées en cataplasme pour traiter les abcès, la gale, les dermatoses, les furoncles, les ulcères, les gerçures. Elles sont aussi utilisées comme cicatrisant des plaies cutanées (HMAMOUCI et *al.*, 2001).

Les travaux de (BEZANGER et *al.*, 1990) affirment que l'hispiduline, qui est un flavonoïde présent dans la feuille de l'*inule visqueuse* L, exerce un pouvoir relaxant sur les muscles.

Selon BRUNETON (1999), *Inula viscosa* L exerce une activité antiparasitaire et antihelminthique et présente également des propriétés antifongiques à des concentrations de 10 µg/ml. D'après cet auteur, elle inhibe la croissance de *Microsporiumcookei*, *Trichophyton*

mentagrophyte et d'autres champignons pathogènes pour l'homme, d'où son utilisation dans le traitement de mycoses cutanées, essentiellement sous forme de poudre.

I.6-Travaux réalisés sur *Inula viscosa* L :

Les *inules* ont fait l'objet de nombreuses études phytochimiques du fait de leur richesse en divers métabolites secondaires.

Plusieurs équipes dont celle de chercheurs espagnols, anglo-saxons et algériens ont pu isoler sur des feuilles d'*Inula viscosa* L, couvertes de leurs exsudats visqueux, de nombreux flavonoïdes à savoir : l'hispiduline, la népétine la sakuranétine, l'aromadendrine et la taxifoline (AIT YOUSSEF *et al.*, 2006).

Une étude phytochimique réalisée sur la racine et la partie aérienne d'*Inula viscosa* L, d'origine espagnole, a abouti à l'isolement de nouveaux sesquiterpénoides tel que l'inulviscolide, 4-HTomentosin, et l'acide ilicique (BOUMAZA *et al.*, 2011).

D'autres travaux réalisés sur l'*inule visqueuse* L confirment l'existence de nombreux composés au niveau de sa partie aérienne à savoir : les flavonoïdes, les lactones sesquiteréniques et les triterpènes esters. Ces mêmes travaux ont permis également de révéler la présence d'autres constituants au niveau des racines. Il s'agit principalement de la Paraffine, de l'Inuline, de l'Hélénine et de trois sesquiterpènes essentiels à savoir l'alantole, l'alantolactone et l'acide allantique.

En outre, la plante contient également d'autres substances dites « mineures », comportant des résines et des pectines, constituant une matière noirâtre appelée : la Phytomélane.

De même, d'autres équipes de chercheurs ont étudié la composition chimique de l'huile essentielle (HE) d'*Inula viscosa* L, dont la teneur varie selon ses différentes parties : les feuilles (0,42%), les fleurs (0,29%) et les racines (0,28%). L'analyse de l'HE par chromatographie CG/MS (chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie en masse) a révélé la présence de plusieurs constituants variés dont les composants majoritaires sont : γ -terpène (36,9%), α -pinène (18,9%), β -pinène (8,9%), p-cymène (11,7%), limonène

(18,9%), 2,5-dimethoxy-p-cymène (21,2%), β - caryophyllène (16,58%) et α -cadinol (4,2%)(BENCHOHRA *et al.*, 2011).

Au début du 21^{ème} siècle plusieurs études qui sont basées sur les activités cytotoxiques et anticancéreuses d'*Inula viscosa* L dont ils ont démontré que ses activités se trouvent dans des lignées de mélanome de cancer du col de l'utérus et de cancer du sein. Ce qui fait attirer l'intention des autres chercheurs afin de définir la problématique et rétablir sa solution. Par coïncidence les chercheurs (ZHAO *et al.*, 2006 ; Y. LI *et al.*,2011) ont identifié une prometteuse sesquiterpène (SL) dérivée de deux plantes traditionnelles *Inula japonica* et *Inula helenium* (qui sont en expérience depuis 1991) cette prometteuse présente un puissant anticancéreux in vitro et in-vivo activité contre les BL (Lymphome de BURKITT) qui est une tumeur virale (non - hodgkinien) et qui provient d'évolution maligne et de proliférations des cellules lymphoïdes de type B.

Cette étude a pour objectif d'établissement d'activités anticancéreuses et anti-tumorales sur la lignée humaine (RAJI) dont ils ont appuyé sur l'extrait d'*Inula viscosa* L éthanolique obtenu à partir de la plante *Inula viscosa* L récolté sur l'île d'Asinara, en Italie.

En outre, le but de cette étude était de donner un aperçu sur des différents mécanismes cytotoxiques et moléculaires dans l'*Inula viscosa* L qui consiste des proportions anticancéreuses et qui contribue aussi au développement de nouveaux agents thérapeutiques contre les BL (VIRDIS *et al.*, 2020).

CHAPITRE II :

**Métabolites
secondaires et
activités biologiques.**

II-1-Métabolites secondaires :

Les plantes ont une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes. Elles renferment une partie importante de composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme.

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires que sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces et, bien que leurs rôles soient encore mal connus, il est cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent. Ils sont probablement des éléments essentiels de la coévolution des plantes avec les organismes vivants, tels que parasites, pathogènes et prédateurs, mais aussi pollinisateurs et disséminateurs. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires (BENYAHIA *et al.*, 2014).

Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Elles exercent un rôle majeur dans l'adaptation des végétaux à leur environnement, en assurant la protection des plantes contre les agressions extérieures (les herbivores et les infections microbiennes). Cependant, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante (LARDRY J.M *et al.*, 2007).

La diversité des espèces utilisées et des métabolites secondaires déjà isolés laisse présager de l'ampleur de ce qui reste à découvrir. On considère effectivement que, jusqu'à ce jour, moins de 10 % des espèces de végétaux supérieurs qui peuplent actuellement la planète ont été explorées pour leurs propriétés chimiques et biologiques (BONNAFOUS *et al.*, 2013).

Les métabolites secondaires sont généralement des molécules de bas poids moléculaire qui peuvent être hydrophiles ou lipophiles. La majorité sont regroupés en trois classes sur la base de leur origine biosynthétique : les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques (CROTEAU *et al.*, 2000).

Chacune de ces classes est elle-même subdivisée en plusieurs sous classes renfermant une très grande variété de composés possédant une très large gamme d'activité biologique (ALI *et al.*, 2001 ; LI *et al.*, 2007).

II-1-1-Les composés phénoliques :

▪ Définition :

Le terme composé phénoliques ou polyphénols est utilisée indifféremment pour désigner tout produit du métabolisme secondaire des végétaux, Ils se caractérisent par la présence d'un noyau benzénique, portant un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une fonction ester, éther ou hétéroside. Le ou les noyaux aromatiques peuvent être synthétisés soit par la voie du shikimate, soit par celle de l'acétate, ce qui permet de différencier deux classes de composés phénoliques. Par ailleurs, la voie des polyacétates intervient chez les végétaux supérieurs pour des composés possédant déjà un noyau aromatique obtenu par la voie des shikimates. Les composés obtenus sont dits mixtes (flavonoïdes) (FLEURIET *et al.*, 2005).

Les composés phénoliques (CP), constituent l'une des plus grandes familles de molécules largement répandues dans le règne végétal. Ils sont présents dans toutes les parties de la plante (BETA *et al.*, 2005).

Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues (FERGUSON *et al.*, 2001 ; HABAUZIT et HORCAJADA, 2008) ; Ils sont communément subdivisés en **flavonoïdes** (flavones, flavonols, anthocyanidines, isoflavones, flavonones, catéchines) ou **non-flavonoïdes** (resvératrol, acides phénoliques, lignanes). Les polyphénols sont de puissants antioxydants qui peuvent aider à neutraliser les radicaux libres qui sont des composés instables, se forment à la suite de facteurs tels que les rayonnements UV, les radiations, le tabac, la pollution atmosphérique, l'inflammation etc... et qui s'accumulent dans le corps en causant des dommages au niveau des cellules (stress oxydatif) (TAPIERO *et al.*, 2007).

II-1-1-1-Classification des polyphénols :

Il existe différentes classes de polyphénols (Figure 2 ; Tableau 1), notamment : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes, les lignanes, les saponines, les phytostérols ou bien phytostanols. Les plus importants sont : les acides phénols, les flavonoïdes et les tanins.

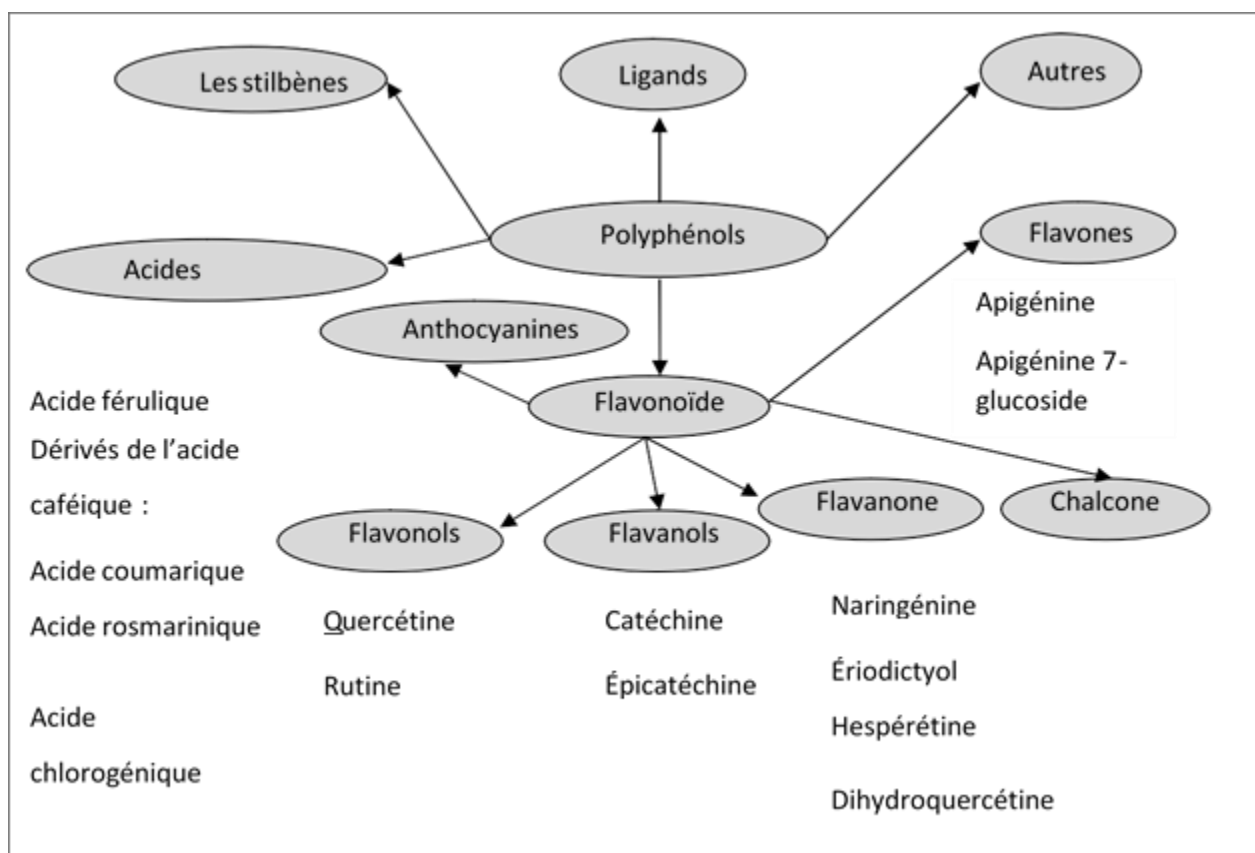

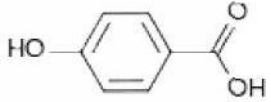
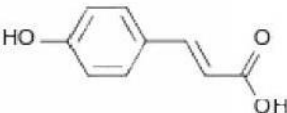
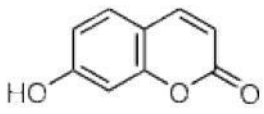
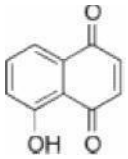
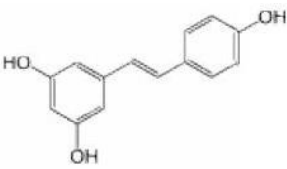
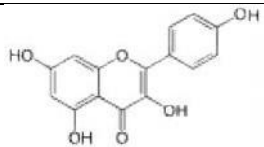
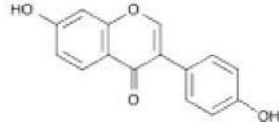
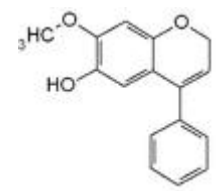
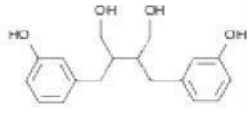



Figure 2 : Classification des polyphénols (BOROS et al., 2010).

Chapitre II : Métabolites secondaires et activités biologiques.

Tableau 1: Classification des polyphénols (SARNI, 2006 ; BRUNETON, 2009).

Composés phénoliques				
Squelette carboné	Classe	Exemple	Structure	Origine
C ₆	Phénols simples	hydroquinone		Busserole
C ₆ -C ₁	Acide shydroxybenzoïques	Acide parahydroxybenzoïque		Épices, fraises
C ₆ -C ₃	Acide shydroxycinnamiques	Acide paracoumarique		Tomates, ail
	Coumarines	ombelliférone		Carottes, coriandre
C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	juglon		Noix
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbénoides	trans-resvératrol		Raisin
	Flavonoïdes	kaempférol		Fraises

C ₆ -C ₃ -C ₆	Isoflavonoïdes	daidzéine		Graines de soja
	Anthocyanes	dalphiniol		Petits fruits rouges
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	entérodiol		Bactéries intestinales
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines			Bois, fruits à noyaux
(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Tanins condensés	procyanidine		Raisins, kaki

II-1-1-1-Les formes les plus simples :

II-1-1-1-1-Les acides phénoliques :

Selon BENYAHIA (2014), ils sont subdivisés en deux groupes, à savoir :

- **Les acides hydroxybenzoïque** : ils dérivent de l'acide benzoïque. Ils se présentent sous forme libre, estérifiée ou glycosylée et leur concentration est généralement très faible chez les végétaux comestibles (NADOUR, 2010).
- **Les acides hydroxycinnamique** : les acides hydroxycinnamique (ou acides coumariques) dérivent de l'acide cinnamique. Ils ont une structure de base C₆-C₃. Il s'agit d'une classe importante dont les molécules de base sont l'acide p-coumarique (et ses dérivés), l'acide caféique, l'acide férulique et l'acide sinapique (NADOUR, 2010).

II-1-1-1-2-Les flavonoïdes :

Les composés flavoniques sont des pigments exclusivement végétaux très répandus. Ce sont des composés C₁₅ qui ont tous la structure C₆-C₃-C₆. Chimiquement, ils sont construits à partir d'un hétérocycle de type flavane (deux noyaux benzéniques A et B, encadrant un hétérocycle oxygéné). Le noyau B est plus ou moins hydroxylé et méthylé. Ils forment des hétérosides de glucose, galactose, xylose ou rhamnose (fixés en général sur les carbones 3 et 5) (Figure3) (BRUNETON et al., 1999).

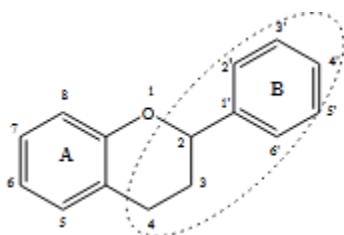


Figure 3 : Squelette de base des flavonoïdes (BICHA et al., 2003).

