

République Algérienne Démocratique et Populaire



Université Abdelhamid Ibn  
Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie

جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة والحياة



DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**ADOUL NEBIA LINA**

&

**BOURAS AMINA**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES**

**Spécialité : Pharmacotoxicologie.**

THÈME

**Composition chimique et évaluation du  
potentiel anti oxydant d'*Inula viscosa* L.**

Soutenu le : 30/06/ 2025

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE :

Président	Mme Aicha Hennia	MCA	U. Mostaganem
Encadrant	Mme Douichene Salima	MCA	U. Mostaganem
Examineur	Mme Attafia Benhmimed	MCA	U. Mostaganem

Année universitaire 2024/2025

## *Dédicace :*

*Nous dédions ce mémoire à nos chers parents qui ont été toujours à nos cotés et nous ont toujours soutenu tout au long de ces longues années études.*

*En signe de reconnaissance, qu'ils trouvent ici, l'expression de notre profonde gratitude pour tout ce qu'ils consenti d'efforts et de moyens pour nous voir réussir dans nos études.*

*A toutes nos familles*

*Et A toutes nos amies*

*A tous les gens qui nous connaissent*

*Et à tous ceux qui aiment le bon travail et ne reculent pas devant les obstacles de la vie.*

*Amina et Lina*

# **Remerciements :**

*Au terme de ce travail,*

*Nous tenons à remercier Allah pour le Courage et la patience  
qu'il nous donné afin de Mener ce projet à terme.*

*Nous remercions vivement notre encadreur Mme. Douichene  
Salima.*

*Nos remerciements s'adressent aussi aux membres du jury, qui  
ont accepté d'examiner notre mémoire de fin d'étude, et qui ont  
manifesté un intérêt pour notre travail*

*Ainsi que*

*Nous remercions également le personnel du labo de l'université  
ABDEHAMID IBN BADIS Mostaganem pour leur aide durant  
notre travail. Surtout Rachida Fatima et khawla et le personnel  
des laboratoires de Biochimie.*

*Enfin nous remercions toute personne ayant contribué de près  
ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## Liste des figures :

<b>Figure 01</b> : les parties aériennes d' <i>Inulaviscosa</i> L.....	7
<b>Figure 02</b> : carte géographique d' <i>Inulaviscosa</i> L.....	7
<b>Figure 03</b> : Structure du noyau phénol.....	10
<b>Figure 04</b> : Le 2-phénylchromane, squelette de base des flavonoïdes (Stricto sensu. (Crozier, 2003)).....	12
<b>Figure 05</b> : Structure chimique des tanins condensés.....	13
<b>Figure 06</b> : Structure générale des coumarines.....	14
<b>Figure 07</b> : structure chimique du noyau coumarine.....	14
<b>Figure 08</b> : régulation de la production d'espèces relatives de l'oxygène par le système de défense antioxydant.....	17
<b>Figure 09</b> : stabilisation des radicaux par l'hydroxytyroso.....	19
<b>Figure 10</b> : les systèmes de défense contre les radicaux libres.....	20
<b>Figure 11</b> : Séchage de la plante à l'étuve.....	23
<b>Figure 12</b> : Schéma de l'extracteur Soxhlet.....	25
<b>Figure 13</b> : Soxhlet.....	26
<b>Figure 14</b> : Structure de Flavonoïdes.....	27
<b>Figure 15</b> : photo d'un évaporateur rotatif.....	29
<b>Figure 16</b> : courbe d'étalonnage des polyphénols.....	33
<b>Figure 17</b> : Teneur en Polyphénols de <i>Inula viscosa</i> L. En fonction du solvant.....	34
<b>Figure 18</b> : Courbe d'étalonnage des Flavonoïdes.....	35
<b>Figure 19</b> : Teneur en Flavonoïdes de <i>Inula viscosa</i> L. En fonction du solvant.....	36
<b>Figure 20</b> : Courbe d'étalonnage des Tanins hydrolysables.....	36
<b>Figure 21</b> : Teneur en Tanins hydrolysables de l'Inule visqueuse en fonction du solvant.....	37
<b>Figure 22</b> : La comparaison des teneurs des Polyphénols et des Flavonoïdes et des Tanins hydrolysables dans les extraits.....	38
<b>Figure 23</b> : dosage d'AC.....	39
<b>Figure 24</b> : dosage d'extrait éthanolique.....	39
<b>Figure 25</b> : dosage d'extrait hexanique.....	39
<b>Figure 26</b> : dosage d'extrait méthanolique.....	40

## **Liste des tableaux :**

<b>Tableau 01 :</b> les différents noms vernaculaires de <i>Dittrichia viscosa</i> L.....	<b>6</b>
<b>Tableau02 :</b> Principales classes des composés phénoliques.....	<b>11</b>
<b>Tableau 03 :</b> Teneur en polyphénols totaux (mg/g de poids sec de la plante).....	<b>33</b>
<b>Tableau 04 :</b> La quantité des Flavonoïdes dans les extraits.....	<b>35</b>
<b>Tableau 05 :</b> Teneur en Tanins hydrolysables totaux (mg/g de poids sec de la plante).....	<b>37</b>
<b>Tableau 06 :</b> IC50 (mg/ml) de DPPH des différents extraits étudiés.....	<b>40</b>

## **Liste des abréviations :**

**Abs** : Absorbance.

**AlCl<sub>3</sub>** : chlorure d'aluminium.

**AC** : Acide ascorbique.

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl ;  $\alpha$ ,  $\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyle.

**EAG** : Equivalent acide gallique.

**EAT** : Acide tannique.

**EQ** : Equivalent quercitrine.

**FCR** : réactif de Folin-Ciocalteu.

**G** : gramme

**IC<sub>50</sub>%** : Concentration inhibitrice

**MI** : millilitre

**Nm** : nanomètre

**TFT** : Teneur en Flavonoïdes totaux.

**TPT** : Teneur en polyphénols totaux.

**TTH** : Teneur en tanins hydrolysables.

**UV** : Ultraviolet

**µl** : microlitres

## **Résumé :**

Les constituants actifs des plantes médicinales, représentent de nouvelles opportunités pour le développement et la création de nouveaux médicaments. *Inulaviscosa* L qui appartient à la famille des Astéracées se trouve couramment dans le bassin méditerranéen. En médecine traditionnelle, les feuilles d'*Inulaviscosa* L (Astéracées) sont fréquemment employées pour traiter l'abcès, les infections, douleur abdominale et céphalées, hémorroïdes, diabète, troubles digestifs, et ainsi que pour cicatriser les plaies ouvertes, arrêter les hémorragies et favoriser la cicatrisation cutanée. L'objectif de cette recherche est la détermination des teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tanins à partir des feuilles d'*Inulaviscosa* L. et l'évaluation de la capacité antioxydante de ces trois différents extraits méthanolique, éthanolique et hexanique de cette plante cultivée à Sidi Ali dans la wilaya de Mostaganem dans l'ouest Algérien.

Pour chaque extrait examiné d'*Inulaviscosa* L., les capacités antioxydantes ont été estimées par piégeage DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyle) et la composition chimique de chaque extrait a été déterminée. Les résultats obtenus montrent que les extraits analysés contiennent de manière significative de composés phénoliques, de tanins et de flavonoïdes ainsi qu'un très faible potentiel antioxydant. Les résultats de l'évaluation quantitative montrent la présence de polyphénols avec une teneur qui varie entre  $(28,766 \pm 63,103 \text{ mg/EAG})$ , et de tanins hydrolysables avec une teneur qui varie entre  $(19,943 \pm 35,137 \text{ mg/EAT})$ , ainsi que de flavonoïdes avec une quantité variée de  $(17,337 \pm 22,176 \text{ mg/EQ})$ . L'évaluation du potentiel antioxydant de ces trois extraits montre que les  $IC_{50}$  des extraits de cette plante évalués et qui sont respectivement de  $(179,043 \pm 21,395)$  pour l'extrait méthanolique,  $(162,367 \pm 3,460)$  pour l'extrait éthanolique et de  $(40,653 \pm 0,548)$  pour l'extrait hexanique comparées à ceux de l'acide ascorbique ( $IC_{50}$  qui est de  $(0,670 \pm 0,012)$ ) ce qui minimise son activité antioxydante.

**Mots-clés :** *Inulaviscosa* .L, polyphénols, tanins hydrolysables, flavonoïdes, potentiel antioxydant.

## **Abstract :**

The active constituents of medicinal plants represent new opportunities for the development and creation of new medicines. *Inulaviscosa* L belongs to the Asteraceae family and is commonly found in the Mediterranean basin. In traditional medicine, *Inula viscosa* L. (Asteraceae) leaves are frequently used to treat abscesses, infections, abdominal pain and headaches, hemorrhoids, diabetes, digestive disorders, as well as to heal open wounds, stop bleeding and promote skin healing. The aim of this research was to determine the polyphenol, flavonoid and tannin content of *Inulaviscosa* L. leaves, and to evaluate the antioxidant capacity of three different extracts: methanolic, ethanolic and hexanolic, from this plant grown at Sidi Ali in the wilaya of Mostaganem in western Algeria.

For each *Inulaviscosa* L. extract examined, antioxidant capacities were estimated by DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) trapping and the chemical composition of each extract was determined. The results obtained show that the extracts analyzed contain significant phenolic compounds, tannins and flavonoids, as well as a very high antioxidant potential. The results of the quantitative evaluation show the presence of polyphenols with a content varying between (28.766 and 63.103 mg/EAG), and hydrolysable tannins with a content varying between (19.943 and 35.137 mg/EAT), as well as flavonoids with a quantity varying between (17.337 and 22.176 mg/EQ). Evaluation of the antioxidant potential of these three extracts shows that the IC<sub>50</sub>s of the plant extracts evaluated were (179.043 21.395) for the methanolic extract, (162.367 3.460) for the ethanolic extract and (40.653 0.548) for the hexanolic extract, respectively, compared with those of ascorbic acid (IC<sub>50</sub> of (0.670 0.012)), thus minimizing its antioxidant activity.

**Key words:** *Inula viscosa* L., polyphenols, hydrolyzable tannins, flavonoids, and antioxidant activity.

## ملخص :

تمثل المكونات النشطة للنباتات الطبية فرصاً جديدة لتطوير وابتكار أدوية جديدة. تنتمي نبتة الإينولافيسكوزا ل إلى الفصيلة النجمية وتوجد عادةً في حوض البحر الأبيض المتوسط. في الطب التقليدي، كثيراً ما تُستخدم أوراق نبات الإينولافيسكوزا ل لعلاج الخراجات والالتهابات وآلام البطن والصداع والبواسير والسكري واضطرابات الجهاز الهضمي، وكذلك (Asteraceae) لشفاء الجروح المفتوحة ووقف النزيف وتعزيز التئام الجلد. الهدف من هذا البحث هو تحديد محتوى أوراق نبات الإينولافيسكوزا ل. من البوليفينول والفلافونويد والتانين وتقييم القدرة المضادة للأكسدة لهذه المستخلصات الثلاثة المختلفة - الميثانولي والإيثانولي والسداسي - من هذا النبات المزروع في سيدي علي بولاية مستغانم في غرب الجزائر

