

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

قالمة 1945 ماي 8 جامعة

Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Département : Biologie

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème

Etude de la toxicité d'*Inula viscosa* chez les souris

Présenté par : -BENAIIDA Sara

-MOSBAH Imane

Devant le jury composé de :

Président : Dr. ROUIBI A.Hakim MCB Université 08 mai 1945 Guelma

Examineur : Dr. MOKHTARI A.Hamid MCB Université 08 mai 1945 Guelma

Encadrant : Dr. BOUSSENANE Nadia.H MCB Université 08 mai 1945 Guelma

juin 2024

Remerciements

En premier lieu, nous remercions notre seigneur « Allah », qui par sa volonté a rendu possible la réalisation de notre travail, en nous accordant la force, le courage et la persévérance d'aller jusqu'au bout de notre projet.

Nous remercions tous les enseignants de l'université qui ont contribué à notre apprentissage durant la totalité de notre cursus universitaire à travers le partage de connaissance et la disponibilité avant, durant et après les cours.

Nos sincères remerciements aux membres du jury Monsieur **ROUIBI A/HAKIM** et Monsieur **MOUKHTARI A/HAMID** de nous accorder de leur précieux temps dans le but d'assister et d'évaluer notre travail. Veuillez agréer l'expression de notre profonde gratitude.

Nous tenons à remercier très chaleureusement Notre directrice de mémoire Madame **BOUSSENANE NADIA.H**, Maitre-de conférences à l'université de Guelma, pour nous avoir proposé ce thème de recherche et Pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, Qui ont contribué à alimenter notre réflexion Et leur suivie qu'il nous a prodigué durant tout ce travail.

Nous désirons également à remercier nos chers enseignants du département de sciences biologiques, qui nous ont fourni les outils nécessaires à la réussite de nos études universitaires.

Nous sommes également reconnaissants envers tout le personnel administratif de l'université, spécifiquement le personnel du laboratoire Madame **NASSIMA** et Madame **Ratiba** et Monsieur **Mehdi**, qui ont contribué à la réalisation de notre travail en toute sérénité.

Mes remerciements s'adressent également à tous ceux qui nous ont donné des informations

De près ou de loin à réaliser ce travail.

Merci à tous

Dédicaces

À mes chers parents.

À moi-même.

À mes frères et ma sœur.

À mon binôme.

À mes amis.

Sara

Dédicaces

Je dédie ce travail à ma famille avec tous mes sentiments de respect, d'amour, de gratitude et de reconnaissance pour tous les sacrifices déployés pour m'élever dignement et assurer mon éducation dans les meilleures conditions.

A ma Mère, en vous je vois la maman parfaite, toujours prête à se sacrifier pour le bonheur de ses enfants. Merci pour tout.

A mon Père, en vous je vois un père dévoué à sa famille. Ta présence en toute circonstance m'a maintes fois rappelé le sens de la responsabilité.

A mes deux frères Hamza et Abd elraouf, je sais que ma réussite est très importante pour vous, Que Dieu vous bénisse pour tous vos bienfaits.

A mon Boudi

A mon Binôme Sara

A mes proches amies : Amina, Wiem, Ikram, Nour

A mes collègues de master 2 Biochimie Appliqué (2023-2024)

A tous ceux que j'aurais oublié de citer mais qui existent au fond de mon cœur et de ma pensée

Imane

Résumé

La médecine traditionnelle peut être considérée comme partie intégrante des soins de santé primaire, c'est pourquoi il faut assurer la sécurité des plantes utilisées aléatoirement en analysant leur aspect toxicologique qui reste un retrait par rapport à l'avancement de la phytothérapie.

Dans la présente étude nous avons évalué la toxicité aiguë et subchronique d'*Inula viscosa*, une plante largement utilisée par la population, dans le foie et le poumon des souris de laboratoire.

La toxicité subchronique est évaluée par administration orale des doses 400, 800, 1200, 1600 et 2000 mg/kg chaque jour pendant 14 jours alors que la toxicité aiguë est étudiée après 03 jours d'administration quotidienne de 8µl de l'intrait. L'évolution pondérale et l'étude histologique microscopique et macroscopique des souris ayant survécu ont été analysées et comparées à ceux des témoins. Les résultats de la toxicité aiguë sont encourageants, tandis que pour ceux de l'étude de la toxicité subchronique, la coupe histologique ont montré une toxicité inattendue.

Selon les résultats obtenus, *Inula viscosa L.* pourrait être classé dans la catégorie des plantes toxiques à forte dose. D'après les résultats interprétés dans les études histologiques, on a noté des signes d'une toxicité pulmonaire (Infiltrat mononucléé en amas pré-bronchiolaire, présence de bulles d'emphysème, inflammation subaiguë chronique, hémorragie, inflammation des alvéolites...). On a noté aussi des signes d'hépatotoxicité (Infiltrat inflammatoire, congestion vasculaire, des foyers de stéatose hépatique, hémorragie ...) avec variation d'intensité d'une dose à une autre.

Mots clés : Toxicité ; toxicité subchronique ; toxicité aiguë ; *Inula viscosa L* ; extrait aqueux; feuilles.

Abstract

Traditional medicine can be considered an integral part of primary healthcare, necessitating the safety assurance of randomly used plants by analyzing their toxicological aspects, which lags behind the advancement of phytotherapy. In this study, we assessed the acute and subchronic toxicity of *Inula viscosa*, a widely used plant among the population, on the liver and lungs of laboratory mice. Subchronic toxicity was evaluated through oral administration of doses of 400, 800, 1200, 1600, and 2000 mg/kg daily for 14 days, while acute toxicity was studied after 3 days of daily administration of 8µl of the extract. Changes in body weight and microscopic and macroscopic histological examination of surviving mice were analyzed and compared to controls. The results of acute toxicity were promising, but subchronic toxicity studies revealed unexpected histological findings. Based on the results, *Inula viscosa L.* could be classified as a highly toxic plant at high doses. Histological studies indicated signs of pulmonary toxicity (pre-bronchiolar mononuclear infiltrate, presence of emphysematous bubbles, chronic subacute inflammation, hemorrhage, alveolitis inflammation) and hepatotoxicity (inflammatory infiltrate, vascular congestion, hepatic steatosis foci, hemorrhage) with varying intensity across doses.

Keywords: Toxicity; subchronic toxicity; acute toxicity; *Inula viscosa L.*; aqueous extract; leaves.

الملخص:

تعتبر الطب الشعبي جزءاً لا يتجزأ من الرعاية الصحية الأولية، ولذا من الضروري ضمان سلامة النباتات المستخدمة بشكل عشوائي من خلال تحليل جوانب سميتها التي تبقى نقطة ضعف في تقدم العلاج بالأعشاب. في هذه الدراسة، قمنا بتقييم سمية إينولا فيسكوسا، وهي نبات يستخدم على نطاق واسع من قبل السكان، على كبد ورئة فنران المختبر. تم تقييم السمية الفجائية بواسطة إعطاء جرعات من 400، 800، 1200، 1600 و 2000 ملغ/كغ يومياً لمدة 14 يوماً، بينما تم دراسة السمية الحادة بعد 3 أيام من الإغذاء اليومي لـ 8 ميكرو لتر من المستخلص. تم تحليل تطور الوزن والدراسة المجهرية التاريخية والماكروسكوبية للفنران التي نجت ومقارنتها بالفنران الشاهدة. كانت نتائج السمية الحادة مشجعة، بينما كانت النتائج لدراسة السمية الفجائية تظهر سمية غير متوقعة. وفقاً للنتائج المتحصل عليها، يمكن تصنيف إينولا فيسكوسا L. ضمن فئة النباتات السامة عند الجرعات العالية. استناداً إلى النتائج المفسرة في الدراسات التاريخية، لاحظنا علامات سمية رئوية (تخريش منفرد في تجمعات ما قبل الشعب الهوائية، وجود فقاعات الامفيزيم، التهاب مزمن فوق حاد، نزيف، التهاب الالتئام اللبي...)، كما لاحظنا علامات سمية كبدية (التخريش الالتهابي، احتقان الأوعية الدموية، بؤر الدهن الكبدية، نزيف...) مع تغير في شدة من جرعة إلى أخرى.

الكلمات المفتاحية: *Inula viscosa* L ; Toxicité ; toxicité subchronique ; toxicité aiguë ; مستخلص مائي؛ أوراق.

Sommaire

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
Liste des Tableaux :	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	1

Chapitre I :Inula Viscosa

1.Généralités sur la plante <i>Inula viscosa.L</i>	4
1.1.Présentation de la plante.....	4
1.2.Taxonomie et Systématique	4
1.3.Etudes botanique	5
1.4.Répartition géographique	6
1.5.Utilisation traditionnelle et médicinale d' <i>Inula viscosa.L</i>	7
1.6.Composition chimique d' <i>Inula viscosa.L</i>	9
1.7.2. Les métabolites secondaires d' <i>Inula viscosa.L</i>	9
1.7.2.1. Les métabolites primaires.....	9
1.7.2.2. Les métabolites secondaires	9
1.7.Activités biologiques.....	10
1.7.1.Effet antifongique.....	10
1.7.2.Effet antibactérien	10
1.7.3.Effet cytotoxiques et génotoxiques	11
1.7.4.Effet insecticide.....	11
1.7.5.Effet herbicide	11
1.7.6.Effet anti tumorale.....	11

1.7.7.Effet antihypertensive	11
2.Toxicité.....	11
2.1.Définition	11
2.2.Différentes formes de la toxicité	12
2.2.1.Toxicité aiguë.....	12
2.2.2.Toxicité subaiguë	12
2.2.3Toxicité chronique.....	12
2.2.4.Toxicité sub-chronique.....	12
2.3.Notion d'effet toxique	13
2.3.4.Relations dose-effet et relation dose-réponse.....	13
2.3.5.Relation entre la concentration (dose) et effet	13
2.4.Définition de la dose létale 50 (DL50).....	13
3.Toxicité aiguë et subaiguë des extraits d' <i>Inula viscosa</i>	14