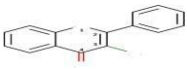
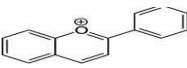
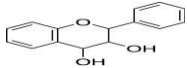
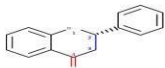
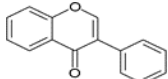
Les flavonoïdes sont présents dans des organismes très divers. On les trouve par exemple dans les végétaux, où ils interviennent dans la symbiose entre les fabacées et les bactéries du groupe rhizobium. Elles sont connues pour leurs diverses propriétés biologiques telles que les antioxydants, anti-inflammatoire, antithrombique, antibactérienne, antihépatotoxique, antitumorale, antihypertensive, antivirale et antiallergique.

Chapitre II : Métabolites secondaires et activités biologiques.

Les composés flavonoidiques sont regroupés en une dizaine de classes (Tableau 2), dont six principales classes peuvent être mentionnées. Les flavones et les flavonols sont les composés les plus répandus, alors que les flavanones, les flavonols, les chalcones et les anthocyanidines sont considérés comme des flavonoïdes minoritaires (BRUNETON et *al.*, 2002).

Chapitre II : Métabolites secondaires et activités biologiques.

Tableau 2: Classes des composés flavonoïdiques (HEIM E.K et *al.*, 2002).

Les flavonoïdes	Exemples	Aliments
Flavonols 	Kamphérol, quercétine	Fruits, légumes, fleurs
Anthocyanes 	Cyanidine, pélargonidine	Fleurs, fruits rouges
Flavanols 	Catéchine, épicatechine	Pomme, raisin
Flavanones 	Naringénine	Citrus
Isoflavonols 	Daidzéine	Soja

II-1-1-2-Les formes condensées :

Ce sont des composés obtenus généralement de la condensation de certaines des formes simples de CP. Les formes condensées sont particulièrement difficiles à étudier et dans la plupart des cas, on est obligé de les dégrader, chimiquement ou enzymatiquement, avant de pouvoir les analyser. On en distingue :

II-1-1-2-1-Les tanins :

Ils représentent une classe très importante des polyphénols localisés dans pratiquement toutes les parties des végétaux (écorces, racines, feuilles...). Ils sont caractérisés par leur aptitude à se combiner aux protéines, aux glucides et aux enzymes, formant ainsi des complexes insolubles. Deux groupes de tanins différents, aussi bien par leur structure que par leur origine biogénétique, sont distingués (BENYAHIA et *al.*, 2014) :

- **Les tanins hydrolysables** : Ils sont composés de sucre et d'acide phénol. Ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique, libérant ainsi une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique (tanins galliques), soit de l'acide éllagique (tanins éllagiques) et une partie nonphénolique, qui est souvent du glucose ou de l'acide quinine (SARNI-MANCHADO et *al.*, 2006).
- **Les tanins condensés** : ce sont des polymères de flavonols (Catéchols). Contrairement aux tanins hydrolysables, ils sont résistants à l'hydrolyse et seuls des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader et ne possèdent pas de sucre dans leurs molécules. Ils sont très abondants dans certains organes végétaux consommés ou utilisés par l'homme. Ils sont responsables de l'astringence caractéristiques des fruits avant leur maturité (raisin, pêche, pomme, etc....) et de certaines boissons (vin, cidre, thé, etc....), de même de l'amertume du chocolat (SARNI-MANCHADO et *al.*, 2006).

Chapitre II : Métabolites secondaires et activités biologiques.

II-1-1-2-2-Les lignines :

Ce sont des molécules complexes, accumulées dans les parois végétales avec des polysaccharides comme la cellulose et les hémicelluloses. Les lignines constituent un polymère amorphe et hydrophobe qui, en se déposant dans les parois cellulaires cellulosiques, leur confère une grande rigidité et une importante résistance mécanique. Leur synthèse résulte de la polymérisation d'unités monomériques, appelés monolignols. Les lignines dérivent de l'acide para-coumariques, qui se convertit monolignol (MOROTGAUDRY et PRAT, 2012).

II-1-1-2-3-Les coumarines :

Les coumarines ont également le squelette de C₆-C₃, mais elles possèdent un hétéroatome l'oxygène en tant qu'élément du C₃-unit. Il y a de nombreuses coumarines, beaucoup jouent un rôle dans la maladie et la résistance de parasite. Elles présentent un intérêt physiologique, inhibant de la croissance des graines en germination. Les coumarines, en présence d'UV, se lient aux bases pyrimidiques de l'ADN. Les coumarines du mélilot (*Melilotus officinalis*) et du marronnier d'Inde (*Aesculus hippocastanum*) contribuent à fluidifier le sang alors que les furanocoumarines comme le bergaptène, contenu dans le céleri (*Apium graveolens*), soignent les affections cutanées et que la khelline de la khella (*Ammi visnaga*) est un puissant vasodilatateur coronarien.

II-1-1-2-La biosynthèse des composés phénoliques :

La biosynthèse du noyau aromatique est un des processus fondamentaux de la biochimie végétale. La biogenèse du noyau aromatique est apparue au cours de l'évolution de la plante puisque la protéogénèse fait appel à trois acides aminés aromatiques. Nous allons parcourir les différentes étapes de biogenèse du noyau aromatique, appelée également cyclogénèse ou voie de l'acide shikimique. Il existe une seconde voie de biosynthèse, plus fréquente chez les bactéries, champignons et plantes inférieures, qui consiste à réaliser un ensemble de noyaux aromatiques par cyclisation des chaînes polycétoniques, elles-mêmes obtenues par condensation de groupements acétates (MERGHEM.R et *al.*, 2020).

Chez les végétaux supérieurs, cette voie des poly-acétates concerne un certain nombre d'entre eux. En revanche cette seconde voie intervient pour réaliser un second noyau benzénique chez les végétaux supérieurs pour de nombreux composés possédant déjà un

Chapitre II : Métabolites secondaires et activités biologiques.

noyau aromatique obtenu par la voie de l'acide shikimique. C'est le cas des composés mixtes dont les représentants les plus importants sont les flavonoïdes (MERGHEM.R et *al.*, 2020).

La Formation du noyau aromatique (Cyclogénèse) Le principal mode de fonction du noyau aromatique emprunte l'acide shikimique (acide en C₆-C₁) lequel donne naissance à l'acide phénylpyruvique puis à l'acide cinnamique (C₆-C₃) (MERGHEM.R et *al.*, 2020).

II-1-1-2-1-La voie de l'acide shikimique (ShikimicAcidPathway) :

Est une voie métabolique aboutissant à la biosynthèse de certains acides aminés aromatiques. Cette voie débute par la condensation de l'acide phospho-énol-pyruvique (PEP) avec l'érythrose-4-phosphate, réaction comparable à celle de la phosphodihydroxy-acétone (DHAP) avec l'érythrose phosphate, lors de la photosynthèse (Cycle de Calvin). Cela conduit à la formation de l'acide shikimique (3 étape) (Figure 4 et Figure 5), ensuite après une condensation avec une nouvelle molécule de PEP, de l'acide préphénique (4 étape), qui par décarboxylation et déshydratation, est à l'origine de l'acide phénylpyruvique (MERGHEM.R et *al.*, 2020).

Ainsi, il ne se forme pas uniquement un noyau aromatique, celui-ci s'accompagnant d'une chaîne latérale en C₃. Le mode de formation de la tyrosine et de la phénylalanine à partir du préphénate varie en fonction des espèces et des groupes de végétaux et fait appel à la transamination (D.E. METZLER et *al.*, 2003).

Les 5 étapes de la formation du chorismate : (D.E. METZLER et *al.*, 2003)

- 1_Condensation du phosphoénolpyruvate et de l'érythrose-4-phosphate en DAHP.
- 2_Conversion du DAHP en 3-déshydroquinone.
- 3_Conversion du 3-déshydroquinone en 3-déshydroshikimate puis en shikimate.
- 4_Conversion du shikimate en 3-phosphoshikimate puis en 5-O-(1-carboxyvinyl)-3-phosphoshikimate.
- 5_Conversion du 5-énolpyruvyl-3-phosphoshikimate en chorismate.

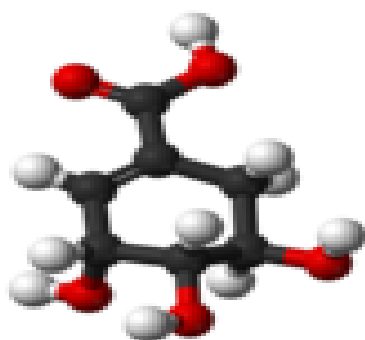


Figure 4 : forme anionique de l'acide shikimique (JOHANSSON et *al.*, 2005)

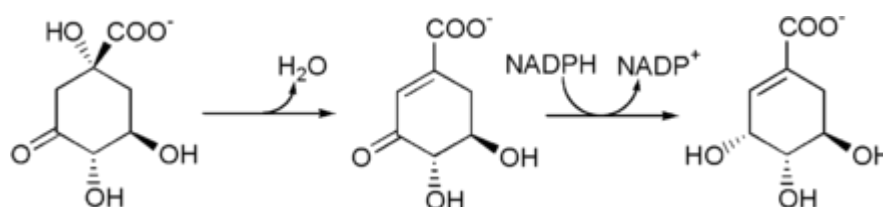


Figure 5 : Conversion du 3-déshydroquinone en 3-déshydroshikimate puis en shikimate (D .E.METZLER et *al.*, 2003).

II-1-1-2-2-La voie de l'acide malonique (MalonylPathway) :

C'est une synthèse qui permet de synthétiser de nombreux acides carboxyliques primaires ou secondaires à partir du malonate de diéthyle qui est un diester : il s'agit de deux fonctions esters reliées par un groupe méthyle (KLAUS M.HERRMANN et *al.*, 1999).

Ce mode est défini aussi par une formation plus secondaire consiste la cyclisation des chaînes polycétoniques, elles-mêmes obtenues par condensation de groupements acétates. La condensation des groupements acétates ne se fait qu'après carboxylation de l'acétylCoA en malonyl-CoA. Ce mode de formation est celui qui prédomine chez les plantes non vertes, synthèse de l'acide pénicillique par les *Penicillium*, synthèse des anthoquinines chez les Lichens et les Champignons (MERGHEM.R et *al.*, 2020).

Chez les flavonoïdes, les anthocyanes, le cycle benzénique latéral provient de l'enchaînement de 3 acétyl-CoA.

II-1-2-Les terpènes :

II-1-2-1-Définition :

Les terpènes, appelés aussi terpénoïdes, constituent une classe de substances naturelles extrêmement abondante.

Ce sont des constituants habituels des cellules végétales. Ils sont présents chez toutes les plantes et possèdent des activités biologiques très diverses. Plusieurs d'entre eux sont exploités à l'échelle industrielle (industries des cosmétiques, du caoutchouc, de l'agroalimentaire pour les arômes et les colorants alimentaires, etc....) (BELLOUM ,2007).

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels résultant de la combinaison de plusieurs unités d'isoprènes (C_5H_8) (Figure 6), dont la formule de base est constituée de multiples de celle-ci, c'est-à-dire $(C_5H_8)_n$ (BENYAHIA et *al.*, 2014).

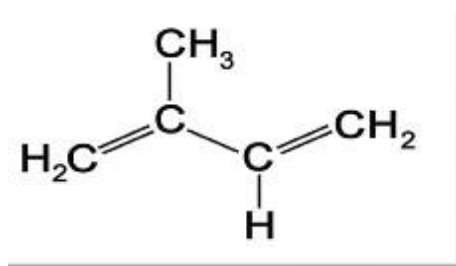


Figure 6 : molécule d'isoprène (MALECKY et *al.*, 2008).

II-1-2-2-Classification :

II-1-2-2-1-Les monoterpènes :

Ils sont les plus simples constituants des terpènes, ils sont odorants, très volatils et majoritaire dans la composition d'une huile essentielle. Ils peuvent être acycliques (ex : myrcènes, ocimènes), monocycliques (ex : α et γ terpènes, p-cymène) ou bicycliques (ex : pinènes) et sont porteurs de groupements fonctionnels variés (Figure 7) (BONNAFOUS et *al.*, 2013).

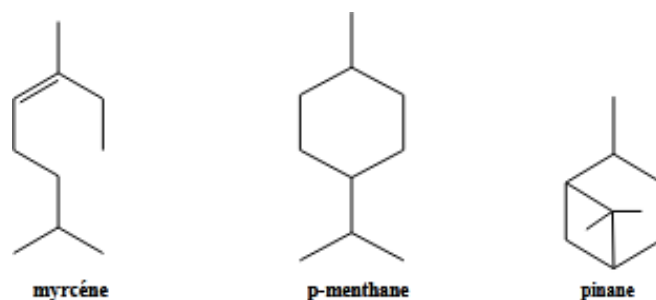


Figure 7 : Représentation des monoterpènes (BONNAFOUS et *al.*, 2013).

II-1-2-2-2-Les sesquiterpènes :

Ce sont des composés volatils et fortement odorants. Leur squelette de base est constitué de 15 atomes de carbones. Selon (BRUNETON et *al.*, 2009), c'est la classe la plus diversifiée des terpènes, vu qu'elle en renferme plus de 3000 molécules. Ce sont des composés volatils et fortement odorants.

Les sesquiterpènes se divisent en plusieurs catégories structurales : acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques et polycycliques. Ils peuvent se trouver sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones (BRUNETON et *al.*, 2009).

II-1-2-2-3-Les Diterpènes :

Les diterpènes constituent une des classes des terpènes qui sont classifiées dans le tableau 3 ; ayant tous un squelette carboné en C₂₀. Ils sont présents chez certains insectes et chez divers organismes marins, ils sont répandus notamment chez les végétaux supérieurs, telle que les Asteraceae, on les classe en fonction de leur diversité structurale.

La structure peut être acyclique et cyclique ou tricycliques (BRUNETON et *al.*, 2009).

II-1-2-2-4-Les triterpènes :

Les triterpènes sont des composés en C₃₀, issus de la condensation de six molécules d'isoprène, ils forment un groupe important de produits naturels.

Selon (MALECKY et *al.*, 2008), il existe plus de 1700 triterpènes dans la nature, dont la majorité est sous forme tétracyclique ou pentacyclique, la forme acyclique étant rare. Parmi les triterpènes acycliques, il citera le squalène, qui est le précurseur des autres triterpènes, tout

Chapitre II : Métabolites secondaires et activités biologiques.

affirmant que la plupart des triterpènes sont des alcools, sous forme libre ou glycoside (les saponines) (MALECKY et *al.*, 2008).

L'utilisation des triterpènes dans l'industrie pharmaceutique à des fins thérapeutiques a été observée. Ils rentrent dans la production de médicaments stéroïdiques ayant des propriétés contraceptives, anabolisantes et anti-inflammatoires (MALECKY et *al.*, 2008).

II-1-2-2-5-Les tétraterpènes :

Leur squelette renferme 40 atomes de carbone, selon (MALECKY et *al.*, 2008) les seuls représentants de ce groupe sont les caroténoïdes, substance colorée en jaune, orange ou rouge, auxquelles de nombreuses fleurs et fruits doivent leurs couleurs.

Tableau 3 : Classification des terpènes d'après (AMOR.L et *al.*, 2020).