تم تقدير قدرات مضادات الأكسدة لكل مستخلص من مستخلص الإينولافيسكوزا الذي تم فحصه، وتم تقدير القدرات المضادة للأكسدة عن طريق محاصرة ثنائي فينيل بيكريل هيدرازيل (2،2) ثنائي الفينيل-1-بيكريل هيدرازيل) وتم تحديد التركيب الكيميائي لكل مستخلص، تم تقدير القدرات المضادة للأكسدة عن طريق محاصرة ثنائي فينيل بيكريل هيدرازيل (2،2) ثنائي الفينيل-1-بيكريل هيدرازيل) وتم تحديد التركيب الكيميائي لكل مستخلص. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن المستخلصات التي تم تحليلها تحتوي على كميات كبيرة من المركبات الفينولية والعفص والفلافونويد، بالإضافة إلى إمكانات عالية جداً لمضادات الأكسدة. أظهرت نتائج التقييم الكمي وجود مركبات البوليفينول بمحتوى يتراوح بين (63.103 ± 28.766 ملجم/م.أ.م.أ)، والعفص القابل للتحلل المائي بمحتوى يتراوح بين (35.137 ± 19.943 ملجم/م.أ.م.أ)، وكذلك مركبات الفلافونويد بكمية تتراوح بين (17.337 ± 22.176 ملجم/مكافئ). يُظهر تقييم القدرة المضادة للأكسدة لهذه المستخلصات الثلاثة أن المستخلصات لهذا النبات التي تم تقييمها كانت (21.395 ± 179.043) للمستخلص الميثانولي و(3.460 ± 162.367) للمستخلص الإيثانولي الذي بلغ (0.670 ± IC50) و(0.548 ± 40.653) للمستخلص السداسي على التوالي، مقارنةً بمستخلص حمض الأسكوربيك (0.012) مما يقلل من نشاطه المضاد للأكسدة

**الكلمات المفتاحية:** إينولا فيسكوزا، البوليفينول، العفص القابل للتحلل المائي، الفلافونويد، مضادات الأكسدة المحتملة

# Sommaire :

- Liste des figures
- Liste des tableaux
- Liste des abréviations
- Résumé
- Abstract
- ملخص
- Introduction générale

## Partie 01 : Partie bibliographique

### Chapitre 01 : Etude botanique

- I. Généralités sur la famille Astéracée.....5
- II. Présentation de la plante.....5
  - 1. Classification botanique.....5
  - 2. Description botanique.....6
  - 3. Répartition géographique de *Inulaviscosa* L.....7
  - 4. Propriétés thérapeutiques.....8

### Chapitre 02 : Les composés phénoliques

- I. Définition.....10

<b>II.</b>	<b>Classification des composés phénoliques.....</b>	<b>11</b>
1.	Les acides phénoliques.....	11
2.	Les phénols.....	12
3.	Les flavonoïdes.....	12
4.	Les tanins (polyphénols complexes).....	12
4.1.	Tanins hydrolysables.....	13
4.2.	Tanins condensés.....	13
5.	Les coumarines.....	13

### Chapitre 03 : les antioxydants

<b>I.</b>	<b>Les radicaux libres.....</b>	<b>16</b>
<b>II.</b>	<b>Les antioxydants.....</b>	<b>16</b>
1.	Définition.....	16
2.	Classification des antioxydants.....	17
2.1	Les antioxydants synthétisés.....	17
2.2	Les antioxydants naturels.....	17
3.	Mécanisme d'action d'un antioxydant.....	17
3.1	Les antioxydants primaires.....	18
3.2	Les antioxydants secondaires.....	19

## **Partie 02 : Partie expérimentale**

### **Chapitre 01 : Matériels et méthodes**

<b>I.</b>	<b>Préparation de matériel végétal.....</b>	<b>23</b>
1.	Matériel végétal.....	23
2.	Récolte de matériel végétal.....	23
3.	Nettoyage et séchage.....	23
4.	Broyage.....	24
<b>II.</b>	<b>Protocole expérimental.....</b>	<b>25</b>
1.	Extraction.....	25
2.	Appareillage.....	26
3.	Distillation sous vide.....	27
<b>III.</b>	<b>Quantification et analyse à l'aide de spectroscopie UV-visible.....</b>	<b>28</b>
1.	Dosage des polyphénols.....	28
1.1.	Principe.....	28
1.2.	Mode opératoire.....	28
2.	Dosage des flavonoïdes.....	29
2.1.	Principe.....	29
2.2.	Mode opératoire.....	30

<b>3. Dosage des tanins hydrolysables.....</b>	<b>30</b>
<b>3.1.Principe.....</b>	<b>30</b>
<b>3.2. Mode opératoire.....</b>	<b>30</b>
<b>4. L'évaluation de l'activité antioxydante.....</b>	<b>31</b>
<b>4.1.Principe.....</b>	<b>31</b>
<b>4.2. Mode opératoire.....</b>	<b>31</b>

## **Chapitre 02 : Résultats et discussion**

<b>I. Analyses quantitatives.....</b>	<b>33</b>
<b>1. Détermination de la teneur en poly phénols totaux (TPT).....</b>	<b>33</b>
<b>2. Détermination de la teneur en Flavonoïdes totaux (TFT).....</b>	<b>34</b>
<b>3. Détermination de la teneur en Tanins hydrolysables totaux (TTH).....</b>	<b>36</b>
<b>4. Comparaison des teneurs de polyphénols, flavonoïdes et les tanins hydrolysables.....</b>	<b>37</b>
<b>5. Résultats de test du pouvoir antioxydant.....</b>	<b>38</b>
➤ <b>Discussion.....</b>	<b>42</b>
➤ <b>Conclusion générale et perspectives.....</b>	<b>45</b>
➤ <b>Références.....</b>	<b>48</b>
➤ <b>Annexe .....</b>	<b>52</b>

# ***Introduction***

Depuis des siècles, l'homme a toujours employé les plantes pour satisfaire ses besoins fondamentaux (alimentation, soins de santé, etc.). L'utilisation des plantes à des fins médicinales est l'une des plus dans les traitements curatifs et préventifs de différentes affections.

L'Algérie est le plus grand pays d'Afrique. Elle se caractérise par une grande diversité de reliefs, avec une côte méditerranéenne séparée du désert du Sahara par un plateau montagneux.

Cette position géographique unique et cette diversité climatique ont favorisé le développement d'une flore remarquablement diversifiée comprenant une grande variété d'arbres, d'arbustes et d'herbes. Tout au long de l'histoire, cette flore riche et variée a toujours constitué une source principale de matières premières pour les pratiques médicinales traditionnelles. **(F.Larit et F.León, 2023)**

La médecine populaire comprend un réservoir de connaissances et de pratiques utilisées pour préservation de la santé et la prévention, le diagnostic, l'amélioration ou le traitement des affections physiques et mentales. Ce patrimoine ethnopharmacologique commun a été transmis de génération en génération pendant des millénaires par le biais de traditions orales et de documents écrits. **(F. Larit et F. León, 2023)**

Dans l'immense éventail de la flore algérienne, on a choisis *Inulaviscosa* L. est un membre de la famille des Astéracées et distribuée en Algérie, est une plante qui a longtemps été utilisée dans la médecine traditionnelle. Bien qu'elle possède de nombreuses propriétés thérapeutiques et antiseptiques, son utilisation reste particulièrement artisanale. Confrontée à d'autres végétaux, cette plante a éveillé peu d'intérêt dans les recherches et études scientifiques.

L'objectif de ce mémoire est de connaître la composition chimique et d'évaluer le potentiel antioxydant d'*Inulaviscosa* L.

L'extraction est réalisée au moyen d'un Soxhlet et en employant divers solvants. En outre une combinaison de deux techniques différentes distinctes sera employée ; l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau qui sera suivie par l'extraction à l'aide d'un solvant.

Notre travail est structuré par deux parties principales :

-La première partie est consacrée à une revue bibliographique comprenant trois chapitres :

- Chapitre 01 : renferme l'étude botanique d'*Inula viscosa*L.
- Chapitre 02 : les composés phénoliques
- Chapitre 03 : l'activité antioxydante

-La deuxième partie est la partie expérimentale où sont détaillés le différent matériel employé, les diverses méthodes et discussion des résultats.

- Enfin, une conclusion qui clôt ce travail de fin d'étude.

***Partie 01 :***

***Rappel***

***bibliographique***

***Chapitre 01 :***  
***Etude***  
***botanique***

## **I. Généralité sur la famille Astéracée:**

Les Astéracée constituent la famille la plus étendue parmi les plantes à fleurs, réputées traditionnellement pour leurs vertus thérapeutiques. Elle est également la famille la plus représentée en Algérie, classée première avec 648 espèces représentant un taux de 15,72% du total des espèces de la flore Algérienne et 111 genres.

Avec plus de cent espèces. Ce genre est retrouvé en Asie (20 espèces sont distribuées en Chine), Afrique et en Europe, particulièrement dans la région méditerranéenne.

*L'inule visqueuse* L. où le nom scientifique *Inulaviscosa* L., connue localement sous le nom de "Amagramane" est l'une des espèces les plus actives appartenant à ce genre, elle fut utilisée depuis longtemps en médecine traditionnelle pour traiter de nombreuses maladies et maux.

## **II. Présentation de la plante :**

La flore Algérienne se distingue par sa richesse en espèces végétales, comprenant plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques (Gaussen et al, 1982 ; Anonyme, 2014 in Chaou, 2017).

*L'Inulaviscosa*, plante originaire des régions méditerranéennes, est bien connue et largement employée en phytothérapie traditionnelle. Cette plante fait partie de la famille des Astéracées. Cette famille figure parmi les plus répandues dans le règne végétal. Elle regroupe plus de 13 tribus, 1000 genres et 23000 espèces (Guignard, 1994).

On recense environ 109 genres et 408 espèces en Algérie, contre 111 genres et 638 espèces en France (Quezel et Santa, 1963 in Chaou, 2017).

➤ **Inula** : dérivé du grec « Inéo » signifie « je purge » en référence à l'une de propriétés médicinales de la plante (Fauron et al, 1983 in Chaou, 2017).

➤ **Viscosa** : terme signifiant « visqueuse » (Fournier, 1947 in Chaou, 2017).

### **1. Classification botanique :**

Selon (Judd et al. 2002) :

<b>Règne :</b> végétal
<b>Embranchement :</b> Spermaphytes
<b>Sous-embranchement :</b> Angiospermes
<b>Classe :</b> Eudicots
<b>Sous Classe :</b> Astéridées
<b>Ordre :</b> Astérales
<b>Famille :</b> Astéracées
<b>Genre :</b> <i>Inula</i>
<b>Espèce :</b> <i>Inulaviscosa</i>

**Tableau01 :** les différents noms vernaculaires de *Dittrichia viscosa* L.

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

## 2. Description botanique :

*Inulaviscosa* (L.) est une plante de nature herbacée, avec une structure visqueuse et qui a des glandes (Bakkara et al, 2008). Sa base est ligneuse, riche en racine pivotante robuste et lignifiée qui peut mesurer jusqu'à 30 cm de long (Quezel et Santa, 1963 in Chaou, 2017). Elle peut grandir entre 50 cm et 1m de hauteur et se différencie par ses très nombreux capitules aux fleurs jaunes qui se situent au sommet de la tige (Benhammou et AtikBekkara, 2005)

Les feuilles sessiles sont ondulées, dentées, et pointues (Benseguenitounsi, 2001). Elles sont crénelées et embrassantes, composant deux petites oreillettes à leur fondement (Bssaibis et al, 2009). Ces feuilles, rugueuses, ont des glandes visqueuses sur les deux faces (Benseguenitounsi, 2001) et sont glanduleuses (Bssaibis et al, 2009). Durant la période de croissance, elles exhalent une forte odeur piquante, qui est perçue comme plaisant par certains et désagréable par d'autres (Bssaibis et al, 2009 ; Benseguenitounsi, 2001 ; Bakkara et al, 2008; Haoui et al, 2015).

La durée de floraison débute en septembre. Les inflorescences se montrent sous forme de longues grappes (**Bensegueni tounsi, 2001 ; Rameau et al, 2008**) et possèdent une forme pyramidale (**Bssaibis et al, 2009**). Les fleurs localisées autour sont de type liguliforme, alors que celles au centre sont tubulaires. Elles apparaissent en jaune vif et répandent une forte odeur. Les fruits se distinguent par des akènes velus avec des aigrettes grisâtres (**Bensegueni tounsi, 2001**).