Chapitre II: Matériel et méthodes

1. Préparation de l'extrait brut d' <i>Inula viscosa L</i>	16
1.1.La récolte.....	16
1.2. Le rinçage.....	17
1.3. Le broyage.....	18
1.4. La filtration.....	19
1.5. Séchage.....	19
1.6. Stockage et conservation.....	20
2.Détermination du rendement.....	20
3.Screening phytochimique	20
3.1. Alcaloïdes.....	20
3.2. Tanin.....	21
3.3. Flavonoïdes	21

3. 4. <i>Saponosides</i>	21
3. 5. Composés réducteurs.....	21
3. 6. Oses et holosides	21
3.1.7. <i>Mucilages</i>	22
4.Évaluation de la toxicité.....	22
4.1. Le traitement des animaux	22
4.2.2. Le gavage	24
4.2.3. Prélèvement des organes	25
5.Étude histologiques	26
5.1. Fixation des organes.....	26
5.2. Préparation des cassettes	27
5.3. Déshydratation des échantillons.....	27
5.4. L'inclusion et la réalisation des blocs	27
5.5. Coupe des organes.....	28
5.6. Coloration.....	28
5.7. Montage.....	29
5.8. Observation au microscope	29

Chapitre III: Résultats et Interprétations

1.Rendement de l'extraction.....	31
2.Analyse qualitative	31
2.1.Screening phytochimique	31
3.Etude de la toxicité aiguë	34
3.1.Examens cliniques.....	34
3.2.Effet sur le poids corporel des animaux	35
3.3.Test de toxicité de l'extrait.....	36
3.3.1. Calcul de la dose létale 50 (DL50).....	36

3.4.Etude histologique des organes	37
3.4.1. Etude macroscopique	37
3.4.1.1. L'examen macroscopique du foie des animaux traités par 8µl de l'intrait d' <i>inula viscosa</i>	37
3.4.1.2. L'examen macroscopique du poumon des animaux traités par 8µl de l'intrait d' <i>inula viscosa</i>	38
3.4.2. Etude microscopique	38
3.4.2.1 Examen des coupes histologiques de foie des animaux traités par 8µl de l'intrait d' <i>inula viscosa</i> observés au microscope optique G x 10	38
3.4.2.2 Examen des coupes histologiques du poumon des animaux traités par 8µl de l'intrait d' <i>inula viscosa</i> observés au microscope optique G x 10	39
4.Etude de la toxicité subchronique	40
4.1.Examens cliniques.....	40
4.3.Test de toxicité de l'extrait.....	45
4.3.1. Taux de mortalité	46
4.4.Etude histologique des organes	47
4.4.1. Etude macroscopique	47
4.4.1.1. L'examen macroscopique du foie des souris traitées par des doses croissantes d' <i>inula viscosa</i>	47
4.4.4.2. L'examen macroscopique du foie des souris traitées par des doses croissante d' <i>inula viscosa</i>	49
4.4.2. Etude microscopique	50
4.4.2.1. Examen des coupes histologiques du foie des différents groupes observés au microscope optique G x 10.....	51
4.4.2.2. Examen des coupes histologiques du poumon des différents groupes observés au microscope optique G x 10.....	54

Chapitre IV Discussion

1.Le rendement de l'extraction.....	60
-------------------------------------	----

2.Analyse qualitative	60
2.1.Screening phytochimique	60
3.Evolution pondérale	61
4.Etude de la toxicité aiguë	61
5.Etude de la toxicité sub-chronique	62
6.Influence du traitement sur les variations histologiques	62
6.1.Au niveau du foie	62
6.2.Au niveau du poumon	62
Conclusion.....	65
Références bibliographiques	67

Liste des Tableaux :

Tableau 1: classification d' <i>Inula viscosa.L</i>	5
Tableau 2: Utilisation traditionnelle d' <i>Inula viscosa</i>	8
Tableau 3: Compositions chimiques d'huiles essentielles de <i>I. Viscose</i>	9
Tableau 4: la présence de métabolites secondaires dans <i>Inula Viscosa</i>	10
Tableau 5: le rendement d' <i>Inula viscosa</i>	31
Tableau 6: Résultats du screening phytochimique de l'extrait brut d' <i>Inulaviscosa</i>	32
Tableau 7: Résultats des signes cliniques observés pendant les 03 jours.	34
Tableau 8: résultat de mortalité de lot 7.....	36
Tableau 9: L'examen macroscopique du foie du lot 07.....	37
Tableau 10: L'examen macroscopique du poumon de lot 07	38
Tableau 11: Résultats des signes cliniques observés pendant les 14 jours.	40
Tableau 12: poids corporel des souris lot témoin.....	45
Tableau 13: résultat de mortalité.....	46
Tableau 14: L'état macroscopique du foie.....	47
Tableau 15: L'état macroscopique du poumon.....	49

Liste des figures

Figure 1: <i>Inula viscosa</i> .L (prise personnelle).....	4
Figure 2: carte géographique de L' <i>Inule</i>	7
Figure 3: carte géographique de la station de prélèvement à Guelma, Djebel Hallouf	16
Figure 4: les feuilles d' <i>Inula viscosa</i>	17
Figure 5: le tri les feuilles.....	17
Figure 6: Le bain de l'eau distillée	18
Figure 7: Plonger les feuilles dans le bain de l'eau distillée.....	18
Figure 8: Broyage des feuilles.....	18
Figure 9: filtration de broyat	19
Figure 10: Le filtrat	19
Figure 11: Les flacons opaques.....	19
Figure 12: L'extrait après le séchage	20
Figure 13: La souris de laboratoire utilisé.	22
Figure 14: Les étapes de préparation des doses	24
Figure 15: Le processus de gavage	25
Figure 16: Extraction du foie et poumon de souris	26
Figure 17: Histogramme du poids corporel des animaux recevant l'intrait.....	36
Figure 18: La coupe histologie du tissu hépatique de lot traité par l'intrait (lot 7) (G×10)....	39
Figure 19: Coupe histologique du poumon du groupe traité par l'intrait (lot 7) (G×4).....	39
Figure 20: Histogramme du poids corporel des souris recevant la dose des 400mg/kg.....	43
Figure 21: Histogramme du poids corporel des souris recevant la dose des 800mg/kg.....	43
Figure 22: Histogramme du poids corporel des souris recevant la dose des 1200mg/kg.....	44
Figure 23: Histogramme du poids corporel des souris recevant la dose des 1600mg/kg.....	44
Figure 24: Histogramme du poids corporel des souris recevant la dose des 2000mg/kg.....	45
Figure 25: Taux de mortalité des souris en fonction de la dose d' <i>Inula viscosa</i>	46

Figure 26: Coupe histologique du tissu hépatique du groupe Témoin. (G×10).....	51
Figure 27: La coupe histologie du tissu hépatique des souris recevant 400mg/kg (G×10)....	51
Figure 28: La coupe histologie du tissu hépatique des souris recevant 800mg/kg (G×10)	52
Figure 29: la coupe histologique du tissu hépatique des souris recevant 1200mg/kg (G×10)	52
Figure 30: la coupe histologique du tissu hépatique des souris recevant 1600mg/kg (G×10)	53
Figure 31: La coupe histologie du tissu hépatique des souris recevant 2000mg/kg (G×10) ..	53
Figure 32: La coupe histologie du tissu hépatique des souris recevant 2000mg/kg (G×10) ..	54
Figure 33: Coupe histologique du poumon du groupe Témoin. (G×10).....	54
Figure 34: Coupe histologique du poumon des souris recevant 400mg/kg (G×4)	55
Figure 35: Coupe histologique du poumon des souris recevant 800mg/kg (G×10)	55
Figure 36: Coupe histologique du poumon des souris recevant 1200mg/kg (G×10)	56
Figure 37: Coupe histologique du poumon des souris recevant 1600mg/kg (G×10)	56
Figure 38: Congestion vasculaire. (G×4)	57
Figure 39: Coupe histologique du poumon des souris recevant 2000mg/kg (Inflammation des alvéolites et des bronchioles) (abcès) (G×40)	57
Figure 40: Lésions bronchiolaires (G×100)	58
Figure 41: Hémorragie alvéolaire (G×40).....	58

Liste des abréviations

µg : microgramme

µl : microlitre (unité de volume)

µm : micromètre(s)

°C : degré Celsius

Cm : centimètre(s)

Cm²/g : centimètre(s) carré(s) par gramme

DL50 : Dose Létale 50

FeCl₃ : chlorure de fer (III)

g : gramme(s)

G: grossissement

H₂SO₄ : acide sulfurique

HCl : acide chlorhydrique

kg : kilogramme (unité de masse)

