



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID – TLEMCCEN

MEMOIRE

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Spécialité : Chimie des produits naturels

Par :

Mme Naziha OUKEBDANE

Sur le thème

Caractérisation chimique et évaluation de l'activité biologique d'*Inula viscosa*

Soutenu publiquement le 11 juillet 2021 à Tlemcen devant le jury composé de :

Mr Amine DIB	Professeur	Université de Tlemcen	Président
Mme Nabila AINSEBA	M.C.A	Centre universitaire Maghnia	Encadrante
Mme Nawel MILIANI	M.C.B	Université de Tlemcen	Examinatrice

Année Universitaire : 2020 ~ 2021



Remerciements

En premier lieu, je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné le courage, la volonté, la santé et la patience durant toutes les années d'études.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à ma directrice de recherche Dr. Nabila AINSBA, je la remercie de m'avoir encadrée, orienté, aidée et conseillée.

Mes remerciements vont également au Pr Dib Mohamed El Amine pour m'avoir consacré de son temps en me faisant l'honneur de présider le jury et d'évaluer mon travail.

J'exprime ma profonde reconnaissance à Dr. Nawel MELIANI pour m'avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier le professeur Noury BENABADJI (Laboratoire de Botanique, Département de Biologie, Université Aboubekr BELKAID de TLEMCEM) pour l'identification de la matière végétale.

J'adresse mes remerciements au Professeur GHALEM Saïd, Directeur du Laboratoire de Substances Naturelles et Bioactives « LASNABIO » pour m'avoir accueillie dans son laboratoire.

Mes remerciements vont également à Mr Mourad BENDAHOU pour son aide précieuse et ses conseils.

Ces remerciements ne seraient pas complets sans une pensée pour toutes les personnes qui ont rendu ce travail possible par leurs conseils, remarques et encouragements soit de près ou de loin, notamment Kheira MEHIAOU, Boumediene BELMESOUR, les doctorantes, Lina, Raja et Amina

Je tiens à remercier tous les enseignants du département de chimie qui m'ont accompagnée tout au long de mon cursus universitaire. En particulier Mr DIB Mohamed El Amine, Mr TABTI Boufeldja, Mme Noria MERAD, Mr Mostafa KARA, Mme Amel BENDIABDALAH, Mr Okacha BENASAIID et Mme Afafe RAKEB auxquels je témoigne mon profond respect.

Mes remerciements vont aussi à la promotion de master 2 en Chimie des Produits Naturels de 2021 de l'université ABOU BEKR BELKAÏD DE TLEMCEM





Dédicace

Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds,
Je dédie ce modeste travail

À mes parents, source de tendresse, d'amour et de bonheur et à qui j'exprime ma gratitude pour leur soutien, leurs sacrifices, conseils et prières qui m'ont permis d'arriver au terme de ce travail « Que Dieu vous garde ».

À la mémoire de mon regretté mari
J'aurais été si fière qu'il soit là aujourd'hui, que dieu le tout puissant le reçoive dans son vaste et grand paradis.

À mes très chères fils: MOHAMMED et YOUCEF Pour leur soutien et leurs encouragements tout au long de la réalisation de ce travail.

À ma très chère sœur Fatima :
merci pour ta présence, ton aide et ton soutien moral.

À mon neveu ABDELHAI

Merci pour l'aide concernant la récolte de la matière végétale

À l'ensemble de ma grande famille
À tous ceux qui m'ont aidé.

LISTE DES ABREVIATIONS

CPG/SM: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

BHT: Butylhydroxytoluène

AFNOR: Association Française de Normalisation.

Afssaps : Agence française de sécurité sanitaire et des produits de santé

CPG: Chromatographie en Phase Gazeuse

DPPH: 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle

m : mètre

C : concentration

IC₅₀ : Concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres

RMN: Résonance Magnétique Nucléaire

SM: Spectrométrie de masse

HD: Hydro distillation

H.E: Huile Essentielle

P.A: Partie aérienne

Afssaps : Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé

SOD : Le super oxydedismutases

ERO : Espèce réactive d'oxygène

GPX : La glutathion peroxydase

CCM : La *chromatographie sur couche mince*

I% : pourcentage d'inhibition

°C : degré Celsius

I.P.P : isopenténylpyrophosphate

DO : densité optique.

UV: ultraviolet

OMS : Organisation mondiale de la santé

ml : millilitre

mg : milligramme

g : gramme

UV/VIS : ultraviolet visible.

Liste des figures

Figure I.1 : Quelques terpènes	6
Figure I.2 : Quelques composés phénoliques	7
Figure I.3 : Structure de quelques alcaloïdes	7
Figure I.4 : Structure de quelques molécules des huiles essentielles	8
Figure I.5 : Schématisation de la balance entre les ERO et les antioxydants	12
Figure I.6 : Formation des radicaux libres et leurs conséquences	13
Figure I.7:Acide ascorbique	14
Figure I.8: Structure de l' α -tocophérol	14
Figure I.9 : Caroténoïdes	15
Figure I.10 : Antioxydants de synthèses	15
Figure I.11 : <i>Inula viscosa</i>	16
Figure I.12: Feuilles d' <i>inula viscosa</i>	16
Figure I.13 : Feuilles d' <i>inulviscosa</i>	16
Figure I.14 : Fleurs d' <i>inula viscosa</i>	16
Figure I.15 : Répartition géographique du genre <i>viscosa</i>	18
Figure I.16 Les flavonoïdes d' <i>I.viscosa</i>	19
Figure I.17 Structure chimique des sesquiterpènes lactones d' <i>I.viscosa</i>	19
Figure I.18 : Structure chimique triterpénoïdes d' <i>inula viscosa</i>	20
Figure I.19 :Thymol	21
Figure I.20 : Carvacrol	21
Figure I.21:Farnsylacetone	22
Figure I.22 Répartition et variabilité de la composition chimique des HES d' <i>inula viscosa</i>	23
Figure I.23 : Quelques molécules isolées d'huile essentielle d' <i>inula viscosa</i>	24

Figure II.1 : Plante fraîche	26
Figure II.2 : Plante sèche	26
Figure II.3 Poids Poids frais de l'échantillon (g).	27
Figure II. 4 Poids sec de l'échantillon (g)	27
Figure II.5 : La masse de la poudre <i>d'I. viscosa</i> (g)	28
Figure II.6: Extraits aqueux et éthanolique	28
Figure II.7 : Appareil d'hydro distillation	30
Figure II.8 : Pilulier en verre ambré	30
Figure II.9: Plaques CCM sous la lampe UV /Visible	31
Figure II.10: Masse de silice utilisée	32
Figure II.11: Gel de silice	32
Figure II.12Montage de la colonne	32
Figure II.13: Les différentes fractions collectées	33
Figure II.14 : Evaporation du solvant	33
Figure II.15 : Structure de 2-2 Diphényl (1-1) picrylhydrazyl libre et sa forme réduite	34
Figure II.16 : 2,2-diphényl (1-1) picrylhydrazyl	34
Figure II.17 : La solution de DPPH•	34
Figure II.18 : Les concentrations filles	35
Figure II.19 Spectrophotomètre UV//Vis	36
Figure II.20 : Schéma récapitulatif du test au DPPH	36
Figure II.21 : le mélange de 1ml de solution de DPPH +1ml d'antioxydant avant et Après incubation	36
Figure II.22 : Variation du pouvoir d'inhibition en fonction de la concentration HE <i>d'inula viscosa</i> de S ₁	38
Figure II.23 : Variation du pouvoir d'inhibition en fonction de la concentration HE <i>d'inula viscosa</i> de S ₂	38

Figure II.24 : Variation du pouvoir d'inhibition en fonction de la concentration HE <i>d'inula viscosa</i> de S ₃	39
Figure II.25 : Variation du pouvoir d'inhibition en fonction de la concentration HE <i>d'inula viscosa</i> de S ₄	39
Figure II.26 Variation du pouvoir d'inhibition en fonction de la concentration de BHT	40
Figure II.27 : Réaction de réduction de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$	41
Figure II.28 Le matériel utilisé dans méthode de FRAP	41
Figure III-1-Taux d'humidité des feuilles <i>d'inulas viscosa</i> MArsabnmhidi	43
Figure III-2-Taux d'humidité des feuilles <i>d'inulas viscosa</i> Maghnia	43
Figure III-3-Taux d'humidité des feuilles <i>d'inulas viscosa</i> Tlemcen	43
Figure III-4-Taux d'humidité des feuilles <i>d'inulas viscosa</i> Bniouarsous	43
Figure III.5:Résultats des tests extraits aqueux et ethanoliques	44
Figure III.6.: Histogramme représente Rdt des HEs	46
Figure III..7:Huile essentielle <i>d'inula viscosa</i>	47
Figure III.8. : élution de la plaque CCM	49
Figure III.9. : Plaque CCM sous le lompe UV .V	49
Figure III.10.: Histogramme des IC ₅₀ des huiles essentielles déterminées par la méthode DPPH	50
Figure III..11: Courbes d'évaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de FRAP DO =f(C)	53

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : la position systématique d' <i>Inulaviscosa</i>	17
Tableau 02 : Les lieux de récoltes d' <i>inula viscosa</i> Tlemcen Algérie	22
Tableau 03 : Données relatives aux lieux de récolte d' <i>Inula viscosa</i>	26
Tableau 04 . Réactifs spécifiques et réactions de caractérisation du criblage phytochimique	29
Tableau 05 : Teneur en eau des feuilles d' <i>Inula viscosa</i> des quatre stations	43
Tableau 06 : les résultats de screening phytochimique	45
Tableau 07 : rendement d'huile essentielle des feuilles d' <i>Inula viscosa</i>	46
Tableau 08 : Propriétés organoleptiques d'huile essentielle des feuilles d' <i>inula viscosa</i>	47
Tableau 09 : Le nombre de fractions collectées et% des éluons utilisé.	49
Tableau 10 . Pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle d' <i>inula viscosa</i> des quatre stations	50

TABLE DES MATIERES

Introduction générale	2
Chapitre I : synthèse bibliographique	
I – Plantes médicinales	5
I.1.Définitions des plantes médicinales	5
I.2. Définitions de La phytothérapie des plantes	6
I.3. Composition phytochimique des plantes	6
II– Les huiles essentielles	8
II .1. Définitions des huiles essentielles	8
II .2. Localisation des huiles essentielles	9
II. 3. Les constituants des huiles essentielles	9
II .4. Rôle des huiles essentielles dans la plante	9
II.5.Conservation des huiles essentielles	10
II.6.Méthodes d'extraction	10
II.7.Méthodes d'identification chimiques des huiles essentielles	10
II.8 .Activités biologiques des huiles essentielles	11
II .9.L'aromathérapie	11
III – Le stress oxydatif	11
III .1.Définitions des radicaux libres	12
III .2. Moyens de défense contre les radicaux libres	14
a–Antioxydants enzymatiques	14
b –Antioxydants non enzymatique	14
c –Antioxydants de synthèses	15
IV – Plante étudiée <i>inula viscosa</i>	15
IV.1. Description	16

IV.2. Taxonomie	17
IV.3.Nom scientifique et synonymes	17
IV.4. Répartition géographique	18
IV.5. Composition chimique et utilisation	18
IV.6. Utilisations en médecine traditionnelle	20
IV.7. Les travaux antérieurs sur des huiles essentielles d' <i>inula viscosa</i>	21
Chapitre II : matériels et méthodes	
I. Matériel végétal utilisé	26
I.1. Taux d'humidité	26
I.2. Test phytochimique (screening chimique)	27
a – Extrait aqueux	27
b–Extrait ethanologique	27
II – Huiles essentielles	29
II-1- Extraction des huiles essentielles par hydro distillation	29
II -2- Calcul du rendement	30
II -3- Les séparations chromatographiques de l'huile essentielle d' <i>inula viscosa</i>	31
a- CCM préparations	31
b–La préparation de la colonne	31
III –Évaluation de l'activité anti-oxydante	33
III.1.Piégeage du radical libre DPPH•	33
III.1.1. Préparation de la solution de DPPH	34
III.1.2.Préparation de la solution mère et les solutions filles	35
III.1.3. Protocole expérimental	35
III.1.4. Détermination du pourcentage d'inhibition	37
III.1.5. Droites de pourcentage d'inhibitions en fonction des concentrations	37
III.2-Pouvoir réducteur du fer	40

III.2.1.Principe	40
III.2.2.Mode opératoire	41
Chapitre III : Résultats et discussions	
I– Les résultats de taux d'humidité	43
II– Les résultats Screening phytochimique	44
III –L'huile essentielle	46
III.1. Calcul du rendement en huile essentielle	46
III.2. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle d' <i>inula viscosa</i>	47
III3. La chromatographie sur colonne de l'huile essentielle d <i>inula viscosa</i>	48
IV–Evaluation des activités antioxydantes des huiles essentielles <i>inula viscosa</i>	49
IV.1.Test de piégeage du radical libre DPPH	49
IV.2. Pouvoir réducteur du fer	52
Conclusion Générale	55

Introduction Générale

Introduction générale

Depuis l'Antiquité, l'homme a utilisé un grand nombre de plantes pour traiter divers problèmes de santé. Maintenant, plusieurs sociétés ont eu recours à la nature, principalement aux plantes comme sources médicales et sanitaires (Giannenas et *al.*, 2020 ; Elachouri, 2018).[1]

Aujourd'hui, un grand pourcentage de la population mondiale, en particulier dans les pays en développement, utilise ces herbes pour faire face aux besoins primaires d'assistance médicale. On estime que dans les pays en développement, environ 80 % de la population dépend des produits à base de plantes médicinales pour l'automédication (OMS, 2013 ; Akerele, 1993).[2]

Selon l'OMS, "une plante médicinale est une plante qui contient, dans un ou plusieurs de ses organes, des substances qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques, ou qui sont des précurseurs de la chimio-pharmaceutique hémi-synthèse"[3]

L'utilisation des plantes médicinales par l'homme est une pratique antique. De nos jours, de très nombreuses plantes sont utilisées, par la majorité des habitants du globe terrestre compte tenu de leurs propriétés aromatiques, comme source d'assaisonnement ou comme remède en médecine traditionnelle (Merghoub et *al.*, 2011).[4]

La composition chimique de La plante est très complexe, les centaines de substances qui la composent interviennent ensemble à son activité médicinale. C'est en effet la synergie de tous les constituants qui donne à la plante ses effets thérapeutiques recherchés.

Les principes actifs sont essentiellement des alcaloïdes, des terpénoïdes et des polyphénols (Paris et Hurabielle, 1980).[5]

Ces dernières produisent une large gamme de composés phytochimiques. Selon les statistiques récentes, les deux tiers des médicaments actuels commercialisés sont d'origine naturelle (Morel, 2011).[6]

Ils ont été obtenus par hémi-synthèse à partir d'un pharmacophore ou par modification des produits naturels ; composés issus des biotechnologies, vaccins, composés d'origine végétale, microbiologique ou animale. Seul un tiers des médicaments possède donc une origine purement synthétique (Verpoorte et *al.*, 2002).[6]

En Algérie, comme dans tous les pays du Maghreb et les pays en voie de développement, le recours à la médecine traditionnelle est largement répandu, et plusieurs remèdes à base de plantes utilisés individuellement ou en combinaison sont recommandés (Azzi, 2013). [7]

Introduction générale

Dans le cadre de la valorisation des espèces végétales algériennes, et compte tenu des vertus thérapeutiques que représentent nous sommes intéressés à l'extraction des huiles essentielles d'*inula viscosa* provenant de la région de wilaya de Tlemcen

Notre choix est portée sur la plante aromatique *inula viscosa*, car elle est très répandue en Algérie et largement utilisée en médecine traditionnelle. Notre étude est présentée en trois chapitres. Le premier chapitre est réservé à la présentation de la matière végétale : *inula viscosa*.

Suivi du second chapitre ou nous présentons le matériel et les méthodes utilisées pour la réalisation de ce travail. La dernière partie de ce travail été consacrée à la présentation de nos résultats obtenus et leurs discussions. Nous terminerons par une conclusion générale.

Chapitre I: Synthèse bibliographique

I – Plantes médicinales**I.1. : Définitions des plantes médicinales**

Selon l'OMS : « La médecine traditionnelle est la somme totale des connaissances, compétences et pratiques qui reposent sur les théories, croyances et expériences propres à une culture et qui sont utilisées pour maintenir les êtres humains en bonne santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques et mentales ». [8]

Selon la définition de la Pharmacopée Française (11ème édition en vigueur) : « Les plantes médicinales sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée Européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Ces plantes médicinales peuvent aussi avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques ». [9]

- Les plantes médicinales sont des plantes dont un des organes (feuille, écorce) possède des effets thérapeutiques et parfois toxiques selon son dosage. Les plantes médicinales sont les plantes utilisées en phytothérapie à cause de leurs principes actifs, elles peuvent être vendues en herboristerie, en pharmacie, avec ou sans prescription selon la réglementation du pays(Debuigne, 1974)[10]

Les plantes médicinales sont donc les plantes qui auraient une activité pharmaceutique pouvant conduire à des emplois thérapeutiques, cela grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent sur l'organisme humain (Naghibi et *al.*, 2005). [11]

Elles sont utilisées en pharmacie humaine et vétérinaire, en cosmétologie, ainsi que dans la confection de boissons, soit nature ou en préparation galénique, soit encore sous forme de principes actifs, le tout pour l'obtention d'effets curatifs (Babulka, 2007).[11]

En raison de la présence de divers constituants bioactifs importants (tels que les composés phénoliques, flavonoïdes, alcaloïdes, tanins et terpénoïdes) Les plantes médicinales ont des propriétés curatives. Les huiles essentielles sont l'un des plus importants produits naturels provenant de plantes pour leurs diverses propriétés biologiques à usages médicamenteux

(Elshafie et *al.*, 2015).[12]

I.2. Définitions de La phytothérapie des plantes

Etymologiquement, le terme « phytothérapie » se décompose en deux termes distincts qui sont « phuton » et « therapeia » et qui signifient respectivement « plante » et « traitement » de par leur racine grecque [9]

La phytothérapie est une discipline allopathique, destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes (feuilles, fleurs, racines, fruits et graines) ou de préparations à base de plantes (Wichtl et Anton, 2003).[13]

I.3. Composition phytochimique des plantes

Il y a deux groupes de métabolites dans la plante, primaires et secondaires.