**A** : la plante.

**B** : les fruits.

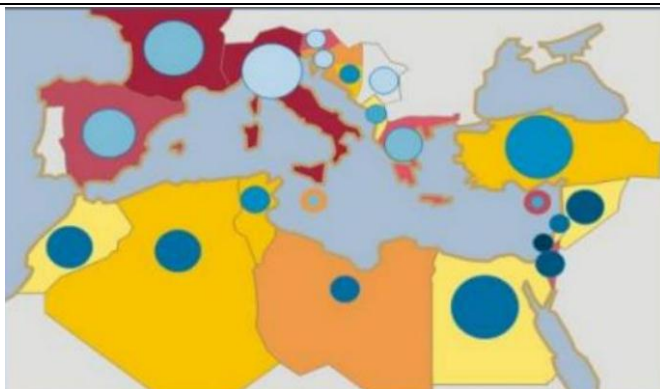
**C** : les fleurs.

**Figure 01** : les parties aériennes d'*Inula viscosa* L. (**Boumaza, 2011**).

### 3. Répartition géographique d'*Inula viscosa* L :

Cette plante se trouve dans la zone méditerranéenne, en Afrique du Nord et aux îles Canaries (**Bartels, 1997**). En Algérie, elle existe dans toute la zone tellienne, notamment dans des endroits non cultivés et rocheux (**Baba Aissa, 1991**), dans les cultures, les zones abandonnés, près des rivières et le long des routes (**Djerroumi et Nacef, 2004**).

Son habitat naturel s'étant sur le littoral du sud de l'Europe (Grèce, Espagne, Italie, Bulgarie), au Moyen-Orient (Jordanie, Turquie, Syrie) (**Ulubelen et al, 1987 dans Boukemaya et Messaoudi, 2016 ; Paroli et al. , 2014**) Et en Asie, notamment en Corée, au Japon et en Chine.



● : représentent la présence de *D.viscosa* dans la région méditerranéenne.

**Figure 02** : Répartition géographique d'*Inula viscosa* L. (**Benyahia ,2014**).

#### **4. Propriétés thérapeutiques :**

L'inule est très estimée en Algérie, où elle est souvent utilisée sous forme de jus de feuilles fraîches. Ce liquide aide à stopper les hémorragies, à réduire les inflammations et à favoriser la cicatrisation.

Dans les zones méditerranéennes, elle est éprouvée pour ses propriétés anti-inflammatoires, comme indiqué par **(Al-Dissi et ses collègues en 2001)**. Des recherches supplémentaires, comme celles de **(Haoui et al, en 2015)**, prouvent également qu'elle a des effets antidiabétiques, antipyrétiques et antiseptiques. De plus, son aptitude à soigner les inflammations de la peau a été certifiée par **(Khalil et al, en 2007 et Bakkara et al, en 2008)**. Elle possède aussi des propriétés antioxydantes impressionnantes, selon les travaux de **(Celik et Aslanturk en 2010)**.

*Inulaviscosa* L. est utilisée pour traiter les problèmes liés à l'estomac et au duodénum, comme le rapportent **(Al-Dissi et al, En 2001 et Chahmi et al, En 2015)**. Elle est tout aussi efficace pour soigner les maux intestinaux, comme l'indiquent **(Parolin et al, en 2014)**, et sert à traiter les blessures chez les animaux, selon **(Chahmi et al, En 2015)**.

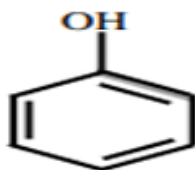
***Chapitre 02 :***  
***Les composés***  
***phénoliques***

## I. Définition:

Les composés phénoliques constituent l'essentiel groupe de composés phytochimiques présent dans les plantes. On en dispose presque 8000, divisés en une dizaine de classes chimiques (Stalikas, 2007). Chaque classe se caractérise par un noyau benzoïque lié immédiatement à un ou plusieurs groupes hydroxyles (Macheix et al, 2005).

La synthèse de ces composés dans les plantes se crée en partie comme réaction aux pressions écologiques et physiologiques, tel que les attaques de pathogènes et d'insectes, les rayons UV et les blessures. La structure fondamentale des composés phénoliques contient d'un anneau aromatique avec un ou plusieurs groupes hydroxyles. Les composés phénoliques des plantes se divisent en phénols simples ou polyphénols d'après le nombre d'unités phénoliques contenues dans la molécule.

Alors, les composés phénoliques des végétaux incluent les phénols simples, les tanins, les lignanes, les coumarines, qu'ils soient hydrolysables ou condensés et aussi les acides phénoliques et les flavonoïdes.



**Figure 03** : Structure du noyau phénol(Frederic L 2022)

## II. Classement des composés phénoliques :

Tableau02.Principales classes des composés phénoliques :(Macheix et al, 2005)

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
$C_6$	Phénols simples	Catéchol	
$C_6-C_1$	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -hydroxybenzoïque	Epices, fraise
$C_6-C_3$	Acides hydroxycinnamiques	Acide caféique, férulique	Pomme de terre, pomme
	Coumarines	Scopolétine	<i>Citrus</i>
$C_6-C_4$	Naphtoquinones	Juglone	Noix
$C_6-C_1-C_6$	Xanthones	Mangiférine	
$C_6-C_2-C_6$	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
$C_6-C_3-C_6$	Flavonoïdes * Flavonols * Anthocyanes * Flavanols * Flavanones	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine	Fruit, légumes, fleurs Fleurs, fruits rouges Pomme, raisin <i>Citrus</i>
	Isoflavonoïdes	Daidzéine	Soja, pois
$(C_6-C_3)_2$	Lignanes	Pinorésinol	Pin
$(C_6-C_3-C_6)_2$	Biflavonoïdes	Amentoflavone	
$(C_6-C_3)_n$	Lignines		Bois, noyaux des fruits
$(C_6-C_3-C_6)_n$	Tanins condensés		Raisin rouge, kaki

### 1. Les acides phénoliques :

Les acides phénoliques forment l'une des catégories importantes de composés phénoliques présents dans le monde des plantes. Ils apparaissent souvent sous des formes telles que des esters, des glycosides ou des amides, cependant il est rare de les apercevoir à l'état pur. La variation des acides phénoliques est influencée par le nombre et la place des groupes hydroxyles sur l'anneau aromatique.

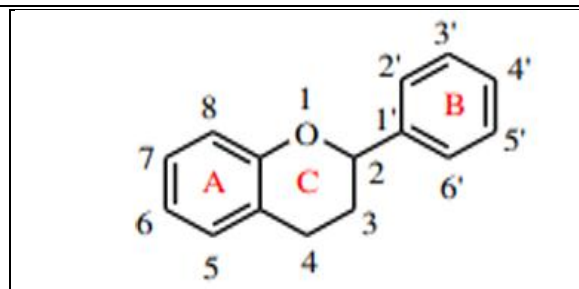
Il y a deux structures de base pour les acides phénoliques : l'acide hydroxycinnamique et l'acide hydroxybenzoïque. Selon les dérivés de l'acide hydroxycinnamique, on découvre les acides férulique, caféique, *p*-coumarique et sinapique. Concernant les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque, ils existent les acides gallique, vanillique, syringique et protocatéchuïque.

## 2. Les phénols :

Les phénols simples (C6) par exemple le catéchol, phloroglucinol...), sont peu fréquents dans l'état naturel.

## 3. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont parmi les composés phénoliques les plus courants, abondamment présents dans les tissus des plantes et souvent à l'origine de leurs couleurs jaune, violet, bleu, orange et rouge, avec les caroténoïdes et les chlorophylles. La classe des flavonoïdes contient les flavones, les flavonols, les iso-flavonols, les anthocyanines, les anthocyanidines, les proanthocyanidines et les catéchines. Tous ces flavonoïdes dérivent des acides aminés aromatiques, la phénylanine et la tyrosine, et possèdent une structure en trois anneaux.



**Figure 04 :** Le 2-phénylchromane, squelette de base des flavonoïdes  
Stricto sensu. (Crozier, 2003)

## 4. Les tanins (Polyphénols complexes) :

Les tanins constituent un groupe large et variés des substances polyphénoliques naturelles d'origine végétale, utilisées depuis toujours pour tanner les peaux animales (les transformant ainsi en cuir imperméable et imputrescible). Cette conversion résulte de la formation de liaisons entre le collagène (principal composant protéique des peaux animales) et les tanins présents dans les plantes.

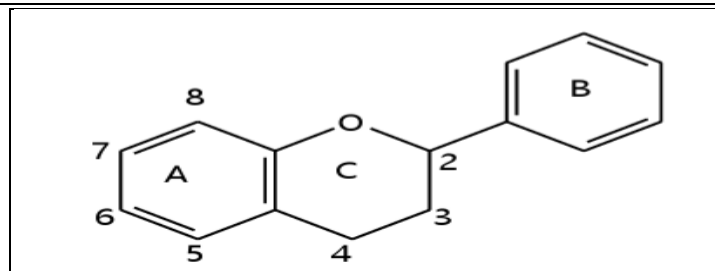
Les tanins sont des substances astringentes dont le poids moléculaire change de 500 à 3 000 daltons (gallates) et jusqu'à 20 000 daltons (proanthocyanidines). Ils sont solubles dans l'eau et peuvent classer des complexes stables avec des protéines et d'autres polymères organiques tels que les glucides, les acides nucléiques, la gélatine, les polysaccharides et les alcaloïdes.

#### **4.1. Tanins hydrolysables :**

Les tanins hydrolysables sont des oligosaccharides ou des polysaccharides et de quantités variables d'acides phénoliques. Le plus continuellement est le sucre du D-glucose et l'acide phénolique est soit de l'acide hexahydroxybiphénylique (par exemple, les ellagitanins, communément appelés ellagitanins), soit de l'acide gallique (par exemple, les gallotannins).

#### **4.2. Tanins condensés :**

Les tanins condensés, sont appelés proanthocyanidines ou tanins catécholiques, sont formés par la polymérisation d'unités flavanes correspondant à un squelette de 15 atomes de carbone organisé en C6-C3-C6. Ce sont des dimères, des oligomères ou bien des polymères d'unités flavonoïdes.

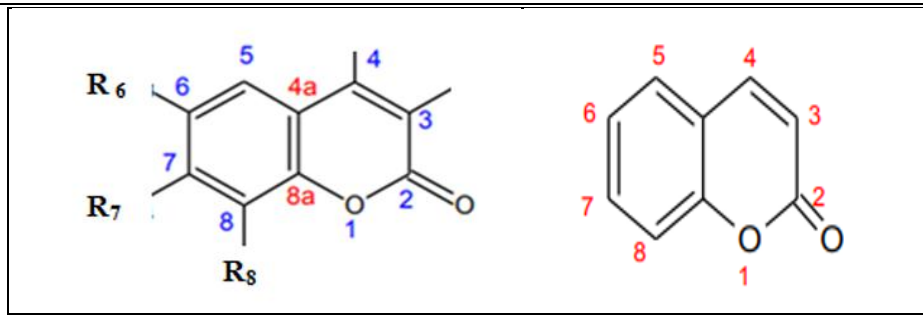


**Figure 05 : Structure chimique des tanins condensés (Severine, 2008)**

#### **5. Les coumarines :**

Les coumarines représentent un concept significatif de métabolites secondaires naturels. La structure de la coumarine est présente dans près de 150 espèces, distribuées sur 30 différentes familles de plantes. On les présente naturellement dans le trèfle, et elles sont généralement utilisées comme parfum et agent de saveur.

Les coumarines sont des molécules aromatiques naturelles, dont la formule chimique est (C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>), qui résultent de l'union d'un noyau benzénique avec un pyrane et disposent une fonction cétone en position  $\alpha$  par rapport à l'oxygène. La dénomination internationale est 2H-benzopyran-2-one ou 2H-1benzopyran-2-one, qui peut être approximativement considérée pareillement une lactone de l'acide 2-hydroxy-Z-cinnamique.