L. : Linné (c'est-à-dire Carl von Linné, qui a formellement décrit l'espèce)

M : molaire (concentration molaire) % : pourcentage (concentration ou proportion)

mg/kg : milligramme par kilogramme

Mg/ml : milligramme par millilitre

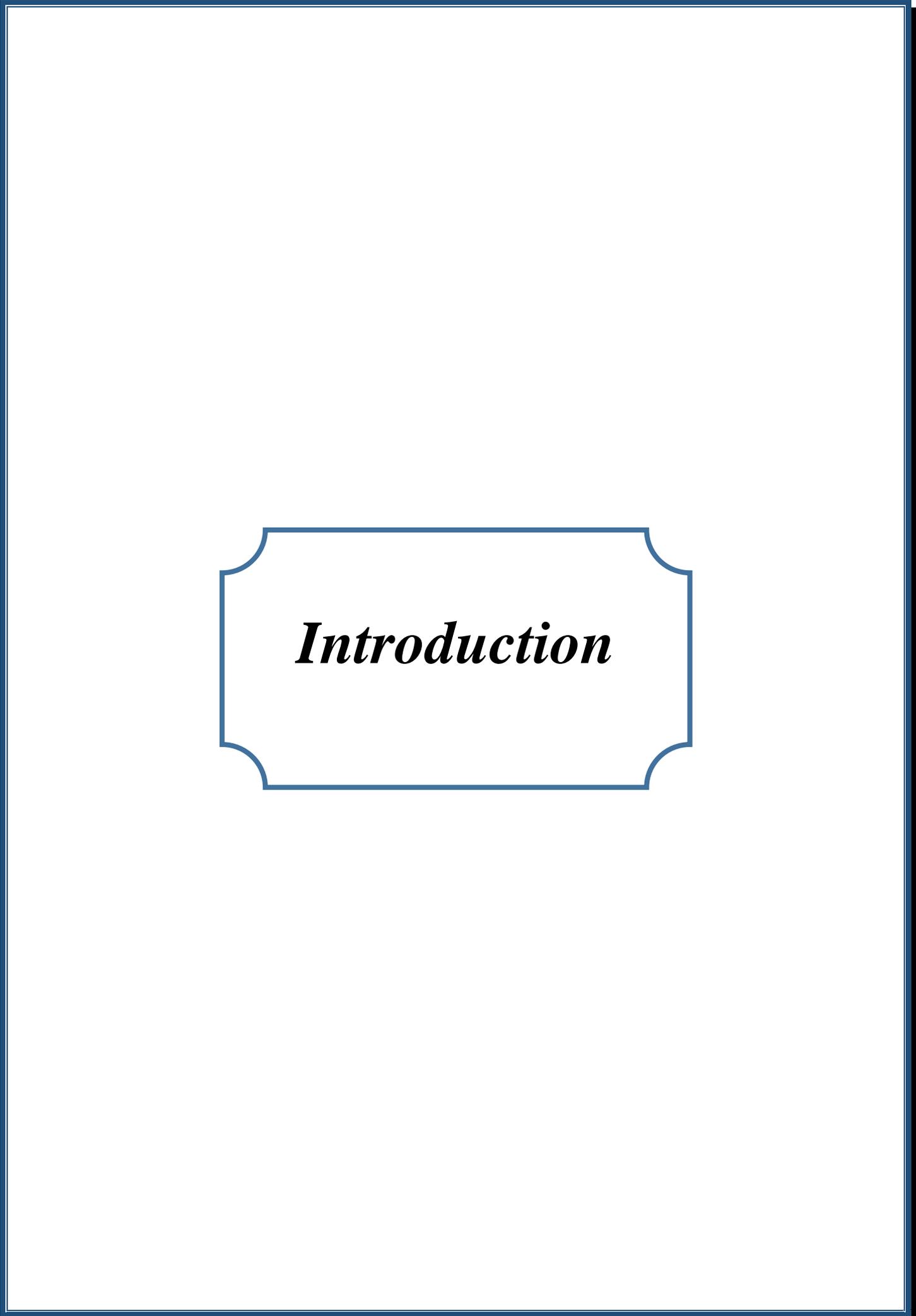
ml : millilitre

mm : millimètre(s)

NH₄OH : hydroxyde d'ammonium

OCDE : Organisation de coopération et de développement économiques

pH : potentiel hydrogène



Introduction

Introduction

L'Homme, en émergeant sur terre, a dû, au fil du temps faire le choix ; ceux qui tuent, ceux qui nourrissent, ceux qui soignent. Ce résultat d'une alchimie merveilleuse entre le ciel et la terre a fait des plantes médicinales une vraie pharmacie du bon Dieu **(Caroline, 2018)**.

Les plantes médicinales sont des végétaux utilisés pour leurs vertus thérapeutiques. Cela implique qu'au moins une partie de la plante (feuille, tige, racine, etc.) peut être utilisée à des fins curatives. Leur utilisation remonte à au moins 7 000 ans avant notre ère, et elles constituent le fondement de la phytothérapie. Leur efficacité découle de la diversité et du nombre de leurs composés, qui varient selon les espèces et agissent comme autant de principes actifs distincts **(Djaoui, L., & Messaoudene, W. 2017)**.

Dans l'évolution de la médecine traditionnelle, on raconte que les êtres humains ont toujours cherché à répondre à leurs besoins médicaux en explorant les ressources naturelles, souvent en utilisant diverses plantes qui se sont révélées très bénéfiques pour leur santé. **(berhail, 2014)**.

La tradition d'utiliser des plantes médicinales pour traiter les maladies est souvent fondée sur la croyance en leur faible toxicité en raison de leur nature naturelle. Selon l'Organisation mondiale de la santé, environ 80 % de la population mondiale utilise la médecine traditionnelle pour ses soins de santé. **(Gomes et al., 2012)**.

Par conséquent, la médecine traditionnelle peut être considérée comme faisant partie intégrante des soins de santé primaires, contribuant ainsi à améliorer l'accès aux soins **(De Smet, P. A., 1993)**.

Néanmoins, il est essentiel d'évaluer la toxicité des plantes, de garantir la sécurité des plantes médicinales, de renforcer les connaissances et les compétences des herboristes traditionnels, et d'assurer un suivi adéquat des patients. Un regain d'intérêt pour la phytothérapie ces dernières années a permis d'approfondir l'analyse de son efficacité thérapeutique et, surtout, de son aspect toxicologique.

Effectivement, cet aspect demeure en retrait par rapport aux progrès réalisés dans le domaine de la phytothérapie. De nombreuses études menées sur les traitements traditionnels à base de plantes ont signalé des problèmes de toxicité ou d'interactions pouvant entraîner des échecs thérapeutiques ou des accidents. **(Hmamouchi, M. 1998)**.

En Algérie, Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux. Parmi les différentes plantes médicinales, on a choisi pour notre étude une très importante plante *Inula Viscosa*.L connue par son pouvoir thérapeutique important, sa répartition dans tous les coins du pays et son utilisation traditionnelle par les Algériens.

Inula viscosa fait partie de la famille des Astéracées, souvent utilisée comme plante médicinale dans la zone méditerranéenne. De plus, de nombreuses études ont rapporté que *I. viscosa* possède une large gamme de composés naturels qui peuvent être utilisés pour la médecine alternative. *Inula viscosa* est connue au nord de l'Algérie sous le nom de « Magrammane ». C'est une espèce pérenne abondante (**Mahmoudi et al.,2016**).

La partie aérienne est utilisée en décoction pour traiter les maladies rénales, le diabète et l'hypertension (**Oyaizu, 1986**). De nombreuses études ont également signalé l'utilisation de *I. viscosa* dans le traitement de diverses maladies, telles que les douleurs rhumatismales, le cancer, la bronchite, la tuberculose et l'infertilité. Les composés bioactifs de cet arbuste comprennent des flavonoïdes, des triterpénoïdes guaianolides, des sesquiterpènes, des acides sesquiterpéniques, des lactones et des huiles essentielles. (**Ozkan., 2019**).

L'objectif de ce travail est de faire une étude de toxicité sur le genre d'*Inula viscosa*. Chez les souris de laboratoire. Ce travail, est réparti en trois parties :

Dans la première partie, nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques sur le *inula viscosa* et la toxicite des plantes. Dans la partie expérimentale, nous développerons dans le premier chapitre les matériels et les méthodes analytiques utilisées pour l'extraction, le rendement, le dosage colorimétrique de polyphénols et flavonoïdes, le traitement des animaux par des doses croissante de l'extrait de la plante la réalisation des coupes histologiques, le suivi du comportement des animaux durant la période du traitement. Le deuxième chapitre sera consacré aux résultats obtenus dans notre étude. A la lumière des résultats obtenus, différentes perspectives de recherche seront évoquées en évaluant la toxicité d'*innula viscosa*.

Chapitre I
Inula Viscosa

1. Généralités sur la plante *Inula viscosa.L*

1.1. Présentation de la plante

Le nom d'*Inula Viscosa* vient du grec, *Inula* signifie « Je purge » (allusion à une propriété thérapeutique de la plante) et *viscosa* veut dire visqueuse (**Fauron et al.,1983**) (**Fournier,1947**).

Inula viscosa.L est une plante très connue à la région méditerranéenne et très répandue dans le nord de l'Algérie. Elle appartient à la famille des Asteraceae, qui est la plus fréquente dans le règne végétal. Elle comprend plus de 13 tribus, 1000 genres et 23000 espèces, elle est largement utilisée en médecine traditionnelle. (**Guignard, 1994**). Aussi, il en existerait 109 genres et 408 espèces en Algérie et 111 genres et 638 espèces en France (**Quezel et Santa, 1963**) (**Chaou, 2017**).

La plante est visqueuse et très odoriférante, avec une odeur camphrée. *Inula viscosa* est recouverte de poils glandulaires qui sécrètent une résine collante et parfumée. Les racines sont des racines pivotantes, ligneuses à la base (jusqu'à 30 cm de long). La tige mesure 40 à 100 cm de long à la base et les branches sont rougeâtres. Les feuilles sont entières ou dentelées, aiguës, sinuées, insérées directement sur la tige pour les caulinaires. Ils sont glandulaires des deux côtés. Les caulinaires sont amplexicaule, plus largement lancéolées. Bractées externes de l'involucre scarieuses de même que les internes (**Quezel et Santa, 1963**) (**Ait Youssef, 2006**). Des fleurs périphériques sont liguliformes, celles du centre sont tubulaires. Elles sont rayonnantes de couleur jaune et à forte odeur (**Bensegueni-Tounsi, 2001**)



Figure 1: *Inula viscosa.L* (prise personnelle)

1.2. Taxonomie et Systématique

-Nom scientifique : *Inula viscosa*. (**Quezel et Santa, 1963**)

-Français : *Inule visqueuse*. (LÉGER, 2007).

-Anglais : Woody fleabane. (LÉGER, 2007) ; Rock Fleabane (Halimi, 1997)

- Arabe : Magramane, (Baba Aissa, 1991). Bagramane, El tibek, El tyoun.

- Berbère : Amagramane (Baba Aissa, 2000). Ou bayraman.

