



République Algérienne Démocratique et Populaire



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE SAAD DAHLAB-BLIDA

Faculté des Sciences Agro -Vétérinaires et Biologiques

Département de Biologie

Mémoire de projet de Fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de

Master II en biologie

Option : Phytothérapie et Santé

Thème

**Evaluation de quelques activités biologiques de
l'extrait aqueux des feuilles de l'inule visqueuse**

Inula viscosa (Astéracées)

Présenté par :

soutenu le: 02-07-2013

M^{elle} GUESMIA AMINA

Devant le jury composé de:

- M ^{me} Zerkaoui A.	Maître Assistante A.	USDB	Présidente
- M ^{me} Bradea M.S.	Maître de Conférences A.	USDB	Examinatrice
- M ^{me} Cherif H.	Maître de Conférences B.	USDB	Examinatrice
- M ^{me} Tail G.	Maître de Conférences A.	USDB	Promotrice
- M ^{me} Tribeche N.	Ingénieur	CRD- SAIDAL	Co- promotrice

Promotion: 2011-2012

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITE SAAD DAHLAB-BLIDA
Faculté des Sciences Agronomiques -Vétérinaires et Biologiques
Département de Biologie

Mémoire de projet de Fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de

Master II en biologie
Option : Phytothérapie et Santé

Thème

**Evaluation de quelques activités biologiques de
l'extrait aqueux des feuilles de l'inule visqueuse
Inula viscosa(Astéracées)**

Présenté par :

soutenu le:02-07-2013

M^{elle} GUESMIA AMINA

Devant le jury composé de:

- M ^{me} Zerkaoui A.	Maître conférences A.	USDB	Présidente
- M ^{me} Bradea M.	Maître conférences A.	USDB	Examinatrice
- M ^{me} Cherif H.	Maître conférences A.	USDB	Examinatrice
- M ^{me} Tail G.	Maître conférences B.	USDB	Promotrice
- M ^{me} Tribeche N.	Ingénieur	CRD- SAIDAL	Co-promotrice

Promotion: 2011-2012

REMERCIEMENTS

En premier lieu, je remercie dieu le tout puissant pour m'avoir donné le courage et la patience de mener à lieu ce modeste travail.

Je tiens particulièrement à remercier ma promotrice madame TAIL G. Maître de Conférences au département de Biologie, université SAAD DAHLAB de Blida pour ses conseils, ses commentaires et sa bienveillance. Qu'elle soit assurée de ma profonde gratitude pour m'avoir guidée et aidée tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à Madame ZERKAOUI A. de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

J'exprime mes vifs remerciements madame CHERIF H et madame BRADJA M. qui ont bien voulu examiner et évaluer ce travail.

Mes sincères remerciements s'adressent à ma Co-promotrice madame Tribeche N. qui n'a pas cessé de me diriger et de me transmettre tout son savoir jusqu'à la fin de ce travail.

Je remercie vivement madame ZAHY C chef de département formation et madame NAZLI responsable de laboratoire des substances naturelles.

Mes profonds remerciements vont également à madame Azine K, chef de département, laboratoire de pharmacotoxicologie, pour m'avoir autorisé à accéder à son laboratoire ainsi que pour sa gentillesse, aide, tout au long de mon stage.

Je tiens également à remercier les personnels de laboratoire de microbiologie en particulier : madame Mazouzi Nadia, madame Sonia, Linda, Wissem, monsieur Salafi pour leur aide précieuse.

Résumé

La présente étude a porté sur la mise en évidence de quelques activités biologiques d'*Inula viscosa* L., à savoir les effets anti inflammatoire, antalgique, antioxydants et antimicrobiens afin de valoriser son utilisation en médecine traditionnelle.

Le criblage phytochimique de l'extrait aqueux a permis de mettre en évidence la présence des principaux métabolites secondaires tels que les tanins, les flavonoïdes, saponosides, quinones, sénosides, coumarines et glycosides, qui pourraient être responsables des propriétés pharmacologiques.

L'effet anti inflammatoire a révélé que l'extrait aqueux des feuilles d'*Inula viscosa*, à la dose de 1g/kg, a réduit significativement l'œdème induit par la carragénine de la patte de la souris avec 52,8%.

D'autre part, l'évaluation de l'effet antalgique, de l'extrait aqueux des feuilles d'*Inula viscosa* à la dose de 1g/kg chez des souris qui ont des douleurs induit par l'acide acétique, a provoqué une diminution significative de la douleur aigüe (65%).

L'étude de l'activité antioxydante par le test du DPPH a révélé le pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux suite à une comparaison avec un antioxydant de synthèse (vitamine C). L'extrait aqueux a présenté une activité antioxydante importante de 75,8% plus au moins intense que la vitamine C.

En ce qui concerne, le pouvoir antimicrobien de l'extrait aqueux des feuilles d'*Inula viscosa* par la méthode de diffusion en milieu gélosé, les résultats obtenus ont montré que l'extrait aqueux possède un pouvoir antibactérien léger sur la souche *Bacillus subtilis* (11.5 mm), par contre, il s'est révélé inactif sur *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*.

Mots clés : *Inula viscosa*, criblage phytochimique, extrait aqueux, Activité anti inflammatoire, effet antalgique, pouvoir antimicrobien, activité antioxydante.

Abstract

This study focuses on highlight some biological activities of *Inula viscosa* L., such as anti-inflammatory, analgesic, antioxidant and antimicrobial action in order to promote its use in traditional medicine.

The phytochemical screening of the aqueous crude extract allowed to the principale secondary metabolites of such as tannins, flavonoids, saponins, quinones, sénosides, coumarins and glycosides, which might be behind responsible for the pharmacological properties.

The anti-inflammatory effect revealed that leaves crude aqueous extract of *Inula viscosa*, at a dose of 1 g / kg, significantly reduced the edema with 52, 8% of the paw of mouse induced by carrageenan.

On the other hand, the evaluation of the analgesic effect of aqueous extract of *Inula viscosa* leaves the dose 1g / kg in mice rendered painful by the induction of acetic acid caused a significant decrease of acute pain (65%).

The study of the antioxidant activity by DPPH test showed the antioxidant power of the aqueous extract after a comparison with a synthetic antioxidant (vitamin C). The aqueous extract showed a significant antioxidant activity of 75.8%, but more or less intense than vitamin C.

About the antimicrobial property of the aqueous extract of the leaves *Inula viscosa* by the method of agar diffusion, the results show that the aqueous extract has a slight antibacterial activity on *Bacillus subtilis* (11.5 mm), in contrast, it was found inactive on *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*.

Keywords: *Inula viscosa*, phytochemical screening, aqueous extract, anti-inflammatory activity, analgesic effect, antimicrobial, antioxidant activity.

ملخص

Mis en forme : Anglais (États Unis)

تحاول هذه الدراسة تسليط الضوء على بعض الانشطة البيولوجية لـ *Inula viscosa L* من حيث فعاليتها المضادة للالتهابات والمسكنة للألام و الأوكسدة و كذلك مضادة للميكروبات لتعزيز استخدامه في الطب التقليدي.

Mis en forme : Anglais (États Unis)

Mis en forme : Anglais (États Unis)

Mis en forme : Anglais (États Unis)

عن طريق التحليل الكيميائي النباتي للمستخلص المائي تم تسليط الضوء على وجود نواتج الايض الثانوية الرئيسية مثل العفص, الفلافونيدات, الصابونيين, الكينونات, السنوزيد, الكومارينات و الجليكوسيدات, التي من الممكن ان تكون مسؤولة عن الخصائص العلاجية.

كشفت نتائج اختبار الخاصية المضادة للالتهاب ان المستخلص المائي الخام بجرعة قدرها 1غ/كغ, يخفض بنسبة كبيرة التهاب كف الفأرة الناجم عن حقن الكاراجينين بنسبة 52,01%.

و من جهة أخرى تم تقييم تأثير المستخلص المائي للنبنة بجرعة قدرها 1غ/كغ في تخفيض الالام في بطن الفأرة الناجمة عن حقن حمض الاستيك بنسبة 65%.

وكشفت دراسة النشاط المضاد للأوكسدة عن طريق اختبار DPPH القدرة المضادة للأوكسدة للمستخلص المائي مقارنة مع المواد الاصطناعية المضاد للأوكسدة (الفيتامين C) و ظهر بعد ذلك ان المستخلص المائي اقل نشاطا نوعا ما مقارنة مع الفيتامين C حيث تم تقييم النشاط المضاد للأوكسدة للمستخلص المائي بنسبة 75,8%.

فيما يخص النشاط المضاد للميكروبات للمستخلص المائي باستخدام اسلوب الانتشار على الجيلوز المغذي, فقد بينت النتائج ان المستخلص المائي يتميز بقدرة ضعيفة مضادة للبكتريا على سلالة العسوية الرقيقة *Bacillus subtilis* (11,5 مم) بالمقابل لم يسجل أي نشاط على الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* والمكورات العنقودية *Staphylococcus aureus*, القولونية *Escherichia .Coli* والمبيضات البيض *Candidas albicans*.

الكلمات الرئيسية:

Inula viscosaL, التحليل الكيميائي, المستخلص المائي, المضادة للالتهابات, المسكنة للألام, النشاط المضاد للجراثيم, النشاط المضاد للأوكسدة.

Liste des abréviations

ATCC	: American Type Culture Collection.
C.R.D	: Centre De Recherche Et Développement.
DPPH	: 1,1-diphényle-2-picylhydrazil.
E	: Essai.
FeCl ₃	: Chlorure ferrique ou chlorure de fer(III).
HCl	: Acide chlorhydrique.
H ₂ SO ₄	: Acide sulfurique.
KOH	: Hydroxyde de potassium.
LDL	:Low density lipoprotein.
Mg	: Magnésium.
NMRI	: Naval Médical Research Institut.
O.N.A.B	: Office Nationale Des Aliments Et du Bétail.
R	: Référence.
UV-vis	: Ultraviolet-visible.
Vit C	: Vitamine C.
δ	: Ecart-type.
\bar{x}	:Moyenne.

Liste des figures

Figure 1 : <i>Inula viscosa L.</i>	9
Figure 2 : La tige d' <i>Inula viscosa L</i>	10
Figure 3 : Les feuilles d' <i>Inula Viscosa L</i>	11
Figure 4 : Les fleurs d' <i>Inula viscosa L</i>	11
Figure 5 : La plante séchée.....	18
Figure 6 : La poudre de la plante.....	18
Figure 7 : Les souris.....	19
Figure 8 : Schéma représentant la technique de préparation de l'infusé.....	21
Figure 9 : Administration des suspensions aux souris par Gavage.....	24
Figure 10 : Injection de la carragénine 1% par voie sous- cutanée.....	25
Figure 11 : Coupure des pattes postérieures au niveau de l'articulation.....	25
Figure 12 : Les pattes coupées.....	25
Figure 13 : Gavages des Souris.....	27
Figure 14 : Injection de l'acide acétique 1% par voie intra-péritonéale.....	27
Figure 15 : Etirement de la patte postérieure et torsion de la musculature dorso- abdominale.....	28
Figure 16 : Réduction du DPPH.....	29
Figure 17 : Evaluation de l'inflammation pour chaque lot.....	36
Figure 18 : Variation de nombre de crampes chez les souris témoins et traitées à l'extrait aqueux d' <i>Inula viscosa</i> et au Paralgan pour chaque lot.....	39
Figure 19 : Capacité anti-radicalaire de l'extrait aqueux des feuilles d' <i>Inula viscosa</i> en fonction de la concentration.....	40
Figure 20 : Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.	41

Figure 21: Pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux des feuilles d' <i>Inula viscosa</i>	41
Figure 22: Activité antimicrobienne de l'extrait aqueux des feuilles d' <i>Inula viscosa</i> sur les souches testées.....	43
Figure 23 : Réfrigérant à reflux.....	Annexe I
Figure 24 : Etuve.....	Annexe I
Figure 25 : Balance de précision.....	Annexe I
Figure 26 : Agitateur	Annexe I
Figure 27 : Bain Mari	Annexe I
Figure 28 : Spectrophotomètre de Masse UV-VIS	Annexe I
Figure 29 : Quelques verreries utilisées.....	Annexe I

Liste des tableaux

Tableau I	: Les souches utilisées dans l'étude antimicrobienne de l'extrait aqueux d' <i>Inula viscosa</i>	20
Tableau II	: Protocole de détermination du pouvoir antioxydant.....	29
Tableau III	: Récapitulatif des différents groupements chimiques de l'extrait aqueux des feuilles d' <i>Inula viscosa</i>	34
Tableau IV	: Activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d' <i>Inula viscosa</i> sur les différents microorganismes testés (Diffusion en mm par disque).....	43
Tableau V	: Variation du poids en (g) de la patte gauche et la patte droite pour chaque lot de souris après induction de l'œdème.....	Annexe II
Tableau VI	: Pourcentage d'œdème et de réduction de l'œdème des trois lots. Annexe II	
Tableau VII	: Variation du nombre de crampes pour chaque lot de souris après induction de la douleur	AnnexeII
Tableau VIII	: Pourcentage de réduction de crampes.....	AnnexeII
Tableau IX	: Récapitulatif des pourcentages de l'activité Anti- radicalaire de l'acide ascorbique et l'extrait aqueux	AnnexeII

Sommaire

Introduction

Partie I : Rappels Bibliographiques

I. Données bibliographiques sur la phytothérapie et les plantes.

I.1. Histoire de la phytothérapie.....	1
I.2. Définition de la phytothérapie.....	3
I.3. Place de la phytothérapie en Algérie.....	4
I.4. Principales substances actives végétales.....	4

II. Etude de la plante.....8

II.1 Présentation de la famille des composées(Astéracées).....	8
II.2 La Plante <i>Inula viscosa L.</i>	8
II.3 Classification Botanique.....	9
II.4 Etymologie et Nom vernaculaire.....	9
II.5 Description Botanique.....	10
II.6 Habitat.....	11
II.7 Répartition Géographique.....	11
II.8 Composition Chimique.....	12
II.9 Parties Utilisées.....	12
II.10 Propriétés Thérapeutiques.....	12

III. Rappels Pharmacologiques.....13

III.1 Inflammation.....	13
III.1.1 Définition.....	13
III.1.2 Différentes types d'agression.....	13
III.1.3 Les Différentes formes de l'inflammation.....	14
III.2 La douleur.....	15
III.2.1 Définition.....	15
III.2.2 Différentes types de la douleur.....	16
III.3 Antioxydants.....	16
III.3.1 Définition.....	16
III.3.2 Mode D'action.....	17

Partie II : Matériel et Méthodes

I. Matériel.....	18
------------------	----

I.1	Matériel biologique.....	18
I.1.1	Matériel végétal	18
I.1.2	Matériel animal.....	19
I.1.3	Microorganismes	19
I.2	Matériels non biologique.....	20
II	Méthodes.....	20
II.1	Tests phytochimique préliminaire (screening chimique)	20
II.1.1	Préparation de l'infusé.....	20
II.1.2	Identification des métabolites secondaires des feuilles d' <i>Inula viscosa</i>	21
II.2	Etude de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux d' <i>Inula viscosa</i>	23
II.3	Etude de l'activité antalgique de l'extrait aqueux d' <i>Inula viscosa</i>	26
II.4	Evaluation du pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux d' <i>Inula viscosa</i>	28
II.4.1	Préparation de la solution mère de DPPH.....	29
II.4.2	Préparation de la solution mère et les dilutions de l'extrait aqueux.....	30
II.5	Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d' <i>Inula viscosa</i>	31
II.6	Analyse statistique.....	33

Partie III : Résultats et discussion

I.1	Résultat du screening phytochimique.	34
I.2	Résultat de l'activité anti inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles d' <i>Inula viscosa</i>	35
I.3	Résultat de l'activité antalgique de l'extrait aqueux.....	38
I.4	Résultat du pouvoir anti radicalaire de l'extrait aqueux.....	40
I.5	Résultat de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux.....	43

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Depuis l'antiquité l'homme utilise les plantes comme une source principale de nourriture, par la suite il s'est développé pour les utiliser comme médicaments et remèdes à fin de soigner les différentes maladies (**Damintoti et al., 2005**).