**Figure 06** : Structure générale des coumarines. **Figure 07** : Structure chimique du noyau Coumarine

*Chapitre 03 :*

*Les*

*antioxydants*

## **I. Radicaux libres :**

Les radicaux libres sont des atomes dotés d'un nombre impair d'électrons non appariés, très instables, qui peuvent se créer quand l'oxygène entre en interaction avec certaines molécules.

Les radicaux libres peuvent interagir avec d'autres molécules plus stables à la recherche de l'électron essentiel pour acquérir la stabilité.

Une réaction en chaîne est initiée lorsque le radical libre s'attaque à la molécule stable la plus proche, ce qui rend cette dernière instable. (**Kristina et Marika, 2003**).

Les radicaux libres sont générés au cours de nombreuses réactions impliquées dans les processus physiologiques, (respiration mitochondriale), dans les mécanismes pathologiques (tels que l'inflammation, l'infection, toute pathologie dégénérative et le vieillissement prématuré).

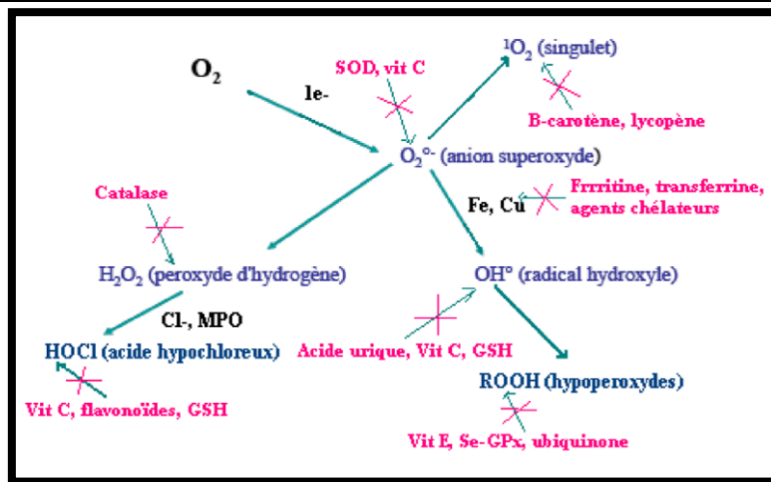
## **II. Les antioxydants :**

L'organisme produit une multitude d'espèces oxydantes qui, bien qu'indispensables, sont identiquement à l'origine de dommages considérables. Face à ces substances oxydantes nuisibles, l'organisme humain possède d'une composition des mécanismes de défense antioxydants.

Néanmoins, malgré l'usage courant du terme « antioxydant », son explication reste compliquée en raison de la dissemblance des molécules et des domaines associés, comme la nutrition, la chimie et la fabrication pharmaceutique.

### **1. Définition :**

On peut préciser un antioxydant comme toute substance qui, à une concentration plutôt faible, peut concurrencer avec d'autres substrats susceptibles d'être oxydés et donc retarder ou prévenir l'oxydation de ces substrats. Les cellules adoptent différentes stratégies antioxydantes et consomment une grande quantité d'énergie pour gérer leurs niveaux d'espèces réactives de l'oxygène.



**Figure08** : Régulation de la production d'espèces relatives de l'oxygène par le système de défense antioxydant (jean-Marc Dupuy, jean-Francois Dumas, et al.2011)

## 2. Classification des antioxydants :

### 2.1. Les antioxydants synthétisés :

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques sont utilisés pour empêcher les aliments gras de rancir et pour protéger les vitamines liposolubles (A, D, E et K) contre l'oxydation. Les esters d'acides galliques, le butylhydroxytoluène et le butylhydroxyanisole, appartiennent à cette catégorie. Les vitamines C et E ont également des propriétés antioxydantes et ont l'avantage d'augmenter la valeur nutritive des aliments.

### 2.2. Les antioxydants naturels :

Les antioxydants naturels sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures. Elles incluent le bêta carotène, l'albumine, les vitamines (E, C, P...), les composés phénoliques. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres.

## 3. Mécanisme d'action d'un antioxydant :

En règle générale, un antioxydant a la capacité de prévenir l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même à une vitesse supérieure. Un tel effet résulte d'une structure de donneur d'hydrogène ou d'électrons aromatiques, semblable à des dérivés du phénol.

Par ailleurs, leurs radicaux intermédiaires restent relativement stables grâce à la délocalisation par résonance et l'absence de sites adéquats pour être attaqués par l'oxygène moléculaire. La nécessité des antioxydants est due au caractère potentiellement toxique de l'oxygène, car il peut se transformer en formes plus réactives comme le superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulier et les radicaux hydroxyles, tous regroupés sous le terme d'oxygène réactif.

Les antioxydants sont, en réalité, des agents préventifs qui stoppent l'initiation en se liant aux catalyseurs, en interagissant avec l'oxygène ou en détournant et neutralisant les radicaux libres. Ils opèrent en créant des produits finaux non radicalaires.

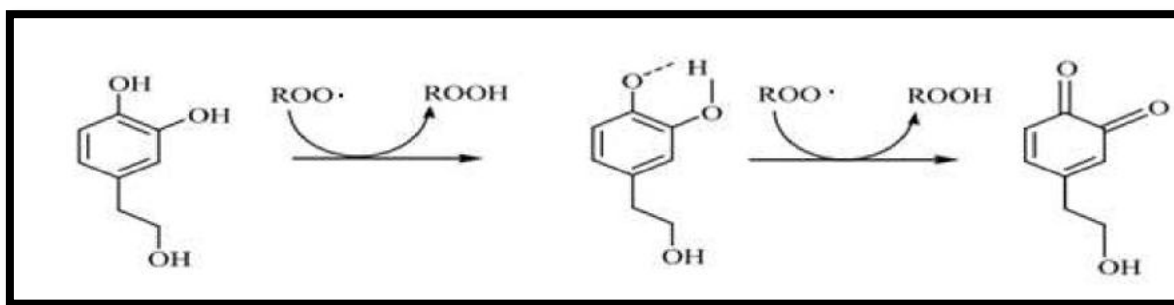
D'autres stoppent la chaîne de réaction de peroxydation en intervenant rapidement avec un radical d'acide gras avant qu'il ne soit en mesure de réagir avec un autre acide gras.

De différents antioxydants captent l'énergie supplémentaire de l'oxygène singulier pour la transformer en chaleur.

### **3.1. Les antioxydants primaires :**

Plusieurs noms ont été attribués à ce groupe, tels que antioxydants primaires, Chain breaking ou encore piègeur des radicaux libres. Ces antioxydants ont la capacité d'inhiber la réaction d'initiation et la propagation de l'oxydation en s'impliquant dans le processus d'oxydation et en changeant les radicaux libres en leurs états non actifs. Les antioxydants primaires sont généralement des composés phénoliques (AH) qui ont la capacité de céder un atome d'hydrogène au radical libre, le transformant ainsi en un composé stable non radicalaire.

Les antioxydants de ce groupe interagissent principalement avec les radicaux peroxydés pour deux motifs : la forte concentration de ces radicaux et l'énergie faible du groupement (ROO•), qui est inférieure à celle d'autres radicaux comme le (RO•) et la concentration limitée du capturant de radical libre dans l'alimentation. Un piègeur de radical libre, même à des concentrations minimales, se retrouve en concurrence avec les lipides pour neutraliser le radical libre par le biais d'une réaction de libération d'un électron, suivie d'une dispersion.



**Figure09** : stabilisation des radicaux par l'hydroxytyroso.

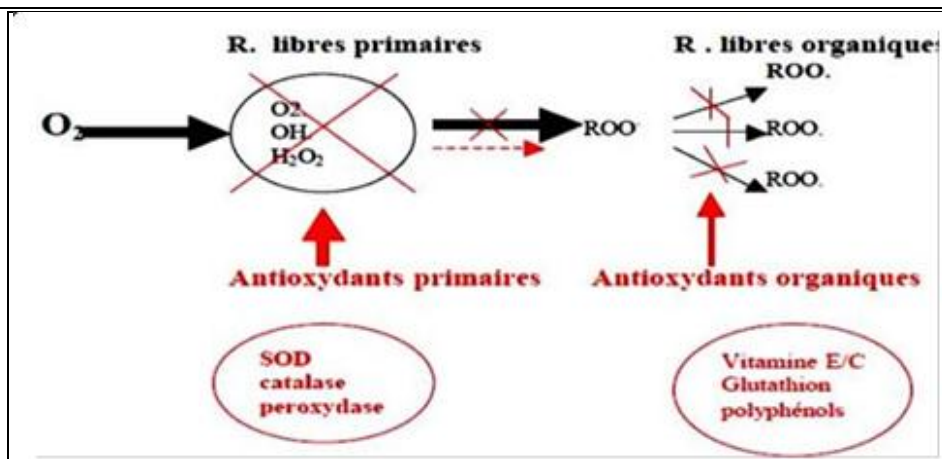
### **3.2. Les antioxydants secondaires :**

Les composés de cette catégorie sont classifiés comme préventifs ou antioxydants secondaires. Ils comprennent une vaste gamme de diverses substances chimiques qui freinent l'oxydation des lipides par différents procédés et ne transmettent pas le radical libre dans sa forme non-radicalaire.

À quelques rares exceptions près, les antioxydants secondaires sont habituellement associés à l'inhibition de facteurs déclencheurs de l'oxydation. Ce groupe comprend : des chélateurs de métaux pro-oxydants, des captureurs de la molécule d'oxygène, inhibiteurs des enzymes pro-oxydatives, enzymes antioxydants et destructeurs d'hydro peroxydes (Figure 7).

Il parvient que certains antioxydants exposent multitude de fonctions anti-oxydatives.

A titre d'illustration, l'acide ascorbique peut agir et piègeur à radicaux libres, désactiver les oxygènes singuliers dans une solution aqueuse et de manière effective, régénérer le tocophérol. Il a été démontré que plusieurs flavonoïdes possèdent des propriétés de piègeurs des radicaux libres et de chélateurs de métaux.



**Figure 10 :** les systèmes de défense contre les radicaux libres (Kohen et Nyska, 2002).

***PARTIE 02 :***

***Etude***

***Expérimentale***

# *Chapitre 01 :*

# *Matériels et*

# *méthodes*

Dans le cadre de cette étude, les données ont été obtenues, puis interprétées et discutées. La présente étude a été réalisée au sein de laboratoire de biochimie 1 (site ITA) et le laboratoire de recherche (site INES). L'étude a été effectuée sur une période de 2 mois, (d'Avril à Mai 2025).

## **I. Préparation du matériel végétal :**

### **1. Matériel végétal :**

Le matériel végétal est constitué de feuilles d'*Inula viscosa* L. Le choix de cette plante a été cueillir motivé par son utilisation traditionnelle dans le traitement des différentes maladies inflammatoires, hémorragies et cicatrisation des plaies et des brûlures.

### **2. Cueillette de matériel végétal :**

Les feuilles d'*Inula viscosa* L. ont été collectées en mois d'Avril 2025. La plante est récoltée dans la région de Sidi Ali de la wilaya de Mostaganem (Algérie).

### **3. Nettoyage et séchage :**

La réalisation du nettoyage de notre plante a été effectuée par le rinçage des feuilles avec l'eau du robinet puis l'égouttage. On les a étalé sur une surface propre et sèche (papier cuisson et papier essuie-tout), On a séché à l'étuve pendant 24 heures sous une température de 45°.



**Figure 11 : Séchage de la plante à l'étuve**

#### 4. Broyage :

Après le séchage, les échantillons secs obtenus ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine.

#### II. Protocole expérimental:

- ❖ Il est nécessaire d'apprêter une cartouche en papier filtre dont la hauteur équivaut à celle du siphon.
- ❖ Il est impératif de procéder au pesage de 5 g de matière végétale, puis de la placer dans la cartouche.
- ❖ L'insertion de la cartouche dans l'extracteur Soxhlet.
- ❖ Verser un volume de 250 ml de solvant dans un flacon de 500 ml.
- ❖ Le montage doit être assemblé comme recommandé dans la figure.
- ❖ Permettre à l'extraction de se réaliser pendant une durée de 4 heures.