D'après Quezel et Santa, 1963 ; Fournier, 1947, la position systématique d'*Inula viscosa* est représenté dans le tableau ci dessus la suivante :

Tableau 1: classification d'*Inula viscosa*.L(Quezel et Santa, 1963) (Dupont *et al.*,2006).

Règne	Végétale
Sous règne	Trachéobionta (plantes vasculaire)
Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Angiosperme
Classe	Magnolispsida (Dicotylédones)
Sous Classe	Astériidae
Ordre	Astérales
Famille	Astéracées (composées)
Genre	Inula
Espèce	Viscosa

1.3. Etudes botanique

L'inule visqueuse est une plante herbacée qui peut vivre une année ou plusieurs, elle est visqueuse, glanduleuse et dégage une forte odeur (Bakkara *et al.*, 2008). Sa base est ligneuse. Elle pousse en buissons d'une hauteur comprise entre 0,5 et 1 mètre et produit de nombreux capitules de fleurs jaunes en haut de la tige (Benhammou et Atik Bekkara, 2005). Sa floraison

début en septembre avec des fleurs jaunes, et elle porte des fruits sous forme d'akènes velus. (Zeguerrou *et al.*, 2013)

Le fruit est un akène mesurant 2 mm de longueur, avec une aigrette velue composée de 15 poils. (P Parolin *et al.*, 2014).

Ses feuilles sont dentelées, ondulées, pointues et rugueuses, elles sont adhésives, d'où le nom "viscose". Elles ont une forme allongée et sont pubescentes, avec des bords dentelés à denticulés. Les feuilles matures ont généralement une taille moyenne de 7 x 1,8 cm et une épaisseur moyenne de 197 micromètres. Leur surface spécifique est en moyenne de 502 cm²/g. En moyenne, chaque plante porte environ 130,9 feuilles, avec une surface totale de feuillage par plante de 200 cm².

Les feuilles supérieures sont étroitement embrassées par leur base. Elles se trouvent près et en dessous de la fleur. Les involucre à bractées sont inégaux, avec une surface extérieure visqueuse sur les bractées externes. Les capitules jaunes, qui représentent les fleurs, sont nombreux et regroupés en une grappe composite. Les inflorescences d'*Inula* sont longues, et le diamètre de la corolle de ses fleurs jaunes atteint 2 cm, avec des ligules qui dépassent nettement l'involucre.

Les racines, même chez les plantes de petite taille, peuvent être assez développées. La longueur spécifique des racines est d'environ 116 cm/g et le rapport entre la biomasse souterraine et aérienne est de 0,24. Cependant, il n'y a pas de tubercule à la base. Cette plante présente des tiges dressées qui se divisent en bas de la tige. Les branches sont nombreuses, étalées et présentent des inclinaisons irrégulières. Sa canopée est dense, et elle peut atteindre une hauteur de 150 cm. La plante est couverte de poils glandulaires. (P Parolin *et al.*, 2014).

1.4. Répartition géographique

Inula viscosa est une plante largement répandue dans tous les pays méditerranéens (Maoz et Neeman, 2000) (Hernandez *et al.*, 2001). Cet arbuste prospère dans des champs denses et sauvages, sur des sols secs et calcaires, ainsi que dans les prairies humides et le long des cours d'eau (Quezel et Santa, 1963).

Elle se trouve aussi dans divers pays européens comme l'Espagne et la France, des nations asiatiques telles que la Chine et le Japon, en Turquie, et également en Afrique, notamment au Maroc, en Égypte et en Algérie (Ramli, 2013) (Wang *et al.*, 2004).

Inula viscosa se développe dans des champs sauvages et dans les environs du bassin méditerranéen (Brullo, 2000) (Parolin *et al.*, 2013).

La plante est principalement présente en Algérie, particulièrement dans les garrigues, les rocailles, ainsi que sur les terrains argileux et peu humides. (Ait Youssef, 2006).

On peut la trouver dans les collines, les zones humides et les bordures des routes. Cette plante affectionne particulièrement les sols secs et calcaires. (Baytop, 1984) (Wenqiao *et al.*, 2004)



Figure 2: carte géographique de *L'Inula* (Benyahia, 2014).

1.5. Utilisation traditionnelle et médicinale d'*Inula viscosa*.L

Dans la médecine traditionnelle, l'*Inula viscosa* a une longue histoire d'utilisation pour traiter une gamme variée de maux, comprenant le diabète, la bronchite, la diarrhée, les rhumatismes et les blessures. (Kheyar-Kraouche N, *et al.*, 2023).

Les propriétés médicinales de certaines variétés d'*Inula* sont exploitées dans les pratiques médicales traditionnelles à travers le globe. En raison de leurs diverses activités biologiques telles que leur potentiel anticancéreux, antibactérien, hépatoprotecteur, cytotoxique et anti-inflammatoire, ces taxons d'*Inula* sont souvent valorisés dans le domaine de la médecine traditionnelle. (Zhao *et al.*, 2006). *I. viscosa* est utilisé pour traiter les troubles gastroduodénaux (Chahmi *et al.*, 2015) et les troubles intestinaux (Parolin *et al.*, 2014). Des maladies du système urinaire (Baba Aissa F, 2000).

Tableau 2: Utilisation traditionnelle d'*Inula viscosa* (A Bouyahya *et al.*, 2018)

Partie utilisée	Mode de préparation	Maladies traitées
Feuilles	Cataplasme	Les abcès, la gale, les dermatoses, les ulcères, les gerçures et comme cicatrisants des plaies cutanées
Racine	Décoction	L'hypertension, la tuberculose, les affections poitrinaires, les infections respiratoires et bronchiques
Partie aérienne	Décoction	Le diabète et les pathologies cardiovasculaires
Partie aérienne	Décoction	Les allergies, l'asthme et l'inflammation
Feuilles et tiges	Décoction , infusion et en poudre	Les maladies cardiovasculaires, le diabète et les pathologies du système digestif
Feuilles	Cataplasme	Les pathologies gastro-intestinales
Fleurs et racines	Décoction et en poudre	Le diabète, les maladies digestives, le cancer et les maladies de la peau
Racine	–	L'hypertension
Feuilles	Décoction	Antidiarrhéique et contre la fièvre typhoïde

1.6. Composition chimique d'*Inula viscosa.L*

Tableau 3: Compositions chimiques d'huiles essentielles de *I. Viscose* (Imad Eddine Haoui *et al.*, 2016)

No.	RI	Component	Relative content (%)	
			December 2009	June 2010
1	1574	Caryophyllene oxide	t	0.11
2	1594	Fokienol	-	0.56
3	1889	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	0.10	-
4	1910	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	-	1.29
5	1922	Eudesma-3,11(13)-dien-12-oic acid	1.82	22.13
6	2020	C ₁₅ H ₂₀ O ₄	0.67	-
7	2414	1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester	88.58	73.13
8	2427	NI (phtalide compound)	1.73	-
		Oxygenated Sesquiterpenes	02.59	24.09
		Phtalides	90.31	73.13
		Total	92.90	97.22
		Oil yield (% , w/w)	3.213	6.540

1.7.2. Les métabolites secondaires d'*Inula viscosa.L*

Les plantes sont caractérisées par la production de deux groupes de métabolites :

1.7.2.1. Les métabolites primaires

- ils ont un rôle essentiel pour le métabolisme et le développement végétal et y assurer sa survie
- se retrouvent dans toutes les espèces (les glucides, les lipides, les protéines et les acides nucléiques) (Hopkins, 2003)

1.7.2.2. Les métabolites secondaires

Sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques ou améliorent l'efficacité de reproduction. Ils sont différents dans les différentes espèces

L'espèce *Inula viscosa* L. est riche en métabolites secondaires dans les parties aériennes. Elle est abondante en composés volatils, notamment des terpénoïdes (Cafarchia *et al.*, 2002). De

plus, elle renferme une quantité significative d'acides phénoliques, comme observé par (Gokbulut *et al.*, 2013), ainsi que des flavonoïdes (Talib et Mahasneh, 2010).

Tableau 4: la présence de métabolites secondaires dans *Inula Viscosa* (Abdelouahid Laftouhi *et al.*, 2023)

Chimique composés	E	C	ET
Coumarines	++	+	+++
Flavonoïdes	+++	++	+++
Tanins	++	++	+++
Saponosides	+++	++	+++
Alcaloïdes	+++	+++	+++

Le tableau montre que la fréquence des métabolites secondaires d'*Inula Viscosa* varie d'un solvant d'extraction à l'autre.

E= Éthéré ; C = chloroformique ; ET= éthanolique ; (+++) : Fortement présent ; (++) : Modérément présent ; (+): Faiblement présent.

1.7. Activités biologiques

1.7.1. Effet antifongique

Les recherches effectuées sur divers extraits de *Inule viscosa* ont révélé une activité biologique variable contre différentes souches fongiques, principalement dans des systèmes agricoles à petite échelle où l'utilisation de fongicides synthétiques n'est pas économiquement viable (Tegege et Pretorius, 2007).

1.7.2. Effet antibactérien

Les investigations réalisées sur les divers extraits de cette plante ont démontré une activité biologique variable à l'égard de diverses souches bactériennes (Bssaibis *et al.*, 2007). Extrait méthanolique et d'acétate d'éthyle de la partie aérienne Inhibent de plusieurs souches bactériennes, avec des valeurs de concentration minimal inhibitrice qui atteignent 0,07 mg/ml pour l'extrait à l'acétate d'éthyle contre *Orphyromonas gingivalis*. (A Bouyahya *et al.*, 2018).

1.7.3. Effet cytotoxiques et génotoxiques

Les extraits de feuilles de *I. viscosa* ont été étudiés pour leur effet cytotoxique et génotoxique sur les cellules du méristème des racines d'*Allium cepa* (Aşkin Çelik et Aslantürk, 2010). Ainsi que l'extrait aqueux des feuilles induire de la formation des aberrations chromosomiques et nucléaires chez les cellules de la racine d'*Allium cepa*. (A Bouyahya *et al.*, 2018)

1.7.4. Effet insecticide

Inula viscosa est réputée pour son efficacité en tant qu'"insecticide végétal" contre la mouche de l'olivier. Des observations effectuées en Grèce ont mis en évidence qu'une fois que l'*Inula* a été arrachée dans une oliveraie "rénovée", cela a été suivi par une attaque de la mouche de l'olivier. Ces observations confirment la relation bien connue entre l'Inule et l'olivier, comme cela était déjà mentionné par les anciens, comme en témoigne le terme corse "Pecit". (Bssaibis *et al.*, 2009).