Les métabolites primaires sont classés en quatre principaux groupes : les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques.

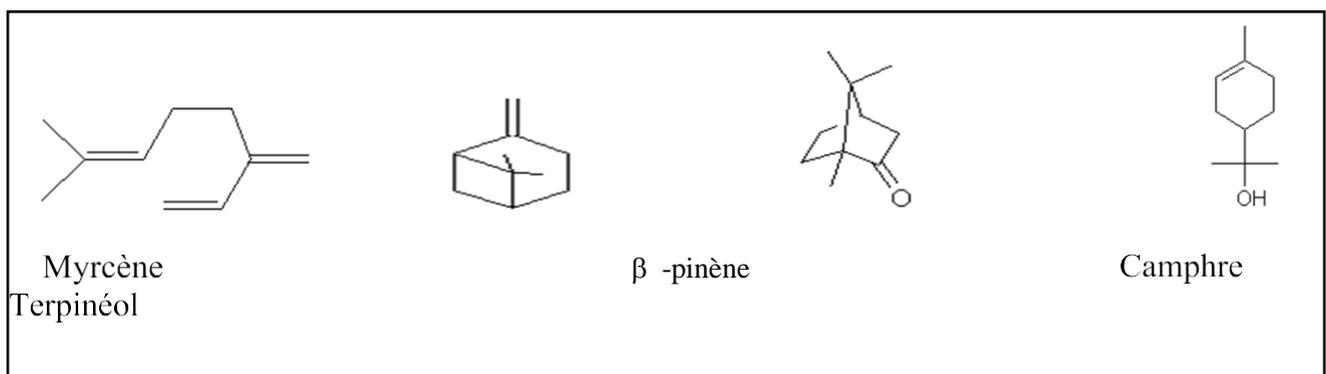
Ces composés assurent la survie de la plante

Quant aux métabolites secondaires, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante.

Ils sont utilisés à sa défense contre les agressions extérieures.

Les principales familles de métabolites secondaires trouvées chez les plantes sont:

- ✓ Les terpènes : sont des dérivés de l'isoprène ($C_5 H_8$) et ont pour formule de base des multiples de celle-ci ($(C_5 H_8)_n$)



.Figure I.1 : Quelques terpènes

- ✓ Les composés phénoliques rassemblent plusieurs classes chimiques qui présentent toutes dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH).

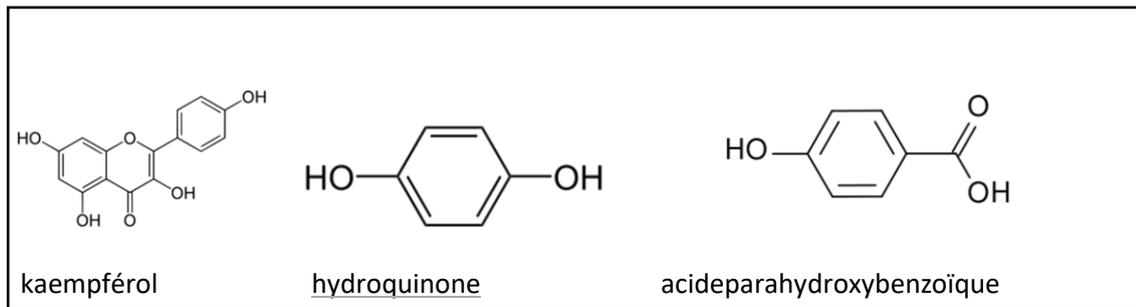


Figure I.2 : Quelques composés phénoliques

- ✓ Les alcaloïdes, des molécules renferment un atome d'azote dans la structure. Ils sont synthétisés à partir d'acides aminés. On citera la nicotine, la codéine et La caféine . [14]

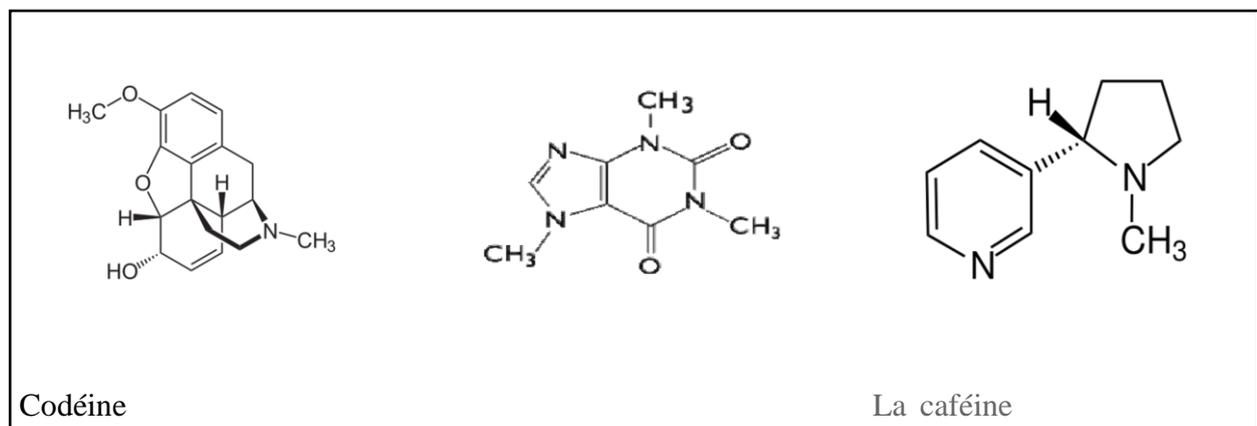
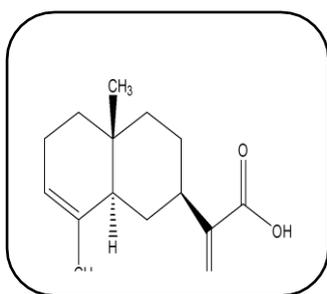
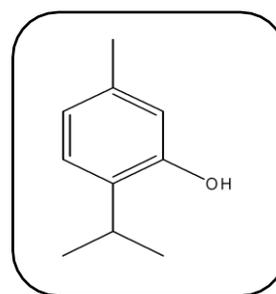


Figure I.3 : Structure de quelques alcaloïdes

✓ Les huiles essentielles



Acide Eudesma-3,11 (13) -dien-12-oïque (ESA)



Thymol

Figure I .4 : Structure de quelques molécules des huiles essentielles. [51]

II– Les huiles essentielles

Depuis toujours l'homme utilise quotidiennement les huiles essentielles et plus généralement les plantes aromatiques pour se parfumer, cuisiner et se soigner. [15]

II .1. Définitions des huiles essentielles

« Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ». [Afnor, 1986 et, Afssaps 2008] [16]

Elle s'appelle aussi l'essence ou l'huile volatile qui est un produit de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatiles contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation (Bruneton, 1999).[17]

Huiles essentielles est un mélange complexe, les principales composés sont des monoterpènes, des sesquiterpènes et des composés oxygénés (alcools, aldéhydes, esters, éthers, cétones et phénols). D'autres composés volatiles spécifiques comprennent le phénylpropène, le soufre ou l'azote. En général, la composition de l'huile est un équilibre de divers composés, bien que de nombreuses espèces peuvent composer le même constituant (Cowan, 1999). [18]

II.2. Localisation des huiles essentielles

Les HEs peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux: sommités fleuries (Menthe), écorces (cannelier), racines (vétiver), rhizomes (gingembre), fruits (Citron). (Brueton; 1999)[19] Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule

II.3. Les constituants des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent être répartis en deux classes en fonction de leur voie de biosynthèse ; La voie des terpènes fait intervenir de l'isopenténylpyrophosphate (I.P.P) et aboutit à la synthèse de monoterpènes ($C_{10}H_{16}$), sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$) et de diterpènes ($C_{20}H_{32}$). A partir de ces molécules, et par l'intermédiaire des réactions d'oxydo-réductions, d'autres métabolites se forment comme les alcools, aldéhydes, phénols, cétones, oxydes, acides, esters, etc . [20]

La voie des phénylpropanoïdes emploie l'acide shikimique, et forme directement des composés aux fonctions biochimiques variées : phénols, acides, coumarines, etc. Celles-ci entreront par la suite dans la composition d'autres molécules comme les lactones ou les méthyl éthers . [20]

II.4. Rôle des huiles essentielles dans la plante

Les constituants volatils ont un rôle encore mal défini dans la plante. Certains auteurs pensent que les huiles essentielles pourraient avoir un rôle attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs et favoriseraient ainsi la pollinisation ou bien pour repousser d'autres nuisibles. Ils affirment aussi que les huiles essentielles jouent un rôle hormonal, régulateur et catalyseur dans le métabolisme végétal et semblent aider la plante à s'adapter à son environnement (Bruneton, 1999; Guignard, 2000 ; Miguel, 2010).[11]

Les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique des plantes aromatiques qui est importante pour attirer les insectes pollinisateurs de graines. En plus, les huiles essentielles jouent un rôle défensif contre les prédateurs et les maladies (De Sousa, 2015). Ce rôle est lié à leur activité antibactérienne, antifongique et antiviral assurant alors une protection des plantes (Croteau, 1992 ; Bakkali et *al.*, 2008). [12]

En plus, les huiles essentielles agissent comme agents antibactériens, antiviraux, antifongiques, herbicides en plus elles peuvent moduler le comportement alimentaire des herbivores en réduisant leurs appétits vis-à-vis de ces plantes. (Bakkali et *al.*, 2008). [11]

II.5. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles de bonne qualité peuvent se conserver plusieurs années sous certaines conditions, jusque cinq ans. Les huiles essentielles sont volatiles, il ne faut donc pas oublier de bien fermer les flacons. Il est préférable de les conserver dans un flacon en aluminium ou en verre teinté (brun, vert, ou bleu) et de les garder à l'abri de la lumière à une température ambiante jusque vingt degrés. (Raynaud ,2006)

Les flacons de faible volume, évite la détérioration de l'HE par l'oxygène et la lumière . Le stockage doit se faire dans un endroit sec (à l'abri de toute trace d'humidité), frais (loin des sources de chaleur), dépourvu de la lumière, même artificielle et à l'abri du froid.

La durée de conservation d'une HE, si on a respecté les bonnes conditions de stockage, est environ 3 ans. Les essences d'agrumes font exception, ils ne peuvent se conserver que pendant 6 mois. [12]

II.6. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthode d'extraction, nous citons les plus utiliser

- ✓ La distillation

il existe trois différents procédés utilisant ce principe

- ✓ L'hydrodistillation, l'hydro diffusion
- ✓ L'entraînement à la vapeur d'eau.
- ✓ L'expression à froid.

Cette technique s'adresse essentiellement aux agrumes (citron, pamplemousse, oranger,...)

II.7. Méthodes d'identification chimiques des huiles essentielles

Une fois l'extraction terminé, il faut faire une analyse qui permet d'identifier et de quantifier les produits qui le composent

En général la séparation des composés s'effectue par Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) notamment pour les composés volatils.

Pour l'identification des huiles essentielles c'est le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse/ Spectrométrie de Masse (CPG/SM). Il permet de connaître, dans la grande majorité des cas, la masse moléculaire d'un composé et d'obtenir des informations structurales

relatives à une molécule à partir de sa fragmentation.

II.8 .Activités biologiques des huiles essentielles

1-Activité antimicrobienne

La plupart des mécanismes d'action sont attribués à l'interaction des composants des huiles essentielles avec la membrane cellulaire .Le caractère lipophile des huiles essentielles les rend capables de pénétrer la double couche phospholipidique, leur accumulation entre les phospholipides entraîne alors un changement de conformation et un mauvais fonctionnement de la membrane cellulaire, perturbant ainsi le transport membranaire des substances nutritives.

2-Activité antioxydante

Plusieurs études ont prouvé que de nombreuses huiles essentielles, comme les huiles de cannelle, de piment, de laurier et d'origan, présentent un pouvoir antioxydant.

3-En plus de l'activité antimicrobienne et antioxydante les huiles essentielles peuvent exercer d'autres effets bénéfiques. Un effet anti-inflammatoire, des activités anti-tumorales, limiter la formation d'ulcères gastriques induits par l'éthanol

II .9.L'aromathérapie

L'aromathérapie (lat « aroma », grec « arôma » = arôme, grec « therapeia » = soin, cure) est l'utilisation médicale des extraits aromatiques de plantes (essences et huiles essentielles).

par contre la phytothérapie c'est l'usage de l'ensemble des éléments d'une plante (Belaiche; 1979). [12]

III – Le stress oxydatif

Le stress oxydatif (ou oxydant) a été défini par Sies (1997) comme une perturbation de la balance entre les prooxydants et les antioxydants, en faveur des premiers, conduisant à des dommages potentiels.

Le stress oxydatif est la conséquence de :

la diminution du niveau des antioxydants et/ou l'augmentation de la production d'ERO[21]

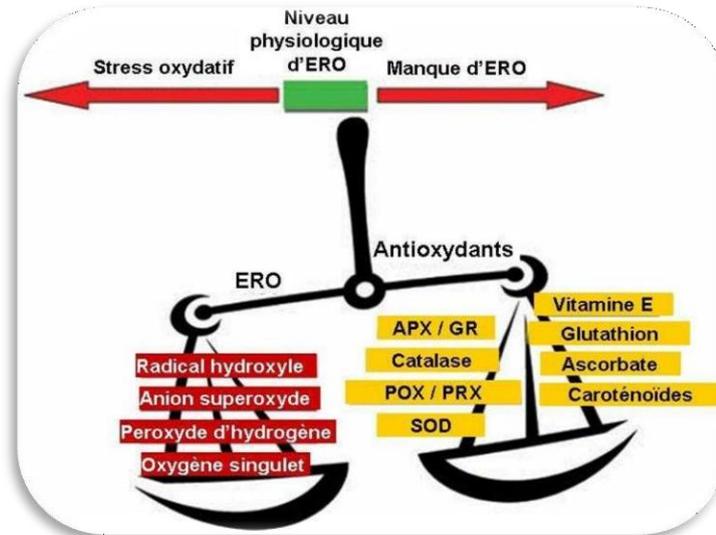


Figure I.5 : Schématisation de la balance entre les ERO et les antioxydants. [22]

III .1.Définitions des radicaux libres

Les radicaux libres (RL) sont des atomes ou des molécules qui présentent un électron célibataire sur leur orbite externe. A cause de la présence de cet électron non apparié les espèces chimiques deviennent instable et particulièrement agressif vis-à-vis des molécules environnantes. Les RL cherchent à ré appairer leur électron isolé c'est pour cela le radical libre « attaque » d'autres atomes et leur « arrache » ce précieux électron manquant Ils deviennent à

leurs tour des radicaux libres .Ces derniers peuvent ainsi déclencher des réactions en chaines souvent très rapides. [23]

Parmi les processus les plus producteurs des radicaux libres dans les aliments et les tissus vivants c'est l'oxydation. La majorité des dégradations dans les macromolécules et l'acide nucléique est causé par ces radicaux libres (Bubonja-Sonje et *al.* 2011)[24]

Il existe des radicaux libres soufrés, nitrogènes, phosphorés ou carbonisés. Mais les principaux radicaux libres sont les formes activées de l'oxygène.