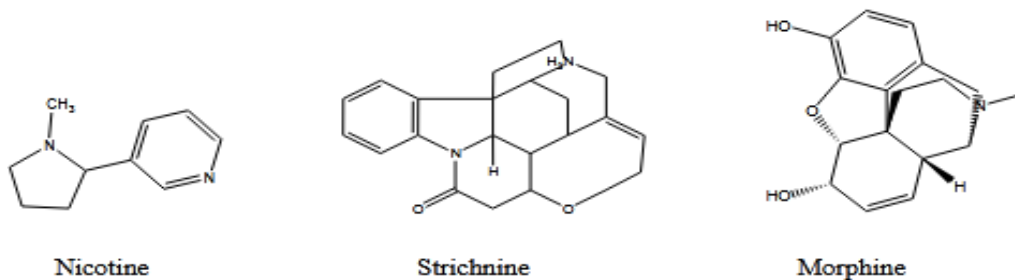
Nom	N° unités x C	Exemple de molécule
Hémiterpènes	1	Isoprène
Monoterpènes	2	Aromes volatiles, parfums
Sesquiterpènes	3	Phytoalexines
Diterpènes	4	Phytol, gibberellines, Phytoalexines
Sesterterpénoïdes	5	Aromes volatiles , parfums d'eucalyptus
Triterpènes	6	Brassinostéroïdes, stéroïdes de membranes, certaines toxines
Tétraterpènes	8	Caroténoïdes
Polyterpènes	>8	Plastoquinones, ubiquinones, polymère(latex)

II-1-3-Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes (Figure 8) sont des substances organiques, le plus souvent d'origine végétale. De structure moléculaire hétérocyclique azotée, très complexe à caractère basique (BRUNETON *et al.*, 1999 ; ZENK et JUENGER., 2007).

Plusieurs milliers ont été identifiés et leur inventaire est loin d'être terminé. C'est un groupe chimiquement très hétérogène qui renferme des noyaux variés. Leur synthèse est spécifique. Ils ont des propriétés pharmacodynamiques très puissantes et variées. Ce sont pour la plupart des poisons végétaux très actifs comme la strychnine (BRUNETON *et al.*, 1999).

Des travaux ultérieurs ont confirmé que la vacuole constitue un lieu de stockage pour une grande variété d'alcaloïdes, une même vacuole pouvant renfermer plusieurs types moléculaires dans certaines espèces.



Quelques exemples d'alcaloïdes

Figure 8 : Exemples d'alcaloïdes (WALTON et BROWN, 1999).

L'importance de ces molécules réside dans le fait qu'ils possèdent de puissantes activités biologiques même à faibles doses (BOUCHELTA *et al.*, 2005).

Elles sont utilisées par exemple comme antidépresseurs, stimulants, anesthésiques, antitumoraux, antipaludiques etc. (BRUNETON *et al.*, 1999).

Le rôle des alcaloïdes dans les végétaux demeure peu connu. En effet, leur fréquente toxicité, même à faible dose, est souvent l'argument principal pour mettre en évidence la fonction de défense contre la prédation dans les interactions plante-herbivore (BOUCHELTA *et al.*, 2005).

Chapitre II : Métabolites secondaires et activités biologiques.

En plus de leur toxicité, ils ont un goût généralement amer, qui est un argument supplémentaire aux fonctions de défense chimique de la plante vis-à-vis des prédateurs.

Certains alcaloïdes constituent une réserve de substances capables de fournir l'azote ou d'autres éléments nécessaires au développement de la plante (BADIAGA *et al.*, 2011).

De nombreux auteurs pensaient que ces alcaloïdes se retrouveraient exclusivement dans le règne végétal, mais un certain temps, un nombre non négligeable d'alcaloïdes a été isolés chez certains animaux (MC CALLEY *et al.*, 2002).

On peut classer les alcaloïdes en trois classes (BRUNETON *et al.*, 2009) :

II-1-3-1-Les alcaloïdes vrais : ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ce sont des substances douées d'une grande activité biologique, même à faibles doses. Ils apparaissent dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme d'un sel, ou combinés avec tanins (BRUNETON *et al.*, 2009) ;

II-1-3-2-Les proto-alcaloïdes : ce sont des amines simples, dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle. Ils dérivent aussi d'acides aminés (BRUNETON *et al.*, 2009) ;

II-1-3-3-Les pseudo-alcaloïdes : ils ne sont pas dérivés d'acides aminés. Ils peuvent cependant être indirectement liés à la voie des acides aminés par l'intermédiaire d'un de leurs précurseurs, ou d'un de leurs dérivés (BRUNETON *et al.*, 2009).

II-2-Activités biologiques :

Les produits naturels notamment d'origine végétale ont toujours été une source d'agents thérapeutiques dont le stress oxydatif est le facteur principal et il peut créer divers maladies chroniques humaines comme le cancer, les maladies cardiovasculaires, neurodégénérative, inflammation et le diabète...etc. Par contre actuellement environs 25-30 % des médicaments disponibles dépendent essentiellement des plantes médicinales ; ces derniers déterminent un traitement des différentes sources de l'arsenal thérapeutique de l'humanité dont les polyphénols sont des molécules d'intérêt en raison de leurs nombreuses propriétés qui sont responsables des bienfaits pour la santé et pourraient prévenir de nombreuses affections et dans divers troubles.

II-2-1-Activité antioxydante :

D'après les résultats expérimentaux des dernières années ; les molécules bioactives d'origine végétales ne cessent pas de s'évoluer pour un intérêt majeur en raison de protection de la santé et ces dernières sont portées principalement par les polyphénols. Cela conduit les chercheurs et les scientifiques d'explorer le monde végétal à la recherche des différents composés pouvant être utiles pour résoudre les différents problèmes thérapeutiques.

À cet effet, les différentes méthodes expérimentales représentent la clef pour le développement d'aliments fonctionnels ou la formulation de suppléments alimentaires chimio-préventifs au pouvoir antioxydant (ANTOLOVICH *et al.*, 2002) et qui seront utiles contre les affections causées par le stress oxydatif (Figure 9) (STAGOS *et al.*, 2020) ainsi contre le vieillissement cellulaire assuré par les anthocyanes (VANDI *et al.*, 2016).

Un antioxydant est une molécule qui empêche et ralentit l'oxydation d'autres substances chimiques à leur contact. Ils sont aussi définis par des enzymes ou de simples molécules ; Certains sont produits par l'organisme, ce sont les antioxydants endogènes, ou proviennent de l'alimentation ou la médication et sont donc exogènes. (THOMAS DESMIER *et al.*, 2016).

II-2-1-1-Les trois types d'antioxydants : (GRAMZA et KORCZAK, 2005) :

II-2-1-1-1-Les antioxydants de type I :

L'action des antioxydants de type I repose sur leur capacité à inactiver les radicaux libres. Ils inhibent la propagation des réactions radicalaires en développant des hydrogènes aux radicaux libres présents afin de former un radical stable (BELAICHE *et al.*, 1979).

II-2-1-1-2-Les antioxydants de type II :

Ce type d'antioxydant prévient la formation des radicaux libres et peut intervenir par différents mécanismes. Les flavonoïdes (un énorme potentiel antioxydant naturel) rentrent dans cette catégorie d'antioxydants. Ils agissent en piégeant ou en décomposant diverses molécules impliquées dans la production des radicaux libres (oxygène, ions métalliques, peroxydes) et en complexant les métaux pro-oxydants (ROEDING-PENMAN et GORDON, 1998).

II-2-1-1-3-Les antioxydants de type III :

Ils regroupent les facteurs de l'environnement qui ont une action antioxydante en agissant sur le potentiel redox du milieu, la température, la pression en oxygène, la lumière.

Chapitre II : Métabolites secondaires et activités biologiques.

L'efficacité des antioxydants peut être augmentée par l'utilisation d'un mélange d'antioxydants de type I et II. L'association de ces deux types d'antioxydants permet d'inhiber les phases d'initiation et de propagation de l'oxydation des lipides (FRANKEL *et al.*, 1998).

Les propriétés antioxydantes des polyphénols sont étroitement liées à leurs structures chimiques (RICE *et al.*, 1995) et le type de composé, le degré de méthylation et le nombre de groupes hydroxyle sont quelques-uns des paramètres qui déterminent l'activité antioxydante.

II-2-1-2-Mécanismes d'actions des antioxydants :

II-2-1-2-1-Défenses enzymatiques :

Ces systèmes sont composés d'enzymes telles que le superoxyde dismutase (SOD), la catalase. Et la peroxydase, capables d'éliminer les radicaux libres et d'autres espèces réactives.

II-2-1-2-1-1-Le superoxyde dismutase (SOD) :

Il catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en hydrogène peroxyde (H_2O_2) et en Oxygène (JORIS.V *et al.*, 2015).

Il existe plusieurs iso enzymes qui diffèrent selon la localisation chromosomique du gène, leur contenu leur métallique, structure quaternaire et leur localisation cellulaire. Il y a 3 isoformes des SOD à cofacteurs métallique (Cu, Zn-SOD, Mn-SOD) et sont localisés dans le cytoplasme et la mitochondrie ; Dans l'être humain (JORIS.V *et al.*, 2015).

II-2-1-2-1-2-Catalase :

Cette enzyme est localisée essentiellement dans les peroxysomes. Elle permet de convertir deux molécules de H_2O_2 en H_2O et O_2 (JORIS.V *et al.*, 2015).

II-2-1-2-1-3-Glutathionne peroxydase :

Une enzyme à cofacteur de sélénium se localise dans le cytosol (CGPx) et la matrice Mitochondriale. Dans le plasma (PGPx), au niveau de la membrane cellulaire (HPGPx), et on retrouve une isoenzyme qui est spécifique aux cellules digestives (GIG Px). Elles fonctionnent toutes selon le mécanisme catalytique suivant : (JORIS.V *et al.*, 2015)

Chapitre II : Métabolites secondaires et activités biologiques.

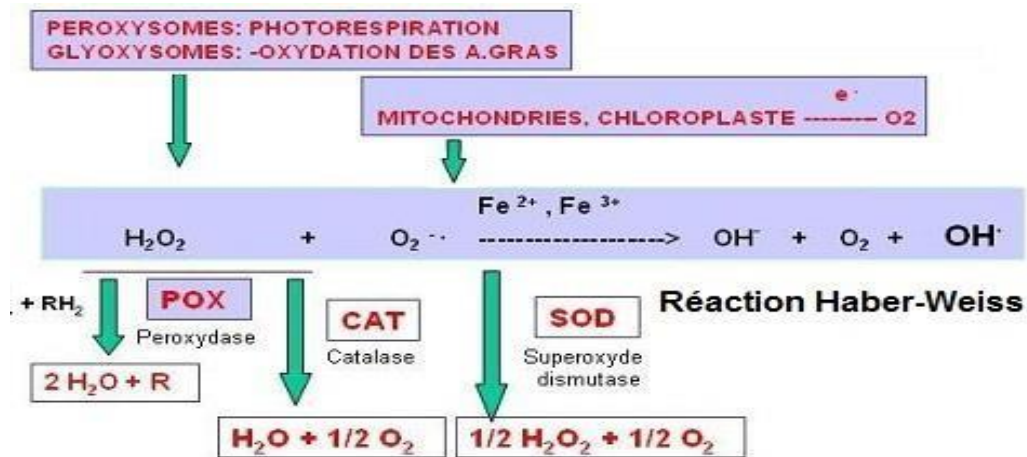
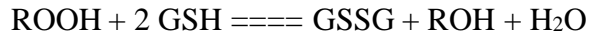
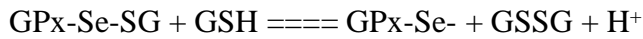
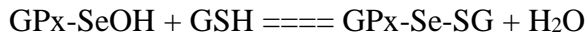
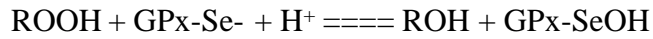


Figure 9 : l'effet protecteur enzymatique contre le stress oxydatif (LAMHAMDI.M et *al.*, 2009).

II-2-1-2-2-Défenses non enzymatiques :

Elle inclue tous les antioxydants capables de neutraliser seulement un radical libre par molécule tels que les vitamines C et E, les caroténoïdes, les composés phénoliques, les flavonoïdes, l'albumine, l'acide urique, les polyamines, l'acide lipoïque, etc.... (JORIS VIDÈ et *al.*, 2015).

II-2-1-2-2-1-La vitamine E :

Est un antioxydant liposoluble majeur, sous forme d'atocophérol, se localise surtout dans la membrane externe des mitochondries et dans celle de la réticuline endoplasmique. Elle est présente dans tous les organes, à l'exception du cerveau. C'est dans le foie, le cœur, les reins, les pommons, la rate, les muscles squelettiques et le tissu adipeux que son activité est la plus forte, connu notamment pour empêcher La réaction de peroxydation lipidique (JORIS VIDÈ et *al.*, 2015).

II-2-1-2-2-2-La vitamine C :

Est un antioxydant hydrosoluble, qui se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire mais dans muscle et le foie ont les concentrations les plus faibles. Elle peut piéger directement l'anion super oxyde (O_2^-), le radical hydroxyle (OH), l'oxygène singulier et réduit peroxyde d'hydrogène en eau via l'acrobate peroxydase. En plus, Elle permet la régénération de la forme non radicalaire de la vitamine E. La vitamine C (Annexe 4) réduire le radical α tocophérol qui permet une bonne efficacité de la vitamine E (JORIS VIDÈ et *al.*, 2015).

II-2-1-2-2-3-L'acide urique :

Est un antioxydant connu pour se lier avec le fer, le cuivre et piéger certains radicaux libres. L'augmentation de la concentration en acide urique plasmatique, qui dans différents types d'exercices intenses (aérobies ou anaérobies), résulterait d'une accélération du métabolisme des purines au niveau du muscle avec activation de la xanthine oxydase, enzyme bien connue pour produire des radicaux libres (JORIS VIDÈ et *al.*, 2015).

II-2-1-2-2-4-Caroténoïdes :

L'activité antioxydant de ces molécules repose principalement sur la présence de nombreuses doubles liaisons conjuguées au sein de leur structure. Généralement, elles interagissent avec les radicaux libres ($ROO\bullet$ $R\bullet$) par 3 mécanismes, soit par l'abstraction d'hydrogène, transfert d'électron et addition du radical (JORIS VIDÈ et *al.*, 2015).

II-2-2-Activité anti-inflammatoire :

L'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression et c'est un processus qui permet d'éliminer le pathogène et de réparer les dommages tissulaires causés par ces agents causals. Cependant ; durant les différentes parties de l'inflammation peut y avoir des effets négatifs en raison de l'agressivité du pathogène, de sa persistance, du site inflammatoire, par dérégulation du processus inflammatoire ou par altération quantitative ou qualitative des cellules ce qui signifie l'effet des médiateurs cellulaires durant ces dernières ainsi peut être décrit sous forme d'une part de systèmes d'activation plasmatique (DERBAL NEDJLA et FEDALI HANANE, 2015).

Le système d'activation plasmitique consiste l'activation de certaines molécules qui agissent en inhibant l'inflammation ; on distingue trois (3) types :

- **Systèmes coagulation et fibrinolyse** : consiste la formation de la fibrine intra vasculaires et extravasculaires à partir du fibrinogène (Coagulation), et la formation de la plasmine qui détruit la fibrine par protéolyse. Ce système intervient en double positions dont il stimule l'action de la thromboplastine tissulaire sur la surface des monocytes et des cellules endothéliales ; et stimule aussi t l'activité des polynucléaires neutrophiles, des plaquettes (DERBAL NEDJLA et FEDALI HANANE, 2015).
- **Système du complément** : est un système multiprotéique fait d'une trentaine de protéines, il intervient dans les mécanismes de défense antibactérienne et dans les mécanismes de l'inflammation (C₃, B et D) (DERBAL NEDJLA et FEDALI HANANE, 2015).
- **Système des kinines** : ce système est basé sur l'action de ces molécules du kinines qui sont générer à partir de précurseurs inactifs (les kininogènes) clivés par des protéases (DERBAL NEDJLA et FEDALI HANANE, 2015).