Aujourd'hui encore une majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soigne uniquement avec des remèdes traditionnels à base de plantes. De l'aspirine au taxol, l'industrie pharmaceutique moderne elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaires des végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites (**Hostettmann et al., 1992**). D'après les études statistiques, plus de 25% des médicaments dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes (**Damintoti et al., 2005**).

Vers les années 1990 les grandes compagnies pharmaceutiques se sont détournées des produits naturels pour s'intéresser à la chimie combinatoire, croyant que dans quelques années le nombre de médicament serait plus élevé, cependant, ce n'était pas le cas malgré le grand budget investis pour la recherche. Par conséquent, le nombre de médicaments a chuté d'une façon remarquable sachant que pour la synthèse d'un seul médicament 10000 molécules doivent être synthétisées (**Bérubé-Gagnon, 2006**).

Selon l'organisation mondiale de la santé (2003) ,60 % des maladies actuelles seraient dues aux médicaments synthétiques. Cela a entraîné une prise de conscience et un retour à la phytothérapie dont le succès s'explique avant tout par le niveau de maîtrise technique et scientifique atteint dans ce domaine.

Dans l'immense éventail de la flore algérienne, on a choisis *Inula viscosa L.*, espèce appartenant à la famille des composées (Astéracées). Cette plante est très utilisée en médecine traditionnelle Algérienne. Notre étude a porté sur la recherche des principes actifs et l'évaluation des activités biologiques de l'extrait aqueux, préparés à partir de la poudre des feuilles de cette plante. Pour cela nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

*Screening chimique.

*Etude de l'activité anti inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles d'*Inula viscosa L.*

*Etude de l'activité analgésique de l'extrait aqueux des feuilles d'*Inula viscosa L.*

*Evaluation du pouvoir anti radicalaire de l'extrait aqueux de cette plante vis-à-vis d'un radical libre relativement stable(DPPH).

*Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique de l'extrait aqueux par la méthode de diffusion en milieu gélosé.



Partie I : Rappels Bibliographiques

I. Données bibliographiques sur la phytothérapie et les plantes

I.1.Histoire de la phytothérapie:

Les plantes s'imposent sur la planète par leur aspect, leur exubérance et leur mystère. Depuis les temps les plus reculés l'homme a cherché un moyen d'assouvir sa faim. Il a trouvé chez les végétaux des aliments nourrissants, mais aussi des remèdes à ses maux et il a appris à ses dépens à discerner les plantes toxiques. Ces connaissances, transmises d'abord oralement, l'ont ensuite été dans les écrits et il subsiste des traces de l'emploi des plantes comme médicaments par les anciens dans les plus vieilles civilisations (**Chabrier, 2010**).

C'est le cas de tablettes d'argile actuellement conservées au British Museum de Londres. Ces documents des époques sumériennes, akkadiennes et babyloniennes (certains datant de 4000 ans av. J.-C.) ont été copiés sur l'ordre du roi assyrien Assurbanipal (période de règne : 668-627 av. J.-C.) en caractère cunéiforme au 7^e siècle av. J.-C. Dans ces derniers sont mentionnés des drogues comme l'opium, le Galbanum, l'Ase fétide, la Mandragore, ou encore la Jusquiame (**Pari et Moysse, 1976**). Cette gravure représente le premier texte connu sur les propriétés médicinales des plantes. Déjà aux environs de 2000 av. J.C. le roi assyrien Hammourabi (période de règne : 1792-1750 av. J.-C.) encourageait la culture des plantes médicinales (**Bezenger-Beauquesne et al., 1975**).

Le papyrus médical d'EBERS (datant d'environ 1600 ans avant J.C.) est le premier recueil consacré aux plantes médicinales, proposant un inventaire de 12 plantes accompagnées de leur mode d'utilisation (myrte, ricin, ail etc.).

Les Egyptiens possédaient déjà des notions de pharmacopée et plus 200 plantes différentes, ramenées de Syrie par le pharaon Thoutmosis III, apparaissent sur le bas-relief du temple de Karnak (1450 ans avant J.C.) (**Fouché et al., 2000**).

En Inde, les «vedas», livres sacrés contenant toute la sagesse divine, rédigés vers 1500 ans avant J.C., témoignent eux aussi de la connaissance des plantes. Le Khalla et la Centella furent déjà décrits dans le traité médical dénommé «Charaka Samhita» vers 700 ans avant J.C. (**Verdrager, 1978 ; Wichtl et Anton ; 1999**).

L'étude des anciennes civilisations chinoise, hindoue et, au nouveau monde, de celle des Aztèques du Mexique et des Incas du Pérou, montre une connaissance poussée des plantes médicinales et toxiques (**Chabrier, 2010**).

Plus près de nous, les grecs héritèrent, de la même manière, de certaines drogues orientales par l'intermédiaire des Perses. Ils eurent de grands médecins comme Hippocrate (460-377 av J.C.), ou encore Aristote (384-322 av.J.-C.), qui utilisaient des narcotiques (opium, Jusquiame, Mandragore (**Bezenger-Beauquesne et al., 1975**). Théophraste (de son vrai nom tyrtamos) dit Théophrastos « divin parleur» (371-286 av J.C.) , dans son traité sur l'histoire des plantes, a laissé des descriptions botaniques précises.

Mais c'est Dioscoride, herboriste grec (100 ans avant J.C.), né en Asie mineure, qui est le véritable ancêtre des pharmacognostes. Il écrivit un recueil de cinq livres consacré à plus de 500 espèces de plantes médicinales, regroupant déjà les Labiées, les Papilionacées, les Apiacées et les Astéracées. Cet ouvrage connu sous le nom de «*De Materia Medica*», fut publié pour la première fois en 1478. Il constitua la référence principale en Europe jusqu'au 18^{ème} siècle, en rassemblant environ 600 plantes (genévrier, orme, pivoine, bardane etc). Une illustration est fournie avec le «*juliania anicia codex*», qui présente des descriptions brèves de plantes, mais surtout des données concernant l'utilisation pratique de végétaux, le type d'indication et les médications.

Galien (130-201 avant J.C.), d'origine grecque et médecin personnel de l'empereur romain Marc Aurèle, élabora sa théorie des« Quatre humeurs» et s'intéressa surtout à l'anatomie.

Son influence se poursuivra durant près de 15 siècles. Il écrivit seulement trois livres et se limita- aux plantes qu'il appréciait personnellement. Il est considéré comme le père de la pharmacie (**Verdrager, 1978 ; Wichtl et Anton ; 1999**).

Après la chute et le démantèlement de l'Empire romain, l'Europe occidentale traversa une période d'obscurantisme (5^e au 11^e siècle) durant laquelle la magie et la sorcellerie dominèrent l'utilisation des plantes.

Au moyen -âge, c'est essentiellement le monde arabe médiéval qui va, le premier, tenter de codifier la pharmacognosie d'une manière scientifique entre les 8^e et 13^e siècles. C'est en particulier l'œuvre d'Al- Biruni (973-1048), qui compte parmi les plus grands des savants arabes ; il a illustré le 11^{ème} siècle. Astronome, mathématicien, Physicien, géographe, historien, linguiste ; philosophe, poète, il faut aussi cet immense pharmacologiste dont la renommée lui valut le titre de« père de la pharmacopée arabe dans le monde médiéval». Sa pharmacopée témoigne d'une méthode de classification des végétaux, qui sera retrouvée par Linné sept siècles plus tard (**Chabrier ,2010**). Par ailleurs, en plus d'exposer des propriétés médicinales, il a eu le mérite d'indiquer le nom arabe de

chaque plante mais également l'équivalent en grec et en latin, ce qui facilite l'identification botanique. son remarquable travail fut imité, au 13^e siècle, par un autre pharmacologiste arabe Ibn al Beitar (1197-1248) qui décrit quelques 1500 drogues, en grande partie végétales.

Cet ouvrage parvint à la connaissance du monde occidental par le biais d'une traduction latine (dont l'auteur est inconnu), le «*corpus simplicium medicamentarum*».

En dehors de l'école arabe et de sa période de grande activité scientifique, celle italienne de Salerne, créée par Charlemagne, fut très renommée du 11^{ème} au 14^{ème} siècle.

En 1692, paraissait la première «Pharmacopée Royal Galéniques et Chimique» rédigée par M. CHARAS, véritable recueil de préparations médicamenteuses. En 1778, le premier diplôme d'herboriste était décerné par la Faculté de Médecine de Paris. Le premier codex français parut en 1818 et les éditions se sont succédées jusqu'à la parution de la dernière édition de la pharmacopée européenne (**Addendum 1999**).

Actuellement se manifeste un certain désir de retour vers la nature, un besoin d'évasion vers la montagne, la forêt, la mer et les pays lointains. Les mouvements écologiques se multiplient. Ce désir de retour à la nature se manifeste également par un regain d'intérêt pour les traitements par les plantes que la publicité exploite largement. Les vitrines des pharmacies se couvrent de petits paquets de feuilles sèches dont les vertus sont explicitées par de magnifiques gravures (**Verdrager, 1978 ; Wichtl et Anton, 1999**).

Enfin, évoquons d'un mot les milliers de travaux de pharmaco-toxico-chimie sur les produits naturels qui se sont succédés surtout depuis 1950, et qui ont permis à des milliers de malades de retrouver l'espoir (**Wichtl et Anton, 1999**).

I.2. Définition de la Phytothérapie :

Étymologiquement, la phytothérapie vient du grec « **phytos** » qui veut dire plantes et « **thérapias** » qui veut dire soins ou traitement. La phytothérapie est donc l'art de soigner par les plantes médicinales. On distingue deux phytothérapies, mais qui sont en réalité le prolongement l'une de l'autre. L'une est dite **phytothérapie classique**, l'autre est dite **phytothérapie moderne** (**Sallé, 1991**).

I. 2.1. La Phytothérapie Classique :

Ce sont les formes galéniques que l'on utilisait au siècle dernier (infusion, décoction, macération, etc....). Cette phytothérapie encore utilisée de nos jours est très respectable,

mais ne correspond plus à la vie rapide et aux besoins de thérapeutique actuelle. C'est grâce à elle que les connaissances phytothérapeutiques ancestrales nous ont permis d'avoir le renouveau de la phytothérapie dite «moderne ». À partir des données de la phytothérapie classique, et grâce aux nombreuses recherches physico-chimiques, on a pu déterminer les propriétés pharmacologiques et pharmacodynamique de la plante. Leurs applications thérapeutiques sont maintenant plus précises (Sallé, 1991).

I.2.2. La Phytothérapie moderne:

Cette forme galénique moderne permet une facilité d'utilisation. Les gélules sont pratiques à emporter d'une prise orale facile. Cette forme galénique représente l'avenir : la gélule ayant des dosages précis suivant les affections rencontrées (Sallé, 1991).

I.3. Place de la phytothérapie en Algérie :

Depuis des siècles, en Algérie comme dans tous les pays du Maghreb, les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées surtout dans les milieux ruraux par des personnes agréés qui connaissent encore certaines recettes de tisanes.

Dans le Hoggar et en l'absence de médecine dans certaines contrées isolées, les Touareg se soignent avec les plantes médicinales et aromatiques dont ils connaissent le secret transmis de père en fils.

De même, en Kabylie lorsqu'il y a la neige et les routes sont coupées les montagnards utilisent des plantes médicinales et aromatique pour se soigner.

Comparée à d'autres pays africains, notre pays a très peu de tradipraticiens reconnus d'herboristes agrès (Quezel et Santa, 1962).

I. 4. Principales substances actives végétales :

Chaque espèce végétale contient un certain nombre de substances, lesquelles procèdent de métabolisme et s'élaborent comme produit secondaire.

Les métabolites secondaires sont des produits à structure chimique souvent complexe. On recense plusieurs milliers de métabolites (au moins 30000 structures caractérisées) et sont classées selon leur appartenance chimique (Judd *et al.*, 2002). Parmi ces substances on trouve les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les quinones, les coumarines et les alcaloïdes qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire et Pharmaceutique.

I.4.1. Les tanins

I.4.1.1. Définition

Les tanins sont une famille complexe de principes actifs qu'on trouve dans l'ensemble des végétaux, et dans toutes leurs parties (écorces, racines, feuilles, etc...). Ils ont la capacité de former des complexes avec des macromolécules (les protéines ...) et des liaisons entre les fibres de collagènes, d'où leur viennent la plupart de leurs propriétés (**Paolini et al., 2003**).

Leur structure chimique est particulièrement variable, mais comporte toujours une partie polyphénolique ; il existe deux catégories de tanins, d'origine biosynthétiques différentes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Paolini et al., 2003**).

- Les tanins hydrolysables : Ce sont des esters d'oses et d'acides phénols (acide gallique ou ellagique) (**Bruneton, 1999**).
- Les tanins condensés ou tanins catéchiques ou proanthocyanidols : Ce sont des polymères flavanoliques, constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone le plus souvent C4-C8 ou C4-C6 tel la catéchine ou l'épicatéchine (**Bruneton, 1999**).

I.4.1.2. Propriétés biologiques des tanins :

Les tanins sont des métabolites secondaires des plantes, leur conférant une protection contre les prédateurs (herbivores et insectes). La propriété astringente des tanins est à la base d'autres propriétés (vulnérable, anti diarrhéique..), elle permet la cicatrisation l'imperméabilisation de la peau et des muqueuses, favorise la vasoconstriction des petits vaisseaux (**Paolini et al., 2003**).

Les plantes a tanins possèdent des substances non azotées ayant des vertus pour tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible (**Sallé, 1991**).

En outre, les tanins ont un très grand pouvoir antibactérien (**Bassene et al., 1995 ; Baba Moussa, 1998 ; Kolodziej, 1999**), antiviral (**Nonaka et al., 1990 ; Pousset et al., 1993 ; Hong et al., 2000**), anti-inflammatoire (**Mota et al., 1985**) et une activité antimutagène (**Kaur et al., 2000**). Les plantes riches en tanins sont utilisées dans les cas de rhume, de maux de gorge, les problèmes de sécrétions trop importantes, les infections internes ou externes, blessures, coupures et brûlures (**Bruneton, 1999**).

I.4.2. Les Saponosides :

I. 4.2.1. Définition :

Les saponosides (mot latin « sapon », savon ; « saponaire », l'herbe à savon), des hétérosides à aglycones de structure stéroïde ou triterpénique qui tiennent une grande place parmi les substances d'origine végétale (**Robinet, 1951**).

I.4.2.2. Propriétés Biologiques des Saponosides :

Les saponosides ont une activité expectorante, ils rendent un peu moussant la muqueuse des bronches inflammatoires et facilitent l'expectoration. De plus, ils sont de puissants hémolytiques, ils possèdent également des propriétés édulcorantes, largement utilisées dans l'industrie agro-alimentaire (**Bruneton, 1999**). Une action diurétique, antispasmodique et antiphlogistique (**Sallé, 1991**).

I.4. 3. Les Alcaloïdes

I.4.3.1. Définition

Les alcaloïdes sont des molécules d'origine naturelle. On les trouve principalement chez les végétaux, mais aussi chez les animaux et chez certains micro-organismes. Leur structure chimique de base est un hétérocycle azoté sauf pour quelques substances dans lesquelles l'azote est extra cyclique (c'est le cas de la colchicine et de l'éphédrine par exemple). Il existe plus de six mille alcaloïdes mais ce chiffre est en constante augmentation (**Judd *et al.*, 2002**). Les alcaloïdes sont chimiquement composée de carbones, hydrogène, d'azote et d'oxygène. Ce sont des substances azotées qui possèdent une réaction alcalines (**Sallé, 1991**).

I.4.3.2. Propriétés biologiques des alcaloïdes

Les alcaloïdes forment un groupe hétérogène du point de vue de leur structure, de leurs propriétés et de leurs effets biologiques. Ils agissent directement sur le système nerveux avec des effets sur la conscience et la motricité. L'action sur le système nerveux peut aller jusqu'à une action antispasmodique, et mydriatique, anesthésique locale ou analgésique et narcotique.