On en distingue six :

- L'anion super oxyde $O_2^{\cdot -}$
- L'eau oxygénée H_2O_2
- Le radical hydroxyle HO^{\cdot}

- L'oxygène singlet O_2
- L'oxyde nitrique NO
- L'acide hypochloreux $ClHO$

Ce sont des agents oxydants très agressifs. Ils ont, selon les circonstances, des effets favorables ou des effets nocifs, constituant le stress oxydant (Seignalet., 2004)

- les molécules réactives sont formées de manière endogène et exogène. [25]
- La chaîne respiratoire est une source principale de production des ROS.
- L'inflammation est une source importante de la production des radicaux libres
- Les rayonnements UV capables de générer des anions superoxyde ou de l'oxygène singlet,
- Les rayons X sont aussi capables d[e couper la molécule d'eau en deux radicaux par l'intermédiaire d'agents photo sensibilisants
- Les fumées de combustion (cigarettes), la consommation de l'alcool et l'effort physique intense sont aussi des paramètres à ne pas écarter (Pincemail et *al.*, 2001 ; Lee et *al.*, 2006 ; Pincemail & Defraigne, 2004). [[26]
- Les fumées de combustion (cigarettes), la consommation de l'alcool et l'effort physique intense sont aussi des paramètres à ne pas écarter (Pincemail et *al.*, 2001 ; Lee et *al.*, 2006 ; Pincemail & Defraigne, 2004). [[26]

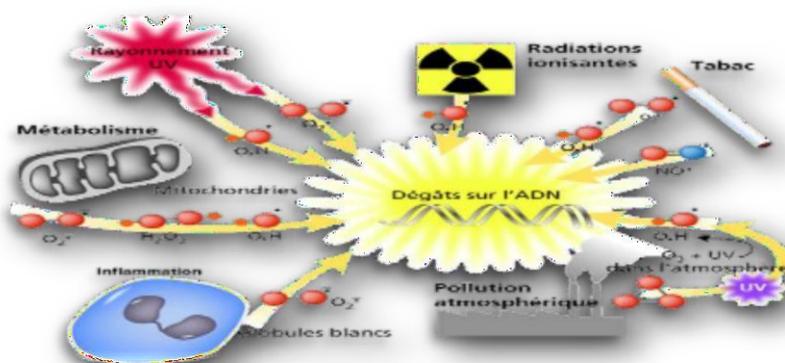


Figure I.6 : Formation des radicaux libres et leurs conséquences

III .2. Moyens de défense contre les radicaux libres :

D'après Halliwell (1994), un antioxydant est toute molécule endogène ou exogène présente en faible concentration qui est capable de prévenir, de retarder et de réduire l'ampleur de la destruction oxydante des biomolécules. [27]

Un antioxydant est « toute substance qui, présente à faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat ». On savait depuis que beaucoup d'antioxydants de synthèse généralement utilisés se sont avérés responsables d'effets indésirables et cancérogènes (Corinne, 2013 ; Hélène, 2008). [28]

Les organismes humains ont deux lignes de défense contrecarrant les dommages de l'oxydation : interne, du corps et externe, alimentée par la nourriture. [25]

a–Antioxydants enzymatiques

- ✓ Le superoxyde dismutases (SOD)
- ✓ La catalase.
- ✓ La glutathion peroxydase (GPX)

b –Antioxydants non enzymatique

Parmi les antioxydants naturels de faible poids moléculaire, on peut citer les plus connus et les plus importants ci-dessous :

- ✓ Acide ascorbique (vitamine C)

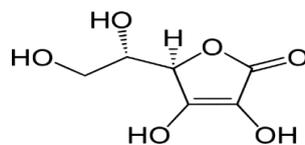


Figure I.7:Acide ascorbique

- ✓ Tocophérols (dont la vitamine E)

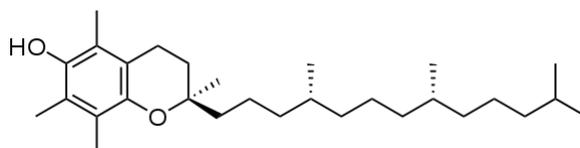


Figure I.8: Structure de l'α-tocophérol

✓ Caroténoïdes

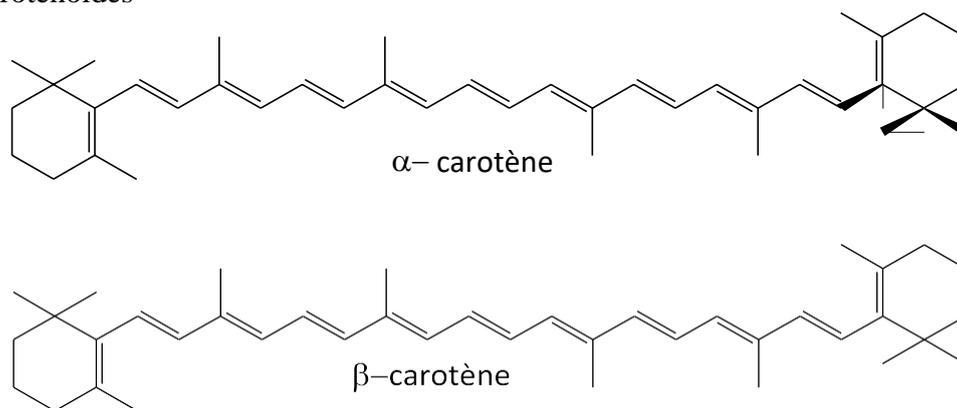
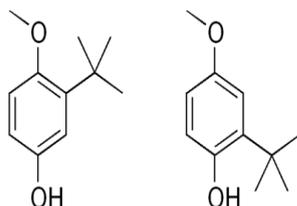


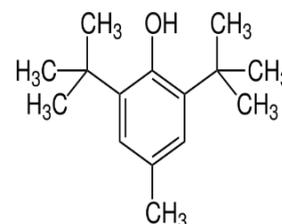
Figure I.9 : Caroténoïdes

✓ Les polyphénols

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (Leong et Shui, 2002).[29]

c – Antioxydants de synthèses

Hydroxy anisole butylé



Dibutyl hydroxy toluène

Figure I.10 : Antioxydants de synthèses

Le BHA et le BHT ont été limités par des règles législatives en raison de doutes sur leurs effets toxiques et cancérogènes (Wichi, 1988 ; Sherwin 1990)[18]

C'est pourquoi, il y a un intérêt croissant des antioxydants naturels dans les applications alimentaires, et une tendance croissante de préférences des consommateurs vers des antioxydants naturels, qui ont tous donné un nouvel élan aux efforts pour explorer les sources naturelles des antioxydants (Gülçin, 2006 , 2007).) [18]

IV – Plante étudiée *inula viscosa*

Dans le but de la recherche de plantes dotées de propriétés biologiques intéressantes, Notre choix est tombé sur la plante médicinale *inula viscosa* car elle est très utilisée en

médecine traditionnelle et populaire

IV.1. Description

Inula Viscosa (L) est une plante annuelle, herbacée, visqueuse et glanduleuse, a odeur forte qui appartient à la famille des Astéracées (composées), elle peut atteindre 50cm a1m de hauteurs et présente de capitules à fleurs jaunes très nombreuses au sommet de la tige. Les feuilles sessiles sont ondulées, dentées, aiguës, rudes recouvertes sur les deux faces de glandes visqueuses qui dégagent pendant la phase végétative une odeur forte et âcre [30]

La racine est pivotante, ligneuse à sa base (pouvant atteindre 30 cm de long). Les tiges sont frutescentes à la base de 40-100 cm, à rameaux rougeâtres. Les feuilles sont entières ou dentées, aiguës, sinuées, insérées directement sur la tige pour les caulinaires. Elles sont glanduleuses sur les deux faces. Les caulinaires amplexicaules, plus largement lancéolées. Les fleurs sont rayonnantes, regroupées en inflorescences (capitules) formant de longues grappes de capitules, pyramidales.

Les fruits sont des akènes de un à 2 mm de long. Ils sont rassemblés sur le réceptacle du capitule.[18]



Figure I.11 : *Inula viscosa*



Figure I.12: Feuilles d'*inula viscosa*



Figure I.13 : Feuilles d'*inulaviscosa* denté

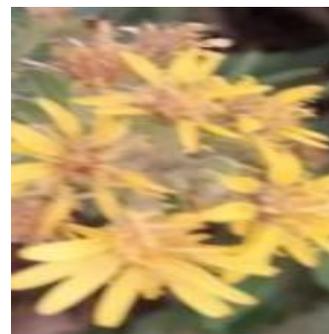


Figure I.14 : Fleurs d'*inula viscosa*

IV.2. Taxonomie :

Selon Quezelet al. (1963) et Dupont et al. (2006), la position systématique d'*Inulaviscosa* est la suivante : , [30]

Tableau 01 : la position systématique d'*Inulaviscosa*

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotyledones
Sous classe	Gamopetales
Ordre	Campunulales
Famille	Astéraceae ou Compositeae
Genre	<i>Inula</i>
Espèce	<i>Inula viscosa</i> (L) Ait

IV.3. Nom scientifique, synonymes et noms vernaculaires [31]

1-Nom scientifique et synonymes

Nom latin : *Inula viscosa* (L.)

Synonymes : *Cupularia viscosa* G.et G.

Dittrichia viscosa (L.) Greuter.

Erigeron viscosa (L.) (Loret et Barrandon, 1888).

2-Noms vernaculaires [31]

Nom français: Inule visqueuse.

Nom arabe: Rassendebk, Tioune, Tebak, Mersitt.

Algerie: Hfina, Safsak, Magramane.

Maghreb: Terahla, Magraman.

Kabylie: Telirine, Nirette, Amrilele, Serchil.

IV.4. Répartition géographique

Le genre *Dittrichia* est largement répandue dans tout le bassin méditerranéen, en Europe (Espagne, France...), en Asie (Chine, Turquie, Japon, Korea...) et en Afrique (Egypte, Algérie, Maroc...) (Benhammou, 2006 ; Benguerba, 2008) où il affectionne les sols salés, les prairies humides et les bords de cours d'eau (Sbahi, 2017). [32]

Dittrichia viscosa se rencontre dans les lieux peu propices à la végétation: bords de chemins, décombres, terrains abandonnés, jachères, garrigues. Elle affectionne les lieux fraîchement perturbés par les travaux ou le passage du feu, et pousse autant sur les sols argileux que sableux et apprécie les sols secs et calcaires formant d'abondantes touffes vertes à capitules jaunes, elle est considérée comme assez envahissante (Cicarelli et *al.*, 2007 ; Deghdek & Zitar, 2014) [32]

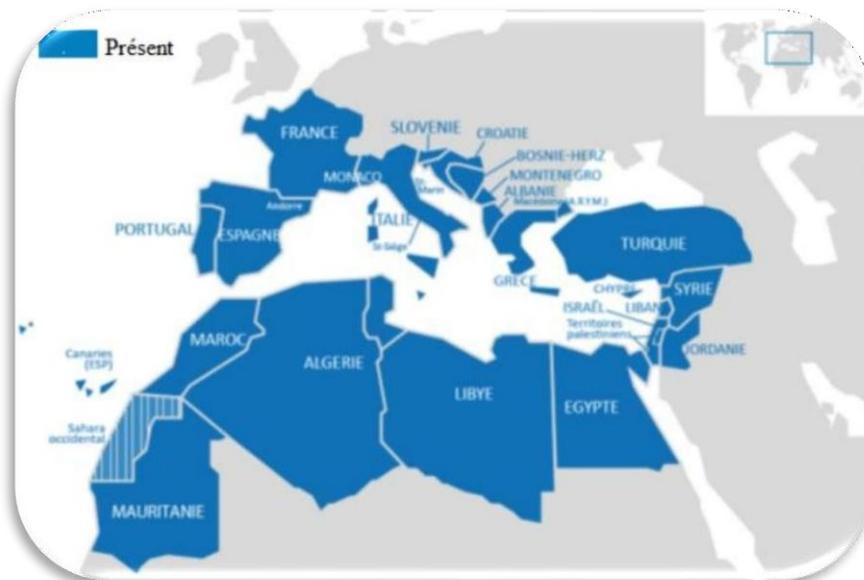


Figure I.115 : Répartition géographique du genre *viscosa* (Benyahia, 2014) [33]

IV.5. Composition chimique et utilisation

Les études réalisées ont montré la richesse de cette plante en métabolites secondaires tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes et les composés terpénoïdes.

Ils jouent un rôle très important dans l'adaptation de la plante à son environnement. La défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques et pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits (Judd et *al.*, 2002).[34]

- Les flavonoïdes : comme les quercétines, apigénines, sakuranétines, hispidulines (Bicha, 2003). [35]

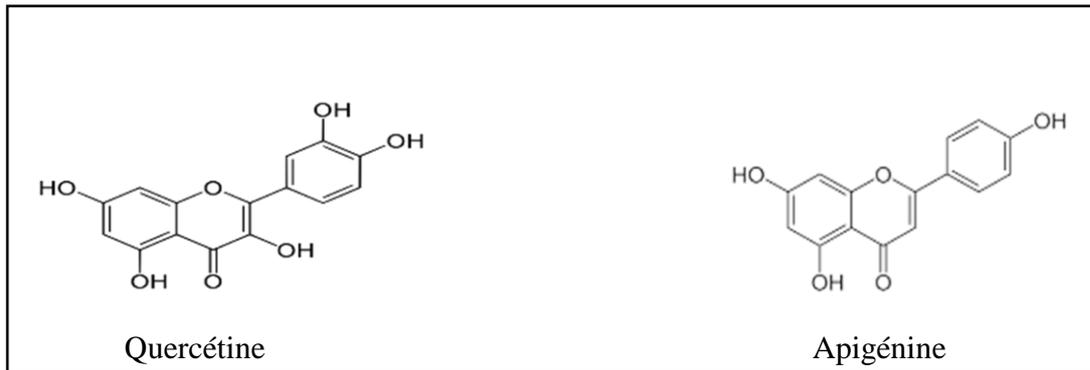


Figure I.16 Les flavonoïdes d'*i.viscosa*

- Les terpénoïdes : sesquiterpènes, lactones (Mamoci et *al.*, 2011 ; Khan et *al.*, 2010). - Les dérivés d'acide anthranilique (Qin et *al.*, 2008) ; - Les huiles essentielles avec différents composants chimiques (Haoui et *al.*, 2015).
- Structure chimique des sesquiterpènes lactones (Bicha, 2003). [35]

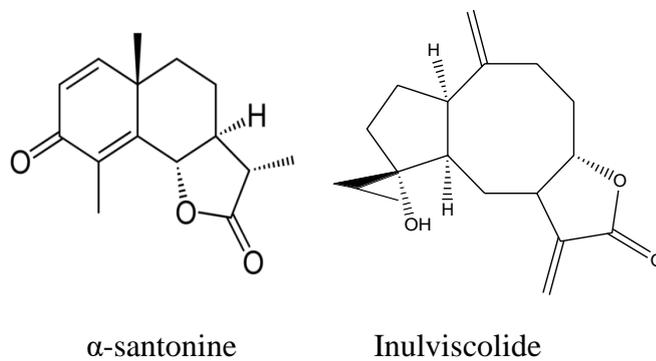
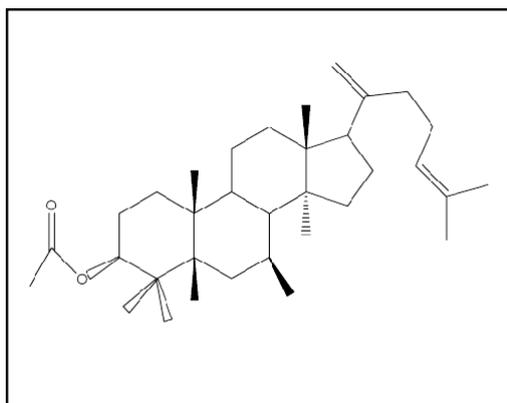
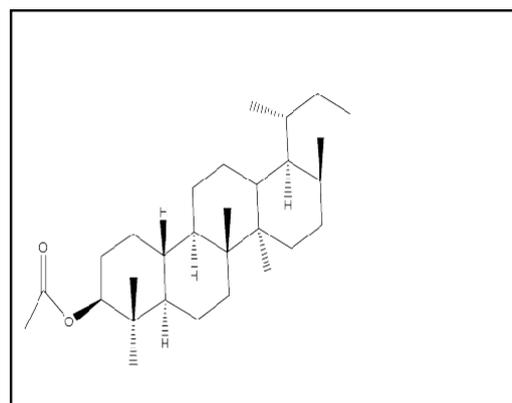


Figure I.17 Structure chimique des sesquiterpènes lactones d'*I.viscosa*

- Structure chimique triterpénoïdes d'*inula viscosa* (Oksöz, 1976 in Ramli, 2013)[36]



3β-acetoxydammara-20, 24-diène



γ tarax asterol

Figure I.18 : Structure chimique des triterpénoïdes d'*inula viscosa*

IV.6. Utilisations en médecine traditionnelle

- Le genre *inula viscosa* a été très utilisé à différentes fins thérapeutiques[37]
- Un agent diurétique, anti-inflammatoire topique, hémostatique (Ali-Shtayeh et al., 1998 ; Lev et Amar, 2000)
- Utilisé dans le traitement du diabète (Yaniv et al., 1987) et des troubles gastroduodénaux (Lastra et al., 1983.)
- De plus, ses extraits ont montré des effets antimicrobiens (Blanc et al., 2006 ; Cafarchia et al., 2002; Maoz et Neeman, 2000 ; Silva et al., 2005).
- Antifongiques (Abou-Jawdah et al. , 2004 ; Wang et al., 2004 ; Cohen et al., 2002 , 2006)
L'activité acaricide (Mansour et al., 2004).Elle peut donc être exploitée dans l'industrie agroalimentaire afin d'accroître la durée de vie de certains produits (Lakhdar, 2015 ; Side Larbi et al., 2016).[38]
- L'*inule visqueuse* est réputée comme étant un "insecticide végétal" qui combat la mouche de l'olivier. Des observations faites en Grèce ont montré que dans une oliveraie "rénovée", l'arrachage de l'Inule a été suivi d'une attaque de la mouche de l'olivier, ce qui indique bien la relation Inule-Olivier connue par les anciens, en langue corse, *„Pecita“* (Bssaibis et al., 2009).[38]

- *I.viscosa* a été utilisé pour ses effets anti-inflammatoires, astringents, vulnéraires et anti-gale . Il a été rapporté que l'inuviscolide a une activité anti-œdémateuse [39]

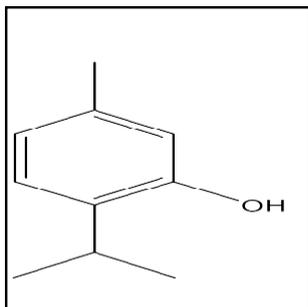


Figure I.19: Thymol

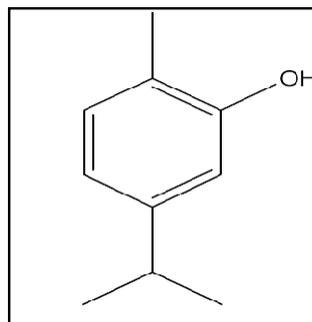


Figure I.120 : Carvacrol

IV.7. Les travaux antérieurs sur des huiles essentielles

- Selon (Nawel Kheyar et al ,2014) : [40]

L'essence d'*I.viscosa* est douées d'une activité antibactérienne contre les souches Cette activité peut être attribuée à leur teneur en carvacrol et thymol. Ces deux composés phénoliques sont connus pour leurs propriétés antimicrobiennes

- Selon(Leila Si Moussa et al) :

montrent que le traitement à l'huile essentielle d'*Inula viscosa* Ils ont un bon potentiel d'activité antifongique et de contrôle des champignons des graines de pois chiche ,traitement biologique appliqué spécifiquement à la surface de la graine pourrait fournir une alternative efficace aux fongicides. [41]

- Selon (Imad Eddine Haou et al) [42]

La composition chimique de l'huile essentielle de feuilles d' *Inula viscosa* (L.), obtenue à la fois par hydrodistillation et distillation à la vapeur, a été étudiée par GC-MS . Trente-trois composés de l'huile totale ont été identifiés Les principaux composants pour l'hydrodistillation étaient: le 12-carboxyeudesma-3,11 (13) diène (28,88%); acide linoléique (7,80%); acide palmitique (5,38%); le butyl hydroxy toluène (4,11%) et le fokiénol (3,37%), tandis que pour la distillation à la vapeur étaient: le 12-carboxyeudesma-3,11 (13) diène (56,81%); Acide 2,3-didésydrocostique (3,25%); le butylhydroxytoluène (2,63%) et le pentacosane (2,31%).