Le système des médiateurs cellulaires consiste une synthèse de biomolécules qui interviennent dans les différents métabolismes de l'inflammation ayant pour but de l'inhibée dont l'histamine qui permet la perméabilité capillaire et l'acide arachidonique libéré par les phospholipides de la membrane qui assure le blocage de l'inflammation en utilisant (2) deux variétés d'enzymes : les lipooxygènes et les cyclooxygènes (DERBAL NEDJLA et FEDALI HANANE, 2015).

II-2-3-Effet d'*Inula viscosa* L sur le système cardiovasculaire :

Le système cardiovasculaire est un circuit fermé caractérisé par plusieurs paramètres d'échanges sanguins et une anatomie complexe qui consiste des vaisseaux sanguins dont il figure des artères, des veines et des capillaires ceux qui assure le transport du sang, du cœur au divers organes et en retour de ceux-ci vers le cœur. D'après plusieurs spécialistes en cardiologie ; ce système présente une fragilité élevée donc une multitude de facteurs peuvent influencer sur lui, et qui conduisent ce dernier a plusieurs problèmes provoquent donc des maladies cardiovasculaires et parmi ses effecteurs l'alimentation, le tabac, la vie sédentaire ...etc. Ce qui à pousser plusieurs chercheurs et spécialistes à lancer des recherches pour trouver des préventions et des remèdes pour ses affections dangereuses sur chaque organisme vivant.

Chapitre II : Métabolites secondaires et activités biologiques.

En effet ; dans la première décennie du 20^e siècle certains d'entre eux ont trouvés que les plantes médicinales sont parmi les remèdes les plus efficaces dont l'*Inule visqueuse* L est présente. L'*Inule visqueuse* L agit sur ce système en stimulant l'activité cardiaque et évitant plusieurs autres insuffisances tels que l'hypertension artérielle ; troubles du rythme cardiaque et cela par la sécrétion des huiles contenant du bornéol ou l'acétate de bornyle (Figure 10) permettent avant tout de réguler le rythme cardiaque en atténuant notamment les états d'arythmie cardiaque ou de tachycardie ; ces deux derniers touchent jusqu'à 67% des huiles d'*Inule visqueuse* L (CAMARDA.I et *al.*, 1990).

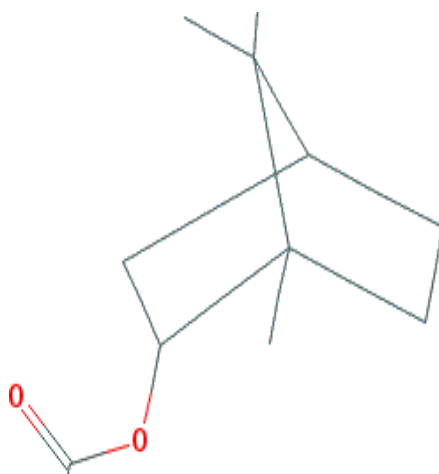


Figure 10 : structure d'acétate de Bornéol (acétate de bornyle)
(W.R. SCHEARER et *al.*, 1984).

II-2-4-Activité antibactérienne et antifongique des polyphénols :

Selon (SCALBERT et *al.*, 1999), de nombreuses études *in vitro* menées sur les CP, ont confirmés que ce sont des agents antimicrobiens contre un grand nombre de microorganismes pathogènes avec des spectres d'activités variables, probablement dû à leurs diversités structurales.

D'après COWAN (1999), les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposées être reliées à leurs relative toxicité envers les micro-organismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité. Il a été rapporté que plus les C.P sont oxydés et plus ils sont inhibiteurs des micro-organismes (SCALBERT, 1999).

II-2-4-1-Activité antibactérienne :

D'après (DAGLIA et *al.*, 2012), les CP possèdent des activités antibactériennes. Les composés appartenant aux acides phénoliques les plus représentatifs de ces activités sont les acides cinnamiques et caféïques, lesquels sont particulièrement efficaces contre de nombreuses souches de bactéries.

Ainsi les flavonoïdes avec leurs différentes classes, ont un grand potentiel antibactérien (REZAIRE et *al.*, 2012).

En effet, ils s'attaquent à un très grand nombre de bactéries, avec une intensité qui diffère selon le micro-organisme et l'écosystème dans lequel il se trouve. Ils sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries notamment :

Staphylococcus aureus, *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus Mirabilis* ... etc. (AKROUM et *al.*, 2011).

L'action inhibitrice des flavonoïdes sur la croissance bactérienne était étudiée par KATARZYNA et *al.*, 2007. Ils ont démontré que de nombreux composés flavoniques (Apigénine, Kaempferol et d'autres) sont doués d'un effet remarquable sur différentes souches bactériennes à gram négatif (*Escherichia coli*) et gram positif (*Staphylococcus aureus*) (Annexe 3). Ces composés flavoniques sont étés décrits comme des composés bactéricides et baococcusctériostatiques très efficaces (AKROUM et *al.*, 2011).

D'après CHAOUCHE (2014), les tanins ont joué un rôle important au cours de l'évolution des végétaux en leur conférant un avantage adaptatif vis-à-vis des agents pathogènes. Ils exercent leur activité antibactérienne par interaction avec la membrane cellulaire, qui induit un changement morphologique de la bactérie, en inhibant l'activité des protéases, des protéines de transport et des adhésines.

II-2-4-2-L'activité antifongique :

Parmi les CP ayant une activité antifongique on cite les tanins. Ces derniers possèdent une activité toxique contre les champignons filamenteux et les levures (DIXON et *al.*, 2005 ; ENGELS et *al.*, 2011).

Le mécanisme d'action des polyphénols sur ses agents pathogènes n'est pas bien connu. En effet, les études exploitées par DOMENCO *et al.*, 2005 ont mené à conclure que l'effet antimicrobien des produits poly-phénoliques est dû à une perturbation de la membrane plasmique des microorganismes entraînant la perméabilité de celle-ci et la perte de ses organites intracellulaires (DOMENCO *et al.*, 2005).

COX *et al.*, 2000 ont rapporté que l'activité antifongique est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique, ce qui entraîne une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la cellule. Les composés terpéniques et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique de la levure (GLORDANI *et* KALOUSIAN, 2006).

Partie expérimentale

CHAPITRE III :

Matériels et méthodes

III-Matériels et méthodes :

Les différents protocoles réalisés ayant pour objet d'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de *Inule visqueuse* L ; ont été menés au niveau du laboratoire de recherche en biochimie analytique et biotechnologie (LABAB) dirigé par le professeur HOUALLIK dans la faculté des sciences biologiques et agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

III-1-Matériels :**III-1-1-Matériel végétal :**

Les feuilles de *Inule visqueuse* L ont été récoltées en mois d'avril 2021, dans la région de Ouacif 36° 31' 25" Nord, 4° 12' 20" Est ; wilaya de Tizi-Ouzou. Arrivées au laboratoire ; celles-ci subissent un tri et un nettoyage à l'eau distillé (Annexe 4).

Une fois égouttées, elles sont séchées à l'air libre, à température ambiante et à l'ombre.

La fin du séchage est déterminée par l'obtention de trois pesées consécutives à poids constant. En fin les feuilles séchées sont finement broyées à l'aide d'un broyeur électrique afin d'obtenir une fine poudre qui sera stockée dans des petits bocaux en verre.

III-1-2-Souches bactériennes :

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux des feuilles d'*Inule visqueuse* L est testée sur quatre souches (Annexe 3) de références (Tableau 4) :

Tableau 4 : Souches bactériennes testées.

Gram positif (+)	Gram négatif (-)
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
ATCC 43300	ATCC 25852
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia Coli</i>
ATCC 10876	ATCC 25922

Le choix de ces souches est motivé par leur pouvoir pathogène. Celles-ci proviennent de la collection de l'unité de microbiologie appliquée du laboratoire de recherche en biochimie analytique et biotechnologie (LABAB) de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

III-2-Méthodes :

III-2-1-Préparation de l'extrait :

20 g de poudre de feuilles ont été macérés dans 200 ml de l'eau distillée (1/10) pendant 24h sous agitation continue, puis filtré sur laine de verre. Le filtrat obtenu est réparti dans des cristallisoirs puis congelé pendant 24h à -80°C. Après congélation le filtrat sera lyophilisé.

Le lyophilisat obtenu est stocké à l'abri de l'humidité et de la lumière.

III-2-2-Détermination de la teneur en polyphénols totaux (PPT) :

Le dosage des polyphénols totaux est effectué selon la méthode utilisant le réactif Folin-Ciocalteu (figure 11) (LI et *al.*, 2007).

Ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique, qui est réduit lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène (BOIZOT et CHARPENTIER, 2006). L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques contenus dans l'échantillon analysé. Dans chaque tube à essai, 200 µl d'extrait dissout dans de l'eau distillée à une concentration d'échantillon allant de 100 µg/ml jusqu'à 5000 µg/ml sont mélangés à 1 ml du réactif Folin-Ciocalteu (dilué au dixième) et 800 µl d'une solution de carbonate de sodium à 75mg/ml (Annexe 4). Le mélange est incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 45 minutes. L'absorbance est mesurée à 760 nm (spectrophotomètre UV-visible MEDLINE MD 2000) et les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g) en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique réalisée aux concentrations allant de 10 à 120 mg/ml.

Le blanc est préparé en mélangeant 200 µl d'eau distillée avec 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué au dixième) et 800 µl de solution de carbonate de sodium (Annexe 4).

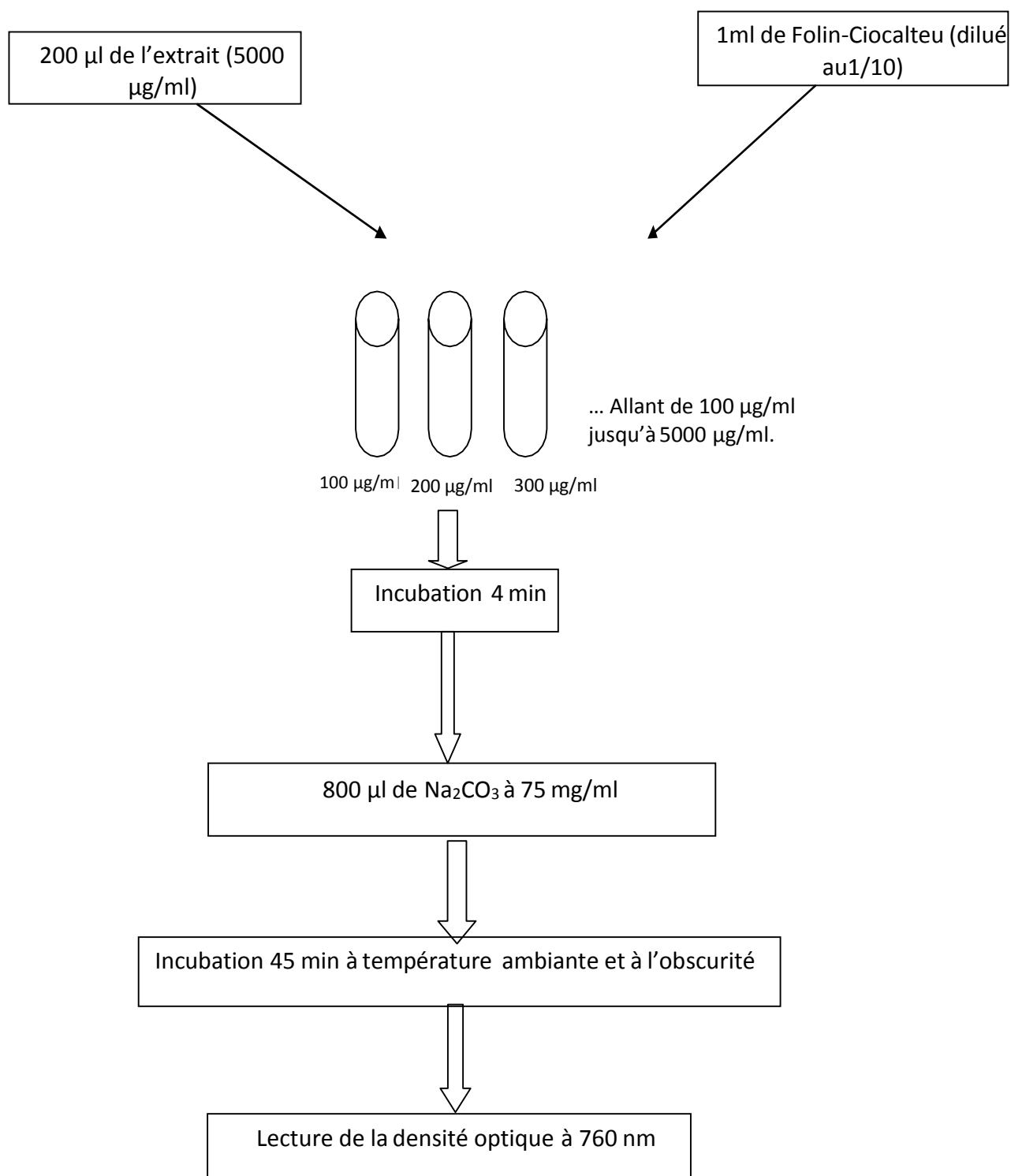


Figure 11 : Protocole de dosage des polyphénols (LI et al., 2007).

III-2-3-Test du pouvoir antioxydant par réduction du fer (FRAP) :

La méthode utilisée est celle décrite par OYAIZU (1986).

Le test de l'activité réductrice de l'ion ferrique est basé sur la capacité des phénols à réduire le Fe^{3+} en Fe^{2+} . Cette réduction conduit à la formation d'un complexe bleu prussien (GÜLÇİN et *al.*, 2011).

L'augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel indique l'augmentation de la réduction du fer. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif (comme référence) et dans les mêmes conditions opératoires ainsi que dans la même gamme de concentration.

Cette méthode (figure 12) consiste à mélanger 400 μ l de l'extrait à différentes concentrations (100 à 5000 μ g/ml) avec 400 μ l de tampon phosphate (annexe 2) (0.2 M à pH 6.6) et 400 μ l d'une solution de $K_3Fe(CN)_6$ à 1% (m/v) (ferricyanure de potassium) (Annexe4).

Le mélange obtenu est incubé pendant 20 minutes à 50 °C, puis 400 μ l d'acide trichloracétique(TCA) (CCl_3COOH) à 10% est ajouté. Le mélange est centrifugé à 3000 tr/m pendant 10 min.

400 μ l du surnageant sont prélevés et sera additionnés de 400 μ l d'eau distillée et 80 μ l de chlorure de fer ($FeCl_3$) à 0.1% (Annexe 4). La lecture de l'absorbance se fait à 700 nm. L'appréciation du pouvoir réducteur de l'extrait et du standard est effectuée par le calcul de l'IC50.