Les alcaloïdes sont aujourd'hui nommés d'après la plante qui les a fournis, toujours avec une terminaison en "ine". D'une façon générale, les alcaloïdes sont amers et utilisés comme apéritifs (**Bruneton, 1999**).

I.4.4. Les flavonoïdes

I.4.4.1. Définition :

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels du règne végétal (**Ghedira, 2005**), qui sont caractérisés par la présence d'une structure phénolique dans leur molécule, et même d'une structure flavone ce qui les distingue des autres polyphénols (**Toufektsian et al., 2008**).

I. 4.4.2. Propriétés biologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes parviennent à capturer les espèces réactives de l'oxygène associées au stress oxydatif, les empêchant ainsi de créer des dommages cellulaires. En effet, ils sont capables d'inactiver et de stabiliser les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif. Ils inhibent aussi l'oxydation des LDL et, de ce fait, peuvent prévenir l'athérosclérose et diminuer les risques de maladies cardiovasculaires (**Tu et al., 2007**).

Les flavonoïdes sont capables d'exercer en plus des propriétés antioxydantes, des Propriétés anti-inflammatoires, antiallergiques et antiulcérogènes (**Dicarolo et al., 1999**).

I. 4.5. Les Quinones

Ce sont des dicétones aromatiques qui proviennent de l'oxydation de phénols. Leur formule de base est : $C_2H_4O_2$. Elles servent aux teintures et colorent en rouge.

Les quinones sont des substances très actives qui ont les propriétés suivantes :

Antimicrobiennes, surtout sur le gram +, fongicides, vermifuges, purgatives (**Sallé, 1991**).

I. 4.6. Les Coumarines

Ce sont des esters des acides composés. Les dérivés de la coumarine ont les propriétés suivantes :

*de filtrer la lumière.

*une action antibactérienne.

*elles ont également des propriétés fluidifiantes du sang (anti coagulant) (**Sallé, 1991**).

II. Étude de la plante

II. 1. Présentation de la famille des composées (Astéracées) :

Du mot latin *compositus*, composées : fleurs en capitules ou fleurs «Composées». Cette famille qui est, la plus nombreuse de toutes qui comprend environ 12.000 espèces, est surtout distincte des autres par la réunion des deux caractères suivants : anthères soudées entre elles par leurs bords latéraux et fleurs groupées en capitules (**Bonnier,1990**). Le capitule est entouré par des pièces appelées bractées dont l'ensemble forme l'involucre (**Ozenda, 1977 ; Bonnier ,1990**).

Ces espèces sont souvent des plantes herbacées, buissons, ou arbres, matières de réserves constituées d'oligosaccharides entre autre l'inuline, canaux résinifère souvent présent, de même que des laticifères, mais l'un des deux manquant parfois. Présence générale de polyéthylène et d'huile essentielles terpéniques généralement à lactones sesquiterpène (mais sans composées irridoides). Les feuilles sont alternes, opposées ou verticillées, simple, parfois profondément lobées ou découpées, à bord entiers à diversement dentés, à nervation généralement penné ou plamée. Fleurs hermaphrodites ou unisexuées, parfois stériles, actinomorphes ou zygomorphes (**Judd et al., 2002**). Les fruits sont des achaines, c'est-à- dire des fruits secs, indéhiscent et contenant chacun une seule graine. Les achaines portent en outre très souvent à leur sommet un dispositif appelé Pappus et qui favorise la dissémination des semences (**Ozenda, 1977**).

Ovule solitaire dans l'ovaire (**Judd et al ., 2002**).

Parmi les genres appartenant à la famille composée, le genre *Inula*. Ce genre est riche d'environ quatre-vingt-dix espèces (**Geoff et al., 1997**). Parmi ces espèces *Inula viscosa* qui est étudiés dans le présent travail.

II.2. La Plante *Inula viscosa* L (Inule visqueuse) :

Inula, Inule du mot grec : *inaïen* qui veut dire purifier (allusion aux propriétés médicale de plusieurs espèce) *viscosa* qui veut dire visqueux (**Bonnier, 1990**). Les aunées sont bien connues pour leurs corymbes de capitules jaunes à ligules étroits, qui peuvent être assez grands et spectaculaires chez certaines espèces (**Geoff et al., 1997**).

II.3. Classification Botanique

Selon **Judd et al.(2002)**, La classification d'*Inula viscosa* est la suivante :

Règne : Végétal (plantae).

Embranchement : Spermaphytes.

Sous Embranchement : Angiospermes.

Classe : Dicotylédone.

Ordre : Asterales.

Tribu : Inuleae.

Famille : *Composées (Astéracées)*.

Sous famille : Astéroïdeae.

Genre : *Inula*

Espèce : *Inula viscosa*.



Figure 1 : *Inula viscosa* L (originale, 2012).

II. 4. Etymologie et Nom vernaculaire :

Nom scientifique: *Dittrichia viscosa* (L) Greut, *Inula viscosa*(L) Ait (**Bartéls, 1997**).

Synonyme : *Erigeron viscosum* L. *Cupularia viscosa* G.G, *Solidago viscosa* Lam.

Pulicaria viscosa Koch (**Bonnier, 1990**)

Nom commun : Inule visqueuse (**Bonnier,1990 ;Baba Aissa, 1991 ;Bartéls, 1997 ;**).

Nom vernaculaire : Amagramane, Mersitt (**Quezel et Santa, 1963**).

Magramane (**Baba Aissa, 1991**).

II. 5. Description Botanique :

Inula viscosa est une plante vivace de 0.5 à 1.3 m de haut, aromatique, glanduleuse-visqueuse (Bartéls, 1997), croit en touffes et forme comme de petits buissons (Bonnier, 1990). Elle se caractérise par :

Tiges : dressées simples ou ramifiées, lignifiée à la base, densément feuillue (figure 2) (Bartéls, 1997), à rameaux rougeâtre (Quezel et Santa, 1963) et forte racine pivotante lignifiée pouvant atteindre 30 cm de long (Laurentis *et al.*, 2002).

Feuilles : alternes, allongées-lancéolées, 3 à 7 cm de long, 6 à 12 mm de large devenant plus petites vers le haut, parfois à dents écartées (figure 3), les supérieures sessiles, à demi engainantes (Bayer *et al.*, 1990), Elles sont glanduleuse, visqueuses sur les deux faces, ondulées et dentées, rudes au toucher sur les bords, aigües au sommet, embrassant à moitié la tige par leur base (Bonnier, 1990), dégagent une forte odeur caractéristique (Baba Aissa, 1991).

Fleurs : Inflorescence feuillue, longuement paniculée, fleurs nombreuse, capitules de 1,5 cm de large, disque jaune orangé, fleurs ligulées jaunes, 10-12 mm de long, dominant bien les bractées (Bartéls, 1997). Elles sont nombreuses au sommet de la tige et des rameaux (figure 4), se montrent depuis la fin du mois d'Out au commencement d'Octobre (Bonnier, 1990). Les fleurs sont femelles dépassant l'involucre (Bayer *et al.*, 1990).

Fruits : akènes, 2 mm de long, brusquement contractés au sommet, pubescents, Pappus adhérent à la base (Bartéls, 1997). Les fruits mûrs sont blanchâtres, velus, rétrécis en col vers leur sommet, surmontés d'une aigrette de poils doublée à la base par une couronne membraneuse finement crénelée (Bonnier, 1990).



Figure 2 : La tige d'*Inula viscosa* L (Originale, 2012).



Figure 3: Les feuilles d'*Inula viscosa L* (originale, 2012).



Figure4: Les fleurs d'*Inula viscosa L* (originale, 2012).

II.6. Habitat :

C'est une plante rustique, qui pousse en tout sol profond et fertile, bien drainé ou frais, mais pas détrempé. Elle apprécie un emplacement ensoleillé ou à mi-ombre (**Geoff et al., 1997**). Elle évolue aussi bien dans les terrains argileux un peu humides, rocailleux, garrigues (**Quezel et Santa, 1963**). Elle ne s'élève pas à plus de 500 m sur les montagnes (**Bonnier, 1990**).

II.7. Répartition Géographique :

Cette plante est répartie dans le bassin méditerranéen, Nord Afrique, Canaries (**Bartëls, 1997**). En Algérie on la retrouve dans tout le Tell, Sur les lieux incultes et rocailleux (**Baba Aissa, 1991**), les champs, les endroits abandonnés, au bord des rivières et des routes (**Djerroumi et Nacef, 2004**).

II.8. Composition Chimique :

Selon **Trease et Evans (2002)**, *Inula viscosa* contient des dérivés terpiniques, azuléne, hispidulin, psi-taraxastorol acetate, camphre, tymo carvacrol, flavonoïdes, sesquiterpènes, composés aromatiques (inuline, résines).

Les travaux d'**Abu Zarga et al., (2002)** ont décrit la présence en plus de 14 composés identifiés dans l'huile essentielle d'*Inula viscosa* de la région jordanien, 6 nouveaux sesquiterpeniques de types eudesmane. Ces composés sont l'acide 3b-hydroxyilicique, l'acide 3a- hydroxy- épiilicique, l'acide 2a- hydroxyilicique, l'acide 9b- hydroxy- 2 - oxoisocostique, l'acide 1b- hydroxyilicique et l'acide 2b -hydroxyilicique.

II.9. Les Parties Utilisées :

Les parties aériennes de la plante : feuilles, fleurs et les racines (**Halimi, 1997**).

II.10. Propriétés Thérapeutiques :

L'inule jouit d'une grande popularité en Algérie, où elle était utilisée sous forme de suc de feuilles fraîches, pour arrêter les hémorragies, prévenir les inflammations et activer la cicatrisation. Son principe vulnérable aurait été de bon aloi pour les Moudjahidines pendant la révolution. Elle aurait d'autres propriétés encore en usage externe comme : Analgésique (contre les céphalées et les douleurs abdominales), Anti- rhumatismales. En usage interne : diurétique, Vermifuge, Sudorifique et Anti- diabétique. En décoction aqueuse (une petite poignée de feuilles par litre d'eau) (**Baba Aissa, 1991**).

L'inule visqueuse est un désinfectant. Elle est également employée :

- Contre les affections pulmonaires et les maux de tête, chauffer la plante à la vapeur dans un couscoussier, l'asperger d'huile d'olive et l'appliquer enroulée dans un linge sur les parties à traiter (Tête, poitrine).
- Contre les odeurs des pieds, étaler quelques feuilles à l'intérieur des chaussures avant de les mettre (**Djerroumi et Nacef, 2004**).
- Contre les maladies de vessie (**Bonnier, 1999**). Elle est utilisée aussi pour ses activités :
- Antipyrétiques, antiseptiques (**Lauro et Rolih, 1990**).
- Pour traiter les troubles gastroduodénaux (**Lastra et al., 1993**).
- Un effet antiulcérogénique a été attribué à la composition flavonique d'*Inula Viscosa* (**Lastra et al., 1993**).

•L'extrait flavonoïdique et l'huile essentielle d'*Inula viscosa* montrent une activité antifongique contre les dermatophytes et *Candida* spp (Cafarchia, 2002).

III. Rappels Pharmacologiques:

III.1. Inflammation :

III.1.1. Définition :

Historiquement l'inflammation a d'abord été considérée comme un élément néfaste. Ce n'est qu'à partir des travaux de Metchnikoff sur les cellules phagocytaires que la réaction inflammatoire a été reconsidérée et est devenue un des processus essentiels de la protection d'un organisme supérieur. C'est un processus physiologique de défense déclenché lors d'une agression, même stérile, qui entraîne une altération tissulaire, voire sa destruction (Genetet, Grangloff *et al.*, 2002).

L'inflammation, originellement définie par ses signes cardinaux : l'érythème, l'œdème, la douleur et la chaleur, représente la réponse de l'organisme à des agressions variées par des mécanismes divers impliquant des facteurs neurologiques, vasculaires, humoraux et cellulaires (Bach *et al.*, 1988). La réaction inflammatoire est un élément primordial de l'immunité non spécifique. Mais elle est aussi un facteur initiateur et régulateur de la réponse immunitaire spécifique en agissant sur l'activation des lymphocytes (Genetet, Gangloff *et al.*, 2002).

III.1.2. Différents types d'agressions :

Des agressions apparemment très variées peuvent provoquer les mêmes altérations moléculaires et des mécanismes réactionnels communs à l'échelle de la cellule ou des tissus lésés.

1. Agressions par les agents physiques :

Comprennent les lésions thermiques (brûlure, congélation, décongélation), électrique, les lésions tissulaires induites par les micro-ondes, et l'irradiation par les rayons U.V., γ ou χ (Revillard *et al.*, 2001).

2. Agressions par des mécanismes immunitaires :

Des agressions cellulaires sont déterminées par la mise en jeu des mécanismes immunitaires non spécifiques et spécifiques, qu'ils soient déclenchés par une substance

non pathogène par elle-même mais immunogène et inductrice d'une réaction d'hypersensibilité (**Revillard *et al.*, 2001**).

3. Agressions chimiques et métaboliques :

Sont dues à un ensemble de molécules (minérales, organique ou biologiques) susceptible de bloquer certaines fonctions essentielles à la vie cellulaire : poisons de la chaîne respiratoire, de différents systèmes enzymatiques, toxines végétales, bactériennes ou animales (venins) (**Revillard *et al.*, 2001**).

4. Agressions par des éléments solides :

Des éléments solides exogènes (épine, dard d'insecte, fibre d'amiante inhalées) ou endogènes (microcristaux) peuvent induire localement le même type d'effets, les plaies. (**Revillard *et al.*, 2001**).

III.1.3. Les Différentes formes de l'inflammation :

La réaction inflammatoire comporte deux formes peut être aiguë, voire suraiguë allant de quelques minutes à quelques jours ou bien chronique dont la durée va de quelques semaines à des années (**Prin *et al.*, 2002**).

III.1.3.1. L'inflammation aiguë:

L'inflammation aiguë est un phénomène bénéfique pour l'organisme qui peut ainsi retrouver son intégrité physiologique. Cette réponse inflammatoire est caractérisée par élimination ou isolement de l'agent agresseur (bactéries, virus, parasites, tissus lésés) du reste de l'organisme et de permettre le plus rapidement possible la réparation des tissus (**Genetet, Gangloff *et al.*, 2002**). Elle est divisée en 3 grandes phases :

III.1.3.1.1. Phase vasculaire :

La phase vasculaire immédiate, de l'ordre de la minute, et caractérisée par des modifications importantes de la microcirculation locale.

III.1.3.1.2. Phase cellulaire :

La phase cellulaire consiste en une margination des cellules de la circulation sanguine vers le site de l'agression dans les 30 à 60 minutes qui suivent cette agression.

III.1.3.1..Phase de résolution :

La phase de résolution, ou de réparation, est plus ou moins importante selon le degré des lésions tissulaires. En effet dans les conditions les plus favorables, les agents agresseurs sont éliminés par les polynucléaires neutrophiles et les produits de dégradations ainsi que débris cellulaires sont phagocytés par les macrophages. Les macrophages vont alors sécréter des cytokines et des médiateurs qui vont induire la phase de cicatrisation et de régénération tissulaire (**Genetet, Gangloff et al., 2002**).

III.1.3.2.L'inflammation chronique :

Les signes de départ sont identiques à ceux d'une inflammation aiguë (chaleur, douleur, l'érythème, œdème) seules les atteintes fonctionnelles sont plus importantes et ont comme conséquences des destructions tissulaires plus profondes. Ceci s'observe essentiellement quand l'agent agresseur n'est pas éliminé dans l'inflammation granulomateuse (tuberculose, lèpre), lors d'hypersensibilité à médiation cellulaire ou lorsque la cicatrisation tissulaire n'est pas réalisée totalement, comme dans le phénomène de la goutte. Ces inflammations se caractérisent par une infiltration constatée de cellules mononucléées, comme les macrophages, mais surtout les lymphocytes T et B au site de l'agression, par une réaction immunitaire autoentretenu et par une prolifération vasculaire et fibroblastique importante. (**Genetet, Gangloff et al., 2002**).