• Selon (Bouhassane Nadia et ces collaborateurs):

L'huile essentielle d' *Viscosa* présente un'unvariabilité importante. Cette étude a révélé que la (E) -Z-Farnesylacetone est un inhibiteur fonctionnel des activités du VEGF et peut par la suite être le meilleur candidat inhibiteur à examiner in vivo et in vitro .[43]

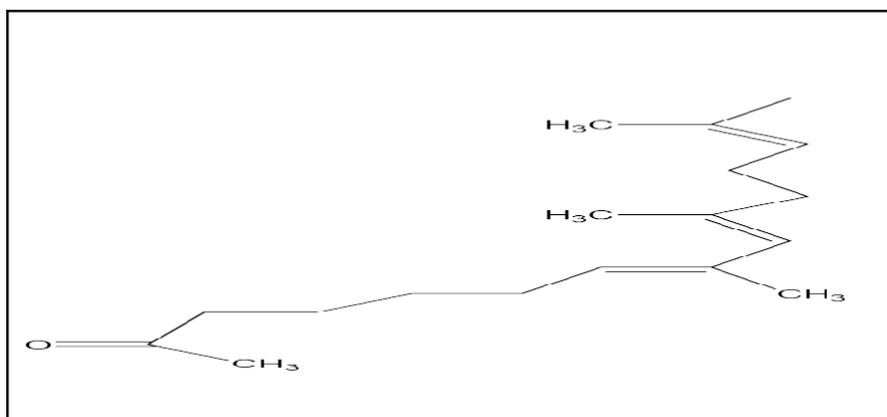


Figure I.21:Farnesylacetone

• Selon (Bouhassane Nadia et ces collaborateurs):

Les huiles d'*inula viscosa* de dix stations des régions de la wilaya de Tlemcen obtenu par hydrodistillation (tableau 02) présentent une variabilité très importante

Tableau 02 : Les lieux de récoltes d'*inula viscosa* Tlemcen Algérie

Samples	Locations
S1	Sidna Youcha
S2	Beni saf
S3	Rachgoun
S4	Ghazaouet
S5	Souahlia
S6	Terny
S7	Tlemcen
S8	Beni snous
S9	Tafna
S10	EL Aricha

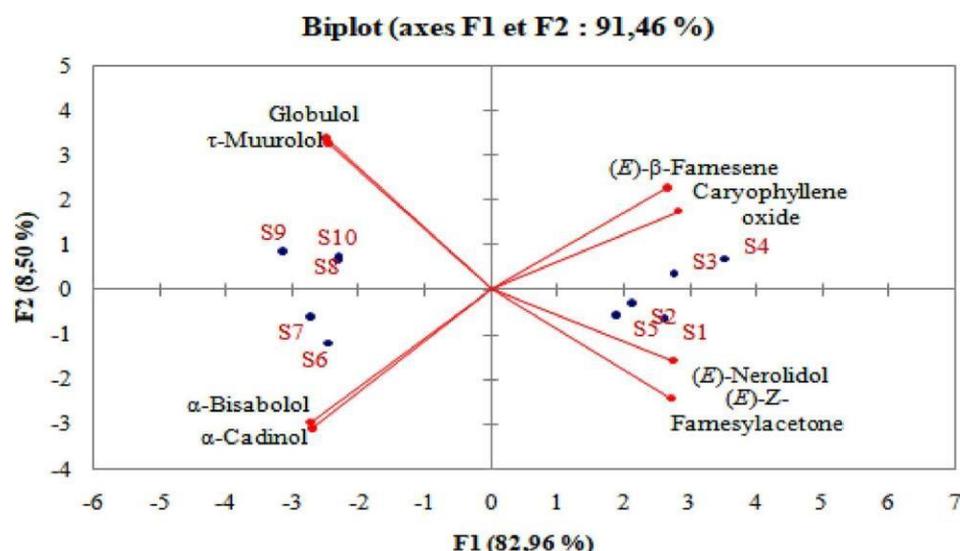
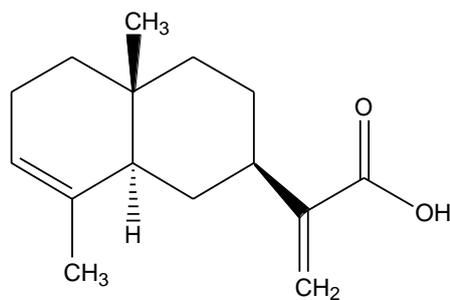


Figure I.22 Répartition et variabilité de la composition chimique des huiles essentielles d'*Innula viscosa* (Bouhassane Nadia et al) [42]

• Selon (Nawres Gharred et al)[44]

Les résultats obtenus, d'huiles essentielles de *Dittrichia viscosa* extraites de différents organes (fleurs, feuilles et l'ensemble des parties aériennes) ont montré une forte proportion des sesquiterpènes oxygénés et plus particulièrement les(E)-nérolidol chez l'essentielle des fleurs l'huile était dominée par le (E)-nerolidol (40 %) qui peut expliquer leur potentiel antioxydant et antibactérien.

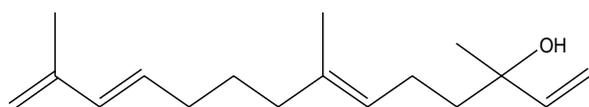
Quelques molécules isolées d'huile essentielle d'*Innula viscosa*



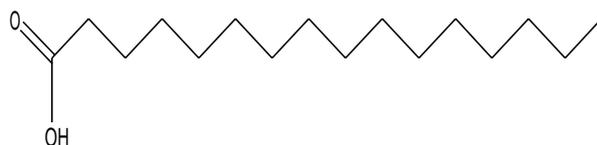
Acide 12-carboxyeudesma-3,11 (13) diene



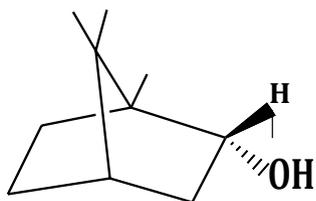
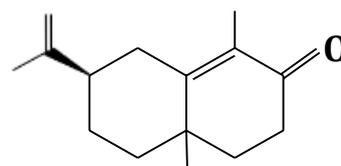
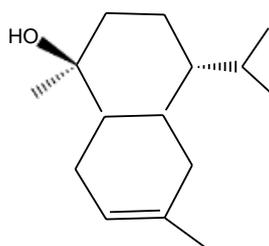
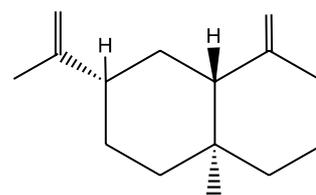
Phytol



fokienol



acide hexadécanoïque

**Borneol** **α –Cyperone** **γ -Cadinol** **α -Selinène**Figure I.23 : Quelques molécules isolées d'huile essentielle *d'inula viscosa*

Chapitre II: Matériels et méthodes

Cette partie englobera trois sous-parties essentielles:

- La première portera sur la présentation des matières végétales utilisées
- La seconde portera sur la technique d'extraction des huiles essentielles
- La troisième partie et la dernière les méthodes permettant d'accéder aux activités anti oxydantes des huiles essentielles seront détaillées.

I –Matériel végétal utilisé

La plante *Inula viscosa* a été récoltée entre la fin Février et début Avril 2021, pendant la floraison sur quatre stations de la wilaya de Tlemcen (Ibniouarsous, Maghnia , Marsa Ibn Mhidil, la région de Tlemcen).

L'identification de plante a été faite par le docteur Banabadji Nouri directeur de laboratoire d'écologie et de gestion des écosystèmes naturels Tlemcen.

La partie aérienne d' *Inula viscosa* a fait l'objet de notre travail, Les feuillées ont été déposés sur du papier à température ambiante dans l'obscurité jusqu'à leur séchage total.



Figure II.1 : Plante fraîche



Figure II.2 : Plante sèche

Tableau 03: Données relatives aux lieux de récolte d'*Inula viscosa*

Echantillons	Localité	Dates de récolte	Altitudes (m)
S1	Marsa IbnMhidi	24/02/2021	5
S2	Bniouarsous	17/03/2021	890
S3	Tlemcen	20/03/2021	842
S4	Maghnia	02/04/2021	680

I.1. Taux d'humidité

le calcul de Taux d'humidité selon la formule

Taux d'humidité (%) = $[(Pf - Ps) / Pf] \times 100$ Où :

Pf : poids frais de l'échantillon (g).

Ps : poids sec de l'échantillon (g)



Figure II.3 Poids frais de l'échantillon (g).



Figure II.4 Poids sec (g)

I.2. Test phytochimique (screening chimique)

Ce test qualitatif a pour but de connaître la composition en métabolites secondaires des feuilles d'*Inula viscosa*, basé sur les changements de couleur. Il est effectué, sur les extraits obtenu par macération.

La macération:

Mettre une plante ou partie de plante, dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou une huile végétale (macération huileuse), pendant plusieurs heures, voir plusieurs jours, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser (Kraft et Hobbs, 2004) Elle est utilisée pour les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur par ébullition (Baba-Aïssa, 2000).[[45]

a – Extrait aqueux

- ✓ Introduire 10 g de poudre des feuilles d'*inula viscosa* dans un erlenmeyer de 500 ml
- ✓ Ajouter 100 ml d'eau distillée
- ✓ Macération pendant 48 h
- ✓ Double filtration

b – Extrait éthanolique

- ✓ Introduire 10 g de poudre des feuilles d'*inula viscosa* dans un erlenmeyer de 500 ml
- ✓ Ajouter 100 ml d'éthanol
- ✓ Macération pendant 48 h
- ✓ Double filtration
- ✓



Figure II.5 :La masse de la poudre d'*I. viscosa*(g)

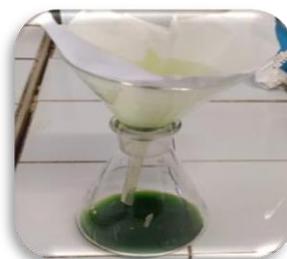


Figure II.6: Extraits aqueux et éthanolique

Les extraits éthanolique et aqueux obtenus ont été soumis à divers tests phytochimiques en vue de mettre en évidence les différents métabolites secondaires présent dans la matière végétale par des réactions de coloration, de précipitation et des observations sous lumière ultra-violette.

Tableau 04. Réactifs spécifiques et réactions de caractérisation du criblage phytochimique

Groupes chimiques	Réactifs	résultats positifs
Alcaloïdes	0,5ml de HCl (1%) ajouté à 1,5 ml de chaque extrait +3 gouttes du réactif de Wagner (solution aqueuse de KI + I ₂) [46]	précipité blanc jaunâtre ou brun
Tanins	1ml de chaque extrait + 200µl de FeCl ₃ 1% (Karumi et al., 2004). [47]	coloration bleu-foncée, verte ou noire
Les flavonoides	1ml de chaque extrait +quelque goutte HCl concentré +quelque milligramme de de tournures de magnésium (Karumiet al., 2004).[47]	coloration rouge ou orange (jaune)
Quinones libres	1ml de chaque extrait +quelque goutte NaOH 1%[14]	coloration vire au jaune, rouge ou violet
Les terpénoïdes	5ml de chaque extrait + 2ml Chloroforme, +3mlH ₂ SO ₄ concentré (Khan et al., 2011).[48]	apparition de 2 phases et une couleur marron en interphase
Polyphenpls	2ml de chaque extrait + quelques gouttes d'une solution à 2% FeCl ₃ (Bidie et al., 2011).[49]	coloration bleu-foncée
Amidon	Eau iodée	coloration en bleu
Saponines	10ml de chaque extrait est agité pendant 15secondes .[50]	au repos pendant 15mn, une hauteur de 1cm de mousse qui persiste

II – Huiles essentielles

II-1- Extraction des huiles essentielles par hydro distillation

•-Principe de la méthode

L'extraction des huiles essentielles est effectuée par hydrodistillation par un appareil de type Clevenger, Son principe repose sur le fait que les huiles essentielles sont suffisamment volatiles pour qu'elles puissent être entraînées à la vapeur d'eau et cela malgré leurs points d'ébullition qui est nettement supérieur à celui de l'eau.

- Mode opératoire

Une quantité de 150 g de matière végétale est transvasée dans un ballon de trois litres auquel un volume de 1500 ml d'eau de robinet est ajouté et l'hydro distillation se fait pendant cinq heures.

L'eau est portée à ébullition, la vapeur d'eau entraîne les molécules volatiles qui se condensent dans un réfrigérant et le mélange eau-huile est recueilli dans un vase

- Les huiles essentielles sont conservées dans des piluliers en verre ambré à 4°C jusqu'à analyse. Le dispositif expérimental utilisé dans notre travail est représenté dans la figure ci-dessous



Figure II.7 : Appareil d'hydro distillation

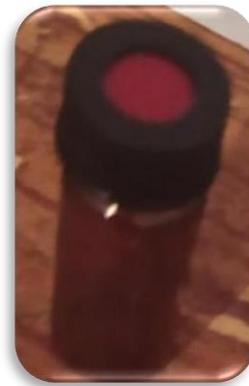


Figure II.8 : Pilulier en verre ambré

II -2- Calcul du rendement

- Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en huile essentielle est défini par le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids du matériel végétal utilisé. Il est exprimé en pourcentage (%), est calculé selon la formule suivante:[51]

$$\text{Rdt (\%)} = [(P2 - P1) / P3] \times 100$$

Ou :

P1: poids du pilulier vide

P2: poids du pilulier plein

P3: poids de la matière végétale de départ

II -3- Les séparations chromatographiques de l'huile essentielle *d'inula viscosa* :

La chromatographie d'adsorption est une technique de séparation de composés basée sur la différence d'affinité existant entre ces composés, la phase mobile, qui entraîne les composés, et la phase stationnaire. En effet, selon la plus ou moins grande affinité entre les solutés et la phase stationnaire ou mobile, les constituants du mélange migrent à des vitesses différentes et sont ainsi séparés. [52]

a– CCM préparations

Avant de réaliser une chromatographie sur colonne, il faut réaliser des chromatographies sur couche mince avec des éluants de polarités différentes afin de déterminer qu'elles sont les conditions optimales de séparations pour déterminer qu'elle est le meilleur éluant.

Pour cela on a pris des mélanges de n hexane et d'acétate d'éthyle en proportions variables.

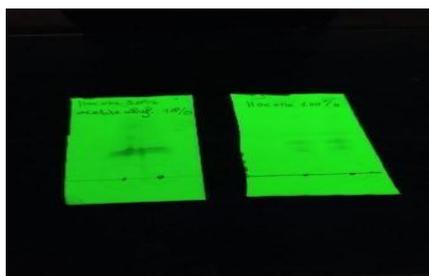


Figure II.9: Plaques CCM sous la lampe UV//V

b–La préparation de la colonne

La réalisation d'une colonne impose de respecter certaines règles.

Pour un gramme de mélange à séparer il faut 30 g silice de permettront une séparation efficace.

- ✓ Installer la colonne
- ✓ Placer un morceau du coton au fond de la colonne
- ✓ Verser approximativement 6 cm d'éluant dans la colonne
- ✓ Placer 1cm de sable
- ✓ Introduire une première portion de gel, on le faisant couler lentement sur les parois afin de ne pas déformer la couche de sable
- ✓ Ouvrir le robinet pour évacuer le surplus de l'éluant sans assécher la silice
- ✓ Ajouter le reste de gel par petites portions

- ✓ Après avoir vérifier que la surface de l'adsorbant est bien horizontale, ajouter une petite couche de sable
- ✓ Ne jamais sécher la colonne de silice pour ça il faut toujours conserver une petite hauteur d'éluant juste au-dessus de votre phase stationnaire pour vous puissiez crier des fissures qui vont crier des chemins préférentiels pour les molécules
- ✓ Réaliser Le dépôts de votre produit au plus près de la surface de sable
- ✓ Si nécessaire, rincer les parois avec le minimum d'éluant
- ✓ Ajouter l'éluant en prenant soin de ne pas déformer la surface
- ✓ Au cours de l'élution recueillir les fractions dans des tubes à hémolyse numérotés
- ✓ Ensuite on va tous les analyser sur CCM pour qu'on puisse avoir qu'el composé compris dans qu'el tube à hémolyse pour le séparer
- ✓ Récupérer les tubes dans un ballon à évaporation de col rodé pour éliminer le solvant sous pression réduite
- ✓ Par ailleurs il faut préciser que pour pouvoir caractériser et quantifier de manière efficace ce qu'il y a dans l'échantillon il faudrait avoir recours à des méthodes expérimentaux beaucoup plus caractéristique tel que l'RMN et la masse a haute résolution.



Figure II.10: Masse de silice utilisée



Figure II.11 : Gel de silice



Figure II.12 Montage de la colonne



Figure II.13: Les différentes fractions collectées



Figure II.14 : Evaporation du solvant

III –Évaluation de l'activité anti-oxydante

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante in vitro de nos huiles essentielles a été réalisée par deux techniques chimiques :

Le piégeage du radical libre DPPH et la réduction du fer (FRAP).

III -1- Piégeage du radical libre DPPH•

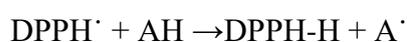
La méthode de DPPH consiste à utiliser un radical stable, le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl dans du méthanol ou éthanol (dans la plupart des cas)

Au départ le DPPH est sous sa forme 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl radicalaire.