1.7.5. Effet herbicide

Inule visqueuse est couramment employée comme un herbicide naturel en raison de son effet allélopathique et de sa capacité à diminuer la germination et l'émergence de plusieurs mauvaises herbes telles que le *Raphanus sativus*, le *Peganum harmala* et le *Silybum marianum* (Omezzine *et al.*, 2011).

1.7.6. Effet anti tumorale

L'extrait éthanolique et l'extrait méthanolique des fleurs d'*Inula viscosa* inhibent de différents lignées tumorales (A Bouyahya *et al.*, 2018).

1.7.7. Effet antihypertensive

L'extrait aqueux des feuilles d'*inula viscosa* prévient l'hypertension (A Bouyahya *et al.*, 2018).

2. Toxicité

2.1. Définition

La toxicité d'une substance se réfère à sa capacité à causer des dommages à un organisme vivant, et cette capacité peut varier en fonction de la dose, de la fréquence, de la durée d'exposition et du moment où les signes cliniques apparaissent. Avant qu'une substance ne soit mise sur le marché, qu'il s'agisse d'un médicament ou d'un produit chimique, elle doit passer par trois types d'essais pour évaluer son potentiel nocif. (Ayoub Bensakhria, 2018)

2.2. Différentes formes de la toxicité

L'Homme est constamment exposé à une toxicité soit aiguë soit subaiguë ou encore chronique (Bismuth *et al.*, 1987).

2.2.1. Toxicité aiguë

Les effets toxiques peuvent se manifester rapidement, voire immédiatement, après une seule prise ou à court terme après plusieurs prises rapprochées. C'est l'analyse qualitative et quantitative des phénomènes toxiques potentiels qui peuvent survenir après l'administration unique de la ou des substances actives contenues dans le médicament. (Ruckebusch, 1981).

2.2.2. Toxicité subaiguë

La toxicité subaiguë se réfère aux effets néfastes résultant de doses répétées qui ne causent pas d'effets toxiques immédiats. Des effets retardés peuvent se manifester en raison de l'accumulation du produit dans les tissus ou par d'autres mécanismes (OCDE, 1979). La substance à tester est administrée quotidiennement à différents niveaux de dosage à plusieurs groupes d'animaux. En règle générale, au moins trois groupes d'essai et un groupe témoin doivent être utilisés (OCDE, 2008).

2.2.3 Toxicité chronique

L'objectif d'une étude de toxicité chronique est de déterminer les effets d'une substance testée sur une espèce de mammifère donnée, suite à une exposition prolongée et répétée (OCDE,1979). La substance testée est administrée quotidiennement à plusieurs groupes d'animaux d'expérimentation à des doses progressives, généralement sur une période de 12 mois. Cette durée est suffisamment longue pour permettre l'apparition des effets de toxicité cumulée, tout en évitant les perturbations dues aux changements liés au vieillissement. (OCDE, 2009).

2.2.4. Toxicité sub-chronique

La toxicité chronique se réfère aux conséquences résultant de l'administration prolongée et à faible dose d'une substance étrangère (xénobiotique). Ces doses sont trop faibles pour induire un effet immédiat, mais leur répétition sur une longue période peut causer des dommages. En recherche, l'administration de ces doses peut s'étendre sur une période de 90 jours, appelée toxicité subchronique, ou dépasser les 90 jours, qualifiée de toxicité chronique (Koudou, D. D ,2019).

2.3. Notion d'effet toxique

L'effet toxique désigne la capacité naturelle d'une substance chimique à causer des dommages nuisibles à un organisme vivant, la rendant ainsi potentiellement dangereuse. Ce risque dépend de plusieurs facteurs, notamment la quantité de substance ingérée, la voie d'absorption, la nature et la sévérité des lésions induites, ainsi que la durée nécessaire pour observer l'apparition de ces lésions (Gilles, 2004).

2.3.4. Relations dose-effet et relation dose-réponse

La relation "dose-effet" décrit la corrélation entre la quantité de substance administrée et les effets observés à l'échelle individuelle. L'augmentation de la dose peut intensifier l'effet ou sa sévérité. Une courbe dose-effet peut être tracée pour l'ensemble de l'organisme, la cellule ou la molécule cible. Certains effets toxiques, tels que la mort ou le développement de cancer, ne suivent pas une progression graduelle ; ils sont plutôt de nature "tout ou rien" (Holmberg *et al.*, 2000). La relation "dose-réponse" désigne la relation entre la dose et le pourcentage d'individus présentant un effet spécifique. Lorsque la dose augmente, un plus grand nombre d'individus sont affectés dans la population exposée (Holmberg *et al.*, 2000).

2.3.5. Relation entre la concentration (dose) et effet

Pour évaluer la toxicité (aiguë) d'une substance, on établit des relations quantitatives dose-effet (D/F), qui, à travers une large gamme de concentrations, reflètent la relation entre la concentration efficace de la substance et l'intensité ou la fréquence de l'effet examiné (généralement représentée graphiquement). On peut ainsi obtenir des indicateurs distinctifs, tels que les valeurs de la DL50. Les courbes D/F typiques sont établies de manière linéaire par transformation logit ou probit. Plus l'incertitude associée à la courbe D/F est grande, plus l'intervalle de confiance dans lequel se situe le paramètre estimé avec une probabilité de 95 % s'élargit. À partir de cet intervalle de confiance de 95 %, on peut déterminer la valeur de la dose correspondante à l'intersection. (Franz-Xavier Reichl *et al.*, 2010).

2.4. Définition de la dose létale 50 (DL50)

Le terme toxicité orale aiguë est plus souvent utilisé en liaison avec les déterminations de la létalité et de la DL50. La DL50 est définie comme la dose déterminée statistiquement qui, lorsqu'elle est administrée dans un test de toxicité aiguë, est susceptible de causer la mort de 50% des animaux traités sur une période donnée (Oliver, 1986).

La dose létale 50% ou DL50, est la quantité de produit, exprimée en mg/kg de poids corporel qui provoque la mort de 50% des animaux d'un lot homogène quant à la race, au sexe, à l'âge et au poids dans un délai conventionnel généralement court, fixé au minimum à 7 jours et au maximum à 14 jours.

3. Toxicité aiguë et subaiguë des extraits d'*Inula viscosa*

D'après **Manal A. Abbas et al., 2017** *Inula viscosa* (Asteraceae) est une plante méditerranéenne vivace à usage courant en médecine traditionnelle, mais ses effets toxiques restent peu étudiés. Leur recherche vise à évaluer ces effets, en particulier sur le système reproducteur des rats mâles. Pour cela, ils ont administré un extrait d'acétone riche en flavonoïdes d'*I. viscosa* à des rats mâles matures par voie intrapéritonéale pendant 60 jours. De plus, une étude de fertilité sur une génération a été menée pour détecter d'éventuels effets tératogènes. Les résultats indiquent qu'aucune différence significative n'a été observée dans le nombre de spermatozoïdes, leur morphologie, le taux de testostérone sérique, ou le nombre et le poids des nouveau-nés. Aucun défaut morphologique n'a été constaté chez les nouveau-nés des groupes traités et témoins. Les analyses histologiques ont révélé une spermatogenèse normale et une architecture saine de la prostate, du foie et des reins, bien que des altérations aient été observées dans les vésicules séminales. En conclusion, notre étude suggère que l'extrait d'*I. viscosa* ne présente pas d'effets toxiques chez les rats mâles.

D'après **Ouahchia Célia et al., 2017**. L'étude de la toxicité des extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs d'*Inula viscosa* n'a pas montré de signes de toxicité aiguë ou subaiguë aux doses étudiées. Lorsqu'administrés par voie orale chez les souris, les extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs d'*Inula viscosa* L. ne présentent aucune toxicité aiguë aux doses étudiées. De plus, aucune toxicité subaiguë n'a été observée chez les rats suite à l'administration de l'extrait méthanolique des feuilles aux doses testées. Cependant, il serait pertinent de prolonger la durée d'administration de l'extrait méthanolique des fleurs afin de détecter d'éventuels effets sur les reins. Une étude histologique des organes, notamment des foies et des reins, à une dose de 800 mg/kg n'a révélé aucun signe de toxicité liée aux extraits méthanoliques. Cependant, il est recommandé d'explorer la toxicité chronique de ces extraits à des doses plus élevées, ainsi que la toxicité des extraits aqueux et apolaires (n-hexane).

Chapitre II

Matériel et méthodes



Figure 4: les feuilles d'*Inula viscosa*

1.2. Le rinçage

Après les avoir débarrassé des impuretés (Fig. 5) nous avons rincés les feuilles dans 03 bains de l'eau distillée (Fig. 6) :

On Remplit trois grands récipients avec de l'eau distillée, Puis on plonge délicatement la plante dans le premier bain (Fig. 7), les feuilles sont complètement submergées. Une fois le rinçage terminé, on récupère délicatement les feuilles du récipient pour les égoutter. On répète les mêmes étapes pour le deuxième et le troisième bain.

La durée du rinçage dans chaque bain ne doit pas dépasser quelques secondes à une minute maximum pour éviter de perdre les métabolites secondaires de la plante.



Figure 5: le tri les feuilles



Figure 6: Le bain de l'eau distillée



Figure 7: Plonger les feuilles dans le bain de l'eau distillée

1.3. Le broyage

Les feuilles de la plante fraîche ont été coupées en petits morceaux et broyées, à l'aide d'un mortier, (Fig.8) puis écrasées avec une pression uniforme pour extraire le liquide des feuilles.