III.2.La Douleur :

III.2.1.Définition :

L'International Association for the Study of Pain (IASP) définit en 1979 la douleur comme une expérience sensorielle, émotionnelle, désagréable associée à une lésion tissulaire potentielle ou réelle, ou décrite en les termes d'une telle lésion (**Deymier et al., 2003**).

Selon **Saintignan(2004)** la douleur est donc *une expérience*

Désagréable : elle est en rapport avec le vécu de la personne et les diverses interactions Socioculturelles qui interviennent dans sa vie. La douleur est donc individuelle et subjectif.

Sensorielle : elle passe par les organes des sens inhérents au corps humain. Ainsi, la douleur peut être ressentie physiquement et/ ou moralement.

Emotionnelle : elle génère des émotions. Ces émotions passent le plus souvent par des pleurs, des cris, de la colère, de l'angoisse... La douleur peut ainsi bouleverser l'individu

psychiquement. Les étiologies de la douleur sont des dommages tissulaires potentiels «non visibles mais existant, réels « visibles » ou exprimés par la personne comme tels (discours laissant penser que la douleur existe alors qu'il n'y a pas de lésion). Ces dommages tissulaires peuvent être causés par une pathologie, un traumatisme ou par des soins invasifs.

III.2.2. Différents types de douleur :

- *la douleur aiguë* : Ce sont des douleurs qui sont récentes et transitoires. Ayant un rôle de protection de l'organisme, elles sont un signal d'alarme lancé par une partie du corps, sur un laps de temps relativement court. Elles finissent par céder rapidement dès le début du traitement de la cause.

- *la douleur chronique* : Elles se définissent par leur durée : on appelle douleurs chroniques des douleurs qui sont présentes depuis plus de six mois. Présentes parfois au quotidien, elles peuvent être invalidantes et avoir des conséquences somatiques : perte d'appétit, troubles du sommeil. Elles peuvent même altérer les relations sociales.

- *la douleur idiopathique* : Le terme idiopathique recouvre toutes les douleurs dont les mécanismes et/ou les origines ne sont pas connus. Ainsi, certaines maladies ou syndromes sont connus et décrits mais leur cause reste mystérieuse : lombalgie commune, névralgies faciales, colopathies fonctionnelles, fibromyalgies...

- *la douleur psychogène* : Il s'agit de douleurs qui existent sans aucune lésion retrouvée. L'origine du message nociceptif est le cerveau lui-même qui « invente » l'information. Ce type de douleur peut se retrouver, entre autres, associé à des pathologies psychiatriques.

(Laurent ,2007).

III.3. Antioxydants :

III.3.1. Définition :

Le métabolisme produit de l'énergie, par oxydation des substances organiques, ainsi que certaines espèces oxygénées activées (EOA) encore appelées radicaux libres, qui se forment en marge des réactions bénéfiques. Ces radicaux libres ont la capacité d'oxyder diverses molécules et d'occasionner des dégâts de type dégénératif impliqués dans de nombreuses pathologies.

Les radicaux libres sont des substances que l'on retrouve non seulement dans notre organisme mais aussi dans notre environnement extérieur (soit dans l'air, dans l'eau ou dans les aliments). Sa production est favorisée dans certaines situations telles que la consommation excessive d'alcool, le tabagisme, l'exercice physique intense ou mal gérée, la forte exposition au soleil, l'inflammation chronique, l'irradiation et les carences alimentaires (**Boislève, 2005**).

Afin que les EOA n'exercent pas de façon incontrôlée leurs effets délétères, l'organisme dispose d'un vaste réseau de défense comprenant *les antioxydants*. Les antioxydants sont donc des molécules qui sont capables de neutraliser les radicaux libres afin de limiter leurs effets délétères sur les tissus environnants (**Marc et al., 2004**).

III.3.2. Mode D'action :

La défense antioxydante n'est pas un bouclier qui arrête tout ce qui oxyde.

Le processus oxydatif est nécessaire à l'activité de diverses fonctions physiologiques, notamment les processus de défense immunitaire. La protection antioxydante est de ce fait conçue afin de laisser passer ce qui est indispensable au processus vivant et de neutraliser tout ce qui est nuisible. Les antioxydants agissent en captant les radicaux libres (molécules instables) afin d'isoler leurs électrons célibataires et en les transformant par la suite en molécules ou en ions stables. Il existe deux sources de défenses antioxydantes :

-la première est exogène, apportée par la consommation des fruits et des légumes riches en vitamines C et E, en caroténoïdes, en ubiquinones, en flavonoïdes, en glutathion ou acides lipoïques.

-la deuxième est endogène et est composée d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase) ou de protéines (ferritine, transférine, céruléoplasmine, albumine).

A ces deux principales sources s'ajoutent d'autres oligoéléments comme le sélénium, Le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs indispensables à l'activité de certaines enzymes antioxydantes (**Pincemail et Defraigne, 2004**).



Partie II : Matériel et Méthodes

Notre expérimentation a porté sur les feuilles *d'Inula viscosa*, sur les quelles nous avons réalisé des tests phytochimiques et pharmacologiques.

Notre expérimentation s'est déroulée du mois de Juillet au mois de Décembre 2012, au :

- Laboratoire des Substances Naturelles du C.R.D- Sidal de l'unité El Harrach.
- Laboratoire de Pharmacotoxicologie du C.R.D- Sidal de l'unité El Harrach.
- Laboratoire de Microbiologie du C.R.D- Sidal de l'unité El Harrach.

I. Matériel

I.1.Matériel biologique :

I.1.1. Matériel végétal :

Les feuilles *d'Inula viscosa* ont été récoltées au niveau de la région de L'ARBAA wilaya de BLIDA. La récolte s'est faite vers la mi- Juin 2012 où nous avons cueillis 2600g de feuilles fraîches.

Les feuilles ont été séchées pendant 15 jours à l'ombre et à l'abri de l'humidité, à une température ambiante afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules (**Figure 5**). Le broyage a été réalisé à l'aide d'un moulin électrique. Après tamisage, une poudre verdâtre plus au moins fine est obtenue (**Figure 6**). La poudre est conservée dans des flacons en verre hermétiquement fermés et conservés à l'abri de la lumière et de l'humidité.



Figure 5 : La plante séchée.
(Originale, 2012).



Figure 6 : La poudre de la plante.
(Originale, 2012).

I.1.2. Matériel animal :

Des souris Albinos femelles de souche NMRI (**Figure 7**), pesant de 20 à 22 g et élevées à l'animalerie du centre de Recherche et développement groupe Sidal, laboratoire de Pharmacologie et de Toxicologie ont été utilisées pour cette expérience. Nous avons utilisé 15 souris pour l'effet anti-inflammatoire et 18 souris pour l'effet antalgique.

Les souris sont placées dans des cages en plastique au sein d'une animalerie où les conditions d'élevage sont les suivantes:

- la température ambiante est de 20-24°C.
- le pourcentage d'humidité est de 50%.
- l'éclairage est de 10 heures.
- alimentation granulé « O.N.A.B » (49,80% de glucides, 23,5% de protéine, 5% de lipides et 5,7% de complexe minéral vitaminé).
- boisson eau de robinet ad libitum.



Figure 7 : Les Souris (Originale, 2012).

I.1.3. Microorganismes :

Quatre souches bactériennes et une levure ont été utilisées afin d'évaluer l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux étudié sur ces microorganismes. Le tableau *I* résume la liste des souches utilisées :

Tableau I : Les souches utilisées dans l'étude antimicrobienne de l'extrait aqueux d'*I.viscosa*.

	<i>Souches utilisés</i>	<i>Code de la souche</i>	<i>Famille</i>
GRAM-	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 4157	Enterobacteriaceae
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9072	Pseudomonadaceae
GRAM+	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	Micrococcaceae
	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 9372	Bacillaceae
LEVURES	<i>Candida albicans</i>	ATCC 24433	Cryptococcaceae

I.2. Matériel non biologique :

L'appareillage, la verrerie et les réactifs (**voire annexe I**).

II. Méthodes

II.1. Test phytochimique préliminaire (screening chimique) :

Ce test a pour but de connaître la composition en métabolites secondaires des feuilles d'*Inula viscosa*.

L'analyse phytochimique des feuilles d'*I.viscosa* a été menée au laboratoire des substances naturelles de CRD groupe Saidal, selon les méthodes décrites par Bruneton (1999). Ce test est qualitatif, basé sur les changements de couleur, et il est effectué, soit sur la poudre de broyat, soit sur l'infusé.

II.1.1. Préparation de l'infusé :

Nous avons infusé pendant 15 min 20g de la poudre sèche dans 100ml d'eau distillée bouillante. L'infusée a été filtrée pour produire l'extrait aqueux (**Figure 8**).

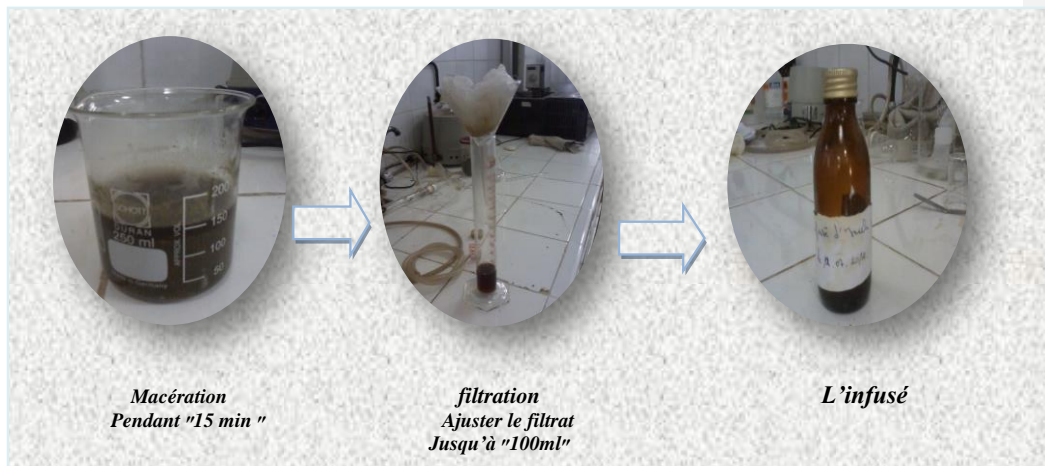


Figure8 : Schéma représentant la technique de préparation de l'infusé.
(Originale, 2012).

II.1.2. Identification des métabolites secondaires des feuilles d'*Inula viscosa* :

a) Identification des anthocyanes :

Leur identification s'effectue de deux manières :

- ♦ Rajouter quelque goutte d'HCL (acide chlorhydrique) à 5ml d'infusé.
La réaction donne une coloration rouge en présence d'anthocyanes.
- ♦ Rajouter quelques gouttes d'ammoniaque 1/2 à 5ml d'infusé. La réaction donne
Une coloration bleue en présence des anthocyanes.

b) Identification des leuco anthocyanes :

La technique consiste à mettre 2 g de la poudre végétale dans 20 ml d'un mélange de propanol/acide chlorhydrique (1V/1V). La solution ainsi obtenue est portée en bain marie bouillant pendant quelques minutes. En présence des leucoanthocyanes, une coloration rouge apparaît.

c) Identification des tanins :

La méthode consiste à rajouter quelques gouttes d'une solution de FeCl_3 à 5% à 5ml d'infusé. La réaction donne une coloration bleu noir en présence des tanins.

1. Tanins catéchétiques :

La détection des Tanins catéchétiques est réalisée par le réactif de stisany.

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration rouge, en traitant 15ml d'infusé par ce réactif.

2. Tanins galliques :

Leur détection consiste à traiter 5ml d'infusé avec 2g d'acétate de sodium et quelques gouttes de FeCl_3 , puis agiter. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu foncé en présence des tanins galliques.

d) Identification des quinones :

1. Quinones libres :

Dans un bécher, 2g de la poudre végétale humectés par 2ml d'acide chlorhydrique N, sont mis en contact pendant 3 heures dans 20 ml de chloroforme, puis filtrer. Le filtrat est agité avec 5ml d'ammoniaque 1/2.

La Formation d'une coloration rouge indique la présence des quinones libre.

e) Identification des saponosides :

Les saponosides sont caractérisés par un précipité blanc. Leur détection est réalisée en ajoutant un peu d'acétate de plomb à 2 ml de l'extrait aqueux.

f) Identification des Alcaloïdes :

L'opération consiste à faire macérer dans une bouteille en verre (Duran SCHOTT) 5g de la poudre végétale humectés avec l'Ammoniaque (1/2) pendant 24 heures dans 50 ml d'un mélange éther chloroforme (3/1). Le mélange obtenu est filtré. Ainsi, le filtrat est épuisé par l'Acide Chlorhydrique 2 N. Des réactions de précipitations sont effectuées sur la solution chlorhydrique. Puis Tester la présence des alcaloïdes par quelques gouttes de réactif de Dragendroff et Mayer Valser afin d'obtenir un précipité rouge et un précipité blanc jaunâtre indiquant respectivement leur présence.

g) Identification des senosides :

La détection des senosides consiste à traiter 2,5g du matériel végétal avec 50 ml d'eau distillée et 2 ml d'acide chlorhydrique concentré; Le mélange est chauffé dans un bain marie pendant 15 minutes. Après refroidissement le mélange est agité avec 40 ml d'éther.

La couche étherée est séparée, séchée avec le sulfate de sodium anhydre et ensuite évaporer à siccité.

Au résidu refroidi, nous avons rajouté 5ml d'ammoniaque dilué (1/2). Une coloration jaune ou orangé apparaît. Le chauffage de cette solution au bain marie pendant 2 minutes donne une coloration violette rouge en présence des sénosides.

h) Identification des coumarines :

L'essai effectué consiste à faire bouillir à reflux 2g de poudre dans 20ml d'alcool éthylique pendant 15 minutes, puis filtrer. A 5ml du filtrat, nous avons rajouté 10 gouttes de la solution alcoolique de KOH à 10% et quelques gouttes d'HCL à 10%.

La formation d'un trouble indique la présence des coumarines.

i) Identification de l'amidon :

Leur détection consiste à ajouter quelques gouttes d'Iode(I₂) à 2g de la poudre végétale. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu violette.

j) Identification des flavonoïdes :

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 5 ml de l'infusé avec 5ml d'HCL concentré, un copeau de Mg et 1ml d'alcool isoamylique. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge orangé se développe après 3 minutes.

k) Identification des glucosides :

L'essai effectué consiste à ajouter quelques gouttes de H₂SO₄ à 2g de poudre végétale.

La formation d'une coloration rouge brique ensuite violette indique la présence des glucosides.

II.2. Etude de l'activité anti-inflammatoire :

L'évaluation de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles *d'Inula viscosa* a été menée selon la méthode de Levy(1969).

La technique utilisée est «Œdème plantaire à la carragénine».

◆ Principe :

L'injection de la carragénine à 1% sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche de la souris provoque un œdème qui peut être réduit par un produit anti

inflammatoire. Cette étude permet de comparer la réduction de l'œdème plantaire après administration de doses égales du produit anti-inflammatoire à tester et du produit de référence correspondant (Colot, 1972).

◆ Mode opératoire :

Les souris sont scindées en 3 lots de 5 souris chacun, un lot témoin et deux lots tests. Les souris des 3 lots ont été mises à jeun pendant 18 heures avant l'expérimentation.

Au temps t_0

Elles ont reçu par gavage (Figure 9) les suspensions suivantes à l'aide d'une sonde gastrique.

◆**Lot témoin** : chaque souris reçoit 0,5 ml d'eau distillée.

◆**Lot essai 1** : chaque souris reçoit 0.5ml d'un produit anti-inflammatoire (Diclofenac® 75mg) (Voir annexe II).

◆**Lot essai 2** : chaque souris reçoit 0,5 ml de l'infusé à une dose de 1g/kg correspondant à 600mg de poudre par kg de poids corporel qui ont été solubilisés dans l'eau distillée à 15ml (Voir annexe II).