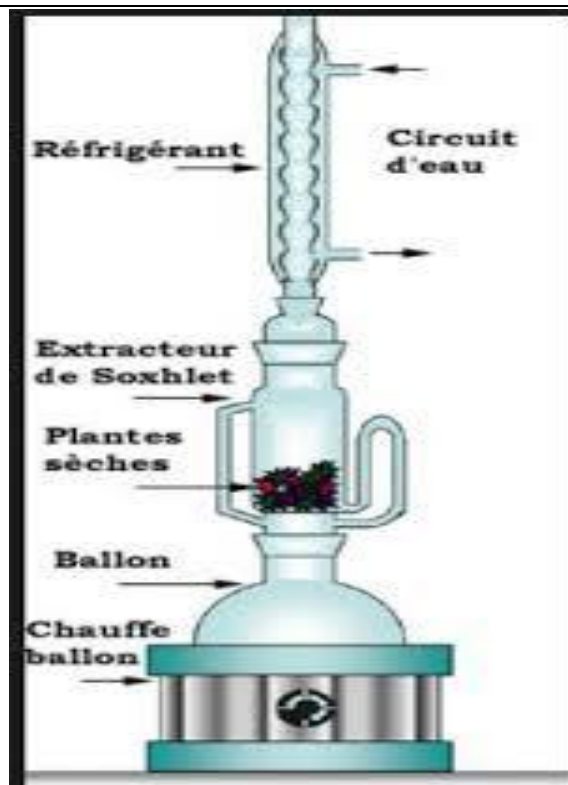


Figure 12 : Schéma de l'extracteur Soxhlet

#### 1. Extraction :

Le ballon contenant le solvant d'extraction est discipliné à une chaleur, ce qui entraîne la vaporisation du solvant tout en restant le contact avec la matière végétale.

Au cours de chaque cycle d'extraction, le solvant contenu dans le récipient se charge progressivement en soluté. Parallèlement, la matière végétale est extraite du ballon et s'effectue tout en restant en contact avec du solvant fraîchement distillé.

L'extraction est un processus qui se poursuit jusqu'à l'épuisement complet de la matière solide contenue dans la cartouche.

L'extraction est examinée comme achevée lorsque le solvant d'extraction qui coule, présente une clarté croissante, signifiant une concentration réduite.

Le solvant d'extraction qui s'écoule devient doucement plus limpide, c'est-à-dire lorsque sa concentration en soluté est faible.

## **2. Appareillage :**

Le dispositif de Soxhlet est un appareil de laboratoire comprenant un récipient récepteur à col rodé et un refroidisseur à reflux. Ce dernier est conçu pour condenser le solvant vaporisé avant de l'acheminer vers un extracteur muni d'un mécanisme de siphon pour transférer l'éther dans le récipient. Il est impératif que cet appareil d'extraction doive contenir une cartouche en carton perméable où est placée la substance à extraire.



### 3. Distillation sous vide (à basse pression) :

C'est un procédé de transformation des substances chimiques qui implique la réduction de la pression et de la température, menant à la volatilisation et à la concentration du produit.

Pour l'évaporation du solvant, nous avons utilisé la technique de distillation à basse pression. Cet appareil réalise une évaporation sous vide par le biais d'un évaporateur rotatif.

Cet équipement permet d'effectuer une évaporation sous vide en faisant tourner le ballon et en l'immergeant dans un liquide via une pompe à vide. Au cours de la procédure, le ballon est mis en rotation et immergé dans un bain liquide chauffé.

Le bain liquide chauffé est équipé d'un système de réfrigération et d'un réservoir de collecte de condensat. Le dispositif est équipé d'un réfrigérant comportant un réservoir de condensat.

La mobilité du ballon génère une surface d'interaction plus étendue et rafraîchie, facilitant une évaporation accélérée.



Figure 14 : Photo d'un évaporateur rotatif

Il a été démontré que l'abaissement de la pression permet l'évaporation du solvant à température réduite, ce qui permet ainsi d'éviter l'accumulation de celui-ci.

Ainsi, il convient de prendre en considération la possible altération thermique des composés. Cette méthode d'évaporation se distingue par sa simplicité.

L'objet de cette analyse est un dispositif qui se caractérise par sa capacité à allier trois qualités : l'utilité, la douceur et la rapidité.

### **III. Analyse et quantification via la spectroscopie UV-visible:**

Un spectrophotomètre UV a été employé pour déterminer les concentrations de Polyphénols, Flavonoïdes et Tanins. Cette méthode a facilité la soustraction de l'absorbance du blanc, permettant ainsi d'obtenir directement la densité optique des matières analysées dans l'échantillon. Pour garantir la fiabilité des résultats, trois tests de dosage de chaque composé ont été réalisés, suivi du calcul des moyennes pour chacun des échantillons.

#### **1. Dosage des Polyphénols :**

##### **1.1.Principe :**

Le procédé du réactif Folin-Ciocalteu (FCR), célèbre pour son utilisation dans l'analyse des extraits de plantes d'origines diverses, a été employée pour mesurer les polyphénols totaux. Ce produit chimique est constitué d'un amalgame d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMO<sub>12</sub>O<sub>40</sub>), dans lequel le tungstène et le molybdène sont présents sous forme oxydée.

Pourtant, lorsqu'un agent réducteur est présent (comme dans le cycle du phénol), le bleu de tungstène se convertit en bleu de molybdène. Ces complexes montrent une forte absorption à 765 nm, dont l'intensité est directement liée à la quantité de polyphénols dans l'échantillon. (Agbor et al., 2014)

##### **1.2. Mode opératoire :**

###### **Préparation des 3 solutions distinctes suivantes :**

- Elaborer une solution mère d'acide gallique à une concentration de 0,1mg/ml : Dissoudre une quantité de 20 mg d'AG dans 20 ml d'eau distillée.
- Solution de Folin-ciocalteu à une concentration de 10% : Pour acquérir cette solution, diluez 10 ml de Folin-ciocalteu dans 90 ml d'eau distillée.

- Préparer une solution de carbonate de sodium à 10% : Dissoudre une quantité de 7,5 g de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dans 100 ml d'eau distillée.

On mélange 100µl d'extrait végétal hexanique, méthanoïque ou éthanoïque avec 500 µl de réactif Folin-Ciocalteu qui aura été préalablement dilué à 10 fois son volume dans de l'eau distillée. Par la suite, on incorpore 400µl de carbonate de sodium (10% ; m /v) dans le milieu réactionnel.

Après une incubation de 2heures à température ambiante et dans l'obscurité, on détermine l'absorbance à 760 nm en utilisant un spectrophotomètre UV.

Aussi, le calcul de la concentration globale des polyphénols se fait sur la base de l'équation de régression dérivée de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique, et elle est exprimée en microgrammes d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait).

## 2. Dosage des Flavonoïdes :

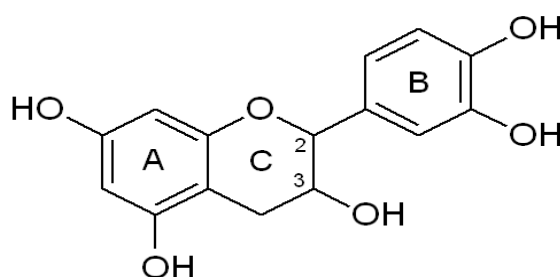
Courbe d'étalonnage conçue avec la Quercétine comme standard a aidé à quantifier les concentrations de flavonoïdes totaux, elle est exprimée en mg d'équivalent de Quercétine par gramme de matière végétale.

### 2.1. Principe :

La technique qui fait appel au trichlorure d'aluminium a été mise en œuvre pour doser les flavonoïdes contenus dans les trois extraits.

Les flavonoïdes contiennent un groupe hydroxyle libre (OH) positionné en 5, qui a la capacité de créer des complexes colorés avec les groupes CO lorsqu'ils sont en présence de chlorure d'aluminium.

Lorsqu'un métal (fer ou aluminium) se lie aux flavonoïdes par chélatage se produit un complexe jaunâtre. Cela démontre que l'aluminium (Al) cède deux électrons pour former des liaisons avec les deux atomes d'oxygène de la molécule de phénol, actif ainsi comme un donneur d'électrons. (Mbaebie, 2012)



**Figure 15 : Structure de Flavonoïde**

## **2.2.Mode opératoire :**

### **La préparation de deux solutions distinctes comme suit :**

- Peser une quantité de 2g d'AlCl<sub>3</sub> dans 100 ml ED, et 20mg de Quercétine dans 20 ml de MeOH.
- On débute par diluer 750µl d'extrait végétal hexanique/méthanolique/éthanolique, puis on insère 750µl d'AlCl.
- Après une incubation de 30 minutes, on mesure l'absorbance à 430 nm avec un spectrophotomètre ultraviolet. La détermination de la concentration en flavonoïdes se réalise sur la base d'une courbe d'étalonnage élaborée avec de la quercétine, et elle est exprimée en microgrammes équivalents de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait).

## **3. Dosage des Tanins hydrolysables :**

On utilise l'acide tannique comme référence dans la courbe d'étalonnage a autorisé de quantifier les concentrations en tanins, exprimées en milligrammes d'équivalent d'acide tannique par gramme de substance.

### **3.1.Principe :**

La mesure des tanins hydrolysables s'est précédée en utilisant une 2,5 % de la solution aqueuse d'iodate de potassium (KIO<sub>3</sub>), selon la méthode préconisée par Willis et Allen.

### **3.2.Mode opératoire :**

Préparation de deux solutions distinctes comme suit :

- Peser 5g de KIO<sub>3</sub> dans 200ml d'acide tannique, et 2 mg dans 20 ml de MeOH
- On ajoute 2500 µl de KIO<sub>3</sub> à 500µl d'extrait végétal, qu'il soit hexanique, méthanolique ou éthanolique (à une concentration de 2g/ml) après l'avoir dilué 100 fois.
- ensuite on met à une incubation de 4 minutes, l'absorbance est déterminée à 430nm en utilisant un spectrophotomètre.

- La quantification des tanins est réalisée grâce à une courbe d'étalonnage élaborée à partir de l'acide tannique, et elle est exprimée en microgrammes d'équivalent en acide tannique par milligramme d'extrait ( $\mu\text{l}$  EAT/mg d'extrait).

#### **4. L'évaluation de l'activité antioxydante :**

##### **4.1.Principe :**

Pour estimer l'activité antiradicalaire des extraits, nous avons choisi d'utiliser la méthode du DPPH ( $\alpha$ ,  $\alpha$ -diphényl- $\beta$ -trinitrophénylhydrazine,  $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$ ). Ce test évalue l'habileté des antioxydants à piéger. Les électrons non appariés de l'atome d'azote du DPPH sont réduits en recevant l'atome d'hydrogène de l'antioxydant, ce qui facilite la formation de l'hydrazine correspondante. (Kedare et Singh, 2011)

Le DPPH est reconnu pour sa capacité à générer des radicaux libres stables. Cette stabilité résulte du déplacement des électrons libres à l'intérieur de la molécule. Ces radicaux DPPH provoquent une teinte violet sombre dans la solution. L'agent antioxydant limite les radicaux DPPH, provoquant ainsi une décoloration de la solution (Molyneux, 2004).

##### **4.2.Mode opératoire :**

##### **La préparation de deux solutions différentes est la suivante :**

Peser 4 mg de DPPH, mélangez-le dans 100 ml de MeOH, et 20mg d'Acide ascorbique associez-le dans un 20 ml de MeOH ; 50  $\mu\text{l}$  d'extrait ou de solution standard (acide ascorbique) sont ajoutés à 1975  $\mu\text{l}$  de DPPH.

La mixtion est gardée dans l'obscurité pendant 30 minutes, et la décoloration est mesurée par rapport au contrôle négatif, qui contient la solution de DPPH et du méthanol, à une longueur d'onde de 515 nm.