Figure 8: Broyage des feuilles

1.4. La filtration

Le broyat est récupéré puis filtré à l'aide d'une compresse stérile dans un bécher (Fig.9)



Figure 9: filtration de broyat



Figure 10: Le filtrat



Figure 11: Les flacons opaques

1.5. Séchage

Le filtrat est versé dans des boîtes de pétri avant de les placer dans l'étuve à la température de 30°C (fig.12), a fin de déshydrater et éliminer l'excès d'eau.



Figure 12: L'extrait après le séchage

1.6. Stockage et conservation

L'extrait brut obtenu a été conservé soigneusement dans des flacons en verre hermétiquement fermés et opaque afin de protéger les métabolites contre d'éventuelles réactions pouvant résulter à leur altération. Les flacons ont été placés dans le réfrigérateur durant toute la période de l'utilisation.

2. Détermination du rendement

Le rendement désigne la masse de l'extrait obtenu, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction.

3. Screening phytochimique

Le screening phytochimique est un ensemble de méthodes, de techniques de préparation et d'analyses des substances organiques naturelles de la plante. Ces techniques permettent de détecter la présence des produits appartenant à des classes de composés ordinairement et physiologiquement actifs qui sont les composés phénoliques.

3.1. Alcaloïdes

10 g de poudre végétale séchée ont été introduits dans un erlenmeyer de 250 ml, il a été ajouté 50 ml de H₂SO₄ à 10 %. Après agitation pendant 30 minutes, une macération fut réalisée pendant 24 heures à la température du laboratoire, puis passage à la filtration sur papier filtre. Ensuite, le filtrat est complété à 50 ml avec de l'eau distillée. Il a été introduit 1 ml de filtrat

dans un tube à essais puis on ajoute 5 gouttes de réactif de Mayer. La présence d'alcaloïdes est indiquée par la formation d'un précipité blanc jaunâtre (**Edeoga et al.,2005**).

3.2. Tanin

Dans un Erlenmeyer, 5 g de poudre ont été dispersés dans 100 ml d'eau bouillante. Après infusion pendant 15 mn, une filtration fut réalisée, puis le filtrat fut complété à 100 ml avec de l'eau distillée. Après 5 ml d'infusé à 5 % a été introduit dans un tube à essais, puis 1 ml de solution aqueuse de FeCl₃ à 1 % fut ajouté. En présence de tanin, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noir (**Edeoga et al., 2005**).

3.3. Flavonoïdes

10g de la poudre sèche ont été macérés dans 150 ml d'HCl dilué à 1% pendant 24h, une filtration a été réalisée et le test suivant fut réalisé : Prélèvement de 10 ml du filtrat, qui a été rendu basique par l'ajout du NH₄OH à (10%) en utilisant le pH mètre. Un test positif est révélé par l'apparition d'une couleur jaune dans la partie supérieure de tube à essai (**Edeoga et al., 2005**).

3. 4. Saponosides

Il a été porté à ébullition 100 ml d'eau distillée dans un erlenmeyer de 250 ml puis 1g de la poudre fut ajouté ensuite, une ébullition modérée fut maintenue pendant 15 mn. Après filtration, le filtrat a été ajusté à 100 ml. 1ml du décocté à 1 % préparé a été ajouté dans un tube à essais, le volume fut ajusté à 10ml avec de l'eau distillée. Ensuite, une agitation du tube fut réalisée. Pour confirmer la présence de saponosides, il faudrait qu'une mousse apparaisse après avoir laissé au repos pendant 15 minutes le tube à essais (**Karumi et al., 2004**).

3. 5. Composés réducteurs

5 ml de décocté aqueux à 10% a été introduit dans un bécher de 100ml, une évaporation à sec fut réalisée au bain-marie, puis ajout de 1 ml de réactif de Fehling (0,5 ml de réactif A et 0,5 ml de réactif B) La présence de composés réducteurs est indiquée par la formation d'un précipité rouge brique (**Karumi et al.,2004**).

3. 6. Oses et holosides

Il a été introduit 5 ml de décocté aqueux à 10% obtenu dans un bécher de 100ml, une évaporation à sec au bain-marie fut réalisée, il fut ajouté 2 à 3 gouttes de H₂SO₄ (99%) concentré et après 5 minutes, il fut additionné 03 à 04 gouttes d'éthanol. Le développement d'une coloration rouge révèle la présence d'oses et holosides (**Karumi et al., 2004**).

3.1.7. Mucilages

1 ml de décocté à 10 % a été introduit dans un tube à essai et il fut ajouté 5 ml d'éthanol absolu. Après une dizaine de minutes, l'obtention d'un précipité floconneux par mélange, indique la présence de mucilages (Karumi *et al.*, 2004).

4. Évaluation de la toxicité

La présente étude a été réalisée sur des souris femelle au nombre de 35 âgées de 6 à 8 semaines pesant ($23,3 \pm 39,4$) g provenant tous de L'institut Pasteur d'Alger.

Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs largement utilisés dans divers domaines de la recherche expérimentale. Ces animaux ont été élevés au sein de l'animalerie de l'Université 08 mai 1945 de Guelma, Les souris étaient logées dans des cages métalliques avec accès libres à l'eau et à la nourriture à une température ambiante avec un cycle naturel de lumière et d'obscurité.



Figure 13: La souris de laboratoire utilisé.

4.1. Le traitement des animaux

Après une période d'adaptation, les souris sont pesées et marquées avant leur utilisation, puis réparties selon l'homogénéité de leur poids sur 7 lots de 5 souris chacun :

- **Lot 1** : témoins, souris recevant 0.5 ml d'eau distillée per os pendant 14 jours
- **Lot 2** : souris recevant une dose de 400m/K de l'extrait brut *d'inula viscosa* per os pendant 14 jours

- **Lot 3** (lot traité) : souris recevant une dose de 800m/K de l'extrait brut d'*inula viscosa* per os pendant 14 jours
- **Lot 4** (lot traité) : souris recevant une dose de 1200m/K de l'extrait brut d'*inula viscosa* per os pendant 14 jours
- **Lot 5** (lot traité) : souris recevant une dose de 1600m/K de l'extrait brut d'*inula viscosa* per os pendant 14 jours
- **Lot 6** (lot traité) : souris recevant une dose de 2000m/K de l'extrait brut d'*inula viscosa* per os pendant 14 jours
- **Lot 7** (lot traité) : ce groupe de souris ont reçu 8µl de l'intrait d'*inula viscosa* per os pendant 3jours

Les lots ont été contrôlés pendant toute la durée du traitement en notant les différentes perturbations et les décès pendant les 14 jours. Les animaux sont mis en condition favorables de température ambiante à raison de 5 souris par cage avec accès libre en eau et en nourriture.

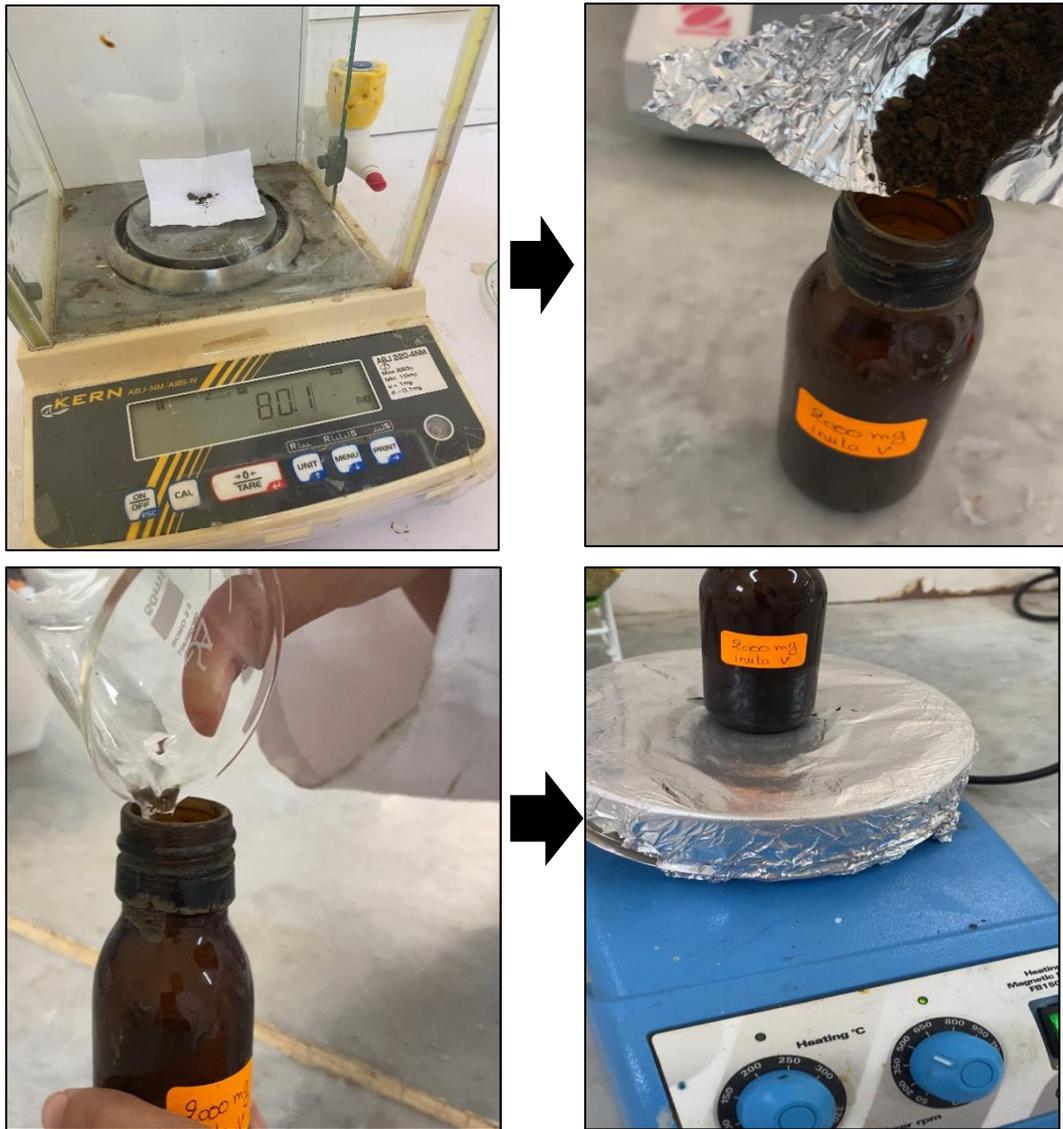


Figure 14: Les étapes de préparation des doses

4.2.2. Le gavage

Le gavage consiste à utiliser une canule permettant l'administration directe de liquide dans l'estomac du rongeur.