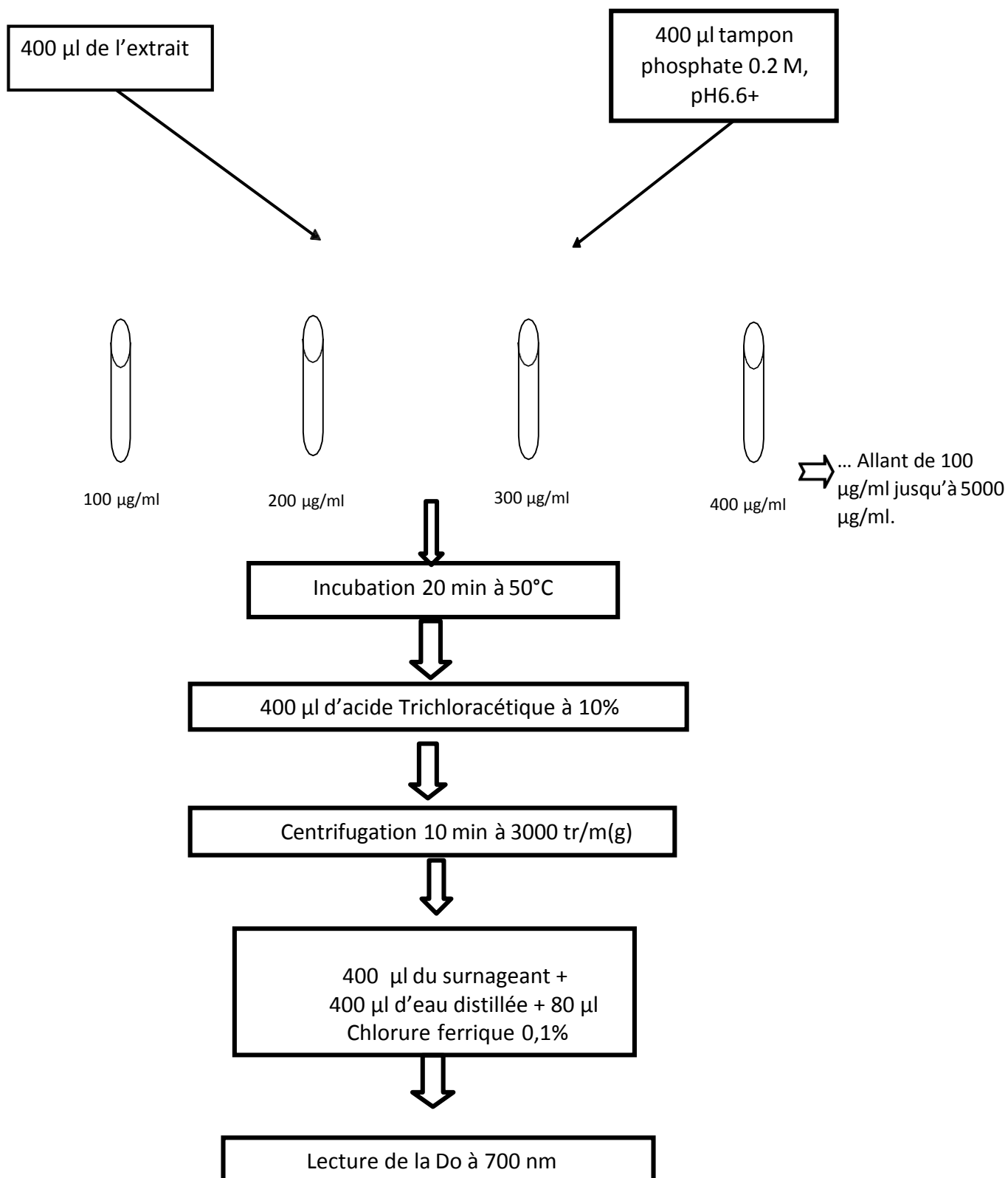


Figure 12 : Protocole du test de réduction du Fer (FRAP)(YILDIRIM et al., 2001).

III-2-4-Test de capacité antioxydante totale (TAC) :

Dans cet essai, le mécanisme réactionnel est basé sur la réduction du molybdène(VI) au molybdène (V) par les composés réducteurs présents dans les échantillons. Le complexe obtenu est composé de phosphomolybdate (V) de couleur verte, et son absorbance est mesurée par spectrophotométrie à 695 nm (PRIETO et *al.*, 1999).

Le protocole expérimental suivi est celui de (PRIETO et *al.*, 1999). Dans des tubes à essai nous mélangeons, 0.1ml de l'extrait végétal (notre gamme de concentration allant de 100 à 5000 µg/ml) et 1 ml de réactif (0,6 mM H²SO₄ + 28 mM Na₂HPO₄ + 4 mM de molybdate d'ammonium). Le mélange est incubé à 95°C pendant 90 minutes au bain marie. Après 20 min de refroidissement, la lecture de l'absorbance se fait à 695 nm. L'acide ascorbique est utilisé comme référence dans les mêmes conditions opératoires ainsi que dans la même gamme de concentrations. L'appréciation du pouvoir réducteur de l'extrait et du standard est effectuée par le calcul de l'IC₅₀ qui est une mesure quantitative de l'efficacité d'un composé ou une substance nécessaire pour inhiber à moitié un processus biologique donné, revenant à son calcul et sa détermination se fait par une projection qui est requise pour une inhibition de 50%.

III-2-5-Evaluation de l'activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux d'*Inule visqueuse* L est évaluée par la méthode décrite par FALLEH et *al.*, 2008 vis-à-vis de 4 souches (Annexe 3) bactériennes : *Staphylocoques Aureus* ATTC 43300, *Pseudomonas Aeruginosa* ATTC 25852, *E. coli* ATTC 25922, *Bacillus Cereus* ATTC 10876.

Les souches bactériennes sont préalablement revivifiées en milieu BHIB (24h à 37 °C), isolées en colonies par la méthode des stries sur milieu Mueller-Hinton, puis ré-incubées à 37 °C pendant 24 h sur le même milieu. Une ou plusieurs colonies sont prélevées pour réaliser une suspension standardisée dans l'eau physiologique (Annexe 4) (10⁶ - 10⁸ UFC/ml, à 620 nm, Do= 0,08 à 0,1). De nouvelles boîtes sontensemencées à partir de cet inoculum par écouvillonnage. Des disques de papier Whatman n° 1 de 6 mm de diamètre, stériles, sont déposés à la surface du milieu Mueller-Hinton (gélose Mueller-Hinton) (Annexe 1) puis chargés de 15 µl des extraits aqueux à des concentrations différentes allant de 160 mg/ml

(0.160 g d'extrait dans 1 ml d'eau distillée) à 250 mg/ml. Les disques des contrôles négatifs (imprégnés d'eau distillée) et des contrôles positifs (antibiotique de référence gentamicine 10µg/disque) sont placés à la surface de ces boîtes puis le tout est pré-incubé 30 minutes sur paillasse à température ambiante puis incubé à 37°C pendant 24h. Les résultats correspondants aux diamètres des zones d'inhibition produites autour des disques sont exprimés en millimètre.

III-2-6-Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) :

La détermination des concentrations minimales inhibitrices est réalisée sur milieu solide (Mueller-Hinton) (DZOMBA et MUCHANYEREYI, 2012), pour les souches bactériennes (Annexe 3) ayant exprimé une susceptibilité vis-à-vis de l'extrait. Une série de dilutions de l'extrait est réalisée dans de l'eau physiologique. Parallèlement, l'inoculum bactérien est réalisé dans de l'eau physiologique stérile (10^6 - 10^8 UFC/ml, à 620 nm, $D_{0.08}$ à 0,1). Une série de disques imbibés par différentes concentrations d'extrait (15µl/disque), sont disposés à la surface des boîtes de pétri préalablementensemencées par l'inoculum bactérien, laissés 15 minutes sur la paillasse pour une pré-diffusion de l'extrait, puis incubé 24 heures à 37°C.

La concentration minimale inhibitrice correspond à la plus petite concentration d'extrait qui inhibe toute culture visible d'une souche bactérienne après incubation.

CHAPITRE IV :

Résultats et discussions

IV-1-Analyses biochimiques :

IV-1-1-Détermination de la teneur en polyphénols totaux :

L'extrait aqueux obtenu par macération a subi une analyse quantitative de sa teneur en polyphénols par dosage spectrophotométrique. La teneur en polyphénols de 120.83 ± 0.014 mg EAG /g d'extrait a été obtenue en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Annexe 4) utilisé comme référence (Figure 13).

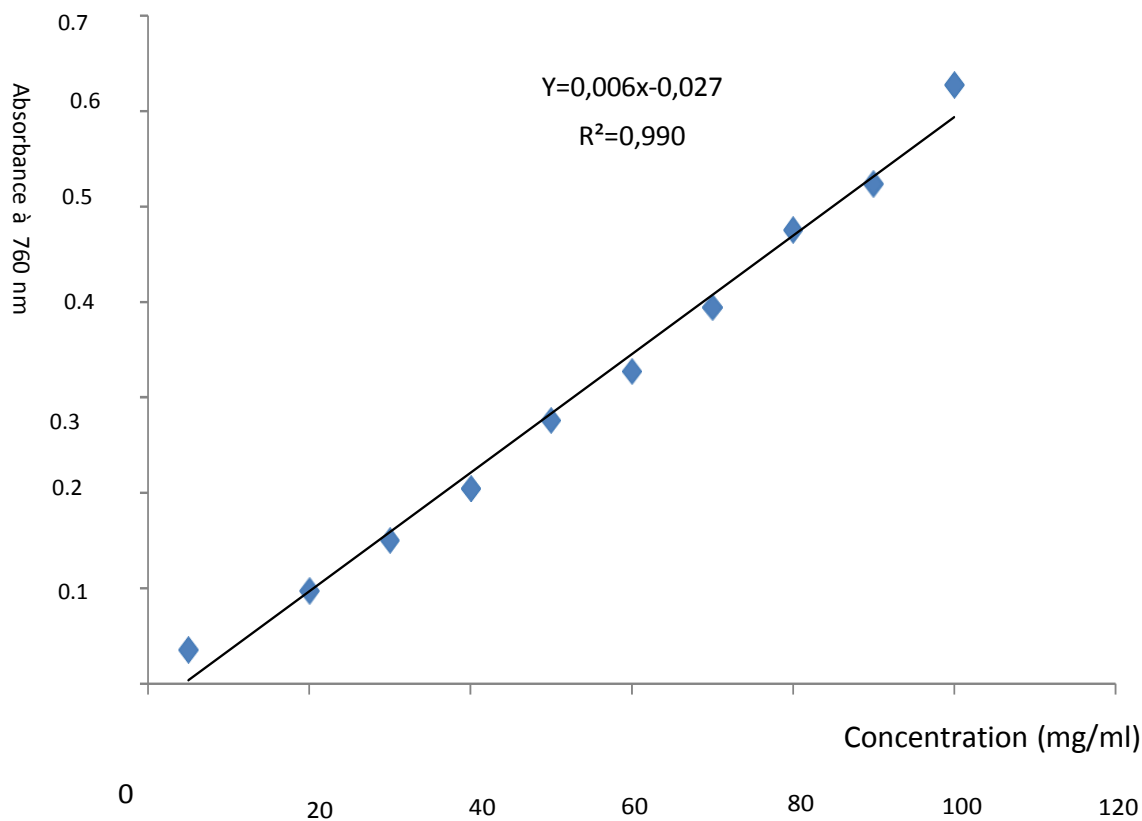


Figure 13 : Courbe d'étalon d'acide gallique.

Le résultat obtenu montre que la teneur moyenne en polyphénols totaux de l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* L est faible par rapport aux valeurs rapportées dans la littérature, comme c'est le cas dans une étude réalisée par (S.M. ALBANO et *al.*, 2012) qui rapporte un taux de 207.84 ± 15.03 mg EAG /g d'extrait.

Néanmoins, comparativement à une étude portugaise réalisée par SQUALLI H et *al.*, 2007. Les teneurs en polyphénols enregistrées pour notre plante restent relativement supérieures ($84 \pm 0,010$ mg EAG / g d'extrait).

Les variations des teneurs en poly phénols de cette plante rapportés dans la littérature, peuvent s'expliquer par différents paramètres, comme la partie étudiée, le stade physiologique, la saison, le stress, la composition des milieux ...etc. (DERRICHE et *al.*, 2015).

IV-1-2-Réduction du fer (FRAP) :

L'une des techniques les plus utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits végétaux est la réduction de l'ion ferrique (GÜLÇİN et *al.*, 2005).

L'activité antioxydante de cet extrait a été évaluée en utilisant la méthode FRAP dans une gamme, allant de 100 $\mu\text{g/ml}$ à 5000 $\mu\text{g/ml}$. Cette méthode en plus d'être simple, rapide et reproductible, est une référence pour la détermination du potentiel antioxydant des extraits végétaux (LI et *al.*, 2008).

Dans cette étude, l'appréciation du pouvoir réducteur se fait en fonction de l'absorbance de l'échantillon en se référant aux absorbance du référent la vitamine C (figure 14).

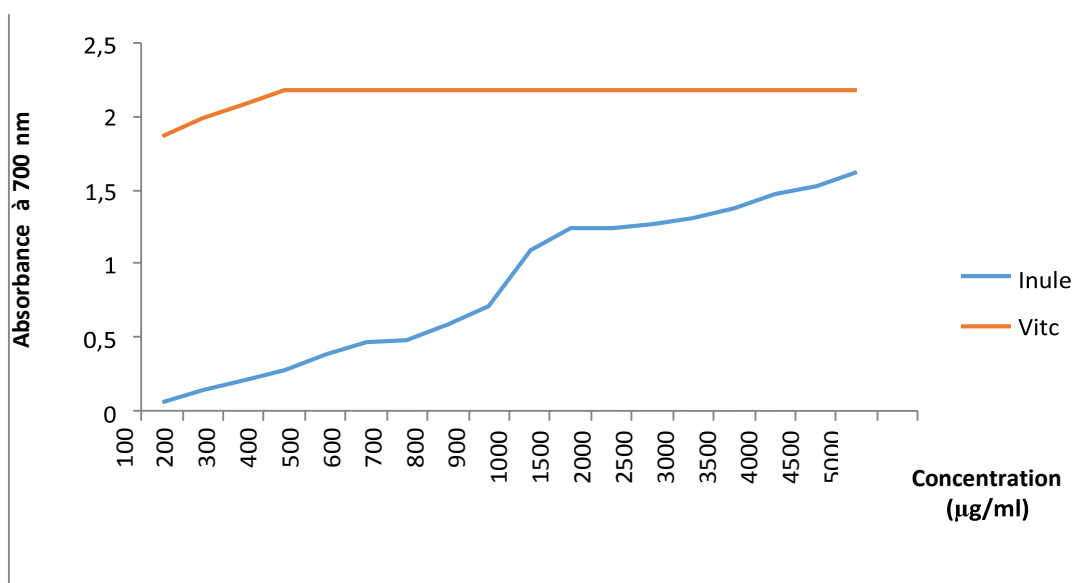


Figure 14 : Courbes de réduction du fer de l'extrait d'*Inule visqueuse* L comparé à la vitamine C (référence).

Les résultats obtenus passent d'un taux de réduction de 2,99% à 53,9% pour des concentrations allant de 100 µg/ml à 5000 µg/ml.

Nos résultats indiquent des densités optiques inférieures à celle enregistrée pour la vitamine C (Annexe 4). Ce qui implique une plus faible activité antioxydante par rapport à ce référent.

Cette faible activité réductrice est d'autant plus maquée par le calcul de l'IC50, qui correspond à la concentration en biomolécules induisant l'inhibition de 50 %.

L'IC50 950 µg/ml (qui correspond à 0.81 ± 0.146 µg/ml) calculé pour notre extrait se trouve être supérieure à celui obtenu par (S. M. ALBANO et *al.*, 2012).