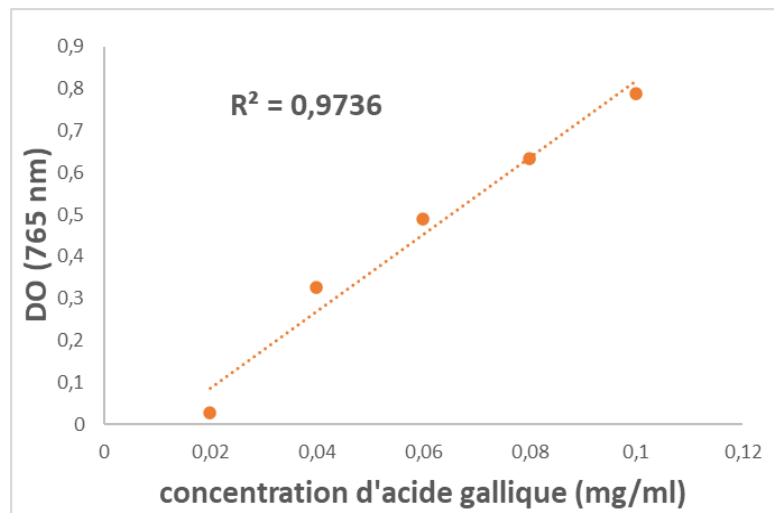
Le mélange est maintenu dans un endroit sombre pendant 30 minutes, et la dégradation de couleur est évaluée en comparaison avec le contrôle négatif, qui agrégé la solution de DPPH et du méthanol, à une longueur d'onde de 515 nm.

***Chapitre 02 :***  
***Résultats et***  
***Discussions***

## I. Analyses quantitatives :

### 1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux (TPT) des différents extraits :

L'examen quantitatif des extraits bruts par le biais des analyses spectrophotométriques visait à établir la quantité totale de polyphénols. Pour arriver à cette intention, une courbe d'étalonnage (Fig16) a été dessinée, basée sur l'acide gallique à des concentrations variées. Des mesures de densité optique ont été menées pour chaque extrait à une longueur d'onde de 760nm.



**Figure 16 :** Courbe d'étalonnage des polyphénols.

Les quantités des polyphénols déterminées sont exprimées en mg d'acide gallique à chaque gramme de matière sèche, selon une équation du type :  $(y = ax+b)$ .

Les teneurs en polyphénols Totaux pour les différents extraits sont affichés dans le tableau ci-dessous :

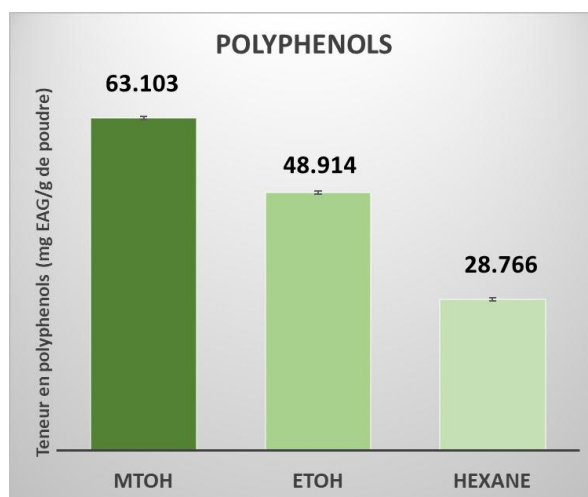
**Tableau 03 :** Teneur en polyphénols totaux (mg/g de poids sec de la plante).

Extrait	Teneur en polyphénols (Mg EAG/g de poudre <i>Inulaviscosa</i> )
Méthanol	63,103 ± 0,788
Ethanol	48,914 ± 0,737
Hexane	28,766 ± 0,609

Le tableau révèle une variation dans la quantité de composés phénoliques dans les différents extraits analysés, avec des quantités qui varient de (28,766 à 63,103 mg/g).

Les quantités mesurées en équivalent d'acide gallique (AG) sont de (28,766±0,609, 48,914±0,737 et 63,103±0,788 mg/g) dans l'ordre correspondant pour les extraits hexanique, éthanolique et méthanolique, en utilisant du matériel végétal sec.

- On peut déduire que l'extrait méthanolique inclut la plus grande quantité de polyphénols.



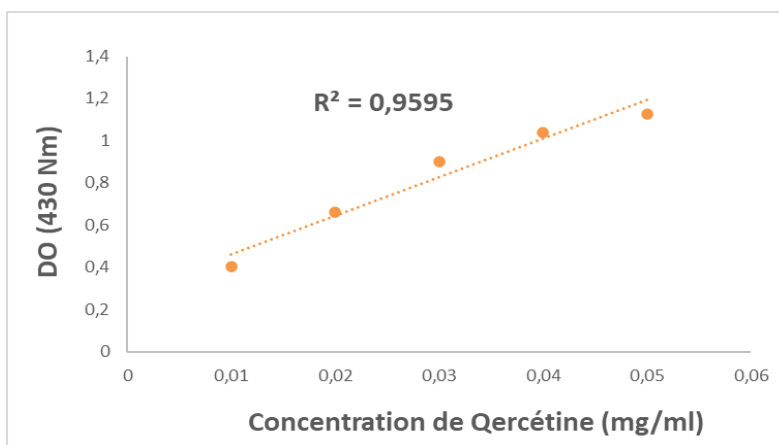
**Figure17** : Teneur en Poly phénolsde *l'InulaviscosaL.* en fonction du solvant.

## **2. Détermination de la teneur en Flavonoïdes totaux (TFT) des différents extraits :**

L'absorbance du mélange standard a été estimée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 430 nm, en employant un blanc comme référence. Avec les valeurs d'absorbance obtenues pour la solution de Quercétine préparée, nous avons tracés la courbe d'étalonnage.

Les divers extraits ont été traités de la même façon que la solution standard de la Quercétine. La quantité de flavonoïdes présente dans chaque extrait est présentée en milligrammes par gramme équivalent à la Quercétine.

La courbe ci-dessous montre les valeurs d'absorbance des standards de la Quercétine à 430 nm.



**Figure18** : Courbe d'étalonnage des Flavonoïdes.

**Tableau04** : La quantité des Flavonoïdes dans les extraits.

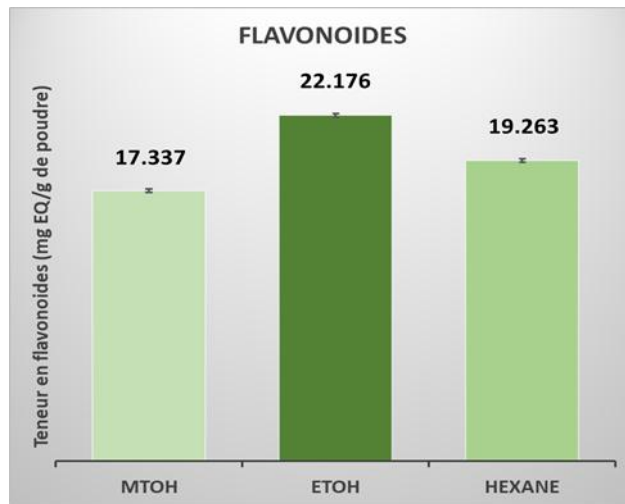
Extraits	Teneur en Flavonoïdes (Mg EQ/g de poudre d' <i>Inula viscosa</i> L.)
Méthanol	17,337 ± 0,557
Ethanol	22,176 ± 0,624
Hexane	19,263 ± 0,785

D'après les résultats du tableau, il est clair que le teneur des flavonoïdes en équivalent de Quercétine évolue entre les différents extraits.

➤ **En équivalent de Quercétine :**

Suivant le tableau, les mesures présentent en équivalent de Quercétine : (17,337±0,557 ; 19,263±0,785 et 22,176±0,624 mg/g) de matière végétale sèche, respectivement pour les extraits méthanolique, hexanique et éthanologique.

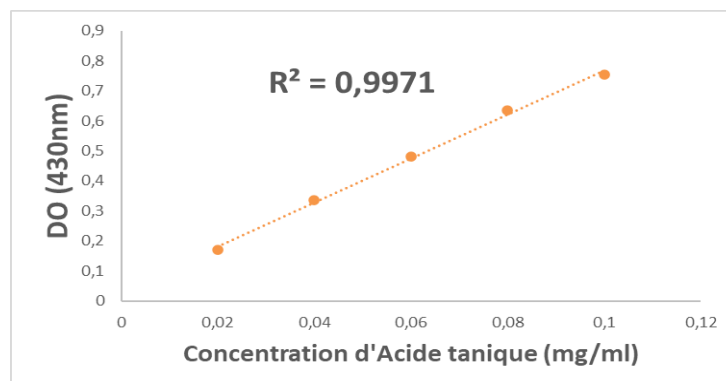
- Nous pouvons conclure que l'extrait éthanologique a la plus grande teneur en flavonoïdes.



**Figure 19 :** Teneur en Flavonoïdes d'*Inula viscosa* L. en fonction du solvant.

### **3. Détermination de la teneur en Tanins hydrolysables totaux (TTH) des différents extraits :**

Les quantités de tanins hydrolysables qui ont été analysées sont présentées en milligrammes équivalents d'acide tannique, et elles ont été établies à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide tannique. Des lectures de la densité optique ont été réalisées pour chaque extrait à une longueur d'onde de 430 nm.



**Figure20 :** Courbe d'étalonnage des Tanins hydrolysables.

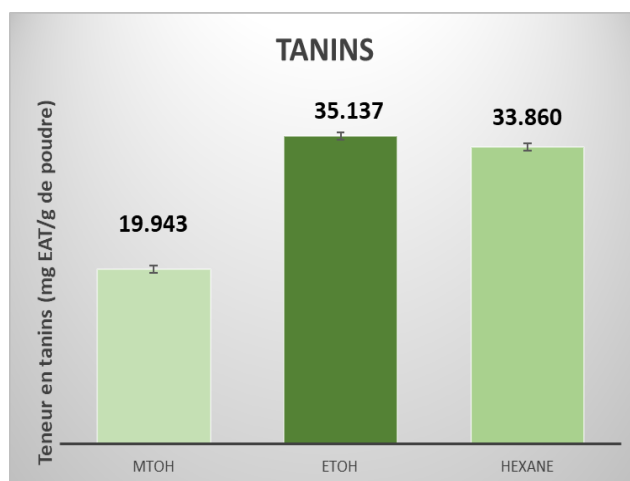
Les teneurs de tanins hydrolysables totaux des divers extraits (méthanolique, éthanolique et hexanoïque) acquis par la méthode d'extraction (Soxhlet) d'*Inula viscosa* L. sont représentés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 05 :** Teneur en Tanins hydrolysables totaux (mg/g de poids sec de la plante).

Extraits	Teneur en Tanins hydrolysables (Mg EQ/g de poudre d' <i>inula viscosa</i> L.)
Méthanol	19,943 ± 0,654
Ethanol	35,137 ± 0,651
Hexane	33,860 ± 0,772

D'après ce tableau, les données mesurées en équivalent d'acide tannique sont dans l'ordre de (19,943±0,654 ; 33,860±0,772 et 35,137±0,651 mg/g) pour le matériel végétal sec, extrait avec les solvants méthanolique, hexanique et éthanolique.

- Nous pouvons déduire que l'extrait éthanolique inclut la plus grande teneur en tanins hydrolysables.