Ce radical a une couleur violette en raison de l'électron non apparié de l'azote.

Après réaction, le DPPH-H réduit (2,2-diphényl-1- picrylhydrazine) qui est formé est jaune [51]

Le DPPH, 2,2-diphényl (1-1) picrylhydrazyl, $C_{18}H_{12}N_5O_6$; est un radical libre stable soluble dans Le méthanol et éthanol, d'une couleur violette intense, il présente un maximum absorbance à 517 nm. Lorsqu' une molécule antioxydanante réduit le radical DPPH, la couleur violette disparaît rapidement pour donner une couleur jaune pâle, selon la réaction suivante (Pokorny et *al.*, 2001 ; Roginsky et Lissi, 2005).[53]



Le test de DPPH• est considéré comme une méthode spectrophotométrique facile et utile en matière de dépistage pour mesurer la capacité de piégeage des radicaux libres des composés purs (Gülçin *et al.*, 2004d, 2007b, 2008b) [18]



Figure II.15 : Structure de 2,2-Diphényl (1-1) picrylhydrazyl libre et sa forme réduite (Dangles *et al.*, 2000) [53]

Le test dosage spectrophotométrie est effectué selon les étapes suivantes :

III -1.1. Préparation de la solution de DPPH :

- ✓ Introduire 0,006 g de DPPH dans 100 ml d'éthanol dans une fiole jaugé
- ✓ Agitation jusqu'à obtention d'une solution homogène
- ✓ Incubation pendant 30 mn au réfrigérateur.



Figure II.16 : 2,2-diphényl (1-1) picrylhydrazyl



Figure II.17 : La solution de DPPH•

III -1.2.Préparation de la solution mère et les solutions filles

Les huiles essentielles dissoute dans l'éthanol à une concentration de 50mg/ml, ont été dilués à différentes concentrations croissantes (5-10-20-30-40-45 mg/ml).

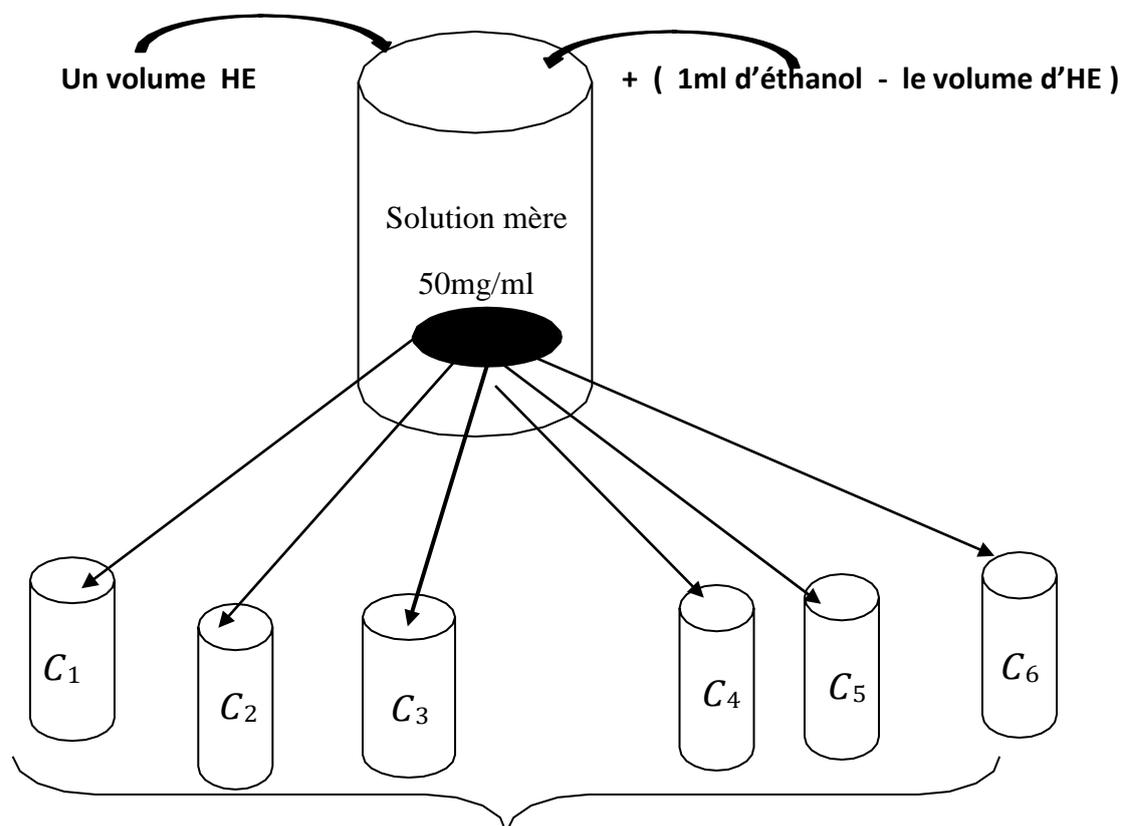


Figure II.18 : les différentes concentrations filles

III -1.3. Protocole expérimental

À un volume de 1 ml d'une solution 0,006 % de DPPH dans l'éthanol, est additionné un même volume d'huile essentielle à différentes concentrations.

Après 30 mn d'incubation dans l'obscurité à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (UV//Vis Spectrophotomètre, Optizen POP).[51]

Le control qui est constitué de 1 ml de la solution éthanolique au DDPH et de 1 ml d'éthanol.

Le blanc composé de 1 ml d'éthanol.

Le contrôle positif, c'est un antioxydant de référence représenté par le BHT dont l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions. [51]

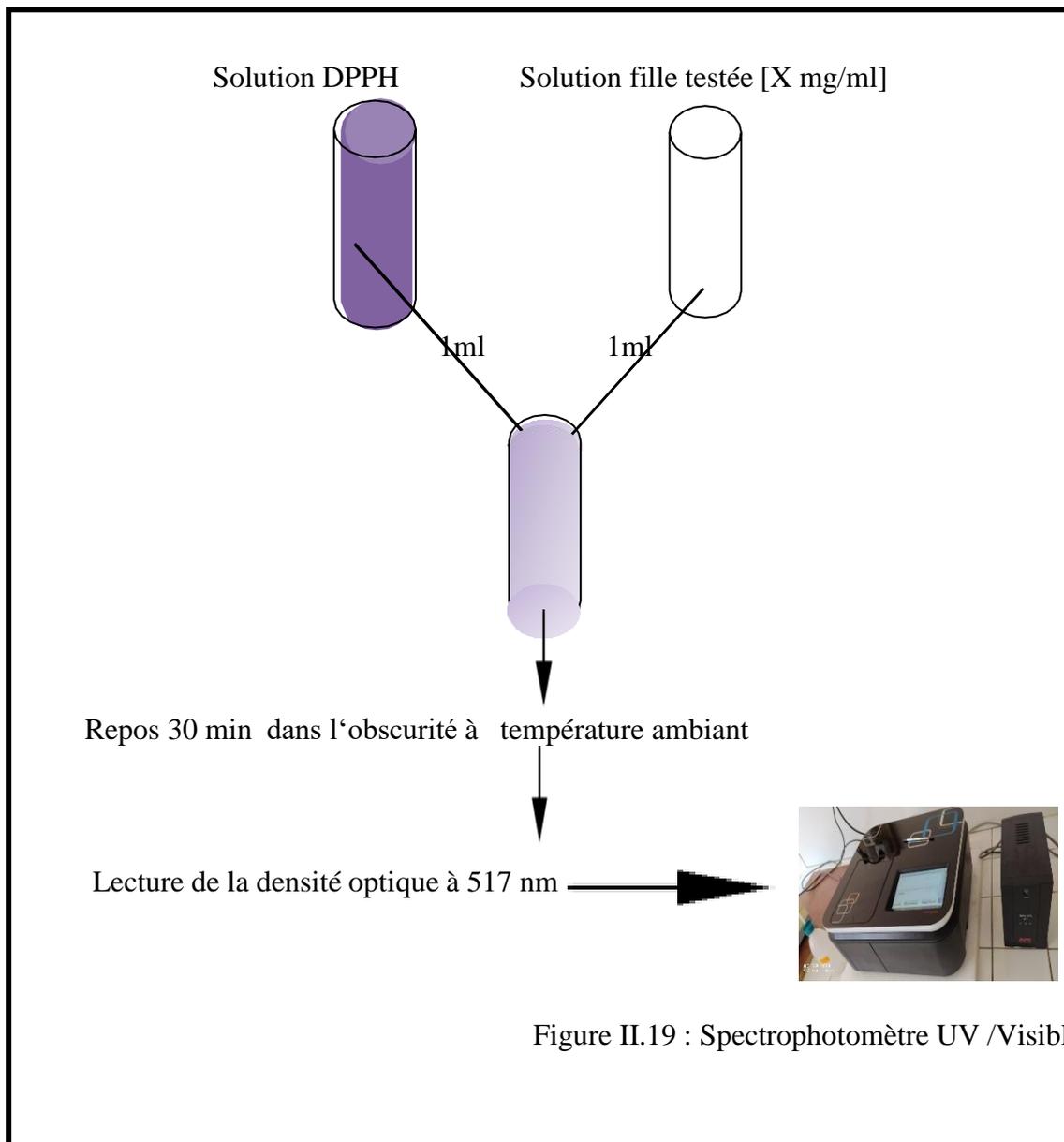


Figure II.19 : Spectrophotomètre UV /Visible

Figure II.20: Schéma récapitulatif du test au DPPH



Figure II.21 : le mélange de 1ml de solution de DPPH +1ml d'antioxydant avant et Après incubation

III -1.4. Détermination du pourcentage d'inhibition

Selon Sharififar et al,[54] l'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I%) est calculée de la manière suivante:

$$I\% = [(AC - AT) / AC] \times 100$$

AC: Absorbance du contrôle;

AT: Absorbance du test effectué.

Les résultats sont exprimés par la moyenne de deux mesures

Le pourcentage d'inhibition est finalement exprimé sous forme d'IC₅₀ qui est par définition, la concentration de l'antioxydant nécessaire pour inhiber 50% du DPPH radicalaire (aussi appelée EC₅₀ pour Efficient concentration 50), celle-ci est calculée à partir d'une droite de régression des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'échantillons préparés.

III -1.5. Représentation des droites des pourcentages d'inhibitions en fonction des concentrations

L'évaluation de l'activité anti-oxydante de nos huiles essentielles est déterminée par rapport au BHT par la méthode DPPH.

Les courbes représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des HEs. Les figures suivantes représentent les résultats du test du piégeage du radical libre DPPH des huiles essentielles.

Les courbes représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des HEs. Les figures suivantes représentent les résultats du test du piégeage du radical libre DPPH des huiles essentielles.

- **Marsa Ibn Mhidi : S₁**

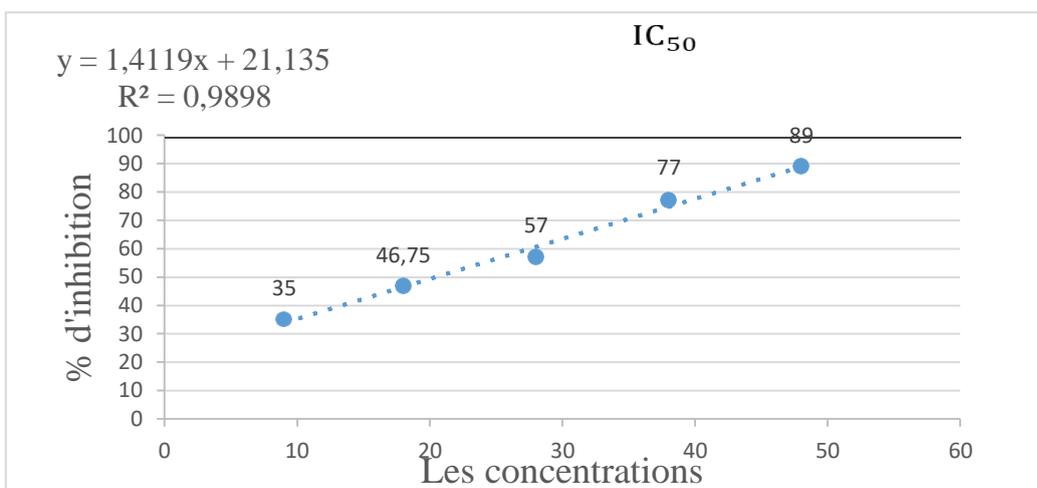


Figure II.2 2 : % (I) en fonction de la concentration HED'*inula viscosa* de S₁

- **Bniouarsous : S₂**

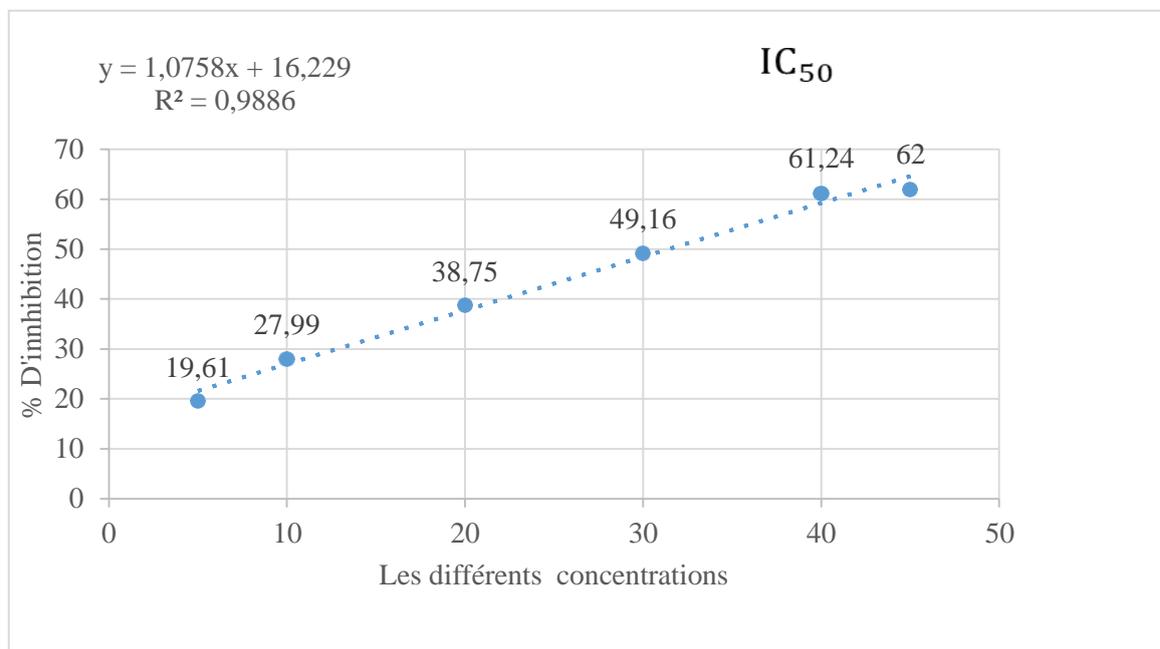
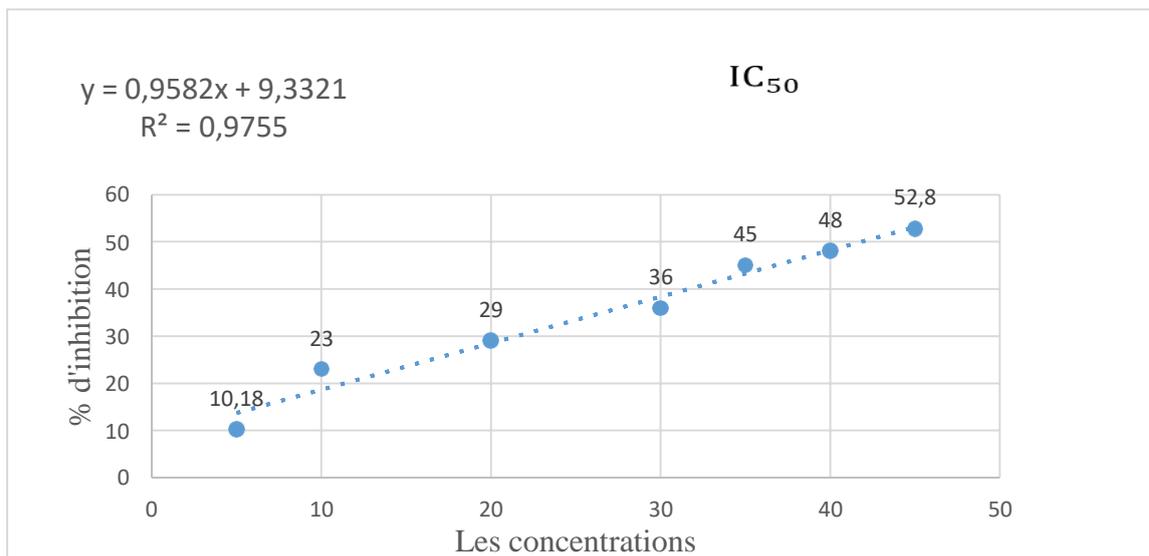