Diverses études ont investigué l'activité antioxydante des extraits végétaux et sont arrivés aux conclusions suivantes :

- Les extraits bruts sont plus actifs, cela est due surement à la complexité de ces extraits en substance poly phénoliques et la synergie entre eux pour une meilleure activité antioxydante (VERMERRIS et *al.*, 2006).
- L'efficacité de l'antioxydant augmente si la force de la liaison hydrogène est faible et le radical résultant doit être le plus stable possible, ce qui est le cas pour les composés phénoliques et flavonoïdes, ce sont des meilleurs donneurs d'électron ou d'hydrogène (SHAIDI et NACZK., 2004).
- Plusieurs études ont montré que les groupements hydroxyles dans les composés phénoliques sont responsables de leur pouvoir antioxydant (HEIMet *al.*, 2002).

IV-1-3-Test de capacité antioxydante totale (TAC) :

La figure (15) illustre les résultats obtenus pour le test du pouvoir réducteur du molybdène dans la gamme des concentrations de l'extrait étudié (*Inule visqueuse* L) :

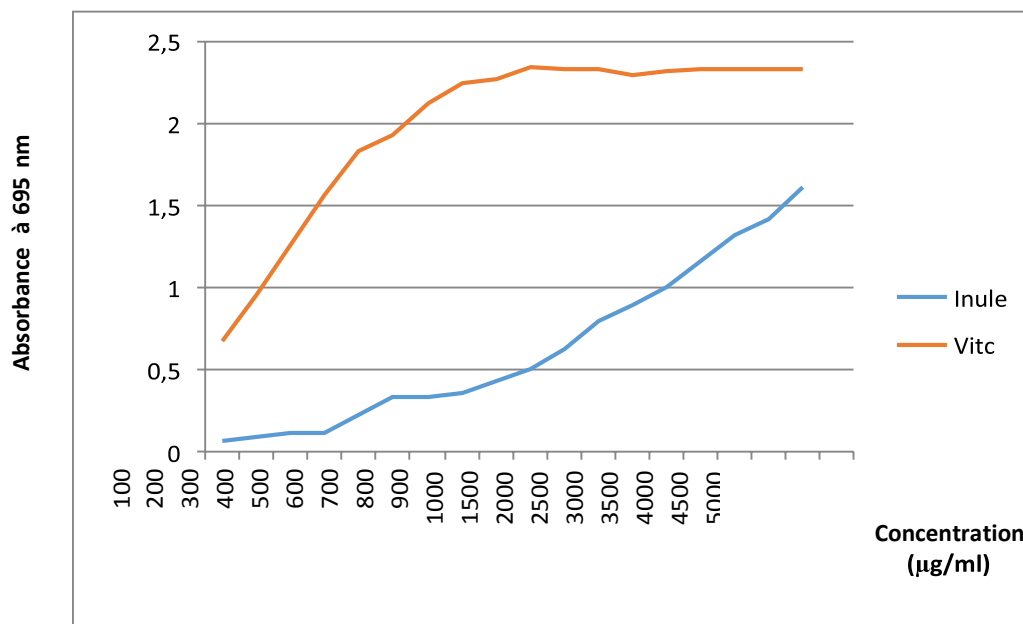


Figure 15 : Courbes de réduction du molybdène de l'extrait d'*Inule visqueuse* L comparé à la vitamine C (référence).

Les résultats enregistrés révèlent que le pouvoir antioxydant de notre extrait augmente de façon dose dépendante de 21% à 53.9% avec une pente importante. La pente enregistrée reste néanmoins plus faible que celle de la courbe de la vitamine C.

Cette différence est très soulignée par le calcul de l'IC50 qui pour l'extrait étudié se révèle être de l'ordre de 2025 µg/ml (qui correspond à 0.81 ± 0.118 µg/ml), valeur nettement supérieure à celle enregistré pour la vitamine C (3180 µg/ml) (S. M. ALBANO et al., 2012). Ces résultats indiquent clairement la faible capacité antioxydante de l'extrait étudié comparativement au référent est plus élevée à celle de l'*Inule visqueuse* L de Portugal.

En raison d'une forte corrélation entre les teneurs en polyphénols et l'activité antioxydante totale, la diminution des teneurs en des différentes substances bioactives affecte négativement l'activité antioxydante de l'extrait végétale (RODRIGUEZ et al., 2016) dont il influence sur espèce végétale tout en diminuant la production des espèces radicalaires et les capacités de défense antioxydante et qui mène à un véritable inconvénient qui est le stress oxydatif.

En effet ; certains auteurs désignent une augmentation de cette activité antioxydante explique cela par la formation de nouveaux composés à activité antioxydante (TOMAINO et al., 2005) qui influencent positivement sur l'espèce végétale en renforçant sa défense antioxydante.

IV-2-Activité antibactérienne :**IV-2-1-Détermination de l'activité antibactérienne :**

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait des feuilles d'*Inule visqueuse* L a été effectuée sur quatre souches bactériennes (deux de gram négatifs et deux de gram positifs) ; par la méthode de diffusion sur gélose Muller-Hinton (Annexe 1) (DIB et *al.*, 2013). La sensibilité des souches se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des disques. Les résultats de notre étude sont déterminés par la mesure de la moyenne des diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne.

Les résultats montrent que notre extrait d'*Inule visqueuse* L a un effet sur les souches testées dont :

- **Bactéries à gram positif :**

D'après les résultats obtenus et en se référant à l'échelle e citée par MEENA et SETHI, 1994 ; on constate que notre extrait d'*Inule visqueuse* L a une forte action inhibitrice sur les 2 bactéries étudiées : *Staphylococcus aureus* ATTC 43300 et *Bacillus cereus* ATTC 10876 avec des diamètres d'inhibition en moyenne de 11,3 mm et 32,3 mm respectivement.

- **Bactéries à gram négatif :**

Concernant les deux souches étudiées : *Escherichia coli* ATTC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATTC 25852 s'est avéré qu'elles sont résistantes à notre extrait d'*Inule visqueuse* L avec un diamètre d'inhibition en moyenne de 6 mm.

Les résultats obtenus confirment les hypothèses données par SMITH-PALMER et *al.*, 2001 ; la forte sensibilité des bactéries gram⁺ vis-à-vis de notre extrait et contrairement à celle obtenue par les bactéries gram⁻, peut s'expliquer par la différence de la structure de la paroi constituant les différentes bactéries gram⁺ et gram⁻.

La paroi des Gram⁻ présente une structure plus fine mais plus complexe que celle des Gram⁺. Malgré cela la paroi des gram⁻ constitue une membrane externe qui crée une barrière imperméable tandis que les Gram⁺ en sont dépourvues.

Le résultat obtenu par notre étude sur l'activité antimicrobienne de notre extrait s'avère très intéressant car d'après (SMITH-PALMER et al., 2001) *Staphylococcus aureus* est une bactérie à gram positif responsable des infections des plaies, de la peau et du sang et très résistante aux antibiotiques. Donc l'application de notre extrait d'*Inule visqueuse* L contre cette bactérie sera positive.

IV-2-2-Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) :

La détermination de la concentration minimale inhibitrice de l'extrait d'*Inule visqueuse* L sur les souches bactériennes (Annexe 3) ayant exprimées une sensibilité vis-à-vis de ce dernier présenté en tableau 5. Cette évaluation est effectuée selon la méthode de diffusion milieu solide (Mueller-Hinton) décrite par DZOMBA et MUCHANYEREYI (2012).

Tableau 5 : CMI de l'extrait vis-à-vis des souches utilisées.

	Souches	Diamètres d'inhibition mm (extrait d'I.viscosa)	Pouvoir antimicrobien
GRAM +	Staphylococcus aureus ATTC 43300	6.5±0.37	Fortement Inhibitrice
		Témoin (-)= 0	
	Bacillus Subtilis ATTC 10876	7±0.41	Fortement Inhibitrice
		Témoin (-)=0	
GRAM -	Escherichia Coli ATTC 25922	6±0.36	Légèrement Inhibitrice
		Témoin (-)=0	
	Pseudomonas aeruginosa ATTC 25852	0	Aucun pouvoir

(0) = aucun résultat.

Les différentes souches utilisées dans cette étude réagissent spécifiquement et montrent ainsi différentes CMI. *Bacillus cereus* ATTC 10876 et *Staphylococcus aureus* ATTC 43300 deux bactéries à gram positifs présentent la plus grande sensibilité avec des CMI respectives de 7 mm et 6 mm qui correspond en successivité à 0,02 g/ml (1/6 de notre concentration principale qui est de 0,16g/ml = 100 %) et à 0,01 g/ml (1/8 de notre concentration principale = 6,25%). Pour ce qui est d'*E. coli* ATTC 25922 qui est une

bactérie à gram négatif, celle-ci présente une faible sensibilité avec une CMI de 6 mm qui correspond à ½ de notre concentration principale (50 %) ; par contre *Pseudomonas aerogenosa* ATTC 25852 ne présente aucune activité inhibitrice.

Contrairement aux résultats obtenus par (BOUKEMAYA.F et MESSAOUDI.F, 2015) où nous retrouvons une sensibilité unique de *staphylococcus aureus* avec une CMI de 2 cm (20mm). Ces résultats montrent clairement que l'extrait étudié a une forte activité inhibitrice vis-à-vis de *staphylococcus aureus*.

D'après des études réalisées par ABDOUNE (2012) ; BENHAMMOU (2006), *Inula viscosa* L ne présente aucune activité inhibitrice vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa*. Néanmoins ces mêmes auteurs indiquent la présence d'une faible activité inhibitrice sur *E. coli* et d'une forte inhibition sur *Staphylococcus aureus*.

Conclusion

Le présent travail a porté sur l'étude des activités biologiques de l'extrait brut des feuilles de la plante médicinale *Inula viscosa* L de la région de Ouacif. C'est une plante très répandue et abondante dans notre pays et dans tous le bassin méditerranéen ; elle a une meilleure croissance du point de vue de sa composition chimique (les biomolécules actives) ; et de ses éventuelles propriétés qui contribuent dans sa valorisation dans plusieurs domaines tels que le secteurs agro-alimentaire ; l'industrie pharmaceutique ; et d'autres domaines médicales ainsi elle est utilisée dans la médecine traditionnelle pour plusieurs années.

La détermination de l'activité antioxydante de l'extrait des feuilles de cette dernière été mise en évidence par plusieurs tests tels que la détermination de la teneurs en polyphénols totaux ; test de réduction du fer ; test de capacité antioxydante totale (TAC) , dont nos résultats montrent que cette plante médicinale comprend une richesse en composés antioxydants ; ce qui détermine sa forte activité antioxydante qui se révèle d'un ordre de 2025 mg/ml mais qui est inférieure aux référant (Vitamine C) qui se révèle de 318 mg/ml (figure 15). En outre, on s'est intéressés à la détermination de l'activité antibactérienne de l'extrait des feuilles de cette plante médicinale vis-à-vis des quatre souches (*Staphylococcus aureus* ATTC 43300 , *Bacillus subtilis* ATTC 10876 ; *Escherichia coli* ATTC 25922 ; *Pseudomonas aerogenosa* ATTC 25852) qui a été évalué par la méthode de diffusion sur disque dont nos résultats montrent que cette plante consiste une forte activité inhibitrice sur les bactéries à gram + qui sont sensible (*Bacillus subtilis et Staphylocoques aureus*) contrairement au bactéries à gram – qui sont dotées par une faible activité donc elles sont résistantes (*E.coli et Pseudomonas aerogenosa*) ; et cela revient à la composition de la paroi de chaque bactérie que soit à gram + ou a gram-.

Inula viscosa L est un réservoir de structures chimiques actives et une source d'activités biologiques donc il faut la préserver. Dans ce cadre, nous proposons humblement quelques perspectives :

- L'élargissement de l'éventail des activités biologiques et des tests utilisés.
- Identifier d'autres substances bioactives d'origine végétale ayant un pouvoir thérapeutique comme alternatifs aux médicaments synthétiques.
- Attirer l'attention les industries pharmaceutiques à synthétiser d'avantage les médicaments à base de plantes et d'encourager leur commercialisation.
- Encourager des études complémentaires sur les activités différentes biologiques des plantes médicinales.
- Le passage aux tests *in vivo*.

Références bibliographiques

A/

1. AIT-YOUSSEF M. (2006). Les plantes médicinales en kabylie. Ed : Ibis press, Paris.349p
2. ANDERSON O.M.et MARKHAM K.R. (2006). Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications.Taylor & Francis.: 01-32 :397-425
3. Annales, Volumes 28 à 29 (1949) Ecole nationale d'agriculture (Montpellier, France).
4. Adefegha SA, Oboh G. Water extractable phytochemicals from some Nigerian spices inhibit Fe²⁺-induced lipid peroxidation in rat's brain – in vitro. J Food Process Technol 2011 ; 2(1) : 104.
5. Aksoy L, Kolay E, Aǵılȯ nu̇ Y, Aslan Z, Kargıȯglu M. Free radical scavenging activity, total phenolic content, total antioxidant status, and total oxidant status of endemic *Thermopsis turcica*. Saudi J Biol Sci 2013 ; 20(3) : 235-9.
6. Atrout.H ; MAHI.ihcéne : Elaboration d'un anti-inflammatoire à partir d'*Inula viscosa* L; 2020.
7. Addai, Z. R., Abdullah, A., & Mutalib, S. A. (2013). Effect of extraction solvents on the phenolic content and antioxidant properties of two papaya cultivars. Journal of Medicinal Plants Research, 7(46), 3354-3359.
8. Adhami, V. M., Siddiqui, I. A., Ahmad, N., Gupta, S., & Mukhtar, H. (2004). Oral Consumption of Green Tea Polyphenols Inhibits Insulin-Like Growth Factor-I– Induced Signaling in an Autochthonous Mouse Model of Prostate Cancer. Cancer research, 64(23), 8715-8722.
9. Adisakwattana, S., Intrawangso, J., Hemrid, A., Chanathong, B., & Mäkynen, K. (2012). Extracts of edible plants inhibit pancreatic lipase, cholesterol esterase and cholesterol micellization, and bind bile acids. Food Technology and Biotechnology, 50(1), 11
10. Akowuah, G. A., Ismail, Z., Norhayati, I., & Sadikun, A. (2005). The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. Food chemistry, 93(2), 311-317.
11. Adams R.P. 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Allured Publishing Corporation, Illinois, USA.
12. A.Djedioui ,2010.Evaluation de l'activité hypoglycémiant et anti-hyperglycémante de l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* L; une plante de l'est algérien chez le rat avec un diabète induit. Mémoire de Magister en microbiologie appliquée à l'université de Badji Mokhtar de Annaba ; Algérie.