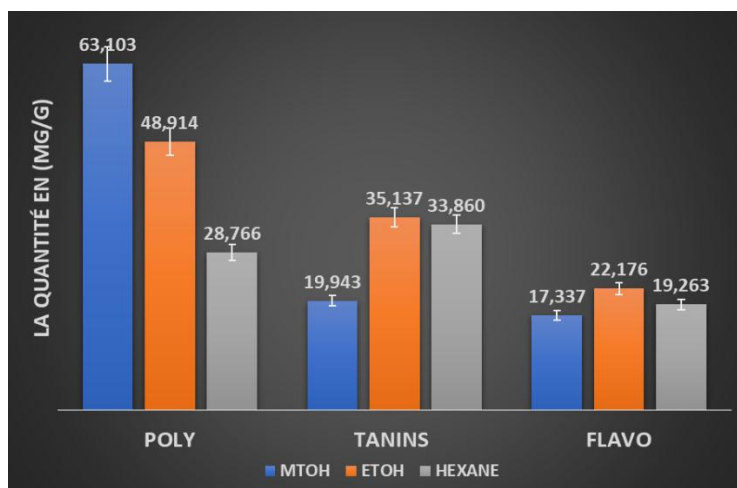


**Figure 21 :** Teneur en Tanins hydrolysables *d'Inula viscosa* L. en fonction du solvant.

#### **4. Comparaison des teneurs des Poly phénols ; Flavonoïdes et Tanins hydrolysables :**

La figure (Fig. 22) montre une comparaison des niveaux de flavonoïdes totaux, de polyphénols et de tanins hydrolysables dans les différents extraits analysés suivants (méthanolique ; éthanolique et hexanique).

On observe que l'extrait méthanolique inclut moins de tanins hydrolysables et de flavonoïdes par rapport aux extraits éthanolique et hexanique.



**Figure 22 :** La comparaison des teneurs des Polyphénols et des Flavonoïdes et des Tanins hydrolysables dans les extraits.

- Il est à noter que la plante analysée est une source significative de polyphénols totaux, ainsi que de tanins hydrolysables et de flavonoïdes.

##### 5. Résultats du test du pouvoir antioxydant :

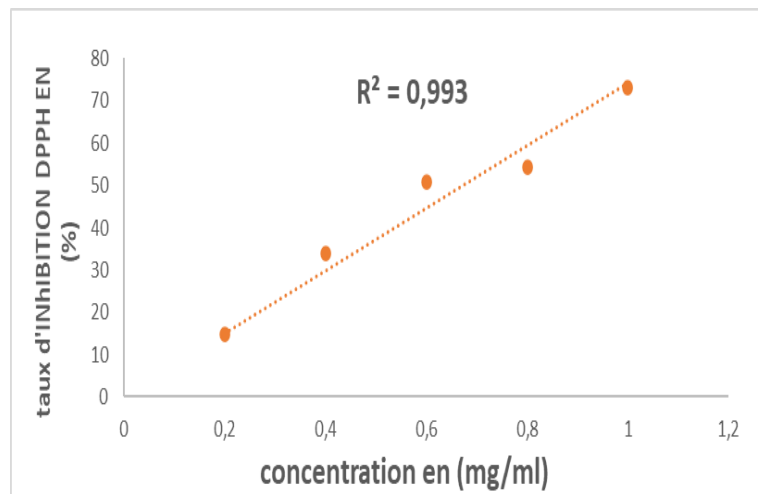
L'activité antioxydante des différents extraits de la plante a été analysée en relation avec le radical DPPH à l'aide d'un spectrophotomètre. Cette estimation a porté sur la réduction de ce radical, détectable de la conversion de couleur de violet à jaune, à 515 nm. L'aptitude de réduction est calculée par une réduction de l'absorbance causée par des substances aux propriétés anti-radicalaires.

Afin de mieux analyser la capacité antioxydante, nous avons mesuré le paramètre IC50.

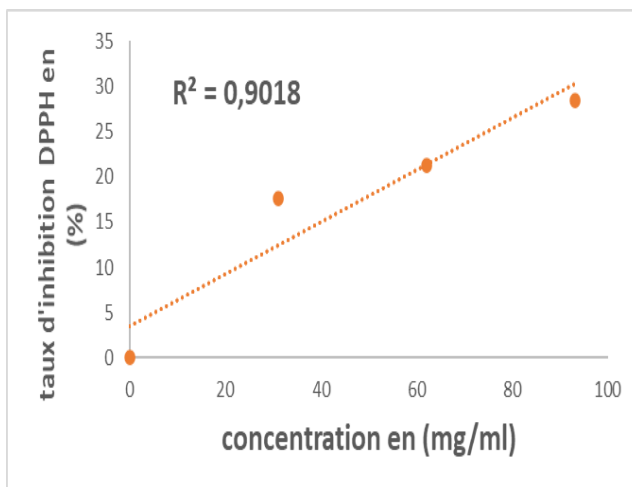
**IC50 :** cela montre la concentration valable du substrat essentiel pour provoquer une réduction de 50% du DPPH dans une solution.

Les valeurs d'IC50 des divers extraits ont été déterminées au moyen d'une courbe de régression linéaire :  $y=ax+b$ .

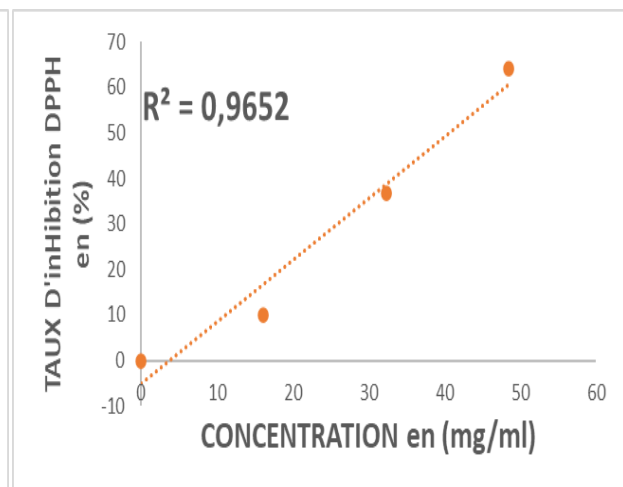
- Les résultats obtenus de ces tests sont exposés dans les courbes ci-dessous, qui présentent l'inhibition des trois extraits aussi que celle de l'acide ascorbique utilisé comme standard :



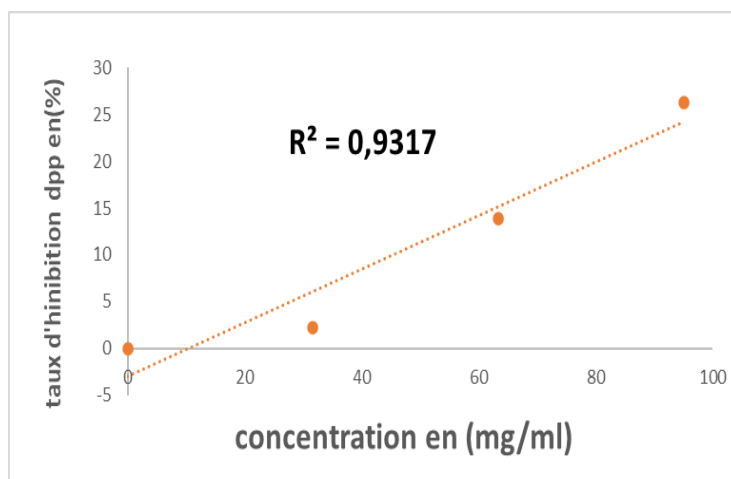
**Figure23 : dosage d'AC**



**Figure 24 : dosage d'extrait éthanolique**



**Figure 25 : dosage d'extrait hexanique**



**Figure 26 : dosage d'extrait méthanolique**

Suivant les graphes précédents, on a défini la concentration nécessaire pour réduction de 50% des radicaux libres depuis des extraits analysés, appelée IC50 (mg/ml).

Nous exposons les résultats des analyses du pouvoir réducteur dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 06 :IC50 (mg/ml) de DPPH des différents extraits étudiant.**

Extraits	IC50	Imax	Imin
AC	0,670± 0,012	73,157% à (1 mg/ml)	14,934% a (0,02 mg/ml)
Méthanol	179,043±21,395	26,282% à (95,07 mg/ml)	2,203% à (31,69mg/ml)
Ethanol	162,367 ± 3,460	28,445% à (93,1mg/ml)	17,668% à (31,03mg/ml)
Hexane	40,653 ± 0,584	64,102% à (48,49mg/ml)	10,096% à (16,16mg/ml)

Les résultats exposés sous forme de pourcentage de l'activité anti-radicalaire présentent que tous les extraits considérés, ainsi que l'acide ascorbique utilisé comme référence, consentent de comparer leur IC50 des extraits examinés.

Pour réaliser une comparaison, un antioxydant standard a été utilisé. Il a présenté une activité anti-radicalaire très faible avec un IC50 d'environ (40,653 mg/ml) pour l'extrait hexanique, suivi par (162,367 mg/ml) pour l'extrait éthanolique et (179,043 mg/ml), tandis que pour l'acide ascorbique, l'IC50 est de (0,670 mg/ml).

Selon les trois extraits, l'extrait méthanolique est le moins actif avec un IC50 de (179,043 mg/ml). Suivi par l'extrait éthanolique avec une IC50 a de (162,367 mg/ml) et finalement, l'extrait hexanique avec une IC50 de (40,653 mg/ml).

# *Discussion*

Au regard des résultats obtenus de notre pratique, nous avons constaté que la teneur de polyphénols total dans les extraits de la plante *Inula viscosa* L. change en fonction du solvant choisi.

Les teneurs de polyphénols totaux varient entre (28,766 et 63,103 mg Équivalent Acide Gallique (mg EAG/g)). L'extrait méthanolique montre la concentration moyenne la plus élevée d'environ (63,103 ± 0,788 mg EAG/g) suivi par l'extrait éthanolique (48,914 ± 0,737 mg EAG/g), alors que l'extrait hexanique a la quantité la plus légère (28,766 ± 0,772 mg EAG/g).

Les variations remarquées peuvent être attribuées particulièrement à la polarité des solvants employés, qui influence l'efficacité d'extraction des composés phénoliques. De fait, les polyphénols, étant des substances polaires, s'extrait mieux à travers de solvants polaires parmi lesquels le méthanol ou l'éthanol. Les extraits effectués avec des solvants moins polaires ou dans des conditions moins optimales montrent des concentrations minimales. Les variations dans les teneurs en polyphénols pour cette plante sont possiblement liées à la composition phénolique des extraits (les valeurs représentent la moyenne de trois expériences) les résultats obtenus ne concordent pas avec les travaux de **(Bouabdallah et Mziche ,2023)**.

Les données désignent que, par la méthode d'extraction par le Soxhlet, en utilisant de l'hexane produit le rendement le plus bas en polyphénols totaux. Presque tous nos extraits montrent une richesse significative en substances phénoliques.les résultats obtenus ne concordent pas avec les travaux de **(Bouabdallah et Mziche ,2023)**

Concernant les flavonoïdes, les concentrations moyennes des extraits (méthanolique, éthanolique et hexanique) conquises par la méthode de Soxhlet varient de (17,337 à 22,176 mg/EQ). L'extrait éthanolique affiche la valeur la plus élevée, avec (22,176 ± 0,624 mg/EQ), alors que l'extrait méthanolique montre la concentration la plus faible, à (17,337 ± 0,557 mg/EQ), par rapport aux autres extraits.

Il a été constaté que les niveaux de flavonoïdes changent d'après la méthode utilisée, et nous notons que la quantité totale de flavonoïdes change d'un solvant à un autre.les résultats obtenus ne concordent pas avec les travaux de **(Bouabdallah et Mziche ,2023)**

En ce qui concerne les résultats des tanins hydrolysables, nous avons constaté que les moyennes des concentrations de l'extrait méthanolique, de l'extrait éthanolique et de l'extrait hexanique, reçus par la méthode de Soxhlet, changent entre (19,943 et 35,137 mg/EAT). On

possèdent que l'éthanol montre les valeurs les plus élevées de polyphénols totaux ( $35,137 \pm 0,651$  mg/EAT), alors que le méthanol affiche la concentration la plus bas ( $19,943 \pm 0,654$  mg/EAT).