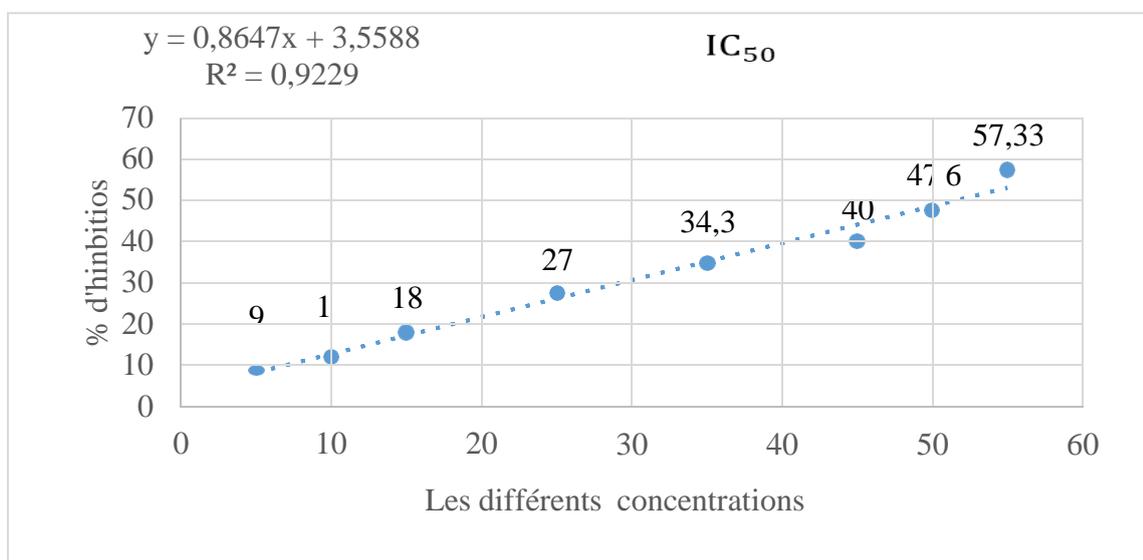
Figure II.23 % (I) en fonction de la concentration de l'huile essentielle d'*inula viscosa* de : S₂

- **Tlemcen** : S_3



II.24 % I en fonction de la concentration de l'huile essentielle d'*inula viscosa* de S_3

- **Maghnia** : S_4



II.25 % (I) en fonction de la concentration de l'huile essentielle d'*inula viscosa* de S_4

- BHT

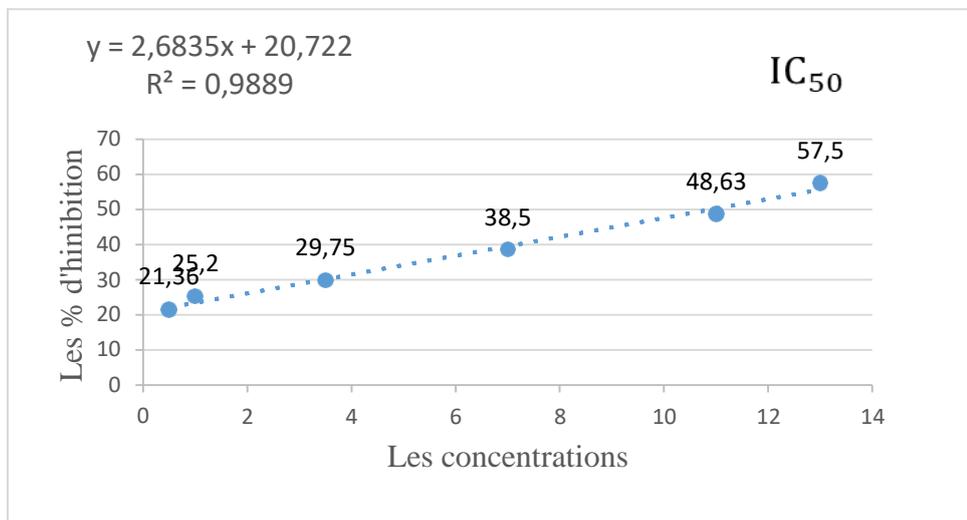


Figure II.26 % (I) en fonction de la concentration de BHT

III -2-Pouvoir réducteur du fer

III -2.1.Principe

L'activité réductrice d'un extrait est évaluée par la réaction d'oxydo-réduction entre l'extrait et les ions métalliques de transition, notamment le fer. Le ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ fournit des ions Ferriques (Fe^{3+}) qui seront réduits en Ferreux (Fe^{2+}) par les antioxydants présents dans l'extrait végétal, après cette réduction, l'extrait forme un complexe $((Fe)_4 [Fe (CN)_6]_3)$ coloré en bleu qui absorbe à 700nm (Miguel, 2010 ; Alam et al., 2013). [52]

Les substances qui ont un potentiel de réduction, réagissent avec le ferricyanure de Potassium (Fe^{3+}) pour former le ferrocyanure de potassium (Fe^{2+}) qui réagit ensuite avec le chlorure ferrique pour former un complexe ferreux ferrique qui a un maximum d'adsorption à 700 nm [Arulpriya et al., 2010; Jayanthi ; Jayanthi et Lalitha, 2011]

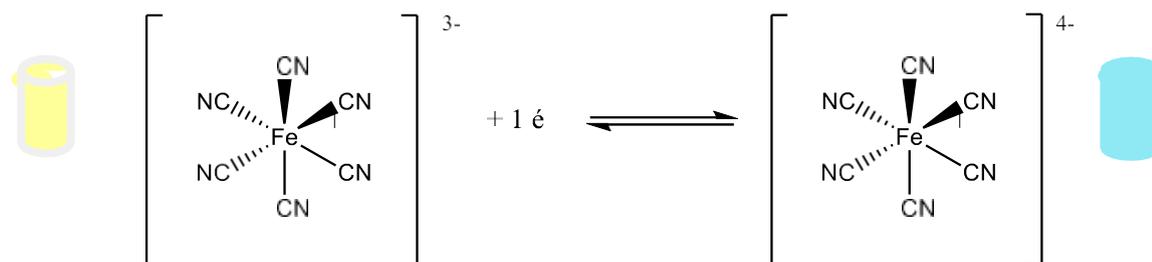


Figure II.27 Réaction de réduction de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ en $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ par un antioxydant[55]

III -2.2.Mode opératoire

Selon [Bouhdid et *al* Arulpriya et *al.*, 2010]. Avec une légère modification [56]

Après la préparation des concentrations mères et leurs dilutions afin de préparer les concentrations filles

Dans des tubes à hémolyse contenant 1ml de chaque concentration d'huile essentielle d'*inula viscosa*, dilués dans ETOH. Ajouter 0.5 ml de la solution tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 0.5 ml d'hexacyanoferrate de potassium (10 g/l). Les tubes sont chauffés à 50°C pendant 20 min. dans un bain marie. Après incubation un volume de 0.5 ml d'acide trichloracétique (10 %) est ajouté au mélange pour stopper la réaction. Puis centrifugation à 3000 tours/min pendant 10 min. Enfin, 1ml du surnageant ont été mélangé avec 1ml d'eau distillée et 0.3 ml de chlorure ferrique (1 g/l). Un contrôle sans échantillon est préparé dans les mêmes conditions. La lecture est mesurée à 700 nm. BHT est utilisé comme témoin positif.



Figure .III.28 Le matériel utilisé dans la méthode de FRAP

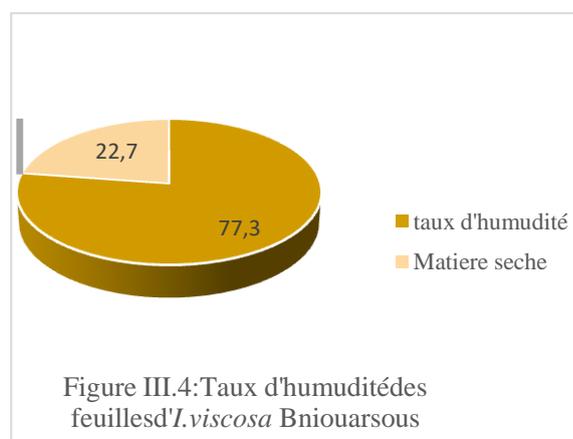
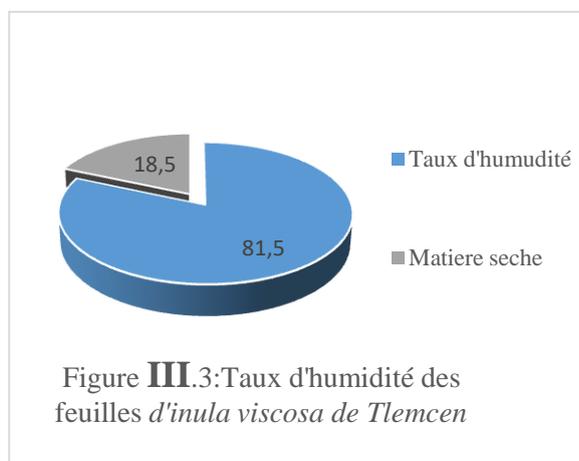
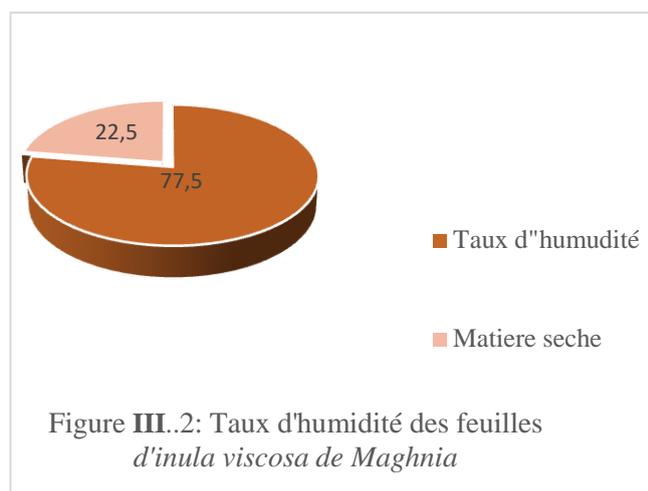
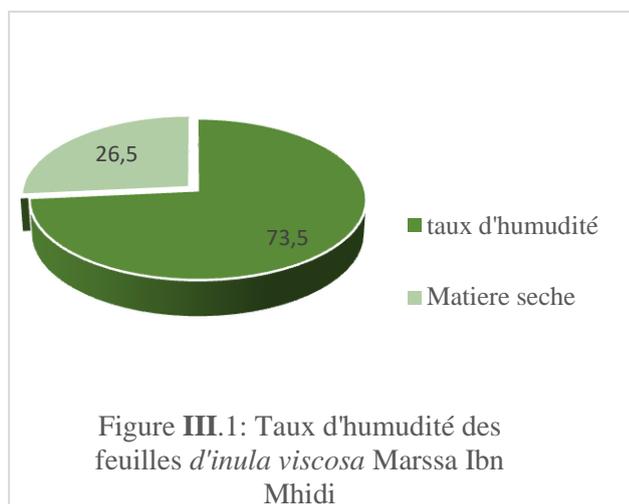
Chapitre III : Résultats et Discussions

I–Les résultats de taux d'humidité

Pour savoir la teneur en eau de la plante étudiée, et pour avoir le temps maximal de séchage pour chaque plante, nous avons réalisé Le test d'humidité.

Tableau 05 : Teneur en eau des feuilles d'*Inula viscosa* des quatre stations

Les stations	Poids des feuilles fraîches	Pois des feuilles sèches	Taux d'humidité
Marsa Ibn Mhidi	200 g	53 g	73,5%
Maghnia	200 g	45g	77,5%
Bniouarsous	200g	45,4 g	77,3%
Tlemcen	200 g	37 g	81 ,5%



Les analyses des échantillons ont donné un taux d'humidité des feuilles d'*Inula Viscosa* très important compris entre 73,5 à 81,5%. Cela signifie que la majeure partie de la plante est constituée d'eau le reste représente la matière sèche.

(Remli, 2013) à Oran a trouvé un pourcentage important d'eau dans les feuilles de la plante *inula viscosa* qui est de 85%.

Également (Al-Dissi, 2001) et (Benayache, 1991) ont trouvés un pourcentage environ 80% [57]

Cette différence en taux d'humidité peut être liée au moment de la récolte et les facteurs climatiques.

II– Les résultats de Screening phytochimique

L'analyse phytochimique nous a permis d'identifier les différents groupes chimiques présents dans l'extrait aqueux et éthanoliques des feuilles *inula viscosa*



Figure III.5: Résultats des tests phytochimiques

Tableau 06: les résultats de screening phytochimique

Les réactifs	Les familles	Eau	Ethanol
Wagner	Les alcaloïdes	–	+
HCl concentré +quelque mg de tournure Mg	Les flavonoïdes	+	+
Fe Cl ₃ 1%	Les tanins	+	+
Fe Cl ₃ 2%	Les polyphénols	+	+
NaOH 1%	Les quinones libres	+	+
CHCl ₃ + H ₂ SO ₄ concentré	Les terpénoïdes	+	–
Eau iodée	Amidon	–	–
Test de mousse	Les saponines	+	–

Selon les résultats obtenus, nous remarquons la présence des flavonoïdes, des polyphénols, des quinones libres et les tanins dans les deux extraits aqueux et absence de l'amidon par contre les terpénoïdes et les saponines sont présent seulement dans l' extrait aqueux et absent dans l'extrait éthanolique et finalement les alcaloïdes sont présent seulement dans l'extrait éthanolique .Nous pouvons dire que la plante étudié est riche en métabolite secondaire c'est pour ça elle était très utilisé en médecine traditionnelle

III–L 'huile essentielle

III.1. Calcul du rendement en huile essentielle

Les résultats des calculs de rendement en huile essentielle

Tableau 07: rendement d'huile essentielle des feuilles d'*Inula viscosa*

Stations	Rendement
Marsa Ibn Mhidi	0,08
Maghnia (Tafna)	0,1
Bniouarsous	0,18
Tlemcen	0,2

Les résultats obtenus sont résumés dans l'histogramme suivant.

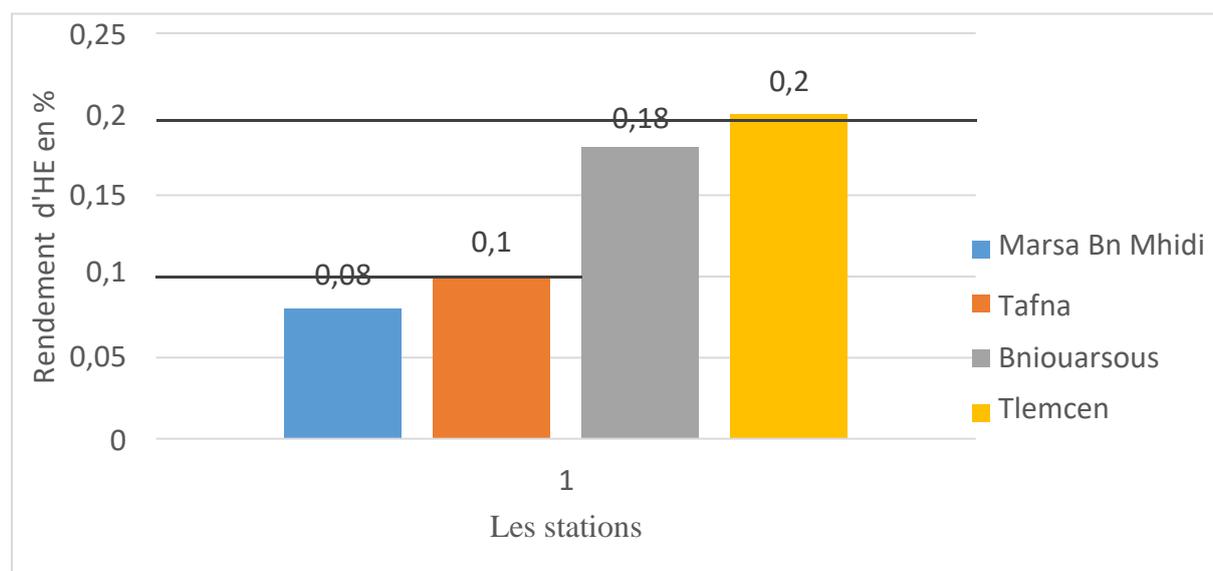


Figure III.6: Histogramme représente les Rdt des huiles essentielles des quatre stations

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que les feuilles d'*inula viscosa* ont donné un faible rendement en huile essentielle.

Le rendement le plus élevé est obtenu en HE d'*inula viscosa* de la station de Tlemcen 0, 2% suivi de la station de Bniouarsous 0,18 %, un rendement de 0,1% pour l'HE de la station de

Maghnia (Tafna), un très faible rendement a été obtenu pour l'*I. viscosa* de la station de Marsa Ibn Mhidi 0,08%.

(Nawel kheyar et *al*) ont trouvé aussi un faible rendement en HE d'*inula viscosa* de 0,22% est légèrement supérieur au rendement d'HE de l'échantillon de Tlemcen [13]

En 2014, Benhammou avait récolté les feuilles et les fleurs à Annaba en mois d'avril, puis le séchage pendant 20 jours, un faible rendement en HE d'*inula viscosa* de 0,19% à été obtenue.

(Aklil et Bandou, 2017) avait montré que le procédé d'extraction a une influence directe sur le rendement et la composition des huiles essentielles; donc le choix de la méthode dépend du domaine de l'utilisation de l'huile [58]

Il est intéressant de noter que la variation du rendement d'extraction de l'huile essentielle de l'*Inula viscosa* est sensiblement susceptible de changer quantitativement et qualitativement en raison :

- de l'origine géographique de la plante
- de la technique d'extraction,
- aux facteurs environnementaux climatiques
- La période de cueillette de la matière végétale et la partie de la plante étudiée
- l'âge de la plante

III.2. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle d'*inula viscosa*

Les propriétés organoleptiques des huiles essentielles sont résumées dans le tableau suivant

Tableau 08 : Propriétés organoleptiques d'huile essentielle des feuilles d'*inula viscosa*

La plante	Aspect	Couleur	Odeur
<i>Inula viscosa</i>	Limpide, claire et visqueux	Jaune-verdâtre	Désagréable, attirant et persistant



Figure III.7: Huile essentielle d'*inula viscosas*

L'analyse d'une huile essentielle implique généralement la séparation, l'identification et la détermination quantitative de ses composants. Il s'agit notamment des techniques chromatographiques (chromatographie sur couche mince, chromatographie sur colonne et chromatographie en phase gazeuse) et spectroscopiques (Spectroscopie de masse SM, spectroscopie de résonance magnétique nucléaire, spectrophotométrie infrarouge) et la combinaison de la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse CPG/SM. Malheureusement la majorité de ces techniques ne sont pas disponibles, nous nous sommes intéressés à réaliser une chromatographie sur couche mince (CCM) suivie d'une chromatographie sur colonne afin de fractionner les hydrocarbures et les composants oxygénés.