Les souris doivent être correctement et fermement immobilisées pendant le gavage oral. Il s'agit de maintenir l'animal, en le prenant par la peau de chaque côté de la base du cou, et d'exercer une légère pression des doigts pour que la position de la tête permette l'alignement de la cavité buccale et du pharynx avec l'œsophage. Cette position crée un passage presque en ligne droite de la bouche à l'estomac.

Si l'animal ne présente aucun signe d'inconfort (étouffement, toux), libérer le $\frac{1}{4}$ du contenu de la seringue ; vérifier les signes vitaux. Si tout est normal, terminer le gavage en administrant doucement le

reste de la solution contenue dans la seringue. Retirer la sonde doucement mais rapidement en prenant soin de ne plus appuyer sur le piston de la seringue.

Observer l'animal pour s'assurer qu'il n'y a ni détresse respiratoire ni reflux, puis le retourner à sa cage.
(Fanny Longpré *et al.*, 2022)



Figure 15: Le processus de gavage

4.2.3. Prélèvement des organes

Après sacrifice des souris, le prélèvement des organes a été fait au niveau de l'animalerie de l'université 08 mai 1945 de Guelma, Après la récupération des foies et poumons ; ils ont été prélevés, lavés dans du tampon phosphate à base de Kcl (pH=7,2 ;0.1M), pesés et puis conservés dans le formol (10%) et placés dans le réfrigérateur pour l'étude histologique.

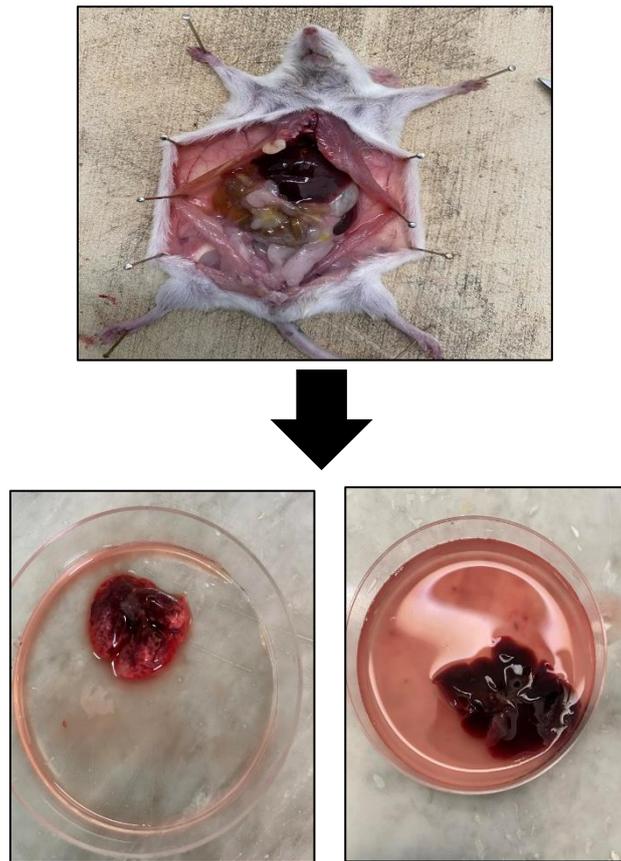


Figure 16: Extraction du foie et poumon de souris

5. Étude histologiques

Les coupes histologiques ont été réalisées au laboratoire d'anatomie pathologique de l'hôpital IBN ZOHR de Guelma, laboratoire de pathologie Dr B.Djahmi et laboratoire d'anatomie et de cythologie pathologique Dr H.Belkhamza.

La technique utilisée comporte les étapes suivantes :

5.1. Fixation des organes

La fixation est réalisée immédiatement après le prélèvement de l'échantillon à observer par un liquide fixateur ou par congélation. Elle permet de l'immobiliser et le conserver dans le temps, dans un état proche du vivant respectant la structure tissulaire. C'est l'étape la plus importante pour produire de bonnes coupes histologiques. Les liquides fixateurs sont très nombreux, nous avons utilisé le Formol ; il est communément employé pour la conservation des tissus animaux ou végétaux.

5.2. Préparation des cassettes

Avant de commencer le processus de déshydratation des pièces devant mettre l'organe en intégrale prélevée dans des cassettes (LEICA) en poly acétal avec couvercle incorporé.

5.3. Déshydratation des échantillons

Il est nécessaire de déshydrater au préalable l'échantillon en remplaçant l'eau qu'il contient par de l'éthanol pour que les pièces soient soigneusement déshydratées avant leur inclusion dans la paraffine.

Ces étapes sont réalisées par un système de préparation d'échantillons automatique par remplissage.

-Mettez les cassettes dans un automate (le SLEE MTP) assure la rapidité du traitement, la flexibilité, la protection de l'environnement et d'économies.

-Facile à l'utiliser comprend 12 stations : dix béciers en plastique ou en verre pour réactifs et solvants de traitement (xylène, éthanol, formol) et deux pots de paraffine en aluminium, il peut transporter jusqu'à 240 cassettes (standard : 120).

-Entièrement programmable grâce à l'écran LCD, et cette technique repose sur le système de rotation des bains durant presque 16 h :40 min.

5.4. L'inclusion et la réalisation des blocs

Le but de cette opération est de faire pénétrer dans les pièces une substance semi dure :

La paraffine, de façon à créer une homogénéité de consistance favorable pour la coupe tout en respectant l'intégrité des tissus et à rigidifier l'échantillon. Le paraffinage a lieu grâce à une station de paraffinage (SLEE MPS/P1) composé d'un bac thermostat, une zone d'inclusion et une plaque chauffante.

1- Déposer l'organe dans un moule métallique en inox et le remplir avec de la paraffine en appuyant sur le pédale de distribution de paraffine incluse déjà fondue à $T \geq 65^{\circ}\text{C}$ dans la zone d'inclusion qui est sous forme d'un réservoir principal de 6 litres, puis le fixer à l'aide d'une pince métallique en travaillant sur la surface refroidie de $T = -10^{\circ}\text{C}$.

2-Couvrir le moule avec le couvercle de la cassette et le laisser refroidir quelques instants sur la platine réfrigérée dédié à la finalisation d'inclusion à $T = [0 \text{ à } 20^{\circ}\text{C}]$, pour l'obtention des blocs.

3- Les blocs sont conservés au froid jusqu'à la coupe des pièces.

5.5. Coupe des organes

Pour la réalisation de fines coupes histologiques il faut d'abord dégrossir les cassettes pour éliminer l'excès de paraffine avec une épaisseur de 10µm.

1- Après le dégrossissage on doit régler l'épaisseur du microtome (LEICA RM 2125RTS) entre 0,5 et 0,1 µm puis plaçant la cassette dans l'endroit et l'orientation convenable avec le rasoir.

2- Le mouvement remis en marche, à chaque passage de la pièce, il se fait des coupes (0,1-0,5 µm d'épaisseur) qui se collent automatiquement entre autres. On obtient ainsi un ruban découpe.

3- Le ruban fractionné est posé à la surface d'une lame contenant des gouttes d'eau tiède chauffée sur une plaque chauffante ou $T = 60^{\circ}\text{C}$. Laisser la coupe à la surface de l'eau juste le temps nécessaire pour l'aplanir.

4- Avant de placer les lames à l'étuve, égouttez- les brièvement verticalement pour retirer l'excédent d'eau, puis séchées les lames à plat sur la plaque chauffante (SLEE MPS/P1)), et finalement les lames peuvent être rangées dans des portoirs pour lames en positions droite, puis séchées à l'étuve.

5- Généralement, les lames ont été toutes marquées sur leur bord par un stylo à diamant.

5.6. Coloration

Les colorations sont réalisées à l'aide de colorants ne fonctionnant que sur des tissus hydratés. Les lames doivent donc être déparaffinées avant leur réhydratation dans des bains décroissant de l'alcool

1- Déparaffinage des coupes : Mettez le portoir dans une étuve (modèle PANACEA) à $T \in [80 - 100^{\circ}\text{C}]$ pendant 20min.

2- Déshydratation des coupes : Mettez le portoir sorti de l'étuve directement dans un cristalliseur de Xylène entre 10 et 60s. Réalisez un rinçage dans 2bains d'éthanol et l'eau de robinet pour éliminer la trace de paraffine.

3- Coloration au Mayer : Plongez le portoir dans un bain contenant l'hématoxyline de Mayer 8min puis rincez sous l'eau de robinet.

4- Coloration à l'éosine : faire plonger le portoir des lames dans le cristalliseur de l'éosine 8min.

5- Déshydratation : réalisez un 2ème rinçage avec de l'éthanol, xylène-acétone, xylène comme suit : 4 cristalliseurs d'éthanol, 2 xylène-acétone (50% 50%) et 2xylènes.

5.7. Montage

Déposer une goutte d'une solution (Baume d'inclusion) permettant l'adhésion

(EUKITT) sur la lame, et recouvrir d'une lamelle couvre-objet propre et sèche en l'inclinant progressivement de façon que la solution s'étende peu à peu et recouvre la coupe sans emprisonner les bulles d'aires. La solution ne doit pas déborder, la lamelle est adhérente et la préparation prête pour l'observation microscopique.

5.8. Observation au microscope

Les coupes sont observées au microscope optique équipé d'un appareil photographique à différents grossissements.