Figure 9 : Administration des suspensions aux souris par gavage.
(Originale, 2012).

Au $t_0 + 30$ min

L'inflammation est provoquée par l'injection de 0.025 ml d'une solution de carragénine à 1% (annexe I) sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche de chaque souris (figure 10).



Figure 10 : Injection de la carragénine 1% par voie sous- cutanée
(Originale, 2012).

Au $t_0 +4$ h

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles *d'Inula viscosa* a été évaluée en sacrifiant les souris par éther de l'éthylque puis en coupant les pattes postérieures gauches et droites à la hauteur de l'articulation (**figures 11 et 12**). Les pesées sont faites sur une balance analytique.



Figure 11 : Coupure des pattes postérieures au niveau de l'articulation
(Originale, 2012).



Figure 12 : Les pattes coupées (originale, 2012).

◆ Expression de résultats :

Nous avons calculé les moyennes arithmétiques des poids de la patte gauche et de la patte droite pour chaque lot, Le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% d'œdème) à été exprimé en appliquant la formule suivante :

$$\% \text{œdème} = \frac{\bar{x} \text{ des poids de la patte gauche} - \bar{x} \text{ des poids de la patte droite}}{\bar{x} \text{ des poids de la patte droite}} \times 100$$

le calcul du pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins selon la formule suivante :

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème essai}}{\% \text{ de l'œdème témoin}} \times 100$$

II.3. Etude de l'activité Antalgique (Analgésique) :

L'évaluation de l'effet antalgique de l'extrait aqueux des feuilles d'*Inula viscosa* a été menée selon la méthode de «writhing test».

◆ Principe :

L'injection de l'acide acétique à 1% par voie intra-péritonéale chez la souris provoque une réaction douloureuse. Cette douleur se manifeste par des mouvements de torsion de l'abdomen, avec étirement des pattes postérieures (Crampes), qui peut être réduite par un produit antalgique.

Cette étude permet de comparer la réduction du nombre de crampes après administration de doses égales du produit antalgique à tester et du produit de référence correspondant (Vogel, 1997).

◆ Mode opératoire :

Afin de mettre en évidence de façon indubitable l'effet antalgique, les souris sont réparties en 3 lots de 6 souris chacun, à savoir deux lots traités et un lot témoin. Les souris des 3 lots ont été mises à jeuner pendant 18 heures avant l'expérimentation.

Au temps t_0 :

Le gavage a été réalisé à l'aide d'une sonde gastrique (figure13).

♦**Lot témoin** : chaque souris reçoit 0,5 ml d'eau distillée.

♦**Lot essai 1** : chaque souris reçoit 0,5 ml d'un produit antalgique (paralgan® 500mg).

(Voir annexe II).

♦**Lot essai 2** : chaque souris reçoit 0,5 ml de l'infusé à une dose de 1g/kg correspondant à 600mg de poudre par kg de poids corporel qui ont été solubilisés dans l'eau distillée à 15ml (Voir annexe II).



Figure 13 : Gavage des souris (Originale, 2012).

Au $t_0 + 30$ min

La douleur est provoquée par l'injection à toutes les souris la solution de l'acide acétique à 1% (**annexe I**) par voie intra-péritonéale (**figure14**) sous un volume de 0,2ml

~~pour~~

~~0,2 ml~~ pour chaque souris.



Figure 14: Injection de l'acide acétique 1% par voie intra-péritonéale.

(Originale, 2012).

Au $t_0 + 35$ min

Le comptage de crampes (**Figure 15**) est effectué par observation directe. Les souris sont séparés chacune dans une cage. La durée d'observation est de 10 minutes.

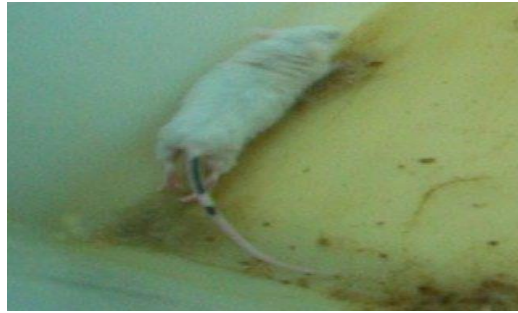


Figure 15: Etirement des pattes postérieures et torsion de la musculature dorso-abdominale (Originale, 2012).

◆ Expression des résultats :

Nous avons calculé les moyennes arithmétiques des crampes pour chaque lot, ainsi que le pourcentage de réduction de crampes (pourcentage de protection chez les souris traitées par rapport aux témoins, selon la formule suivante :

$$\% \text{ de protection} = \frac{\bar{x} \text{ des crampes du lot témoin} - \bar{x} \text{ des crampes du lot essai}}{\bar{x} \text{ des crampes du lot témoin}} \times 100$$

II.4. Evaluation du pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux des feuilles d'*Inula viscosa* :

Pour évaluer l'activité antioxydante, nous avons utilisé la méthode du DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) selon le protocole décrit par **Leitao (2002)**. Le DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composée anti-radicalaire, le DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 517nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir anti-radicalaire de l'échantillon.

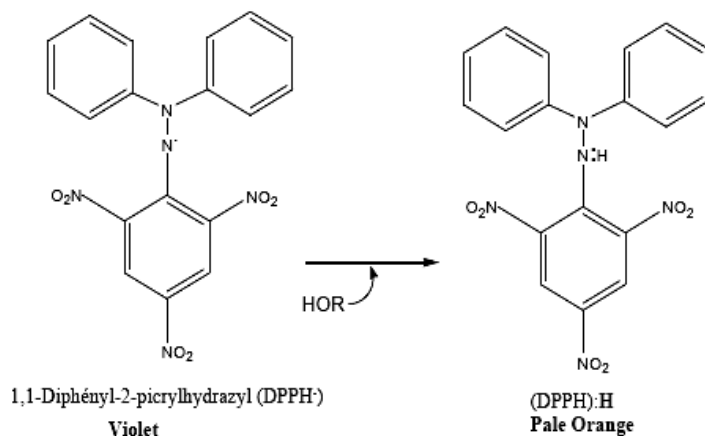


Figure 16 : Réduction du DPPH (Leitao, 2002).

◆ **Mode opératoire :**

La méthode décrite par Leitao (2002) est résumée dans le tableau ci-après :

Tableau II : Protocole de détermination du pouvoir antioxydant

	Solution de DPPH	Echantillon (ml)	Méthanol (ml)
Contrôle	2 ml	-	3 ml
Echantillon	2 ml	3 ml	3 ml
Incubation pendant 30 mn à l'obscurité			

II.4.1 Préparation de la solution mère de DPPH :

Le DPPH est solubilisé dans le méthanol à raison de 2mg /50 ml, sous agitation magnétique pendant une demi heure.

II.4.2 Préparation de la solution mère et les dilutions de l'extrait aqueux :

Comme première étape, 5grs de poudre sont mixé sous agitation magnétique pendant 25 min dans 100ml d'eau distillée. La solution obtenu est filtrée avec du papier filtre wattman.

Des dilutions de notre extrait ont été préparées en choisissant différentes concentrations 0.1 ,0.2 ,0.4 ,0.6, 0.8, 1,1.5 et 2 mg/ml. Où chacune des solutions est mélangée avec la solution méthanolique de DPPH.

Le pouvoir antioxydant sera comparé par la suite avec les mêmes concentrations d'acide ascorbique (vitamine C). Les tests ont été réalisés avec deux répétitions pour chaque concentration de l'extrait aqueux.

La lecture de l'absorbance est faite après 30min d'incubation à température du laboratoire et à l'obscurité ainsi qu'à l'abri de l'O₂ atmosphérique.

L'absorbance est lue à la longueur d'onde de 518nm après étalonnage du spectrophotomètre UV-visible à l'aide du méthanol.

Expression des résultats :

Le pouvoir antioxydant de l'échantillon est donné par la formule suivante :

$$AA \% = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{Echantillon}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

Sachant que :

AA % : L'activité antioxydante de l'échantillon (%).

A_{control} : Absorbance du control à 518nm.

A_{Echantillon} : Absorbance de l'échantillon à 518nm.

II.5.Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* :

L'objectif de cette étude est de déterminer l'effet antimicrobien de l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* à 5% sur la croissance des bactéries et levure par la méthode de diffusion sur milieu gélosé.

1. Principe

Cette méthode consiste à mettre en évidence une éventuelle activité antibactérienne et antifongique ou les deux en même temps, en les mettant en présence des germes testés dont la concentration est ajustée à 10^7 - 10^8 germes /ml avec le spectrophotomètre à l'UV visible. Des disques de 9mm de diamètre, avec une capacité d'absorption de 2 à 3 μ l sont déposés sur la gélose ensemencée en nappe à partir des souches à tester.

La diffusion de l'extrait aqueux, dans la gélose va permettre l'inhibition de la croissance des germes, tout au tour des disques, dans le cas d'une éventuelle activité antimicrobienne positive qui se traduira après incubation par une auréole claire et distincte autour du disque appelée Halo ou zone d'inhibition.

La lecture se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse, pour chacune des souches.

La méthode est validée par le laboratoire microbiologique de CRD –Saidal (**pharmacopée européenne, 2002**).

2. Milieux de culture (voir Annexe I)

3. Protocole expérimental :

a. Préparation de la première couche du milieu :

- Faire fondre les milieux Muller-Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les levures dans un bain marie réglé à 95°C.
- Verser aseptiquement une première couche des deux milieux dans des boites de pétri de 90mm de diamètre à raison de 15ml par boite avec 2 répétitions par souches.
- Laisser refroidir et solidifier sur pailleasse.

b. Préparation de l'inoculum :

La préparation de l'inoculum s'est faite à partir de jeunes cultures (18h à 24h pour les bactéries et 48h pour les levures).

- Réaliser des suspensions microbiennes qu'on dépose dans 5ml d'eau physiologique stérile.
- Agiter au vortex.
- Réaliser une première lecture de la concentration de la suspension à l'aide d'un Spectrophotomètre à une longueur d'onde de 620nm+20 en estimant la transmittance entre 22 et 32% pour les bactéries et 2 à 3 pour les levures.

Les valeurs comprises dans les intervalles cités ci-dessus correspondent à une concentration optimale de 10^7 - 10^8 germes/ml, si une des valeurs trouvées à la première lecture n'est pas comprise dans l'intervalle, on l'ajuste soit en ajoutant de l'eau physiologique si elle est supérieure à la valeur maximale soit en ajoutant les colonies si elle est inférieure à la valeur minimale.

A chaque fois, une nouvelle lecture de transmittance est réalisée jusqu'à l'ajustement de la suspension aux valeurs désirées.

- L'inoculum doit être utilisé dans les 15 min qui suivent sa préparation.

c. Préparation de la deuxième couche du milieu :

- Faire fondre les deux milieux Muller-Hinton et Sabouraud dans un bain marie réglé à 95°C .
- Laisser refroidir jusqu'à une température de 45°C .
- Mettre dans des flacons de 50ml le milieu correspondant pour chacune des souches.
- Ensemencer les milieux avec $100\ \mu\text{l}$ de la suspension.
- Agiter manuellement puis déposer rapidement 4ml de chaque milieu ensemencé sur la surface de la première couche en faisant pivoter la boîte sur elle-même pour avoir une surface uniforme.
- Laisser refroidir et solidifier sur paillasse.

d. Dépôt des disques :

- Prélever à l'aide d'une pince stérile.
- Imbibes-les avec l'extrait aqueux à 5%, en mettant en contact seulement le bout des disques. L'absorption se fait progressivement jusqu'à imprégnation totale de tout le disque.
- Disposer les sur les surfaces de la gélose.
- Laisser diffuser pendant 30min.
- Incuber à 37°C pendant 24h pour les bactéries et 25°C pendant 48h pour les levures.

e. Lecture

- Présence de zone claire autour du disque : présence d'activité inhibitrice.
- Absence de zone claire autour du disque : absence d'activité inhibitrice.

L'estimation de l'activité antimicrobienne est basée sur une échelle de mesure mise en place par **Keshavarz *et al.* (1996)**. Ils ont classé le pouvoir antimicrobien, en fonction des diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne, en 04 classes :

- Fortement inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 28mm
- Modérément inhibitrice lorsque le diamètre de la zone varie entre 16 et 28 mm ;
- Légèrement inhibitrice lorsque le diamètre de la zone varie entre 10 et 16mm ;
- Non inhibitrice lorsque le diamètre d'inhibition est inférieur à 10mm.

II.6.Analyse statistique :

Les résultats ont été exprimés en moyennes \pm écartype ($m \pm \delta$). L'analyse statistique des résultats est réalisée par comparaison des moyennes de chaque lot d'animaux traités par rapport aux témoins en utilisant le test « t » de Student. La limite de la significativité est fixée à $P < 0,05$.

Partie III : Résultats Et Discussion

I.1. Résultat du Screening phytochimique :

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la partie étudiée de la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composé.

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur les feuilles *d'Inula viscosa* sont regroupés dans le tableau III.

Tableau III : Récapitulatif des différents groupements chimiques des feuilles *d'I.viscosa* :

<i>Substances testées</i>	<i>Réaction</i>
Anthocyanes	-
Leucoanthocyanes	-
Tanins	+++
Tanins catéchiques	-
Tanins galliques	+++
Quinones libres	+++
Saponosides	+++
Alcaloïdes	-
Senosides	+
Coumarines	+++
Amidon	-
Flavonoïdes	+++
Glycosides	+++

(-) : absent ; (+) : présent ; (+++) très abondant.

Dans les feuilles de cette plante, la recherche des alcaloïdes, des anthocyanes, des leucoanthocyanes, des amidons, des tanins catéchiques, s'est montrée négative (absents dans les feuilles) mais celle de flavonoïdes, des tanins et des tanins galliques, des saponosides, des coumarines, des quinones libres, des glycosides a été positive (très abondant dans les feuilles).

Il est à signaler que les saponosides sont présents en faible quantité dans les feuilles d'*Inula viscosa*.

L'analyse phytochimique réalisée a permis de constater la présence des grands groupes chimiques, les tanins, les flavonoïdes, les saponosides, les composés réducteurs (coumarines), les quinones, et les glycosides. Ces résultats sont en accord avec les travaux de **Bssaibis et al., (2009)** qui ont révélé la présence des différents métabolites secondaires dans les parties aériennes d'*Inula viscosa* (principalement les composés phénoliques et les terpénoïdes) appartenant à des classes connus.

Selon **Benayache et al., (1991)**, les études phytochimique sur les parties aériennes d'*I.viscosa* ont révélé la présence des flavonoïdes, des acides sesquiterpéniques et des triterpènes esters.

II. Résultat de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles d'*Inula viscosa* :

L'induction de l'inflammation suite à l'administration par voie sous cutanée de 0,025 ml d'une solution de carragénine à 1% au niveau des pattes postérieures gauches des souris, a provoqué l'apparition d'un Œdème (**Figure 17**).

Les résultats des moyennes et de la réduction de l'inflammation obtenus sont compilés dans les tableaux (V et VI) en Annexe II.

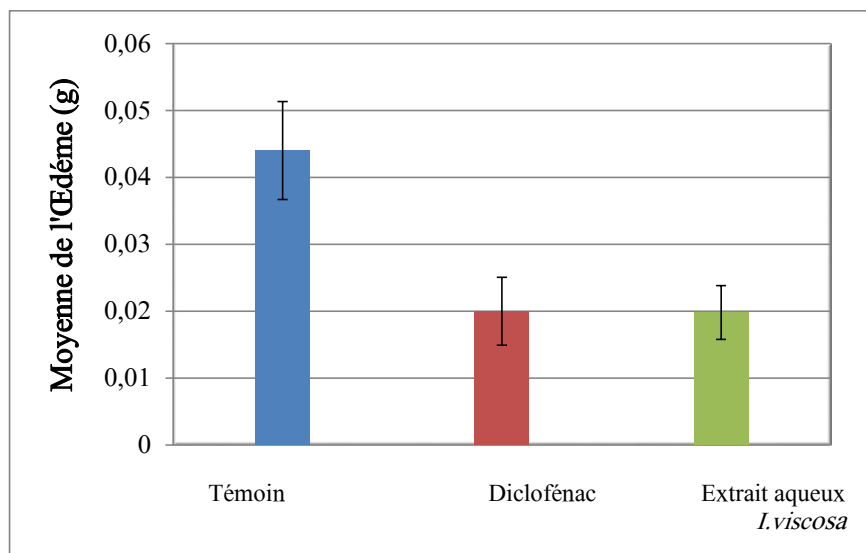


Figure 17: Évaluation de l'inflammation pour chaque lot.