III.3. La chromatographie sur colonne de l'huile essentielle d'*inula viscosa* La chromatographie sur colonne est la méthode la plus courante de fractionnement de l'huile essentielle pour la séparation des hydrocarbonés des composants oxygénés. Les hydrocarbonés sont séparés sur gel de silice par élution avec de l'hexane. Après avoir récupéré les composés non polaire, les composés oxygénés peuvent être élués par

ordre croissant de polarité en appliquant un gradient d'élution avec de l'acétate d'éthyle, ce qui nous a donné un certain nombre de fractions.

Dans la Chromatographie sur colonne nous avons utilisé le mode gradient d'élution pour la séparation des composés d'huile essentielle d'*inula viscosa*.

Dans un premier temps on a utilisé le n hexane comme éluant afin de récupérer les fractions hydrocarbonées tandis que les fractions oxygénées ont été récupérées par un mélange de n hexane et d'acétate d'éthyle en changeant à chaque fois les proportions et en récupérant les fractions dans des tubes à hémolyses .

On a réalisé des chromatographies sur couche mince sur chaque tube à hémolyse, après élution des plaques CCM et passage sous lampe UV-visible, on a rassemblé les composés qui ont le même rapport frontal.

Tableau 09 : Le nombre de fractions collectées et% des éluons utilisé.

Le nombre de fraction collecté	% n hexane	% d'Acétate d'éthyle
1-20	95	5
21- 30	90	10
30-40	85	15
41—60	50	50
61-70	5	90
70 -80	0	100

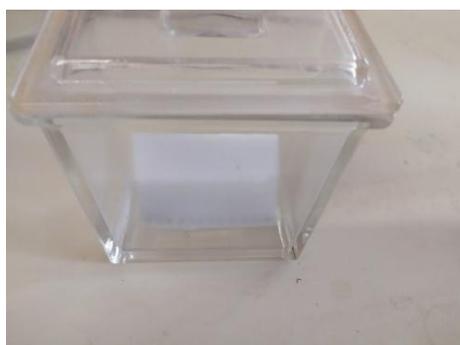


Figure III.8: élution de la plaque CCM

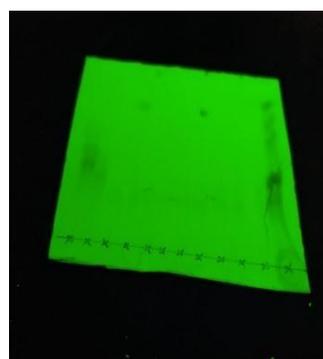


Figure III.9: Plaque CCM sous le lompe U V/Vis

IV–Evaluation des activités antioxydantes des huiles essentielles

IV.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydante des huiles essentielles de quatre stations ainsi que celle d'antioxydant standard (BHT) par la méthode de DPPH a été évaluée en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm. La réduction du radical (DPPH•) qui est initialement violet devient jaune dès que l'électron célibataire s'apparie (DPPH-H).

Cette décoloration signifie que les huiles essentielles ont la capacité de réduire les radicaux libres

Tableau 10. Pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle d'*inula viscosa* des quatre stations

Echantillons	Activité antioxydants						
	Concentration (mg/ml)	9	18	28	38	48	-
HEde MarsaIbn Mhidi	Concentration (mg/ml)	9	18	28	38	48	-
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	35	46,75	57	77	89	-
HE de Bniouarsou	Concentration (mg/ml)	5	10	20	30	40	45
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	19	27,99	38,75	49,16	61,24	62
HE de Tlemcen	Concentration (mg/ml)	5	10	30	35	40	45
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	10,18	23	36	45	48	52,8
HE de Maghnia	Concentration (mg/ml)	5	10	25	35	45	55
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	9	12	27	34,4	40	57,33
BHT	Concentration (mg/ml)	0,5	1	3,5	7	11	13
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	21,36	25,2	29,75	38,5	48,63	57,5

Les résultats des % (I) obtenus sont résumés dans l'histogramme suivant.

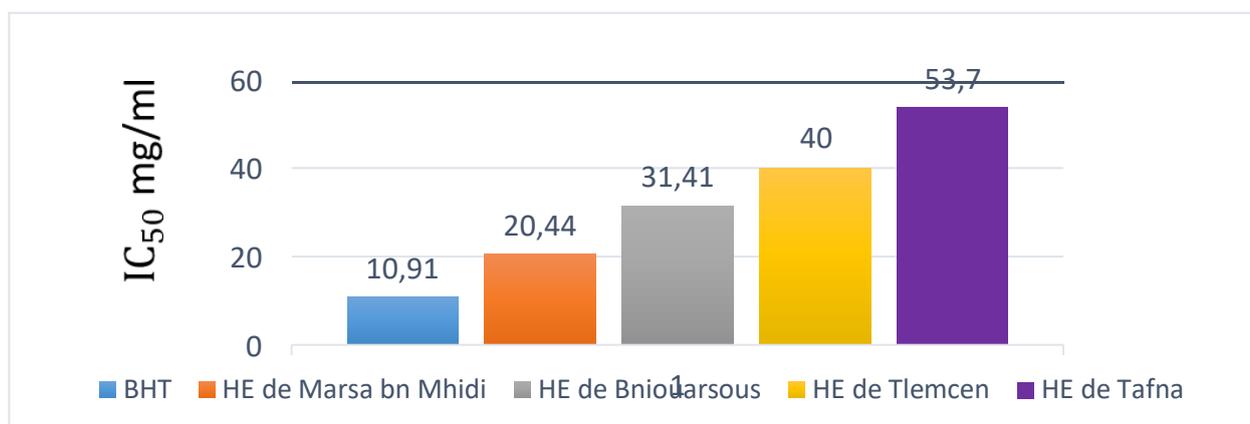


Figure III. 10 Histogramme des IC₅₀ des huiles essentielles déterminées par la méthode DPPH

Discutions :

Il est rapporté par des auteurs plus la valeur de IC_{50} est faible plus l'huile essentielle est puissante plus l'activité antioxydante est intéressante car par définition la IC_{50} est la concentration pour laquelle l'échantillon cause la perte de 50% des radicaux libre de DPPH dissout dans l'éthanol.

Après le calcul des IC_{50} à partir des droites de régression des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'échantillons préparés. Nous avons tracé Histogramme suivant.

D'après les résultats de l'activité anti-radicalaire des huiles essentielles obtenues et du standard et d'après les IC_{50} . Aucune des huiles n'a montré une activité aussi forte que l'antioxydant de synthèse.

Il a été rapporté par plusieurs auteurs que les antioxydants de synthèse possèdent plus d'aptitude à piéger le radical DPPH que les huiles essentielles. La comparaison de l'activité de balayage du DPPH• de l'huile essentielle de la station une avec celle exprimée par le BHT a montré une bonne activité antioxydante avec une IC_{50} de 20.44 mg/mL, mais elle reste faible para port à l'activité antioxydante du standard.

Si nous faisons une comparaison des IC_{50} des huiles essentielles des quatre stations avec la IC_{50} du standard BHTs, L'HE de S₁ a la capacité d'inhiber 50% desradicaux libres a une

Si nous faisons une comparaison des IC_{50} des huiles essentielles des quatre stations avec la IC_{50} du standard BHT, L'HE de S₁ a la capacité d'inhiber 50% des radicaux libres a une concentration 2 fois plus que celle exprimée par le BHT. L'HE de S₂ a la capacité d'inhiber 50% des radicaux libres a une concentration 3 fois plus que celle exprimée par le BHT. L'HE de S₃ a la capacité d'inhiber 50% des radicaux libres a une concentration 4fois plus que celle exprimée par le BHT.

L'HE S₄ a la capacité d'inhiber 50% desradicaux libres a une concentration 5 fois plus

Nous pouvons classer L'activité anti radicalaire donc dans l'ordre décroissant suivant :

BH > *I.viscosa* de Marsa Ibn Mhidi > *I.viscosa* de Bniouarsouse > *I.viscosa* Tlemcen > *I.viscosa Maghnia*

Selon (Fawzia Atik Bekkara et al) [59]:huile essentielle d'*inula viscosa* de la région de Sidna Youchaa a donné une tres faible activité anti radicalaire la IC_{50} est de l'ordre 196 ,73 mg/ ml

et celle de l'antioxydant standard Trolox c'est 0,077 mg /ml. Si nous faisons une comparaison entre IC_{50} d'HE d'*inula viscosa* de la région de Sidna Youchaa et les IC_{50} de nos huiles essentielles nous pouvons dire qu'elles sont très faible comme nous savons plus la valeur de IC_{50} est faible plus l'huile essentielle est puissante plus l'activité antioxydante est bonne, donc nous pouvons conclure que nos HEs ont donné une bonne activité anti radicalaire para port HE de Sidna Youchaa.Surtouts l'HE de d'*inula viscosa* de Marsa bnmhidi . Nous n'avons pas fait l'analyse de la composition chimique de nos huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par le couplage CPG/spectrométrie de masse (SM), donc nous ne pouvons pas conclure quel est le composé qui _a était responsable de cette activité anti radicalaire,mais selon de nombreux auteurs ont rapporté que l'effet anti radicalaire de l'huile essentielle pourrait être dû à la présence d'un grand nombres des composés phénoliques (Almeida et *al.*, 2011).[12] Il est rapporté que les composés phénoliques peuvent cédé un atome d'hydrogène aux radicaux libres alors la réaction en chaîne de propagation pendant le processus d'oxydation des lipides sera arête (Sánchez - Mareno et *al.*, 1998).[12] Les composés phénoliques réagissent selon un mécanisme proposé par Sherwin (1976), l'antioxydant cède un radical hydrogène, qui peut être un transfert d'électrons suivi, plus ou moins rapidement, par un transfert de protons, pour donner un intermédiaire radical stabilisé[12]

IV.2. Pouvoir réducteur du fer

Nous avons testé nos huiles essentielles avec le pouvoir réducteur du fer afin de savoir qu'elle est la capacités d'huile essentielle d'*inula viscosa* à convertir le ferricyanure de potassium (Fe^{3+}) en ferrocyanure de potassium (Fe^{2+}) . Comparativement à l'antioxydant standard BHT qui est utilisée comme référence.

L'augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel indique une augmentation de la capacité réductrice de l'huile testée. Cette capacité peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante [Chang et *al.*, 2007; Degryse et *al.*, 2008].[16]

La réduction de fer Fe^{3+} complexe ferricyanide à la forme ferreux. Nous indique la présence des réductants dans les huiles essentielles Par conséquent, Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu vert dans le milieu réactionnel à 700 nm.[60]

Les résultats obtenus nous ont permis de tracer des courbes suivantes

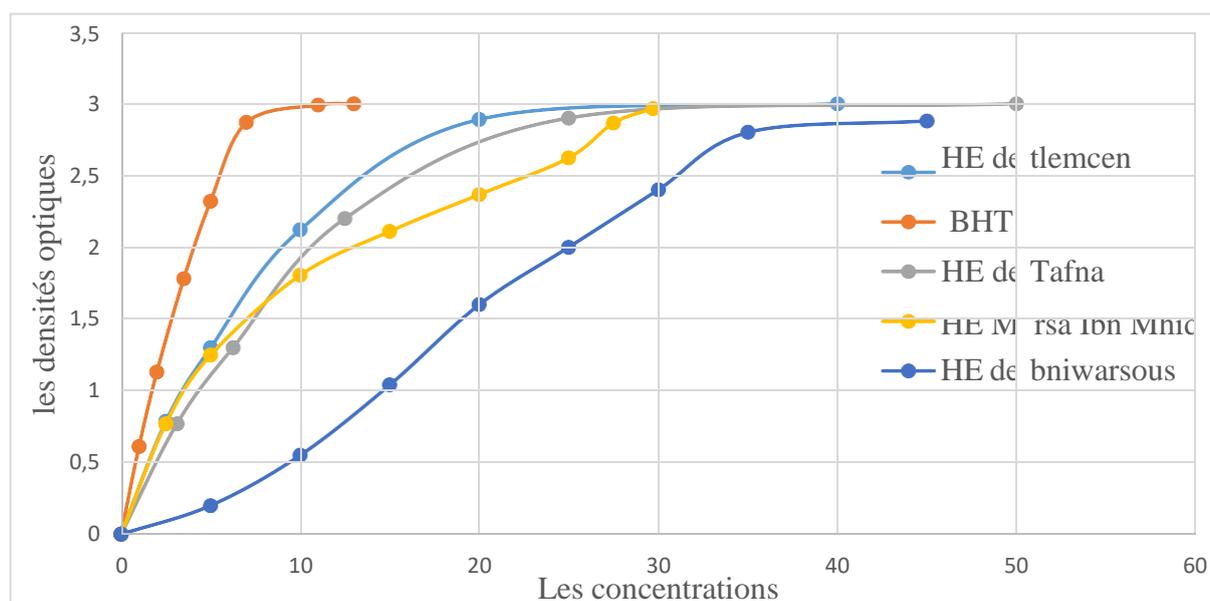


Figure III.11 : Courbes d'évaluations du pouvoir antioxydant par la méthode de FRAP $DO = f(C)$

D'après nos résultats, pour les quatre huiles essentielles testés, ont une augmentation de la réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation des concentrations utilisées.

D'après Les courbes d'évaluation de pouvoir réducteur de ferricyanure de potassium (Fe^{3+}) en ferrocyanure de potassium (Fe^{2+}) des HES d'*inula viscosa* nous remarquons que les HES des trois échantillons ont atteint l'absorbance maximale sauf HE de Bniouarsous qui a un DO l'égerment inférieur à trois

Si nous classons nos huiles essentielles selon la puissance de réduction de fer par rapport au BHT,

BHT > HE Tlemcen > HE de Maghnia > HE Marsa Ibn Mhidi > Bniouarsous

Selon les résultats obtenus, nous pouvons dire que tous nos HES présentent un pouvoir réducteur de fer mais reste inférieur à celui d'antioxydant du standard

Conclusion Générale

Conclusion générale

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. La plante étudiée est parmi les plantes largement utilisées dans les anciennes civilisations et fortement utilisées de nos jours en médecine traditionnelle à travers le monde.

Inula Viscosa (L) une plante médicinale et aromatique, utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle algérienne, mais elle est exploitée à une échelle assez réduite, malgré ses effets biologiques potentiels.

Notre travail de recherche s'est basé sur l'étude des feuilles d'*inula viscosa*, récoltée dans quatre régions de la wilaya de Tlemcen (Maghnia , Marsa Ibn Mhidi, Bniouarsous et Tlemcen)

Les résultats des études expérimentales nous ont permis de mieux connaître le pouvoir antioxydant et son profil phytochimique d'*inula viscosa*

Les résultats obtenus montrent que la plante de toutes les stations étudiées ont des teneurs en eau importantes qui varient de 73,5 à 81,5% ce qui confirme leurs richesses hydriques

L'étude phytochimique des feuilles d'*inula viscosa* nous a montré que la plante présente quelques métabolites secondaires tels que

- ✓ Les flavonoïdes
- ✓ Les terpènes
- ✓ Les tanins
- ✓ Les quinones libres
- ✓ Les saponosides

De plus l'extraction des HEs à partir des feuilles d'*inula viscosa* par la méthode d'hydrodistillation nous a permis de montrer que la plante a donné un faible rendement.

La rentabilité en huile essentielle d'*I. viscosa* est comprise entre 0,08% et 0,2% elle est en accord avec la rentabilité en huile essentielle d'*I. viscosa* de (Bouhasene Nadia et al).

Les quatre huiles essentielles ont présenté des activités antioxydante mais qui reste moins efficaces par rapport au BHT dans les deux méthodes étudiées (DPPH, FRAP).

Notre étude reste toutefois incomplète, pour cela il serait intéressant de procéder à une analyse de la composition chimique des huiles essentielles des quatre stations par chromatographie

Conclusion générale

en phase gazeuse (CPG) et par le couplage CPG/spectrométrie de masse (SM) et il est souhaitable de tester d'autres méthodes pour mieux évaluer l'activité antioxydante, comme (ABTS et H₂O₂).