13. Adwan G., Abu-Shanab B., Adwan K., Abu-Shanab F., 2006. Antibacterial effects of Nutraceutical Plants Growing in Palestine on *Pseudomonas aeruginosa*. *Turk J Biol*, 30 : 239-242.
 14. Akrouf, A., Gonzalez, L. A., El Jani, H., & Madrid, P. C. (2011). Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia. *Food and Chemical Toxicology*, 49(2), 342-347
 15. AKROUM et al., (2011). Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse de doctorat. Université Mentouri de Constantine. Algérie.
 16. Ali, N. A et al., (2001). Screening of Yemeni medicinal plants for antibacterial and cytotoxic activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 74(2), 173-179.
 17. AMROUCHE Sarah ; Ratiba DERRICHE, Saida MESSAOUDI, Naima LAHOUZI ,2015. Teneur en Polyphénols et Activité Antioxydante des Huiles Essentielles, Hydrolats et Extraits des Feuilles de l'*Inula viscosa* (L.) Aiton d'Algérie. Conférence Internationale des énergies renouvelables CIER-2015.
 18. Ansari, P., Sarker, J., Azam, S., Sen, S., Mondal, K. K., Badhan, S. S., & Tapti, Z. T. (2015). Potential investigation of anti-inflammatory and anti-oxidative property of ethanolic extract of *Ixora nigricans* leaves. *International Journal of Pharmacological Research*, 5(4), 104-109
 19. Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127(1), 183-198.
 20. Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., & Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-Istituto Superiore di Sanita*, 43(4), 348.
- B/**
21. BAHAZ M. et RACHDI H. (2010). Quantification des principes actifs (Les composés phénoliques) de *Rhazinolepis* *Lonadoides* Coss (Tichert), thèse d'ingénieur, université de Ouargla, Algérie, 54p. BAKCHICHE B. et GHERIB A. (2014). Activités antioxydantes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle d'Algérie. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, Vol. 9 No : 167-172. BARTELS A. (1998). Guide des plantes de bassin méditerranéen. Ed : Augener, Paris. 400p
 22. BADIAGA M et al., (2001). Etude Ethnobotanique. Phytochimique et activités biologiques de *NAUCLEA LATIFOLIA* SMITH une plante médicinale Africaine récoltée du Mali. Thèse de Doctorat. Université de BAMAKO. Mali.
 23. BELOUED A. (2001). Plantes médicinales d'Algérie. Office des Publications Universitaires, alger. 277p

Références Bibliographiques

24. BELLOUM Z. (2007). Etude phytochimique des plantes médicinales Algériennes, cas de l'espèce *Inula crithmoides* L. Thèse de doctorat. Université Mentouri de Constantine. Algérie.
25. BENROKIA Hayat AOUAR Khedidja ,2015. Etude de l'activité Antibactérienne des extraits de *Pistacia lentiscus*. Mémoire de Master en Biologie à l'université Djilali Bounaama Khemis Miliana ; Algérie.
26. Bssaibis F., Gmira N., Meziane M. 2009. Activité antibactérienne de *Dettrichia viscosa* (L.) W. Greuter", Rev. Microbiol. Ind. San et Environn, 3 : 44-55.
27. BOUGANDOURA N ; BENDIMERAD N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) . Revue Nature et Technologie Volume 5, Numéro 2, Pages 14-19.
28. Benhammou N., Atik Bekkara F. 2006. Contribution à l'étude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle d'*inula viscosa* L. Mémoire de master en chimie. Université de Telemcen .
29. BOUHADJER-WAFA ;2017, Etude histométrique de l'espèce *Inula viscosa* L, dans la région de Tlemcen. Mémoire de master en écologie et environnement. Université de Telemcen.
30. BENYAHIA.A et al., 2014. Contribution à l'étude phytochimique et activité biologiques de deux plantes médicinales *Inula viscosa* L et *Inula montana*. Mémoire de Master. Université ABOUBEKR BELKAID.Tlemcen, Algérie.
31. B.Chiarlo 1968. Sui costituenti dell'*inula viscosa* L. Ait. Contenuto in azuleni dell'olio essenziale. Boll. Chim. Farm, 107 :370 - 382.
32. B.Bakchiche, A. Gherib, A. Smail, G. Custodia, M. Graca. "Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils".Industrial Crops and Products, vol.46, pp.85–96, 2013.
33. BICHA.S et al., 2003 . Etude de l'effet de la pollution du sol par les métaux lourds sur l'accumulation des métabolites secondaires de l'exsudat chloroforme d'*Inula viscosa* L(Compositae). Thèse de magister. Université de Constantine. Algérie.
34. Benaissa.B et al., 2012. Conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladiescardiovasculaires. Thèse de doctorat en chimie-biologie-santé à l'université de Toulouse III - Paul Sabatier.
35. Bezanger.BE et al., 1980.Plantes médicinales des régions tempérées, édition: Maloine ; Paris.

36. Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Techniques de l'INRA, Numéro spécial 2006: Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, 79-82
37. Boumaza.D et *al.*, 2011. Séparation et caractérisation chimique de quelques biomolécules actives de deux plantes médicinales : *Inula viscosa* L, *Rosmarinus officinalis* de la région d'Oran . Mémoire de Magister à l'université d'Oran ; Algérie .
38. Bouchelta, A et *al.*, (2005). Effets biocides des alcaloïdes, des saponines et des flavonoïdes extraits de *Capsicum frutescens* L.(Solanaceae) sur *Bemisia tabaci* (Gennadius)(Homoptera: Aleyrodidae). Biotechnologie, agronomie, société et environnement, 9(4), 259-269.
39. BONNAFOUS et *al.*, (2013). Traité scientifique. Aromathérapie .Aromatologie et Aromachologie, édition., Dangles, France :12.
40. Bruneton.J.1999.Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales Lavoisier .3ème édition. TEC et DOC, Paris :125-130.
41. Bruneton.J.1999.Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales Lavoisier .4ème édition. TEC et DOC, Paris :80.
42. Brown, L., Rosner, B., Willett, W. W., & Sacks, F. M. (1999). Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. The American journal of clinical nutrition,69(1), 30-42.

C/

43. CHAUCHE 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.
44. Chahmi N; Anissi J; Jennan S; Farah A; Sendide K; El Hassouni M. (2015). Antioxidant activities and total phenol content of *Inula viscosa* L extracts selected from three regions of Morocco. Asian Pac J Trop Biomed ; 5(3) : 228-233

45. Chari Z., Pacha H. 1999. Effets cicatrisants de *Inula viscosa* L sur les brûlures expérimentales chez le lapin. Thèse de Magister. Université de Constantine.
46. Chevallier L., Crouzet- Segarra C. 2004. Médicament à base de plantes. 2ème édition. Masson. Paris. 3-147.
47. Contribution à l'extraction des huiles essentielles de l'*inule visqueuse* algérienne par diverses méthodes ; étude de ses propriétés antimicrobiennes et antioxydantes Par ABDOUNE YAMINA ,2012. Mémoire de magister en technologie pharmaceutique à l'université de l'USTHB ; Algérie.
48. Ciccarelli .D et al.,2007.Glandular hairs of the ovary. A helpful character for asteroideae (Astraceae) taxonomy,44 :1-7.
49. Claudine Susplugas ; Guy Balansard; 1979. L'*Inule visqueuse* : Etude botanique, chimique et pharmacodynamique. Thèse de Doctorat en Pharmacie à l'Université de Montpellier I. UFR des sciences pharmaceutiques et biologiques.
50. Croteau, R et al., (2000). Natural products (secondary metabolites). Biochemistry and molecular biology of plants, 24, 1250-1319.
51. COWAN M. M. (1999). Plants products as anti-microbial agents. Clinical Microbiology reviews, 12(4):564-582.
52. COX S.D. et al., (2000). The mode of antimicrobial action of essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil) .Journal of applied Microbiology, 88(1):170-175.

D/

53. DAGLIA M et al., (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. Current Opinion in Biotechnology, 23 (2): 174-181.
54. Duquenois P. 1968. L'utilisation des huiles essentielles en pharmacie, leur normalisation et l'Europe du médicament. Parf. Cosm. Sav, 414-418.
55. Danino O., Gottlieb H.E., Grossman S., Bergman M. 2009. Antioxidant activity of 1, 3-dicaffeoylquinic acid isolated from *Inula viscosa* L. Food Research International, 42. 1273–1280.
56. DIXON R.A et al., (2005). Proanthocyanidins-A final frontier in flavonoide research. New Phytologist, 165 (1): 9-28.
57. Dib, M. E. A., Allali, H., Bendiabdellah, A., Meliani, N., & Tabti, B. (2013).Antimicrobial activity and phytochemical screening of *Arbutus unedo* L. Journal of Saudi Chemical Society, 17(4), 381-385.

Références Bibliographiques

58. De Laurentis, N., Losacco, V., Milillo, M.A., Lai, O.2002. Chemical investigations of volatile constituents of *Inula viscosa* (L.) Aiton (Asteraceae) from different areas of Apulia, Southern Italy. *Delpinoa*,n.s, 44:115-119.
59. Derbal Nedjla et Fedali Hanane,2015. L'activité antioxydante, anti-inflammatoire et analgésique de plante médicinale Algérienne *Inula Viscosa* L. Mémoire de master en toxicologie et santé. Université des frères Mentouri , Constantine.
60. Dexter J. E and Sapirstein H.D. (2005). Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and Roller-Milled fractions. *Cereal Chem.* 82, 390-393

F/

61. Faucher, J.L. et Avril, J.L. (2002). Bactériologie générale et médicale. Tome 1, Ellipses (Ed.), Paris. Gee, J.M. et Johnson, I.T. (2001). Polyphenolic compounds: interactions with the gut and implications for human health. *Current Medicinal Chemistry.* 8 : 1-182.
62. F.Fauché et *al.*, 2000. Profils de polyamines dans les tumeurs, les tissus normaux du sein homologue, le sang et l'urine des personnes atteintes d'un cancer du sein. *Recherche et traitement du cancer du sein* page 99-105(2000).
63. FLEURIET.A et *al.*, (2005). Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique, édition., Presses polytechniques et universitaires romandes : 121-216.
64. Fournier. P et *al.*, 1947.Livre des plantes médicinales et vénéreuses de France, édition., LECHEVALIER :176-178.

G/

65. Gökbulut A;Ozhan O; SatılmışB; Batçioğlu K; Günal S; Sarer E.(2013). Antioxidant and antimicrobial activities, and phenolic compounds of selected *Inula* species from Turkey. *Nat Prod Commun* ; 8 : 475-478.
66. Gert, F. et Stephan, M. (2001). Metabolite engineering and applications of flavonoids. *Current Opinion in Biotechnology.* 12 : 155-160.
67. Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M. C., Bousselesla, H. et OueldMokhtar, S. M. (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie* 13 : 118-129.
68. GLORDANI R., KALOUSTIAN J. (2006). Action anticandidosique des huiles essentielles : leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques. *Phytothérapie*, 3 : 121-124.

69. Gülçin, İ., Alici, H. A., & Cesur, M. (2005). Determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activities of propofol. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53(3), 281-285.
70. Gramza, A., & Korczak, J. (2005). Tea constituents (*Camellia sinensis* L.) as antioxidants in lipid systems. *Trends in Food Science & Technology*, 16(8), 351-358.

H/

71. Hmamouchi.M.(2001). Livre : les plantes médicinales et aromatiques Marocaines, 2^{ème} édition.
72. Hamada, D. et Ladjel, S. (2015). Chemical Composition, in vitro Anti-microbial and Antioxidant Activities of the Methanolic Extract of *Anvillea Radiata* Asteraceae. *RJPBCS* 6(2) : 1367.
73. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med* 1991 ; 91(3C) : 14S-22S.
74. Hazra B, Biswas S, Mandal N. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Spondias pinnata*. *BMC Complement Altern Med* 2008 ; 8 : 63
75. Haslam, E. (1996). Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs : possible modes of action. *J. Nat Pro.* 59 : 205 215

I/

76. I. Stanisavljeviu, S. Stojićević, D. Veličković, V. Veljković, Lazium. "Antioxidant and Antimicrobial Activities of Echinacea (*Echinacea purpurea* L.) Extracts Obtained by Classical and Ultrasound Extraction". *Chinese Journal of Chemical Engineering*, vol.17(3), pp.478-483,2009.

J/

77. Jean, M. 2003. L'oxydation des aliments et la santé ; prévention des dangers de l'agression oxydative alimentaire ; par le bon usage des fruits et des légumes. Collection « Ecologie Humaine ».
78. Joris vidé, 2015. Effets potentiels et mécanismes d'action antioxydant et anti-inflammatoire d'un rapport nutritionnel de spirulines enrichies en silicium. Thèse de Doctorat en Alimentation et Nutrition à l'université de Montpellier en France.

K/

79. KATARZYNA U., ANNA M., MARTA M., JOANNA J.B. & GRZEGORZ W. (2007). Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia*, 62 (2) :132-135.
80. KATTOUF J., BELMOUKHTAR M., HARNAFI H., MEKHFI H., ZIYYAT A., AZIZ M., BNOUHAM M. & LEGSSYER A. (2009). Effet antihypertenseur des feuilles d'*Inula viscosa* L. Springer-Verlag. Additional links. *Journal phytothérapie*, 6(7) : 309-312.
81. KISSOUM Nawel, BOUZARAA Ayda ;2019 ; Activité antifongique de l'extrait de l'espèce végétale *Inula viscosa* L. (*Dittrichia viscosa* L.). Mémoire de Master en Phytopharmacie appliquée à l'université de Jijel ; Algérie.
82. Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *ScientificWorldJournal* 2013 ; 2013 : 162750.
83. KHAN A. L., HUSSAIN J., HAMAYUN M., GILANI S.A., AHMAD S., REHMAN G., KIM Y.H., KANG S.M. & LEE I.G. (2010). Secondary metabolites from *Inula britannica* L and their biological activities. *Molecules*, 15 : 1562-1577.
- L/**
84. LARDRY J.M.et al., (2007). L'Aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinesither Rev*, 61 : 7-14.
85. LUICITA L.R. (2006). Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat. Institut national polytechnique de Toulouse. France.
86. L. Riahi, H.Chograni, M. Elferchichi, Y. Zaouali, A. Zoghalmi, A.Mliki. "Variations in Tunisian wormwood essential oil profiles and phenolic content between leaves and flowers and their effects on antioxidant activities". *Industrial Crops and Products*, Vol.46, pp.290–296, 2013.
87. Lahlou M., 2004. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of the essential oils. *phytotherapy research*, 18:435-448.
88. Lastra C; Lopez A; Motiva V. (1993).Gastroprotection and prostaglandin E2 generation in rats by flavonoids of *dittrichia viscosa*.*planta medica* .59:497-501.
89. Lauro C;Roli C.(1990).observations and research on an extract of *inula viscosa*.*bollettino societa Italiana biological Sperrimentale*.66:829-834.
90. Limasset B; Le doucen C ; Dore J.CH ; Ojasoo T ; Damon M ; De paulet A. C.(1993).Effects of flavonoids on the release of reactive oxygen species by stimulated human neutrophils. *Biochem. Pharmacoln*, 46(7): 1257-71.

91. LAGHRIFI K., EL IDRISSE M., MAKOUDI Y. & ALNAMER R. (2013). In vitro antibacterial activity of the methanolic and ethanolic extract of *Inula viscosa* L used in Moroccan traditional medicine. World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences, 2:3963-3976.
 92. LAMPRINI K., MANUEL C., ALEXIOS L.S., AIKATERINI A., ELMAR H., NEKTARIOS A., ANNETTE W. & AL-AHMAD A. (2014). High-Level Antimicrobial Efficacy of Representative Mediterranean Natural Plant Extracts against Oral Microorganisms. Biomedical Research International, 14 :8
 93. Li et al., 2014. Resources and biological activities of natural polyphenols. Nutrients, 6(12), 6020-6047.
 94. Li et al., 2007. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. Food chemistry, 102(3), 771-776.
- M/**
95. MALECKY M et al., 2008. Métabolisme des terpénoïdes chez les carpins. Thèse de doctorat. Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement. Paris.
 96. Mc CALLEY et al., 2002 .Analysis of the cinchona alkaloids by high performance liquid chromatography and other separation technics. Review Journal of Chromatography, 967:1-19.
 97. Middleton E.J. (1996). Biological properties of plant flavonoids: an overview. Int. J. Pharmacol. ,34 (5) : 344-348.
 98. MERGHEM R et al., 2020. Valorisation des substances d'origine végétale (Cours/Chapitre 2 : les composés phénoliques). Génie biochimique à l'université de Constantine ; Algérie.
 99. Moualek et al., 2021. Activités biologiques de l'extrait aqueux de feuilles d'*Arbutus unedo* de la région de Tizi Ouzou. Thèse de Doctorat en biochimie appliquée et biotechnologie à l'université de Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou ; Algérie.
 100. MOATTI R., FAURON R. et DONADIEU Y., 1983 : La phytothérapie. Thérapeutique différente. Edition de LIBRAIRIE MALOINE S.A, Paris, 243p.
 101. Mookerjee B. K; Lee T. P; Logue G. P; Lippes H. A; Middleton E. (1986). The effects of flavonoids on human lymphocyte proliferative responses. Prog. Clin. Biolo. Res, 213 : 511-20
 102. Mohammedi Z. (2013). Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie, Université Abou beker , Tlemcen Algérie
 103. Marzouk Z., Neffati A., Marzouk B., Chaief I, Khemiss F., Chekir Ghedira L., Boukef K. 2006. Chemical composition and antibacterial and antimutagenic activity of Tunisian *Rosmarinus officinalis* L. oil from Kasrine. Journal of Food Agriculture & Environment, 4 : 61-65.