D'après le tableau V (annexe II) et la figure 17, nous observons que le poids de l'Œdème (l'état inflammatoire) induit par la carragénine augmente avec le temps. Cette augmentation est plus importante chez le lot témoin.

Après quatre heures de l'injection de la carragénine, l'Œdème est de $0,044 \pm 0,007$ g chez les souris témoins et $0,02 \pm 0,005$ g ; $0,0198 \pm 0,004$ g respectivement chez les lots traités par Diclofenac produit de référence à la dose de 2.5mg/kg et l'extrait aqueux des feuilles d'*I.viscosa* à la dose de 1000mg/kg (**Figure17**). Ces derniers présentent une différence hautement significative ($P < 0.001$) par rapport aux témoins qui n'a reçu que de l'eau distillée. Ces valeurs correspondent à des pourcentages d'augmentation de l'Œdème (32,49% chez le lot témoin et 15.95% ,15.59% respectivement chez les groupes traités par Diclofenac® et l'extrait aqueux des feuilles d'*I.viscosa*) comparativement au poids de la patte saine. Ainsi la différence entre le lot prétraité par l'extrait aqueux des feuilles d'*I.viscosa* et le lot de référence (traité par Diclofénac®) est non significative ($p > 0.05$), cela signifie que l'activité anti inflammatoire d'*Inula viscosa* ne diffère pas de celle du Diclofénac®.

L'administration de la solution de carragénine 30 minutes après celle de l'extrait aqueux des feuilles d'*I. viscosa* par voie intra-gastrique réduit l'œdème. Le pourcentage de réduction est de 52.01%, dans les mêmes conditions, le Diclofénac® à la dose de 2,5mg/kg à un pourcentage de réduction de 50,24 % (tableau VI, annexe II). L'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux peut s'expliquer en partie par la présence des flavonoïdes dans notre extrait. Selon **Bruneton (1999) et Borgi et al., (2007)** les flavonoïdes sont principalement connus pour leur activité anti oxydante et anti inflammatoire.

Nous pouvons déduire que l'extrait aqueux des feuilles d'*Inula viscosa* à la dose 1000mg/kg (**Mouin-zaza, 2005**) présente un effet anti inflammatoire comparable à celle Diclofenac®. Ces résultats justifient l'utilisation des feuilles d'*Inula viscosa* (aux doses efficaces) en milieu traditionnel pour prévenir ou traiter les inflammations.

La carragénine provoque un œdème de la patte qui est décrit comme un événement diphasique, une phase initiale observée durant la première heure qui est attribuée à la libération de l'histamine et de la sérotonine, et une deuxième phase de gonflement qui est due à la libération des prostaglandines-like (**Crunkhorn et Meacock, 1971**).

Les médicaments anti inflammatoires interviennent en général en s'opposant à l'effet de ces médiateurs chimiques : histamines, sérotonine, kinines et prostaglandines (**Lindsey et al., 1999 ;Attal et Bouhassira, 2000**).

Les souris prétraitées par le Diclofenac®, administré par voie orale, montrent une réduction significative de l'œdème de pattes gauches postérieures. Cette diminution du pouvoir inflammatoire de la carragénine serait attribuée au pouvoir anti inflammatoire du Diclofenac®, un médicament anti inflammatoire non stéroïdien qui inhibe la cyclo-oxygénase (COX) intervenant au sommet d'une cascade de réaction aboutissant à la formation de prostaglandines (**Chakou et al., 1984**).

Les souris prétraitées par l'extrait aqueux des feuilles d'*Inula viscosa* à la dose 1000mg/kg montrent réduction significative de l'œdème. **Abu Jawda et al., (2002)** ont signalé que les dérivés azulène sont présents dans l'extrait d'*Inula viscosa*. Azulène est un extrait de l'huile volatile de plusieurs herbes vivaces et possède une action anti-inflammatoire (**Saki et Miswa, 2005**). Éventuellement azulène est l'un des ingrédients actifs dans le processus anti-inflammatoire. D'autre part, l'effet anti-inflammatoire peut être attribué au contenu flavonoïque de la plante, car ces composés ont été largement étudiés comme inhibiteurs de

certaines médiateurs de l'inflammation, par exemple prostaglandines PGE₂ (**Mouin-zaza, 2005**).

Harnandez et al.,(2001) ont indiqué que l'inuviscolide est le principal sesquiterpénoïde anti-inflammatoire d'*Inula viscosa*, et peut agir en interférant avec la synthèse de leucotriènes et phospholipase A 2 induite mastocyte libération de médiateurs inflammatoires.

Nos résultats concordent avec ceux de **Mouin-zaza(2005)** qui montrent que l'extrait aqueux des feuilles d'*Inula viscosa* à la dose de 1000mg/kg présente un effet anti-inflammatoire maximal, le pourcentage de réduction est de 36%.

Selon **Ouchikh et Serier (2005)**, l'extrait aqueux des feuilles de *Matricaria pubecens* à la dose 125g /l montre une réduction de l'œdème plantaire à la carragénine avec un pourcentage de réduction de 32,60%.

II.3. Résultats de l'activité antalgique de l'extrait aqueux des feuilles

***d'Inula viscosa* :**

Notre étude avait pour but d'évaluer l'activité antalgique de l'extrait aqueux des feuilles d'*I. viscosa*. Nous avons vérifié l'action protectrice de l'extrait aqueux sur la douleur aiguë qui s'est traduite par des contractions ventrales appelée crampes provoquée chez la souris injectés d'une solution diluée d'acide acétique à 1% par voie intrapéritonéale. Les résultats des moyennes et de production de la douleur obtenus sont compilés dans les tableaux (VII et VIII) en Annexe II.

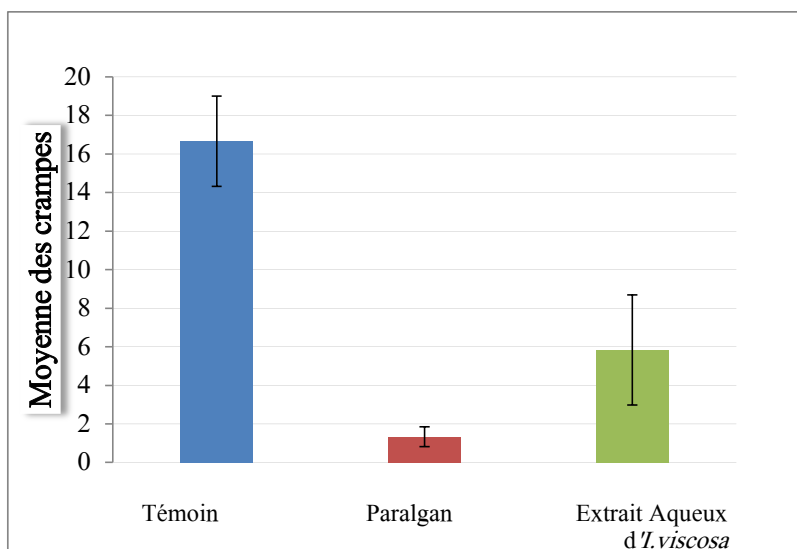


Figure 18 : Variation du nombre de crampes chez les souris témoins et traitées à l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* et au Paralgan.

D'après la figure 18 et le tableau VII (annexe II), nous constatons une différence hautement significative ($p < 0,001$) entre le nombre de crampes enregistrées chez les souris témoins (qui ont reçu uniquement par voie orale de l'eau distillée) et les souris qui ont été traitées par l'extrait aqueux des feuilles d'*I. viscosa* et paralgan®. En effet, le nombre moyen de crampes notées (**Figure 18**) dans le lot témoin est **16,66 ± 2,33** et dans les deux lots traités est respectivement **5,83 ± 2,85** et **1,33 ± 0,51** pour *I. viscosa* et le Paralgan®. Ces derniers diminuent significativement le nombre de crampes induites par l'acide acétique par rapport aux témoins. Ainsi, une différence significative ($p < 0,005$) est enregistrée entre le nombre de crampes chez les lots prétraités par l'extrait aqueux et le produit de références (Paralgan®). Les pourcentages d'inhibition sont 92% et de 65% respectivement chez les lots traités (E1 et E2) (Tableau VIII, annexeII).

Nous pouvons déduire que l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* exerce un effet protecteur vis-à-vis de la douleur provoquée par l'acide acétique plus au moins important à la dose 1000mg/kg, mais moins intense que celui qui a été observé chez lot E1 traité par le Paralgan® à la dose de 50mg /kg. Ces résultats justifient l'utilisation des feuilles d'*Inula viscosa* en milieu traditionnel pour prévenir ou traiter les douleurs aiguës.

Les souris prétraitées par Paralgan®, administré par voie orale, marque une réduction hautement significative de la douleur aigüe. Cette diminution du pouvoir douloureux de l'acide acétique serait attribué au pouvoir antalgique du paracétamol®, un médicament antalgique non opioïde avec une action périphérique (douleurs légères à moyennes) (Laviolle, 2009). Son action antalgique périphérique est présumée liée à la modulation négative de l'intensité douloureuse (probablement par inhibition de la production des médiateurs périphériques de la douleur) (Antoine, 2005).

Les souris prétraitées par l'extrait aqueux à la dose de 1000mg /kg des feuilles *d'Inula viscosa* montrent une réduction très significative de la douleur aigüe. Nous suggérons que les flavonoïdes présents dans l'extrait aqueux des feuilles *d'Inula viscosa* et connus pour leur pouvoir anti inflammatoire seraient responsable de l'activité antalgique. Ces résultats rejoignent ceux d'Abena *et al.*,(1997) qui montrent que l'extrait brut lyophilisé des feuilles fraîches *d'Ageratum conyzoides* à la dose 125 mg/kg, réduit significativement le nombre de crampes abdominales induites par l'acide acétique.

II.4.Résultat du pouvoir anti oxydant de l'extrait aqueux des feuilles *d'Inula viscosa* :

L'activité antioxydante de l'extrait aqueux des feuilles *d'Inula viscosa* vis a-vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne d'un changement de couleur violette à la couleur jaune (Figure 19) mesurable à 518nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti radicalaires (Majhenic *et al.*, 2007).

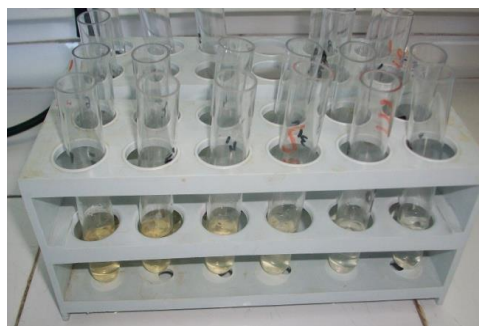


Figure 19 : Capacité anti-radicalaire de l'extrait aqueux des feuilles *d'Inula viscosa* en fonction de la concentration (Originale, 2012).

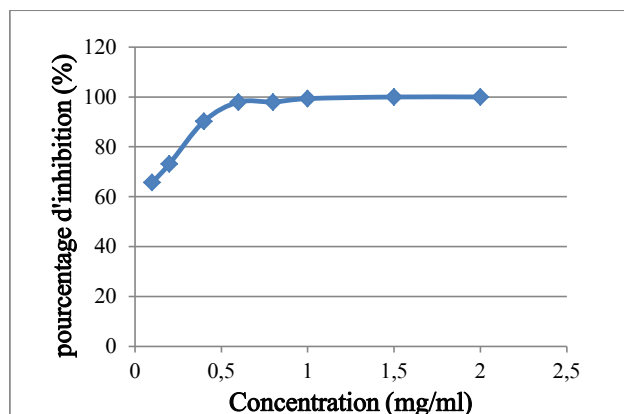


Figure 20 : Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.

Commentaire [p1]:

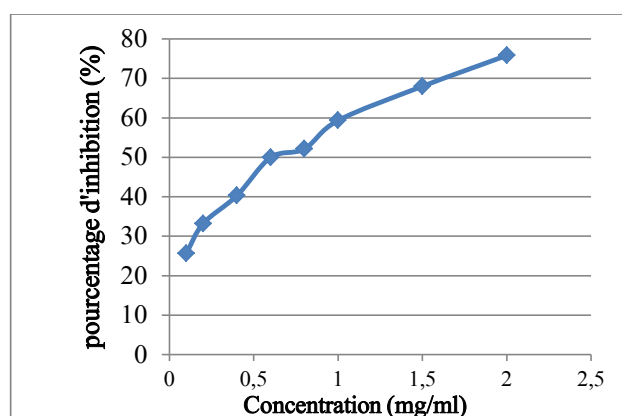


Figure 21 : Pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux des feuilles d'*Inula viscosa*.

Commentaire [p2]:

Nos résultats exprimés en tant que pourcentage de l'activité anti radicalaire (**Figure19et20**), révèlent que l'extrait aqueux testé ainsi la vitamine C prise comme référence, est un anti-radicalaire.

Il semble que le pourcentage d'inhibition du radicale libre augmente avec l'augmentation de la concentration des dilutions, soit pour la vitamine C ou pour l'extrait aqueux des feuilles d'*Inula viscosa*.

On remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour la vitamine C est supérieur à celui de l'extrait aqueux des feuilles d'*Inula viscosa* pour toutes les concentrations utilisées (Tableau IX, annexeII). Pour une concentration de 2mg/ml l'extrait aqueux a révélé un pourcentage de 75,8% et la vitamine C de 100%.

L'étude de la capacité antioxydante de l'extrait aqueux des feuilles d'*Inula viscosa* révèle un important pouvoir de neutralisation des radicaux libres. L'activité antioxydante peut être due à la présence de composés polyphénoliques (flavonoïde, tanin...) dans l'extrait aqueux des feuilles d'*Inula viscosa*. Il est également signalé que les composés phénoliques sont des donneurs efficaces d'hydrogène, ce qui les rend très bons antioxydants (**Yen et al., 1993**).

Le DPPH est un réactif possédant des radicaux libres que les antioxydants stabilisent en captant leurs électrons ou leurs atomes d'hydrogène célibataires. Ces radicaux libres ont des effets délétères sur les structures biologiques comme les lipides, protéines, ADN (**Braca, 2001 ; Biapa et al., 2007**). Les résultats au test DPPH montrent que l'extrait possède un fort pouvoir de captation des radicaux libres de manière concentration-dépendante avec un effet maximal de 75,8% observé à la concentration de 2 mg/ml.

Pour le mécanisme de piégeage de radical, la réaction entre l'antioxydant et DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant. Certains composés réagissent rapidement avec DPPH, réduisant un nombre de molécules de DPPH égal au nombre de groupements hydroxyles (**Bondet et al., 1997**).

Les résultats de l'activité anti-radicalaire sont en accord avec ceux obtenus par **Adnan (2010)**, ce dernier a constaté que l'extrait méthanolique de la plante *Inula graveolens* possède une forte activité antioxydante (64,28%) à la concentration de 50 mg /l.

Cette étude suggère que l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* L. possède une activité antioxydante qui pourrait être utile dans la prévention ou le ralentissement la progression de certaines maladies liées au stress oxydatif.

I.5. Résultat de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux :

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antimicrobien de l'extrait aqueux d'*I. viscosa* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé.

Le tableau IV et la figure 26, extrapolent les résultats obtenus relatifs aux diamètres des zones d'inhibition révélés par l'extrait aqueux des feuilles en utilisant le test de l'aromatogramme.

Commentaire [H3]: MATERIEL ET

Commentaire [p4]: IL FAUT REVOIR LA NUMEROTATION DES FIGURES

Tableau IV: Activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* sur les différents microorganismes testées (Diffusion en mm par disque).