Il a été constaté que les résultats de notre expérience révèlent que les teneurs de polyphénols dans la plante est supérieure par rapport aux tanins hydrolysables et les flavonoïdes, ce qui donne à *Inula viscosa* L. une grande activité thérapeutique pour les traitements de différentes inflammations et cicatrisation les résultats obtenus concordent avec les travaux de **(BOULAHFA et al,2017)**

L'évaluation de l'activité antioxydante in vitro a été effectuée avec trois extraits différents (méthanolique, éthanolique et hexanique), à l'aide de la méthode de Soxhlet et le test DPPH. Les IC50 des extraits de plante évalués ont été comparés à ceux de l'acide ascorbique, l'extrait méthanolique est le moins actif avec une IC50 de (179,043 mg/ml) ces résultats concordent avec les travaux de **(Laoussa ,2020)**

# *Conclusion générale*

Dans le contexte de cette recherche, nous avons focalisé notre attention sur une analyse phytochimique qui comprend la quantification des polyphénols totaux, des tanins hydrolysables et des flavonoïdes. De plus, nous avons également examiné l'activité antioxydante de la plante *Inula viscosa* L. Selon la méthode d'extraction employée (soxhlet), plusieurs solvants sont utilisés, notamment le méthanol, l'éthanol et l'hexane.

L'analyse quantitative des polyphénols totaux via la méthode de Folin-Ciocalteu a révélé l'existence de concentrations significatives en polyphénols dans les extraits éthanolique et méthanolique de la plante examinée. Le contenu total en polyphénols peut varier en fonction de la méthode et des solvants utilisés pour l'extraction.

Les conséquences de l'étude ont révélé des différences extrêmement significatives entre les solvants : L'extrait méthanoïque et l'extrait éthanoïque ont présenté des niveaux de phénols totaux supérieurs comparativement à l'extrait hexanique. D'autre part, l'extrait hexanoïque et l'extrait éthanoïque ont démontré des concentrations plus élevées en flavonoïdes totaux et en tanins hydrolysables par rapport à l'autre solvant méthanolique dans *Inulaviscosa* L.

Les résultats indiquent que chaque extrait présente une activité antioxydante très faible. L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits issus de trois solvants (méthanol, éthanol, hexane) a été réalisée à l'aide d'un test au DPPH.

Les données recueillies montrent que tous les extraits présentent une activité antioxydant, qui change en fonction du solvant utilisé pour une plante donnée.

L'abondance de nos extraits en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins indique que toute action biologique est liée à la présence de divers métabolites au sein des tissus végétaux.

Par ailleurs, l'analyse du pouvoir antioxydant de nos extraits via la technique de capture du radical libre DPPH s'est révélée modérée avec des valeurs d'IC50 positionnées dans l'échelle du pouvoir antioxydant de la manière suivante : l'extrait méthanoïque (179,043 mg/ml), l'extrait éthanoïque (162,367mg/ml) et l'extrait hexatonique (40,653 mg/ml).

En comparant ces nombres à ceux de l'antioxydant standard, l'acide ascorbique (0,670mg/ml), nous avons pu conclure que la capacité antioxydante de ces trois extraits examinés est minime.

Comme perspectives, ce travail est envisagé comme une étape initiale vers des recherches plus étendues et détaillées comprenant :

- L'examen par d'autres méthodes d'extraction (extraction par ultrasons, extraction par micro-ondes, extraction...) pourrait optimiser la production de composés bioactifs et potentiellement renforcer l'activité anti oxydante des extraits.

- Identifier et déséparer les composés phénoliques, flavonoïdes et tanins spécifiques présents dans les extraits afin de mieux appréhender leur apport individuel à l'activité biologique.

- Evaluer les extraits pour d'autres vertus pharmacologiques (anti-inflammatoire, antimicrobienne, cicatrisante, anticancéreuse) afin de valoriser le potentiel thérapeutique d'*Inula viscosa* L.

- Elaborer des compositions phytopharmaceutiques ou cosmétiques dans le cadre d'un projet Start up (1275) basées sur des extraits optimisés, en considérant leur profil phytochimique et leur action biologique, afin de mettre en valeur cette plante dans le secteur de la santé et du bien-être.

# *Références*

- Larit, F., & León, F. (2023). Therapeutics to Treat Psychiatric and Neurological Disorders: A Promising Perspective from Algerian Traditional Medicine. *Plants*, 12(22), Article 3860.
- Guignard, J.-D. (1994). L'évaluation en milieu scolaire : enjeux et perspectives. *Revue française de pédagogie*, 108(2), 45–60.
- Quézel, P., & Santa, S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (Tome I).
- Benhammou, et al, (2006). Étude des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles et des flavonoïdes de *Pistacia lentiscus*, *Pistacia atlantica* et *Inula viscosa* de la région de Tlemcen. Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen, 152 p.
- Benteounsi, B., et al. (2001). Évolution du parasitisme ovin sur un élevage de la région du Khroub. Approche par les méthodes coproscopiques. *Sciences & Technologie, Série A : Sciences exactes*, 16, 51–54.
- Djerroumi, A., & Nacef, M. (2004). 100 plantes médicinales d'Algérie. Éditions Houma.
- Al-Dissi, N.M., et al, (2001). Effets des extraits de feuilles d'*Inula viscosa* L sur l'avortement et l'implantation chez les rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 77(2), 117–121.
- Grande M et al, (1992) Triterpenoids from *Dittrichia viscosa* L. *Phytochemistry*, 31, 1826-1828.
- Alarcon de la Lastra C, Lopez A, Motilva V. (1993) Gastroprotection and prostaglandin E2 generation in rats by flavonoids of *Dittrichia viscosa* L. *Planta Medica*, 59, 497-501; (b) Martin MJ, Alarcon de la Lastra C, Marhuenda E, Delgado F, Torreblanca J. (1988) Anti-ulcerogenicity of the flavonoid fraction from *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter in rats. *Phytotherapy Research*, 2, 183-186
- N. Brahmi-Chendouh et al. A nutraceutical extract from *Inula viscosa* L. leaves: UHPLC-HR-MS/MS based polyphenol profile, and antioxidant and cytotoxic activities

- M. Ben Slimane. Et M.T Bourasse. Contribution a l'étude de l'activité antioxydant de la plante acaia arabica. (Ingénieur d'état). Université kasdi-merbah Ouargla, (2010).
- Macheix, J.-J., et al, (2005). Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique.
- 
- T. Midoun. Extraction des composés phénoliques et étude leur activité antioxydant par le comportement électrochimique. Mémoire fin d'étude université kasdimerbahOuargla, (2010/2011).
- S. Mohammedi. Étude de pouvoir antimicrobienne et antioxydant des huiles essentielle de quelque et flavonoïdes plants de la région de Tlemcen. Mémoire magister, Université Abou BakrBelkaïd Tlemcen, (2005/2006)
- RAMLI B., 2013.Extraction des flavonoïdes de la plante *Inula viscosa* L de la région d'Oran et Mise en évidence de l'activité microbienne. Mémoire de Magister. Université d'Oran.
- Bensakhria, A. (2018). Le stress oxydatif. Toxicologie générale.
- Me Bellebcir.L (2008) Mémoire diplôme magister en biologie et écologie option biodiversité et production végétale. Etude des composés phénolique en tant marqueurs chez les céréales. (université mentouriconstantine)
- Harborne J.B., (1980). Plant Phenolics : Encyclopédie de la physiologie végétale, nouvelle série, vol 8, 329-402.
- Ben Slimane M et Bourasse .M.T (2010) contribution à l'étude de l'activité antioxydante de la plante acacia arabica;. (Ingénieur d'état). Université kasdi-merbah Ouargla.
- Mhe. bouhadjra k (2011) etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthese sur la stabilite oxydative de l'huile d'olive vierge . Magister Chimie de l'environnement. Université mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

- Lehucher-Michel, et al, (2001) Stress oxydant et pathologies humaines. La Presse médicale. 30: 1076-1081
- Berger, M.M. (2006) Manipulations nutritionnelles du stress oxydant: état des connaissances. Nutrition Clinique et Métabolisme. 20: 48-53.
- Agbor Ndip, A.,et al. (2014). RANKL–OPG and RAGE modulation in vascular calcification and diabetes: novel targets for therapy. Diabetologia, 57(11), 2251–2260.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin Journal of Science and Technology, 26(2), 211–219.
- Kedare, S.B., & Singh, R.P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. Journal of Food Science and Technology, 48(4), 412–422.

# **Annexes:**

**Annexe 01 :****Tableau 01 :** Les matériels et réactifs qu'ont utilisés.

<b>Appareil</b>	<b>Produits chimiques</b>	<b>Verreries</b>
Balance analytique	Méthanol	Béchers
Broyeur électrique	Ethanol	Entonnoirs
Soxhlet	Hexane	Eprouvettes
Réfrigérateur	Eau distillé	Erlenmeyers
L'évaporateur rotatif	Acide gallique	Verre de montre
L'étuve	Folin-Ciocalteu	Spatule
Spectrophotomètre	Carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )	Tube à essais
Agitateur vortex	DPPH	Tube sec
	Acide ascorbique	Portoir
	Quercetine	Micropipettes
	Chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ )	Eprouvette gradué
	Iodate de potassium $\text{KIO}_3$	
	Acide tannique	

## Annexe 02:



### Nettoyage



**Séchage :** dans l'étuve à température 45°



**Figure :** Spectrophotomètre    **Figure :** Agitateur vortex

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة عبد الحميد بن باديس-مستغانم-  
كلية العلوم الطبيعية والحياة

تصريح شرقي خاص بالالتزام بقواعد النزاهة العلمية  
لإنجاز البحث

أنا الممضي أدناه،  
الطالب(ة): ول نبية لينا ..... رقم التسجيل الجامعي: 191937032383  
الحامل لبطاقة التعريف الوطنية رقم 11001097701246007 والصادرة بتاريخ: 2024-01-09  
عن سيد علي .....  
المسجل بكلية علوم الطبيعة والحياة / قسم .....  
شعبة Biologie / التخصص Pharmaco-toxicologie  
والمكلف بإنجاز مذكرة ماستر بعنوان:

أصريح بشرقي في أنني ألتزم بمراعاة المعايير العلمية والمنهجية ومعايير الأخلاقيات العلمية والنزاهة الأكاديمية الم  
طلوبة في إنجاز البحث ، وأتحمل المسؤولية الشخصية عن كل المحتوى المتضمن في البحث المذكور أعلاه .

التاريخ: 2025-06-17

إمضاء المعني



\* ملحق القرار الوزاري رقم 933 المؤرخ في 28 جويلية 2016 الذي يحدد القواعد المتعلقة بالوقاية من السرقة العلمية ومكافحتها.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة عبد الحميد بن باديس-مستغانم-  
كلية العلوم الطبيعية والحياة

تصريح شرفي خاص بالالتزام بقواعد النزاهة العلمية  
لإنجاز البحث

أنا المضي أدناه،

الطالب(ة): بوراس أمينة ..... رقم التسجيل الجامعي: 37034072  
الحامل لبطاقة التعريف الوطنية رقم: 150228971000010007 والصادرة بتاريخ: 2024/07/12  
عن ..... لاسميتي عالياً...  
المسجل بكلية علوم الطبيعة والحياة / قسم .....  
شعبة Biologie / التخصص Pharmaco-toxicologie  
والمكلف بإنجاز مذكرة ماستر بعنوان:

أصبح بشرفي أنني ألتزم بمراعاة المعايير العلمية والمنهجية ومعايير الأخلاقيات العلمية والنزاهة الأكاديمية المطلوبة في إنجاز البحث ، وأتحمل المسؤولية الشخصية عن كل المحتوى المتضمن في البحث المذكور أعلاه .

التاريخ: 2025/06/17

إمضاء المعني  




\* ملحق القرار الوزاري رقم 933 المؤرخ في 28 جويلية 2016 الذي يحدد القواعد المتعلقة بالوقاية من السرقة العلمية ومكافحتها.