Références Bibliographiques

104. Maoz M., Neeman I. 2000. Effect of *inula viscosa* L extract on chitin synthesis in dermatophytes and candida albicans. Journal of Ethnopharmacology, 28 : 479-482.
105. MAOZ M., KASHMAN Y. & NEEMAN I. (1999). Isolation and identification of a new antifungal sesquiterpene lactone from *Inula viscosa* L. Planta Med, 65 : 281-282.
106. MAOZ M. & NEEMAN I. (1998). Antimicrobial effects of aqueous plant extracts on the fungi *Microsporum canis* and *Trichophyton rubrum* and on three bacterial species. Letters in Applied Microbiology, 26 :61-63.

N/

107. Nicolas RIS et Alexandre BOUT ; Evaluation des services écosystémiques et potentiels effets non-intentionnels liés à une plante méditerranéenne, *l'inule visqueuse* – Implication en protection intégrée sous serres et en oléiculture » 2016.
108. NADOUR M. (2010). Mise en évidence de quelques propriétés anti oxydantes des polyphénols extraits de l'olive, variété Chamlal. Mémoire de magister. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. Algérie.
109. N. DeLaurentis, V. Losacco, M. A. Milillo, M. Lai, "Chemical investigations of volatile constituents of *Inula viscosa* (L.) Aiton (Asteraceae) from different areas of Apulia, Southern Italy." Delpinoa. vol.44, pp.115-119, 2002.
110. NGOBUM E., TAIWEG S. & MOTO F.C. (2009). Anticonvulsant, anxiolytic and sedative properties of the root of *Nauclea latifolia* Smith in mice. Epilepsy and Behavior, 15 : 434-440.
111. NOGARET-EHRHART A.S. (2008). La phytothérapie : se soigner par les plantes, 1ère édition., Eyrolles, Paris.

O/

112. Orak HH, Yagar H, Isbilir SS, Demirci AS, Gu" mu" T, Ekinci N. Evaluation of antioxidant and antimicrobial potential of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaf. Food Sci Biotechnol 2011 ; 20(5) : 1249-56.

P/

113. PONCE A.G., FRITZ R., DEL VALLE C. & ROURA S.I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Lebensmittel- Wissenschaft and technologic, 36 : 679- 684.
114. Pierre Delaveau ;1983. Histoire et renouveau des plantes médicinales ; Editions albin michel , 1983.

R/

115. Robertet S.A. 2000. Composition of the essential oil of *dittrichia viscosa* (L.) W Greuter. Rivista Italiana Ventinovesimo numer-Giuno. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44: 1327-1332.
116. ROUIBI A ; CHABANE D ; SAIDI F et AZINE K. (2012). Étude comparative de l'activité antispasmodique de l'extrait aqueux Afrique SCIENCE ;08(2) :131 – 137
117. REKKAL Melissa. MAACHOU Ourida, 2016 ; Contribution à l'Etude de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* L. Mémoire de Master en microbiologie appliquée à l'université de Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou ; Algérie.
118. Renneau F., Bravo R., Delmas M., Gager A. 1988. Extraction des huiles essentielles. Information Chimie N°298
119. RAMLI BAKHTA et al., 2013. Extraction des flavonoïdes de la plante *Inula viscosa* L de la région d'Oran et mise en évidence de l'activité microbienne. Mémoire de Magister en Chimie à l'université d'Oran.
120. REZAIRE et al., (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.

S/

121. Soro T.Y; Traorea F; Sakande J. (2009). Activité analgésique de l'extrait aqueux de *Ximenia americana* (Linné) (Olacaceae) C. R. Biologies, 332 : 371–377.
122. SMYTH T., RAMACHANDRAN V.N. & SMYTH W.F. (2009). A study of the antimicrobial activity of selected naturally occurring and synthetic coumarins. International journal of antimicrobial agents, 33(5): 421-426.
123. SARNI-MANCHADO.P et al., 2006 . Les polyphénols en agroalimentaire, 1ère édition., TEC et DOC, Paris :1.
124. SCALBERT.A et al., (1999). Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry, 30: 3875–3883.
125. SALVADOR M., VICTORIANO H., ROSA-MARIA G., JOSE-LUIS R. & MARIA CR. (2007). Inhibition of pro *Inula viscosa* L inflammatory enzymes by inuviscolide, a sesquiterpene lactone. Fitoterapia, 78: 329–331.
126. SQUALLI H et al., (2007). Evaluation de l'effet antimycobactérien de plantes du Centre-Nord du Maroc. Bull. Soc. Pharm, 146 : 271-288.

127. S. M. Albano, A. S. Lima, M. G. Miguel, L. G. Pedro, J. G. Barroso, A. C. Figueiredo, "Antioxidant, Anti-5-lipoxygenase and Antiacetylcholinesterase Activities of Essential Oils and Decoction Waters of Some Aromatic Plants". *Rec. Nat. Prod.* Vol.6 (1), pp.35-48, 2012
128. Stewart A. Brown et A. C. Neish, « Shikimic Acid as a Precursor in Lignin Biosynthesis », *Nature*, vol. 175, no 4459, 1955, p. 688–689 (ISSN 0028-0836, DOI 10.1038/175688a0)

T/

129. Tapiero, H et *al.*, (2002). Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? *Biomedicine & pharmacotherapy*, 56(4), 200-207.
130. Turkoglu S, Turkoglu I, Kahyaoglu M, Celik S. Determination of antimicrobial and antioxidant activities of Turkish endemic *Ajuga chamaepitys* (L.) Schreber subsp. *euphratica* P.H. Davis (Lam- iaceae). *J Med Plants Res* 2010; 4(13): 1260-8.

V/

131. Volak J., Stodola, J. 1983. *Les plantes médicinales*. Paris.
132. Valko M ; Leibfritz D ; Moncol J ; Cronin M.T.D; Mazur M ; Telser J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 39, 44–84

W/

133. Wang W., Ben-Daniel B.H., Cohen Y. 2004. Control of plant diseases by extracts of *inula viscosa* L. *The American Physiological Society*. 94 :1042-1047.
134. Williams L; O'connar A; latore L; Dennis O; Ringer S. (2008). ANTI-inflammatory. *West indian Med j*; 57:327-331.
135. WILKINSON J.M., AHMAD I., AQIL F. & OWAIS M. (2006). Methods for testing the antimicrobial activity of extracts: 157-165; In "Modern Phytomedicine : Turning Medicinal Plants into Drugs", édition., WILEY-VCH :405.

Z/

136. ZHOU H.C., LIN Y.M., WEI S.D. & TAM NF-Y. (2011). Structural diversity and antioxidant activity of condensed tannins fractionated from mangosteen pericarp. *Food Chemistry*, 129(4):1710-1720.

Références Bibliographiques

137. Zabchi.R et Hamitouche.O; 2016. Evaluation de l'influence de la température de séchage sur l'activité antioxydante et antibactérienne des feuilles d'*Arbutus unedo* L. Mémoire de Master en biotechnologie microbienne à l'université de Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou ; Algérie.

Annexes

Annexes

Annexe 1 : Milieux de culture

- **Gélose Mueller-Hinton (milieu solide) :**

Hydrolysate acide de caséine.....	17.50 g
Extrait de viande.....	2.00 g
Amidon.....	1.50 g
Agar.....	17.00 g
Eau distillée.....	1000 ml

- **Bouillon cœur-cerveille (milieu liquide) :**

Extrait cœur-cerveille	17,5 g
Peptone pancréatique de gélatine	10,0 g
Protéose peptone.....	10,0 g
Glucose.....	2,0 g
Phosphate di-sodique.....	2,5 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Eau distillée.....	1000 ml

Annexe 2 : Tampon phosphate Tampon

phosphate 0.2 M pH 6.6 :

- **Solution A :**

NaH ₂ PO ₄	2.40 g
Eau distillée.....	100 ml

- **Solution B :**

NaH ₂ PO ₄	2.84 g
Eau distillée.....	100 ml

Préparation de la solution tampon :

Mélanger 62.5 ml de la solution A avec 37.5 ml de la solution B

Annexes

Annexe 3 : Caractéristiques des souches testées.

✚ ***Staphylococcus aureus* ATTC 43300** : sont des Cocci à gram+, se répartissent en amas, immobiles, sont des bactéries ubiquitaires, et multirésistantes , cette espèce n'a pas d'exigence nutritive particulière, son métabolisme respiratoire est aérobie-anaérobie facultatif , c'est une espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus* vu qu'elle possède un pouvoir invasif par une forte capacité de multiplication ce qui lui donne aussi la spécificité toxique ; elle peut se retrouver sur la peau des animaux et même sur celle de l'homme .

✚ ***Bacillus cereus* ATCC 10876** : sont des bacilles longs, mobiles à gram +, appartenant à la famille des *Bacillaceae*, de formes régulières, en courtes chaînes, et peuvent être sporulées ; elles sont aéro-anaérobies facultatifs. Elles peuvent être toxique en sécrétant de nombreuses toxines, elles sont résistantes à la pénicilline G, amoxicilline, amoxicilline+acide clavulanique, céphalosporines,

✚ ***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25852** :

Ce sont des bacilles fins à gram -, non capsulés, mobiles grâce à la présence des flagelles, elles sont aérobie stricts ; elles ont des exigences nutritives peu importantes. *Pseudomonas aeruginosa* c'est agent pathogène responsable de la broncho-pneumopathies et les affections respiratoires et les infections nosocomiales, il s'agit d'une bactérie qui présente une résistance pour plusieurs antibiotiques.

✚ ***Escherichia Coli* ATTC 25922** : sont des entérocoques à gram - ; sous forme de bâtonnet, asporulé, qui peut se déplacer au moyen de flagelles péritriches et elles peuvent être non mobile. Elles sont multirésistantes et toxigènes (entérotoxigène « ECET »).

Annexes

Annexe 4 : Matériels et Produits utilisés.

Outillages	<ul style="list-style-type: none">- -Flacons- -Ependorfs- Tubes à essai.- Fioles.- Béchers.- Passoire- Entonnoir- Laine de verre- Pincés.- Micropipettes- Anses.- Seringues- Filtres- Pipettes Pasteur- Écouvillons.- Erlenmeyer- Papier whatman.- Papier aluminium- Boites de pétri- Bec besen- Couteau- Coton- Tarière
------------	--

Annexes

Appareillages	<ul style="list-style-type: none">- Étuve- Broyeur électrique- Réfrigérateur- Lyophilisateur- Bain marie- Spectrophotomètre- Autoclave- Agitateur à plaque chauffante- Vortex- Balance de précision- centrifugeuse
Réactifs et produits	<ul style="list-style-type: none">- Eau distillée- Acide-L-ascorbique $C_6H_8O_6$ (vitamine C)- Ammonium molybdate- Phosphate dibasique de sodium Na_2HPO_4- Phosphate monobasique de sodium $Na H_2PO_4$- Acide sulfurique H_2SO_4- Tampon phosphate ($NaH_2 PO_4+Na_2 H PO_4$)- Chlorure ferrique $FeCl_3$- Ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$- Acide trichloracétique $C_2HCl_3O_2$ (10%)- Réactif Folin-Ciocateu- Bicarbonate de sodium Na_2CO_3- Acide gallique $C_7H_6O_5$- Eau physiologique ($NaCl$ 9g/l)

Résumé

Depuis toujours, les plantes médicinales furent le principal recours pour la fabrication de remèdes naturels ce qui fait l'intérêt de la médecine traditionnelle dans les différentes civilisations.

L'objectif de notre travail est la mise en évidence de l'activité antioxydante et antimicrobienne de l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* L qui est une plante herbacée, aromatique, visqueuse appartenant à la famille des Asteraceae, appelée communément « magraman ». Elle est largement utilisée en Afrique du nord, particulièrement en Algérie. Une extraction aqueuse des feuilles sèches de la plante a été effectuée en utilisant la méthode de macération. L'activité antioxydante a été appréciée par deux tests de références qui sont le test de réduction du fer (FRAP) et le test de capacité antioxydante totale (TAC) dont cet extrait a montré une faible activité antioxydante qui a été respectivement estimée par une IC50 de $(0.8 \pm 0.146 \mu\text{g/ml})$ qui correspond à 950 $\mu\text{g/ml}$ et $(0.81 \pm 0.118 \mu\text{g/ml})$ qui correspond à 2025 $\mu\text{g/ml}$; par rapport aux référents qui révèle de 318 mg/ml . Ainsi, la mise en évidence de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Inula viscosa* L qui a été déterminée *in vitro*, par la méthode des disques, en présence de quatre souches bactériennes de références :

- Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25852.
- Gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 et *Bacillus cereus* ATCC 10876.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux de l'inule visqueuse aux concentrations utilisées a une légère inhibition sur la croissance des souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*) qui sont sensibles alors qu'aucun effet inhibiteur n'a été remarqué sur les souches (*E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) qui sont résistantes.

Mots Clés : *Inula viscosa* L ; Extraction ; Activité antioxydante ; Activité antibactérienne ; *In vitro*.

Abstract

Medicinal plants have always been the main source of natural remedies, which is why traditional medicine has been of great interest to different civilizations.

The objective of our work is to highlight the antioxidant and antimicrobial activity of the aqueous extract of *Inula viscosa* L which is a herbaceous, aromatic, viscous plant belonging to the family Asteraceae, commonly called "magraman". It is widely used in North Africa, particularly in Algeria. Aqueous extraction of dry leaves of the plant was carried out using the maceration method. Antioxidant activity was assessed by two reference tests which are the iron reduction test (FRAP) and the total antioxidant capacity test (TAC). This extract showed a low antioxidant activity which was respectively estimated by an IC50 of $(0.8 \pm 0.146 \mu\text{g/ml})$ which corresponds to 950 $\mu\text{g/ml}$ and $(0.81 \pm 0.118 \mu\text{g/ml})$ which corresponds to 2025 $\mu\text{g/ml}$; compared to the referents which reveals 318 mg/ml . Thus, the evidence of the antibacterial activity of the lyophilized aqueous extract of *Inula viscosa* L which was determined *in vitro*, by the disc method, in the presence of four bacterial reference strains:

- Gram negative : *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25852.
- Gram positive : *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 and *Bacillus cereus* ATCC 10876.

The results obtained show that the aqueous extract of *Inula viscosa* L at the concentrations used has a slight inhibition on the growth of bacterial strains (*Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*) which are sensitive while no inhibitory effect was noticed on the strains (*E. coli* and *Pseudomonas aeruginosa*) which are resistant.

Keywords : *Inula viscosa* L ; Extraction ; Antioxidant activity; Antibacterial activity; *In vitro*.