Références bibliographiques

- [1] J., Fakchich ,M.,Elachouri. Panorama des études ethnobotanico-pharmacologiques menées au Maroc. *Journal d’Ethnopharmacologie*. **2021**, 267, 1991–2015.
- [2] A., BERMÚDEZ, A., MARÍ,O.M. y DILIA VELÁZQUEZ . LA INVESTIGACIÓN ETNOBOTÁNICA SOBRE PLANTAS MEDICINALES: UNA REVISIÓN DE SUS OBJETIVOS Y ENFOQUES ACTUALES. **2005** ,453-459.
- [3] M.,NEFFATI ,M., SGHAIER . DEVELOPPEMENT ET VALORISATION DES PLANTES AROMATIQUES ET MEDICINALES (PAM) AU NIVEAU DES ZONES DESERTIQUES de la région MENA (Algérie, Egypte, Jordanie, Maroc et Tunisie). Rapport principal. **2014**, 143,13–14.
- [4] F., GUERIBIS . Extraction et purification de métabolites purs de *Dittrichia* (*Inula*) *viscosa* (L.) Greuter et Evaluation de leur activité biologique à l’égard de quelques bio-agresseurs de la culture .Thèse En vue de l’obtention du diplôme de Doctorat en Sciences Agronomiques .**2020**, 96 ,31- 32.
- [5] M., Paris, M.,Hurabielle Abrégé de matière médicale (pharmacognosie), Masson, Paris. **1980**, 7,101-107.
- [6] N.O., AMARI . Etude Phytochimique, Potentiel Antioxydant et Activité antifongique de *Thymelaea hirsuta* (Cas des dermatophytes). THESE. **2015**, 134,1–2.
- [7] A., SADALLAH,R., LAIDI . Étude Ethnobotanique de certaines plantes médicinales dans la région d’Ain bessem et Sour el ghozlane (Bouira) MEMOIRE DE MASTER . **2018**,33 ,1 - 2.
- [8] F. E., BENSALÉK. Les troubles fonctionnels intestinaux- Syndrome de l’intestin irritableTraitement- Plantes médicinales. THESE DU DOCTORAT EN MEDECINE. **1991**, 93,33-34.
- [9] F., Grimaldi . La Phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la pharmacie . THÈSE DE DOCTEUR EN PHARMACIE. **2018** , 9221-22 .
- [10] G., Debuigne . Larousse des plantes qui guérissent, Ed. Larousse. **1974**.
- [11] T.,Choukri . Les propriétés biologiques des huiles essentielles de *Curcuma longa*, *Ammoides verticillata* et *Thymus ciliatus* ssp. *eu-ciliatus* . THESE POUR OBTENTION DU TITRE DE DOCTEUR. **2015**, 139, 3.
- [12] D.,BOUZID . Evaluation de l’activité biologique de l’huile essentielle d’une plante endémique *Hélichrysum italicum* (Roth) G. DON. Thèse Doctorat en Sciences Filière: Biologie Spécialité: MICROBIOLOGIE. **2018**, 105 ,2 .
- [13] N., KHEYAR . Contribution à l’étude de l’activité antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles d’*Inula viscosa* L., *Salvia officinalis* L. et *Laurus nobilis* L. Mémoire Pour l’Obtention du Diplôme de MagisterEn biologie .**2009**, 75, 3- 50.
- [14] B., BOUGHRARA . Inventaire et étude ethnobotanique et chimique des plantes à intérêts thérapeutique et nutritif du Parc national El- kala. THESE. **2016**, 158, 68-75 .
- [15] R., DESCHEPPER. VARIABILITÉ DE LA COMPOSITION DES HUILES ESSENTIELLES ET INTÉRÊT DE LA NOTION DE CHÉMOTYPE EN AROMATHÉRAPIE. THESE EN VUE D’OBTENIR LE DIPLOME D’ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE. **2017**,160, 6-8.

Références bibliographiques

- [16] N., BOUZIDI . Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche « *Artemisia herba alba Asso* ». Thèse. Pour l'obtention du diplôme de Doctorat Spécialité: Sciences de la Vie .**2016**, 86- 88.
- [17] J., Bruneton, Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3 ème édition. Paris: Editions médicales internationales, éditions Toc & Doc Lavoisier. **1987,1999**, 1120.
- [18] H., BERHAIL BOUDOUDA . Etude phytochimique et biologique des espèces *Biscutella raphanifolia*, *Zilla macroptera*, *Inula graveolens* et *Inula viscosa*. THESE. **2014**, 192,39-40.
- [19] L., LAKHDAR. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE D'HUILES ESSENTIELLES MAROCAINES SUR *AGGREGATIBACTER*. These.**2015**, 164,26-27.
- [20] B., Sophie. LE GIROFLIER : HISTORIQUE, DESCRIPTION ET UTILISATIONS DE LA PLANTE ET DE SON HUILE ESSENTIELLE. THESE pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. **2015**, 192, 59-60.
- [21] Sies H. -Oxidative stress: oxidants and antioxidants. || Experimental Physiology **1997**,82, 291-295.
- [22] P., Bertrand. Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*. THÈSE. En vue de l'obtention du DOCTORAT en Ecotoxicologie. **2008**, 284,15-16.
- [23] N.,HERZI .Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles. Thèse. **2013**, 185,7-8.
- [24] A.,Bekkara , N., Benhammou ,T., Kadifkova Panovska. BIOLOGICAL ACTIVITIES OF THE ESSENTIAL OIL AND ETHANOLIC EXTRACT OF *Inula viscosa* FROM THE TLEMEN REGION OF ALGERIA . Advances in Food Sciences . **2008**, 8,132- 139 .
- [25]A., Karolina, A. Wojtunik-Kulesza ,M., Waksmundzka-Hajnos . L'influence des radicaux libres et des antioxydants courants sur le développement de la maladie d'Alzheimer. Biomedicine & Pharmacothérapie. **2016**, 78, 39-49.
- [26] D., Toure. ETUDES CHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE QUATRE PLANTES AROMATIQUES MEDICINALES DE CÔTE D'IVOIRE . THESE Présentée pour l'obtention du Titre de Docteur. **2015**, 616,17- 18 .
- [27] N.,BENHAMMOU. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. THÈSE de Doctorat en Biologie. **2012**, 161,34-35.
- [28]K.,Agbékonyi ,AGBODAN , K.,DOTSE ,K.,Honoré KOUMAGLO. Activités antioxydantes des huiles essentielles de trois plantes aromatiques acclimatées au Togo. International of Biological and Chemical .sciences.**2014** 8,1103-1110,
- [29]N., BENHAMMOU . Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. THÈSE. **2012**,161, 34-35.

Références bibliographiques

[30] P., Quezel, S., Santa. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed. CNRS, Paris . **1963**

[31] S., MERAH . ANALYSE DES COMPOSES PHENOLIQUES *D'Inula viscosa L* RECHERCHE DE LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES. MEMOIRE pour l'obtention le diplôme de MAGISTERE. **2010**, 112,2-3.

[32] G., Debuigne. Larousse des plantes qui guérissent, Ed. Larousse. **1974**.

[33] A., Benyahia . Contribution à l'étude photochimique et activités biologique de deux plantes médicinales *Inulaviscosa* et *Inula montana* Master en chimie ; Molécule Bioactive synthèses et application Tlemcen ; Université Aboubakr Belkaid **2014** , 53.10-11.

[34] W.S., Judd ,D., Bouharmont, C.S ., Compbell, C.M, Evard , F.A., Kellogg. P., Stevens . (Botanique systématique : une perspective phylogénique .Ed BOECK université. 2002, 167-383-396-398.

[35] Etude de l'effet de la pollution du sol par les métaux lourds sur l'accumulation des métabolites secondaires de l'exsudat chloroforme de *Inula viscosa*. Mémoire de Master en Biochimie. Université de Constantine., p (119).

[36] S.Oksöz, Taraxasterol acetate from *Inula viscosa*. Plantamed. **1976** , 29, 343-345.

[37] E., Mamoci , I., Cavoski , M., Fé Andrés , C. E., Diaz , A. G., Coloma. Caractérisation chimique des extraits anti-appétant de pucerons de *Dittrichia viscosa* et *Ferula communis*. Biochemical Systematics and Ecology . **2012** , 43, 101-107.

[38] D., BOUZID. valuation de l'activité biologique de l'huile essentielle d'une plante endémique *Hélichrysum italicum* (Roth) G. DON. Thèse Pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences. MICROBIOLOGIE. **2018**, 105, 83-84

[39] M.S., Máñez , R. V., Hernández, R .M., Giner, J.L., Rios,. Inhibition des enzymes pro-inflammatoires par l'inuviscolide, une lactone sesquiterpénique de *Inula viscosa*. Fitoterapia . **2007**, 78, 329-331

[40] N., Kheyar. D., Meridja. K ., Belhamel. Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. Algerian Journal of Natural Products. **2014**, 2, 18-26.

[41] L., Si Moussa. L., Belabid. F., Lazreg. L., Fatarna. Effect of seed treatment using *Inula viscosa* essential oil in controlling seedborne fungi. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, **2015**, 7, 975-981.

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

[43] N., Bouhassane . F., Mesli . F. Z ., Benomari .N., Merad- Boussalah . R., Achiri .A., Muselli .N., Djabou , M. A., Dib. Chemical composition variability and vascular endothelial growth factor receptors inhibitory activity of *Inula viscosa* essential oils from Algeria. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics. **2020**,

Références bibliographiques

- [44] N., Gharred, A.Dbeibia, D.,Falconieri, S., Hammami, A., Piras ,S., Dridi-Dhaouadi. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oils from flowers, leaves and aerial parts of Tunisian *Dittrichia Viscosa*. Journal of Essential Oil Research . **2019**, 8,1-8.
- [45] N., Benzeggouta.Evaluation des Effets Biologiques des Extraits Aqueux de Plantes Médicinales Seules et Combinées. Thèse. **2015**, 96,6-7.
- [46] K.,M ,Maria John , M .,Ayyanar ,T., Arumugam., G.,Enkhtaivan.,K., Jin , D.,H Kim .Phytochemical screening and antioxidant activity of different solvent extracts from *Strychnos minor* Dennst leaves. Asian Pac J Trop Dis. **2015**, 5, 204-209.
- [47] Y., Karumi ,P.A., Onyeyili ,V.O .,Ogugb-Uaja . Identification of active principales of *M. balsamina* (Balsam apple) leaf extract. J. Med Scien.**2004**, 4, 179-182.
- [48] A.M .,Khan,R.A., Qureshi, Ullah, F., Gilani ,S.A., Nosheen A. Sahreen S., Laghari M.K., Laghari, M.Y., Ur-Rehman S., Hussain I., Murad W. (Phytochemical analysis of selected medicinal plants of Margalla Hills and surroundings.**2011**
- [49] A.P., Bidie ,B.B., N'Guessan ,A.F.,Yapo,J.D., N'Guessan ,A.J ,Djaman . Activités antioxydantes de dix plantes medicinales de la pharmacopée ivoirienne. Sciences & Nature.**2011**, 8,1-11.
- [50] W., TEHAMI . Caractérisation phytochimique et évaluation du potentiel antioxydant, antimicrobien et anti-inflammatoire de *Salviaargentea*. These de doctorat troisième cycle.**2017**, 101,32-33.
- [51] A., TABET ZATLA . Caractérisations chimiques et étude biologiques d'extraits de quatre plantes aromatiques « *Daucus. carota* ssp. *sativus*, *Marrubium vulgare*, *Ballota nigra* et *Cynoglossum cheirifolium* » de la région de Tlemcen . THÈSE Pour l'obtention du diplôme de : DOCTORAT EN SCIENCES. **2017**, 156 ,40- 41.
- [52] C., Tefiani. Les propriétés biologiques des huiles essentielles de *Curcuma longa*, *Ammoides verticillata* et *Thymus ciliatus* ssp. *eu-ciliatus*. THESE. **2015**, 139,37- 38.
- [53] D., BESSEGHIER . Contribution à l'évaluation du pouvoir antioxydant et de l'activité antimicrobienne de quelques plantes médicinales. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biologie.**2013**, 92, 58-59.
- [54] F. Sharififar, M.H. Moshafi, S.H. Mansouri, M. Khodashenas, M. Khoshnoodi. In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. Food Control.**2007**, 18,800–805.
- [55]M., BELOUFA. Etude chimique et activité antioxydante des huiles Essentielles du *Thymus fontanesii* , *Rosmarinus Officinalis* et *Artemisia herba alba* de la région de Tlemcen.MEMOIRE.**2018** ,40,39-40.

Références bibliographiques

[56] N.,BOUZIDI. Etudedesactivitésbiologiquesdel'huileessentiellede l'armoiseblanche « *Artemisia herba alba Asso* ». THESE .**20016**, 462, 55-56.

[57] S., CHAOU . Caractérisation phytochimique de la partie aérienne de la plante médicinale *Inula viscosa* L. (Asteraceae) de la région de Djinnet (Boumerdes). Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master en biologie. **2017**,25 ,19-20

[58] T., Belaabed ,M., Chikh . Etude comparative entre les huiles essentielles des feuilles sèches et fraîches de l'inule visqueuse (*Inula viscosa* L.) . Mémoire En vue de l'obtention du Diplôme de Master. **2020**,20, 18-19.

[59] F., Atik Bekkara , N.,Benhammou , T., Kadifkova Panovska. BIOLOGICAL ACTIVITIES OF THE ESSENTIAL OIL AND ETHANOLIC EXTRACT OF *Inula viscosa* FROM THE TLEMCEN REGION OF ALGERIA . Advances in Food Sciences . **2008**, 8,132- 139.

[60] https://www.memoireonline.com/11/13/7937/m_Dosage-des-polyphenols-de-la-tomate-et-etude-de-leur-pouvoir-anti-oxydant34.html.

Résumé

Dans le but de valorisation des plantes aromatique utilisée dans la médecine traditionnelle par la majorité de la population algérienne. Nous nous somme intéressé à l'étude de l'espèce *inula viscosa* de différentes régions de la wilaya de Tlemcen.

Le but de cette étude est d'évaluer les activités antioxydant de l'HE des parties aériennes de cette plante de quatre régions différentes de la wilaya de Tlemcen.

Les huiles essentielles obtenues ont été utilisée pour l'évaluation de l'activité antioxydante, notre choix est porté sur la méthode de DPPH et FRAP; Les résultats de ces études ont révélé un taux d'humidité des feuilles d'*Inula Viscosa* très important compris entre 73,5 à 81,5%. Cela signifie que la majeure partie de la plante est constituée d'eau le reste représente la matière sèche. Selon les résultats de screening phytochimique obtenus, nous remarquons une présence des flavonoïdes, des polyphénols, des quinones libres et les tanins dans les deux extraits aqueux et éthanolique et l'absence de l'amidon et d'alcaloïdes de réactif de Mayer par contre les terpénoïdes et les saponines sont présent dans l' extrait aqueux et absent dans l'extrait éthanolique tandis que les alcaloïdes de réactif de Wagner sont présent seulement dans l'extrait éthanolique .

Pour le rendement de l'extraction des huiles essentielles, nous remarquons que les feuilles d'*inula viscosa* ont donné un faible rendement en huile essentielle.

Le rendement est compris entre 0,08, 0,2.

D'après les résultats de l'activité anti-radicalaire des huiles essentielles obtenues et du standard et d'après les IC_{50} nous pouvons dire que nos huiles essentielles possèdent une activité anti radicalaire modéré mais d'après les résultats du pouvoir réducteur du fer nous pouvons dire que nos HES possèdent un bon pouvoir réducteur de fer mais reste toujours inférieure à celui de référence BHT

Mots clefs *Innula viscosa*, Huile essentielle, Extraits, Activité antioxydante

Abstracts

With the aim of enhancing the aromatic plants used in traditional medicine by the majority of the Algerian population. We were interested in the study of the species *inula viscosa* from different regions of the wilaya of Tlemcen.

the aim of this study is to evaluate the antioxidant activities of essential oil in the aerial parts of this plant from four different regions of the wilaya of Tlemcen.

The essential oils obtained were used for the evaluation of the antioxidant activity, our choice fell on the method of DPPH and FRAP .

For analyzes of the samples revealed a very high moisture content of *Inula Viscosa* leaves of between 73.5 to 81.5%. This means that most of the plant is water, the rest is dry matter. According to the phytochemical screening results obtained, we notice a presence of flavonoids, polyphenols, free quinones and tannins in the two aqueous and ethanolic extracts and absence of starch and alkaloids of Mayer's reagent against terpenoids and saponins are present in the aqueous extract and absent in the ethanolic extract while the Wagner reagent alkaloids are present only in the ethanolic extract.

For the efficiency of the extraction of essential oils, we note that the leaves of *inula viscosa* gave a low yield of essential oil. The yield is in the range [0.08, 0.2]

According to the results of the anti-radical activity of the essential oils obtained and of the standard and according to the IC₅₀ we can say that our essential oils have a moderate anti-radical activity but according to the results of the reducing power iron we can say that our Hes have a good reducing power of iron but always remains lower than the reference BHT

Keywords: *inula viscosa*, Essential oils, extracts, antioxidant activity.

يهخض

هذف نكش ان لداخ انكطرزح ان سرخ ذيح نه انطه ارمه ذوي ي لثم غانبا ح انشكة انجش انزي. كها يهر ٥٥٥
تنراس ح اناع

inula viscosa ي ياطك يخرهح ي وال ح ده سا

ذى اسرخداو انشخ الساسح انر ذى انحصل كها نرم ي انشاط انضاد نالكسج ، ولغ اخرازا كهي طرمح DPPH و

FRAP

نرحم انكش ذى انكشف ك سرح رطيهح كان ح ج كذا الوراق *Inula Viscosa* ذواحد ٥٥٥ 53.7 انى
51.7%. هذا كها

ا ي كطى انشاخ كشارج ك ياء ، وانثا يادج جافح..

ونم ان رناج انحص انك انناذ انر ذى انحصول كها ، ال حظ و ج يد يزكناخ

انغلى ي ذ واننن انى وانك هوى وانكفض انحر نه ان سرخهص ان انان وال انان وغ اب

انشا وانمهي ذاخ نه كاشف ياز ضذ انزنن هوى ذاخ

وانصانى ٥٥٥ ان جدد نه ان سرخهص ان انان وذغ ذ نه ان سرخهص ال انان لهى ذاخ كاشف واغز ي جدد
نمظ نه

ان سرخهص ال انان.

ي اجم اجم يزدود اسرخالص انشخ انكطرزح ، الحظ ا اوراق *inula viscosa* انطد كها كها ي خن
انكطرزي. انكانذ ف انطاق [0.05 ، 0.0].

ونم ان رناج انشاط انضاد زه ج ذور زهشخ ال اساس ح انر ذى انحصول كها

وانكبار ونم ان زه انى انى ان سى ذى ال اساس ح زه شاط ي ك رذل يضاد زه ج ذور ونم ان

رناج لى ج ال خشرال ان ح ذى ان سى ذى ال اساس ح زه لى ج

ذخنض ج ذغ زه ح ذى ونك هوى ذظم دائ انم ي BHT ان زجك.

الكلمات المفتاحية: *inula viscosa* , انشخ الساسح , انشاط انضاد نالكسج , يسرخهص