Extrait aqueux à 5% Germes	Diamètres des zones d'inhibition (mm) *	Interprétation
<i>Escherichia coli</i>	9	Non inhibitrice
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	Non inhibitrice
<i>Staphylococcus aureus</i>	10,5	Non inhibitrice
<i>Bacillus subtilis</i>	11,5	Légèrement inhibitrice
<i>Candida albicans</i>	9	Non inhibitrice

* :diamètre de la zone d'inhibition produit autour des disques (diamètre du disque inclus).

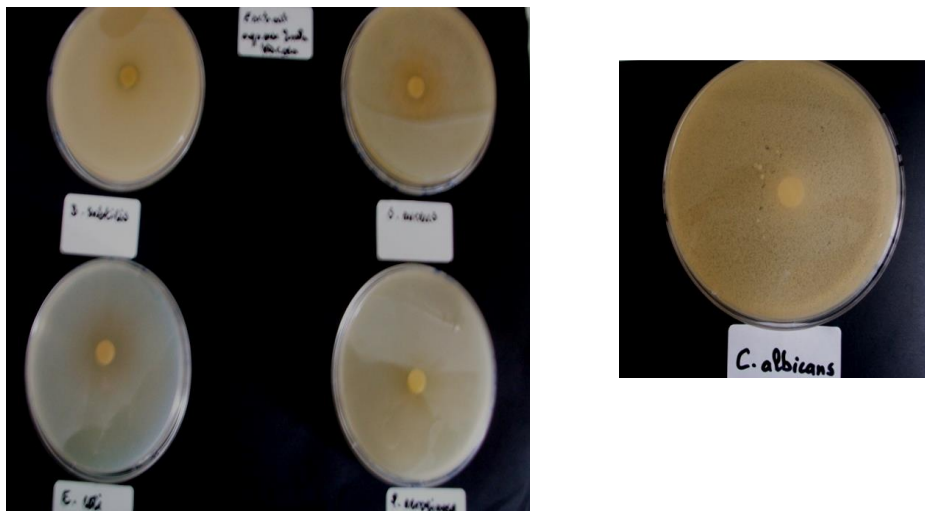


Figure 22: Activité antimicrobienne de l'extrait aqueux des feuilles d'*Inula viscosa* sur les souches testées.

D'après les résultats obtenus, il apparaît que l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* semble avoir une action inhibitrice légère sur la croissance de *Bacillus subtilis* (Bactéries à Gram positif) par contre aucun effet antibactérien n'a pu être décelé sur *Staphylococcus aureus* (Bactéries à Gram positif), *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (Bactéries à Gram négatif), diamètre d'inhibition est tout à fait nul.

De même, on remarque qu'indépendamment de la nature de l'extrait ou de sa concentration, les bactéries à Gram(-) possèdent une forte résistance.

Selon **Faucher et Avril (2002)**, cette résistance est en relation avec la nature de leurs membranes externes (imperméable à la plupart des agents biocides).

Dans ces conditions expérimentales, l'extrait aqueux n'a donné aucune activité inhibitrice sur la croissance de *Candida albicans*.

L'étude phytochimique de la matière végétale d'*Inula viscosa*, réalisée par **Ulubelen et Goun (1986) et Benayache (1991)** à mis en évidence la présence d'une série importante de flavonoïdes, plus d'une vingtaine de molécules sesquiterpéniques et des triterpènes. Certains rapports ont montré que les activités antimicrobiennes de l'inule visqueuse a été associée à la sesquiterpénoïde lactone (**Bourrel et al.,1993 ;Cafarchia et al.,2001**) ou avec un nouveau sesquiterpène, tayounin (**Manez et al.,1999**).

Il existe plusieurs travaux sur l'effet antibactérien d'*I.viscosa*. En **2001**, Bensegueni-Tounsi a indiqué que les extraits hydro-alcoolique et chloroformique des parties aériennes d'*I.viscosa* ont une légère activité antibactérienne sur la croissance *in vitro* de *Staphylococcus aureus*. Par contre aucune action sur la croissance d'*Escherichia coli*, et les extraits à base d'acétate d'éthyle et à base d'hexane sont restés totalement inactifs à la fois sur les deux germes-tests.

Ali Stayeh et al. (1998) montrent que l'extrait aqueux et éthanolique d'*Inula viscosa* présente un effet antibactérien sur *Escherichia coli*, *staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Proteus vulgaris*.

Par ailleurs, les travaux de **Bssaibis et al. (2009)** ont montré que l'extrait des feuilles d'*Inula viscosa* à l'acétone et au méthanol testé sur *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* présente une activité inhibitrice sur les trois souches

utilisées jusqu'à la dilution 1/80 pour les deux solvants, et la dilution au méthanol jusqu'à 1/100 des feuilles présente une activité inhibitrice sur *Staphylococcus epidermidis*, et aucune action sur *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. En revanche, la dilution de l'acétone jusqu'à 1/100 ne présente aucune activité sur les trois souches testées. D'autre part l'extrait éthanolique des feuilles d'*I. viscosa* a présenté une activité antibactérienne sur *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* jusqu'à la dilution 1/100 et une activité antibactérienne sur *Staphylococcus epidermidis* jusqu'à la dilution 1/80.

A la lumière de tous ces résultats, nous pouvons dire que les effets antibactériens obtenus seraient dus à l'action des flavonoïdes existants au niveau des parties aériennes de notre plante.

Au cours de notre travail, aucune activité antifongique, n'a été obtenue à l'égard de *Candida albicans* en utilisant l'extrait aqueux des feuilles d'*I. viscosa*. Des résultats similaires ont été observés dans les travaux de **Bensegueni-Tounsi (2001)** sur *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes* montre que les extraits hydro-alcoolique, chloroformique d'acétate d'éthyle et d'hexane d'*Inula viscosa* n'ont aucune action antifongique sur la croissance de *Candida albicans*. Par contre sur *Trichophyton mentagrophytes*, les extraits hydro-alcoolique et chloroformique d'*Inula viscosa* semblent inhiber totalement la croissance du champignon mais aucune inhibition notée avec l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait d'hexane d'*Inula viscosa*.

Par ailleurs, les travaux effectués par **Maoz et Neeman (1998)** signalent l'effet fongicide de l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* sur *Microsporum canis* et *Trychophyton rubrum*. Cette même action fongicide a été aussi relevée dans les travaux de **Ali Stayeh et Abou ghdeïb (1999)** sur *Trychophyton mentagrophytes* et *Candida albicans*.

Maoz et Neeman (2000) comparent «*in vitro*» l'effet antimycosique de l'extrait hydroalcoolique des feuilles d'*Inula viscosa* sur la croissance des dermatophytes et *Candida albicans* à l'action du Nitrate de Miconazole, un antimycosique connu. Cependant, ils sont arrivés à démontrer que l'action des extraits d'*Inula viscosa* était aussi remarquable que celle du Nitrate de Miconazole.

Références bibliographiques

- ❖ **Abena A.A.Z., Makambila-Koubemba M.C., Nidounga M. 1997**. L'activité antalgique d'un extrait brut de *Ageratum conyzoides* chez la souris étude comparative au tétra *Pharm. Méd. Trad. Afr.*, Vol. 9, pp.34-39
- ❖ **Abou jawdah. Y., Sobh. H., Salameh. A. 2002**. Antimycotic activities of selected plant flora, growing wild in Lebanon, against phytopathogenic fungi. *Journal of agriculture and food chemistry*, 50 pp.3208-3213.
- ❖ **Abu Zarga.M.H.; Sabri, S.S., Hamed, E.M., Khanfar. M.A., Zeller, K.P., Atta-Ur Rahman. 2002**. A new eudesmane type sesquiterpene from *Inula viscosa*. *Natural Product Research*, Vol.17, No.2, pp 99-102.
- ❖ **Adnan .J.M. Al-fartosy.2010**. Antioxidant properties of methanolic extract from *Inula graveolens* L. *Article.Turk For* (35). 591-596.
- ❖ **Ali Stayeh .M.S., Yaghmour. R.M., Faidi Y.R. 1998**. Anti microbial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Jou. Ethnopharmacol* n°4, pp 71-265.
- ❖ **Ali Stayeh. M.S., Abu Ghdeib.S.I. 1999**. Anti fungal activity of plant extracts against dermatophytes. *Depart. Of Bio. Sciencs*, pp 42-72.
- ❖ **Antoine. T. 2005**. Suivi de lancement d'un nouvel antalgique de palier II association fixe de paracétamol-tramadol. thèse docteur en pharmacie. 179p.
- ❖ **Anna. Rev. Nutr., 21**, pp 381- 406
- ❖ **Attal N., Bouhassira D., 2000**. Nouvelle approche pharmacologique de la douleur. *Annales pharmaceutique Française*. Vol. 58, pp 121-134.
- ❖ **Baba Aissa F., 1991**. Les plantes médicinales en Algérie, Ed. Coédition bouchée et Ad. Diwan. ALGER. 113 p.
- ❖ **Baba Moussa F., Akpagana K., Bouchet P. 1998**. Comparaison de l'activité antifongique des feuilles et écorces de tronc de *Pteleopsis suberosa* G. Don (Combrétacées). *Acta botanica gallica*, 145 (3), pp 223-288.
- ❖ **Bach J.F, Avrameas.S, Benveniste.J., Capron. A, Reveillard. ; P, Salmon.M, Papiernik.M., Griscelle.C., Reyes. F, 1988**. Immunologie, 2^{ème} Edition, éd Flammarion Médecine –sciences. Paris 427 p.
- ❖ **Bartëls A., 1997**. Guide des plantes du bassin méditerranéen, Ed. Eugenulmer, Paris. p 172.
- ❖ **Bassene E., Mahamat B., Boye C.S, Faye B. 1995**. Comparaison de l'activité antibactérienne de trois Combretaceae : *C. micranthum*, *Guierasenegalensis* et *Terminalia avicennioides*. *Fitoterapia*, 66(1), pp 86-87.

- ❖ **Bayer E., Buttler K. P., Flinkenzeller X., Graw J.** 1990 .Guide de la flore méditerranéenne ed delachaut et niestlé ,paris pp 206
- ❖ **Benayache. S., Banayache .F., Dendoughi.H., Jay.M.** 1991. Les Favonoïdes d'*Inula viscosa* L. Plantes médicinales et phytothérapie. Tome 25, n° 4 .pp170-176.
- ❖ **Bensegueni-Tounsi. L.** 2001. Etude in vitro de l'effet anti bacterien et anti fongique de *Inula viscosa* –*Lawsonia inermis*-*Asphodelus microcarpus*-*Aleo vera*-*Juniperus oxycedrus* .thèse de magistère en biologie animal .université de constantine .Algérie.110p.
- ❖ **Bérubé-Gagnon.J.,** 2006.Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*.Thèse .Doctorat en chimie.Univ.québec.pp2-4.
- ❖ **Bézanger -Beauquesne L., Pinkas M .Torck M.,1975.** Les plantes dans la thérapeutique moderne, 1^{ère} édition ,Ed. Maloine S.A.pp5-6.
- ❖ **Biapa .P.C.N, Agbor G.A, Oben JE, Ngogang JY.** 2007. Phytochemical studies and antioxidant properties of four medicinal plants used in Cameroon. *Afr. J. Trad. CAM.* 4(4), pp 495-500.
- ❖ **Bondet V.,Williams W.B., Berset C. ;1997.**Kinetic and mechanism of antioxidant activity using the DPPH free radical method.Lebensmittel-Wissenschaft Un Technologie, 30,pp 609-615.
- ❖ **Borji .W., Recio,M.C. Rios J.L,Chouchane,N.** 2007.«Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonid and saponin fraction frome *Zizyphus lotus* (L) Lam.»South African Journal of Botany.
- ❖ **Boislève . J .B.** 2005. Antioxydants : une histoire d'équilibre, 2-5. www.sante-vivante.fr
- ❖ **Bonnier. G,** 1990. La grande flore, Ed. Belin. pp 517-565- 568.
- ❖ **Braca. A.,Tommasi. N .D .,Bari L.D. ,Pizza. C, Politi. M., Morelli .I.** 2001.Anti oxidant principales from bauhinia terapotensis.Journal of naturel products.64.pp 892-895.
- ❖ **Bruneton. J.,** 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème Ed Lavoisier Paris. 1120 p.
- ❖ **Bssaibis F., GmiraN., Meziane M.** 2009.Activity antibacterienne de l'*Inula viscosa*. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn. Vol 3, N°1* .Maroc, pp 44-55.
Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème Ed Lavoisier Paris.pp199-398.
- ❖ **Cafarchia, C. ; De Laurentis,N. ; Milillo,M.A. ; Losacco,V. ; Puccini, V.** 2002. Antifungal activity of essential oils from leaves and flowers of *Inula viscosa* (Asteraceae) By Apulian region. *Parassitologia.*44 pp 41-70 ,153-156.
- ❖ **Chabrier. J.Y.,** 2010.Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse doc .université Henri Poincaré, Nancy 1.France.

- ❖ **Crunkhoom .P ., Meacock S.C .,1971.** Mediators of the inflammation induced in the rat paw by carrageenin.Br j pharmacol.42:pp392-402
- ❖ **Colot. M., 1972.** Notions techniques de pharmacologie générale. Ed. Masson.
- ❖ **Damintoti .K.,Mamoudou. H.D., Jacques.S., Saydou. Y.,Souleyman .S.,Alfred S.T.2005.**Activités antioxydante et antibacterienne des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelles du Burkina faso.Mémoire.Univ. Burkina faso.
- ❖ **Deymier V.,Wrobel J. 2003.** *L'infirmière et la douleur.* 6 ème édition. Paris : Institut UPSA de la Douleur.176p.
- ❖ **Djerroumi.A.,Nacef M, 2004.**100plantes médicinales d'Algérie, palais du livre, Algérie139p.
- ❖ **Dicarlo .G., Mascojo N., Izzo A.A., Capasso F.; 1999.** Flavonoids: olei and new aspects of a class of natural therapelltic drllgs. Life Sci., **65**, pp337-353.
- ❖ **Faucher. J.K ; avril J.K ., 2002.** Bactériologie générale et médical. Tome I. Ellipses (Ed), Paris, 214p.
- ❖ **Fouché. J.G.Marquet. A ., Hambuckers .A. 2000.** Les plantes médicinales de la plante au médicament , observatoire du monde des plantes Sart-Tilman B77.B 4000 liège pp3-7.
- ❖ **Genetet.N, 2002.** Immunologie .Ed. Lavoisier. pp 273-277.
- ❖ **Ghedira K. ; 2005.** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie, **3(4)**, pp162-169.
- ❖ **Geoff. B ; ForresterS.,1997.** Botanica Encyclopédie de botanique et d'horticulture . p 472.
- ❖ **Harnandez,V., Del karmen Recio ,M., Manez ,S., Prieto, J.M ., Ginetto,J.M., Rios ,J .L.2001.**Amechanistic approach to the in vivo anti inflammatory activity of sesquiterpenoid compounds isolated from inula viscosa.Planta Medica,67(8).pp726-731.
- ❖ **حليمي ع . 1997 . دليل النباتات الطبية في الجزائر.** 290صفحة
- ❖ **Hostettmann. K.P., wolfender J.L. 1992.** The potential of higher plants as a source of drugs.chimia 52 .pp10-17
- ❖ **Hong X.Y., Wan M., Dong H., But P.P.H., Foo L.Ycap ; 2000.** Inhibitory activity of flavonoids and tannins against HIV-1 protease. Biological and Pharmaceutical Bulletin, **23(9)**, pp1072-1076.
- ❖ **Judd, W.S, Bouharmont.D, Compbell C.S, Evard.C.M, Kellogg. E.A, Stevens.P, 2002.** Botanique systématique : une perspective phylogénétique, Ed : Boeck université pp : 167-383- 396-398.

Mis en forme : Police :(Complexe)
Arabe (Arabie saoudite), Anglais (États Unis)

Mis en forme : Police :(Complexe)
Arabe (Arabie saoudite), Anglais (États Unis)

- ❖ **Kaur. S.J., Grover I.S., Kumar S. ; 2000.** Modulatory effects of tannin fraction isolated from Terminalia arjuna on the genotoxicity of mutagens in *Salmonella typhimurium*. Food and Chemical Toxicology, **38(12)**, pp1113-1119.
- ❖ **Keshavarz.E. ,Babiuk.L. ,Gerson. , D.Ceschiuhi. M.J.1996.** Lignes Directrices En Matière De Biosécurité En Laboratoire .Public Health Agency Of Canada. 2^{ème} Ed.
- ❖ **Kolodziej H., Kayser O., Latte k.P., Ferreira D.; 1999.** Evaluation of the antimicrobial potency of tannins and related compounds using the microdilution both method. Planta Medica, **65(5)**,pp 444-446.
- ❖ **Lastra C., Lopez A., Motiva V.1993.** Gastroprotection and prostaglandin E2 generation in rats by flavonoids of *Dittrichie viscosa*. Planta Medica 59, pp 497-501.
- ❖ **Laviolle .B .** 2009. Service de Pharmacologie Centre d'Investigation Clinique – INSERM 0203 CHU de Rennes - Université de Rennes . p 17.
- ❖ **Laurent. A., 2007.** La douleur de l'accouchement dans L'imaginaire des multiples, diplôme d'état de sage femme . Toulouse.73p.
- ❖ **Laurentis,N. ; Milillo,M.A. ; Losacco,V. ; Puccini, V.** 2002. Antifungal activity of essential oils from leaves and flowers of *Inula viscosa* (Asteraceae) By Apulian region. *Parassitologia*.44 pp 41-70 ,153-156.
- ❖ **Lauro .L., Rolih C.1990.** Observation an research on an extract of *Inula viscosa*. Bollettino Societa Italiana Biological Sperimentale 66, pp 829-834.
- ❖ **Levy. L., 1969.** Carrageenan paws oedema in the mousse,life sciences.8,pp 601–606.
- ❖ **Lindsay. K.,Jager A.k., Radioo D.M .,Van staden J.,1999** .Screening of plants used by south African traditional healers in the treatment of dysmenorrhoea for prostaglandin synthesis inhibitors and uterine relaxing activity. Journal of Ethnopharmacology .Vol 64(1), pp 9-14.
- ❖ **Majhenic.L., kerget M.S., Knez Z. ; 2007.**Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. Food Chemistry, 104, 1258–1268.
- ❖ **Manez.S.,Recio.M.,Gil.I.,Gomez,C.,Giner,R.M.,Warmremen,P.G.1999.**Aglycosyl analogue of diacylglycerol and other anti-inflammatory constituents from *Inula viscosa* . Journal of natural Products, 62 (4), pp 601-604.
- ❖ **Maoz.M., Neeman.I.1998.** Antimicrobiol effects of aqueous plants extracts of the fungi *microspoum canis* and *trichophyton rubrum* .Letters in Applicable microbiology n° 26 pp 61-63.
- ❖ **Maoz.M. Neeman.I.2000.**Effect of *Inula viscosa* extract on chitin synthesis in dermatophytes and *candida albicans*. Journal. Ethnopharmacol n° 3. pp 479-482.

Mis en forme : Police :Gras, Police de script complexe :Gras

Mis en forme : Gauche

Mis en forme : Français (France)

Mis en forme : Français (France)

Mis en forme : Français (France)

Mis en forme : Exposant

Mis en forme : Police :Non Gras

- ❖ **Marc F., Davin A., Deglène-Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud M., Fritsch P.; 2004.** Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. Médecines Sciences, **20**, pp458-464.
- ❖ **Mota R., Thomas G., Barbosa Filho J.M.; 1985.** Anti-inflammatory actions of tannins isolated from the bark of *Anacardium occidentale* L. Journal of Ethnopharmacology, **13**, pp 289-300.
- ❖ **Mouin Zaza.R. 2005.** The effect of inula viscose extract on inflammation, Microbial ,Growth,Glycemia,and Blood lipid profile.Master's of science in biology Lebanese Amrican university.78p.
- ❖ **Nonaka GI., Nishioka I., Nishi-Zawa A., Yamagishi T., Kashiwada Y., Dutschman GE.,Bodner AJ., Kilkuskie RE., Cheng YC., Lee KH. ; 1990.** Inhibitory effects of tannins on HIV reverse trasceiptase and HIV replication in H9 lymphocyte cells.Journal of Natural Products, **53(3)**, pp 587-595.
- ❖ **Ouchikh. A., Serier A .,2005.,** Etude phytochimique et pharmacologique de *Matricaria pubecens* . Diplôme d'ingénieur d'état université des U.S.T.H.B.42p.
- ❖ **Ozenda.P,** 1977. Flore du Sahara, 2^{ème} Edition, Ed. Centre national de la recherche scientifique. Paris. p416.
- ❖ **Paris.R.R., Moyses. H. ,1976.** Précis de matière médicale. Toms 1,2 et 3.2^{ème} ED. Masson.
- ❖ **Paolini. V., Dorchies Ph., Hoste H. ; 2003.** Effet des tanins condensés et des plantes à tanins sur les strongyloses gastro-intestinales chez le mouton et la chèvre. Alter. Agri., pp17-19.
- ❖ **Pharmacopée européenne,** 2002. 4^{ème} Ed, suppl .conseil de l'Europe, Strasbourg .pp2623.
- ❖ **Pincemail J., Defraigne ; J ;O., 2004.** Les antioxydants, un vaste réseau de défense pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène. Symposium « Antioxydants et alimentation ». Institut Danone.pp 1-2.
- ❖ **Pousset. J.L., Rey .J.P., Levesque J., Corsaget P., Galen FX. ; 1993.** Hepatitis B surface antigen (HBs Ag) inactisation and angiostensin-converting enzyme (ACE) Inhibition in vitro by *Combretum glutinosum* perr.(Combretaceae), extracts. Phytotherapy Research, **7 (1)**, pp101-102.
- ❖ **Prin L. Hachulla E. Hennache B .Bonnote., Dubucquoi S. S., Abbal M., Faure. Avril 2002.** Immunopathologie Et R2action Inflammatoires .Travaux Du Chru De Lille ? Chu De Dijon Chu De Toulouse Et Chu De Nancy. pp 1-23.

- ❖ **Quezel.P., Santa S. 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Edition du Centre National de la Recherche Scientifique. Paris, pp788-789.
- ❖ **Quezel .P.,Santa.S,** 1962. Nouvel flore de l'Algérie, Ed : centre national de la recherche scientifique, Paris. 560 p.
- ❖ **Revillard. J.P,** 2001. Immunologie, Ed de Boeck université .Bruxelles .pp 219-220.
- ❖ **Robinet. F.G. ;** 1951. Saponosides stéroïdes et triterpéniques de synthèse.
Thèse présentée pour l'obtention du grade de Docteur en Sciences Techniques. Ecole Polytechnique Fédérale, Zurich, Suisse. (Prom. No. 1937).
- ❖ **Sallé.J,** 1991. Le totum en phytothérapie approche de photothérapie, Ed. Frison- roche. Paris, pp17-43-44-45.
- ❖ **Saki .H., Misawa,M. 2005.** Effet of sodium azulerne sulfonate on capasaicin-induced pharyngitis in rats-Basicand chemical pharocology and toxicology 96pp 54-64
- ❖ **Saintignan. D.** 2004. L'infirmier anesthésiste peut – il apporter un plus au rôle de référent douleur ? Travail d'intérêt professionnel : Ecole d'infirmier anesthésiste CHU de toulouse,. 52p.
- ❖ **Toufeksian. M.C.,Lorgeril M., Nagy N., Salen P., Donati M.B., Giordano L., Mock H-P., Peterek S., Matros A., Petroni K., Pilu R., Rotilio D., Tonelli C., de Leiris. J .,BoucherF., Martin C. ;** 2008. Chronic Dietary Intake of Plant-Derived Anthocyanins Protects the Rat Heart against Ischemia-Reperfusion Injury.Journal of Nutrition, **138**, pp747-752.
- ❖ **Trease .G.E, Evans.W.C.2002.** Pharmacognosy 12th Ed .pp 224-225.
- ❖ **Tu. Y.C., Lian .T.W., Yen J.H., Chen Z.T., Wu M.J.;** 2007. Antiatherogenic effects of kaempferol and rhamnocitrin. J. Agric. Food Chem., **55(24)**, pp 9969-9976.
- ❖ **Ulubelen. A; Goun .S .1986.** Sesquiterpene acids from *Inula viscosa*. Phytochemistry .vol 26 n° 4, pp 1223-1224.
- ❖ **Verdrager .j.,** 1978. Ces médicaments qui nous viennent des plantes, Ed. Maloine S.A .pp 75-169
- ❖ **Vogel. H.G., Vogel W. H,** 1997. Drug discovery and evaluation, pharmacological assays, pp 382.
- ❖ **Wichtl M .et Anton R.,** 1999. Plantes thérapeutiques. Ed. Tec et Doc. Pp 4-14.
- ❖ **Yen .G.C, Duch .P.D, Tsai. C.L.,** 1993.The relationship between antioxidant activity and maturity of peanut hulls. J Agric Food Chem 4: pp 67-70.

Annexe I

Matériel non biologique :

1. Appareillage :

- ♦ Agitateur.
- ♦ Bain- marie.
- ♦ Balance analytique de précision.
- ♦ Balance pour animaux (GIBERTIN).
- ♦ Bec benzène.
- ♦ Broyeur électrique.
- ♦ Etuve.
- ♦ Hotte.
- ♦ Plaque chauffante.
- ♦ Réfrigérant à reflux.
- ♦ Spectrophotomètre de masse UV-VIS.

2. Verrerie et accessoire :

- ♦ Ampoule a décanté.
- ♦ Ballon a fond rond
- ♦ Becher.
- ♦ Boites de pétri.
- ♦ Bistouri.
- ♦ Disque absorbants.
- ♦ Embouts.
- ♦ Entonnoir.
- ♦ Eprouvette.
- ♦ Erlenmeyer.
- ♦ Fiole jaugé.
- ♦ Flacons ombrés.
- ♦ Gants.
- ♦ Micropipettes automatiques.
- ♦ Mortier.
- ♦ Micro seringue.
- ♦ Papier filtre.

3. Milieux de culture :

- ♦ Milieu Muller-Hinton.
- ♦ Milieu Sabouraud gélosé.
- ♦ Milieu gélose nutritif.

4. Produits et réactif :

- ♦ Acide ascorbique vit c.
- ♦ Acide acétique.
- ♦ Acide sulfurique H_2SO_4
- ♦ Acétate de sodium $(CH_3COO) Na$.
- ♦ Acide chlorhydrique HCL.
- ♦ Acétate de plomb $(CH_3COO)_2 Pb$
- ♦ Alcool éthylique $CH_3-CH-(CH_2)_2-OH_2$

♦ Ammoniaque

- ♦ Chloroforme
- ♦ Copeau de Magnésium.
- ♦ Eau distillée.
- ♦ Ether $C_4H_{10}O$.
- ♦ Fer chlorure anhydre $Fe cl_3$.
- ♦ Hydroxyde de potassium KOH.
- ♦ Iode.
- ♦ Méthanol $CH_3.OH$.
- ♦ Réactif de Dragen Droff.
- ♦ Réactif de stisany.
- ♦ Propanol.
- ♦ Carragénine.
- ♦ Diclofénanc® 75mg.
- ♦ Paralgan® (paracétamol) 500 mg.

Mis en forme : Police :12 pt, Police de script complexe :12 pt, (Complexe) Arabe (Algérie), Français (France)

Mis en forme : Police :12 pt, Police de script complexe :12 pt, (Complexe) Arabe (Algérie), Français (France)

Mis en forme : Police :12 pt, Police de script complexe :12 pt, (Complexe) Arabe (Algérie), Français (France), Indice

Mis en forme : Police :12 pt, Police de script complexe :12 pt, (Complexe) Arabe (Algérie), Français (France)

Mis en forme : Français (France)

Mis en forme : Police :12 pt, Police de script complexe :12 pt, (Complexe) Arabe (Algérie), Français (France)

- ♦Papier aluminium.
- ♦Portoirs pour les tubes.
- ♦Seringue en matière plastique à usage unique de 1ml et 5ml.
- ♦Seringue d'insuline.
- ♦Sonde de gavage.
- ♦Spatule/cuillère.
- ♦Tube à essai.
- **Préparation de la solution carragénine 1% :**
0,5g de carragénine +50 ml d'eau distillée.
- **Préparation de l'acide acétique 1% :**
1ml d'acide acétique ajusté avec l'eau distillée jusqu'à 100ml.

Annexe I



Figure23 : Réfrigérant à reflux



Figure24 : Etuve



Figure25: Balance de précision



Figure26 : Agitateur



Figure27: Bain- marie.



Figure28:Spectrophotomètre de
masse UV-VIS.

Annexe I



Figure29 : Quelques verreries utilisées.

Annexe II

Activité anti inflammatoire

Tableau V : Variation du poids en (g) de la patte gauche et la patte droite pour chaque lot de souris après induction de l'œdème.

T			
Souris	PPD	PPG	PPG- PPD
1	0,124	0,16	0036
2	0,144	0,183	0039
3	0,13	0,174	0044
4	0,135	0,19	0055
5	0,144	0,19	0046
$\bar{X} \pm \delta$	0,1354±0,008	0,1794±0,012	0,044±0,07

E1			
Souris	PPD	PPG	PPG- PPD
1	0,138	0,154	0,016
2	0,112	0,137	0,025
3	0,125	0,139	0,014
4	0,124	0,149	0,025
5	0,128	0,148	0,02
$\bar{X} \pm \delta$	0,1245±0,009	0,1454±0,007	0,02±0,005

E2			
Souris	PPD	PPG	PPG- PPD
1	0,15	0,174	0,024
2	0,119	0,133	0,014
3	0,12	0,143	0,023
4	0,124	0,144	0,02
5	0,122	0,14	0,018
$\bar{X} \pm \delta$	0,127± 0,013	0,1468±0,015	0,0198±0,004

T : témoin /**E1** : souris traitées par le produit de référence Diclofénac® /**E2** : souris traitées par *Inula viscosa*.

PPD : patte postérieure droite/ **PPG** : patte postérieure gauche.

Tableau VI : Pourcentage d'œdème et de réduction de l'œdème des trois lots.

Traitements Lots	% de l'Œdème	% de Réduction de l'Œdème
Témoin	32,49 %	-
Diclofénac®	15,94 %	50,09 %
<i>Inula viscosa</i>	15,59 %	52,01 %

Activité antalgique

Tableau VII : Variation du nombre de crampes pour chaque lot de souris après induction de la douleur (writhing test).

Lots	T	E1	E2
Souris	Nbr de crp	Nbr de crp	Nbr de crp
1	16	1	5
2	18	1	1
3	20	2	8
4	13	2	7
5	16	1	9
6	17	1	5
$\bar{X} \pm \delta$	16,66±2,33	1,33±0,51	5,83±2,85

Mis en forme : Retrait : Avant : 0 cm, Suspendu : 3,8 cm, Espace Après : 0 pt

T : témoin /E1 : souris traitées par le produit de référence paracétamol® /E2 : souris traitées

— par *Inula viscosa* /—

Nbr de crp : Nombre de campes.

Mis en forme : Taquets de tabulation : Pas à 13,15 cm

Tableau VIII : Pourcentage de réduction de crampes.

Lots	Nombre de crampes	% de protection
Témoin	100	-

paracétamol®	08	92 %
<i>Inula viscosa</i>	35	65 %

Tableau IX : Récapitulatif des pourcentages de l'activité Anti- radicalaire de l'acide ascorbique et l'extrait aqueux.

Concentrions mg /ml	Vitamine C	Extrait aqueux
0,1	65,67	25,67
0,2	73,22	33,22
0,4	90,29	40,29
0,6	97,97	49,97
0,8	98	52,13
1	99,34	59,34
1,5	99,99	67,99
2	100	75,8