Chapitre III
Résultats et
Interprétations

1. Rendement de l'extraction

L'extraction d'*Inula viscosa* fraîche permet de déterminer le rendement qui est calculé par la formule suivante et est représenté dans le tableau 5 :

$$R (\%) = (M_{\text{ext}} / M_{\text{ech}}) \times 100$$

M_{ext} : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

M_{ech} : Masse en gramme des feuilles de la plante

Tableau 5: le rendement d'*Inula viscosa*

	Masse du matériel végétal(g)	Masse de l'extrait(g)	Rendement %
Extrait brute d' <i>Inula viscosa</i>	3296,5	75,01	2,27%
L'intrait d' <i>Inula viscosa</i>	232,65	192	82,5%

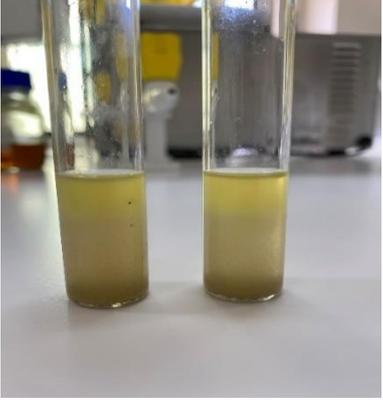
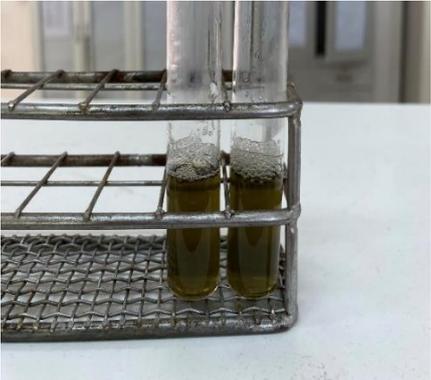
2. Analyse qualitative

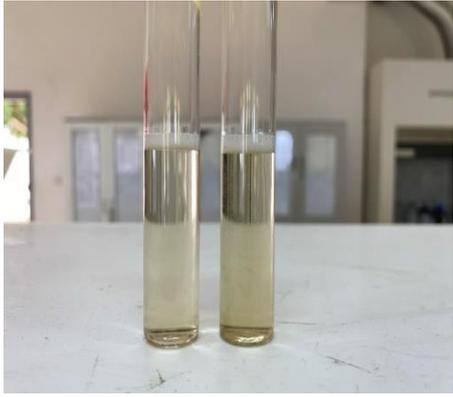
2.1. Screening phytochimique

La technique du screening phytochimique permet d'identifier la présence de métabolites secondaires et le degré de leur présence dans le tissu végétal d'*Inula viscosa*, Il s'agit d'un dosage Qualitatif. On a utilisé des réactifs spécifiques qui interagissent avec les groupes de composés chimiques, propre d'*inula viscosa* mettant en évidence leur présence ou absence. Les résultats sont visibles suite à un changement de couleur spécifique, une précipitation ou par d'autres méthodes d'analyse.

- Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur le matériel végétal broyé d'*Inula viscosa* sont mentionnés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 6: Résultats du screening phytochimique de l'extrait brut d'*Inulaviscosa*

Métabolites secondaires	Observation	Résultats
Alcaloïdes		+++
Tanin		+++
Flavonoïdes		+

Saponosides		+++
Composés réducteurs		-
Oses et holosides		-

Mucilages		++
-----------	---	----

(+++)= Réaction fortement positive

(++)= Réaction moyennement positive

(+)= Réaction très faiblement positive

(-)= Réaction négative

3. Etude de la toxicité aiguë

3.1. Examens cliniques

Tableau 7: Résultats des signes cliniques observés pendant les 03 jours.

		Peau	Poils	Yeux	Le comportement	Mortalité
Lots (7)	Souris(1)	—	—	—	Active et consomme beaucoup de nourriture	—
	Souris(2)	—	—	—	Active et consomme beaucoup	—

					de nourriture	
	Souris(3)	—	—	—	Active et consomme beaucoup de nourriture	—
	Souris(4)	—	—	—	Active et consomme beaucoup de nourriture	—
	Souris(5)	—	—	—	Active et consomme beaucoup de nourriture	—

3.2. Effet sur le poids corporel des animaux

Pendant toute la période de l'expérience, un suivi du poids corporel des animaux a été effectué chaque jour.

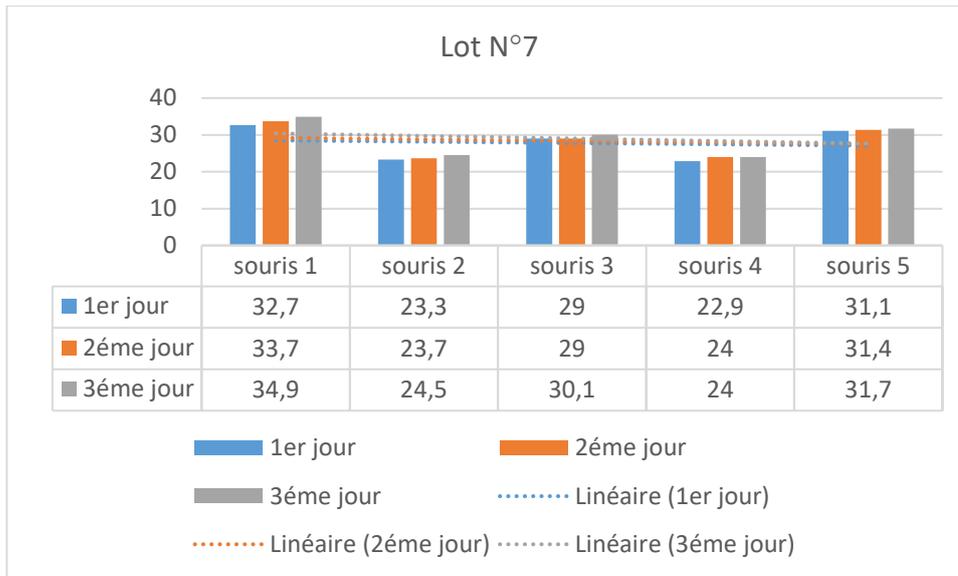


Figure 17: Histogramme du poids corporel des animaux recevant l'intrait

- Les animaux du 7ème lot (traité par l'intrait) ont aussi obtenu une croissance régulière de poids pendant les 3 jours de traitement.

3.3. Test de toxicité de l'extrait

3.3.1. Calcul de la dose létale 50 (DL50)

L'ensemble des animaux utilisés est resté en vie et n'a présenté aucun signe de toxicité tout au long de la période de traitement. Étant donné que la quantité de 8µL de l'intrait n'a produit aucun signe clinique de toxicité.

Dans l'étude de toxicité aiguë représentée dans notre étude, l'intrait d'*Inula viscosa* avec la quantité de 8µl n'a provoqué de mortalité chez les animaux traités.

Tableau 8: résultat de mortalité de lot 7

Doses (mg /kg)	Nombre de souris	Nombre de souris morts	Mortalité %
L'intrait	5	0	0

3.4. Etude histologique des organes

3.4.1. Etude macroscopique

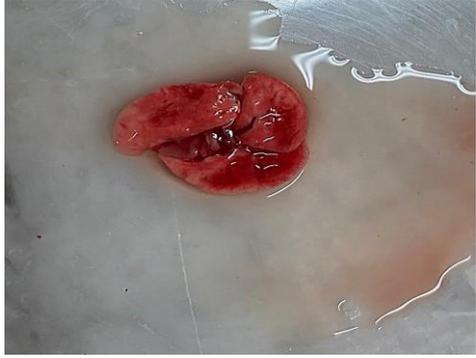
3.4.1.1. L'examen macroscopique du foie des animaux traités par 8µl de l'intrait d'*inula viscosa*

Tableau 9: L'examen macroscopique du foie du lot 07

Le groupe	L'état	Le foie
Lot témoin	Le foie semble lisse, brillant et uniformément coloré en rouge-brun, sans signes de nécrose ni de décoloration.	
Lot des animaux traités par 8µl de l'intrait d'<i>inula viscosa</i>	On peut remarquer une éventuelle réduction de la taille du foie avec changements dans la couleur et la texture du foie.	

3.4.1.2. L'examen macroscopique du poumon des animaux traités par 8µl de l'intrait d'*inula viscosa*

Tableau 10: L'examen macroscopique du poumon de lot 07

Le groupe	L'état	Le poumon
Lot témoin	Le poumon apparaît rose pâle, homogène, avec une texture spongieuse et sans zones de consolidation ou de décoloration.	
Lot des animaux traités par 8µl de l'intrait d'<i>inula viscosa</i>	Changement de couleur du poumon avec des taches foncé.	

3.4.2. Etude microscopique

3.4.2.1 Examen des coupes histologiques de foie des animaux traités par 8µl de l'intrait d'*inula viscosa* observés au microscope optique G x 10

Les résultats de l'étude histologique du foie des animaux traités par 8µl de l'intrait d'*inula viscosa* sont présentés dans les figures suivantes :

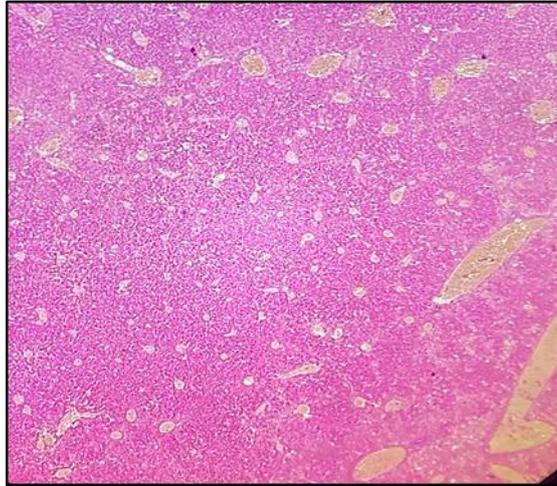


Figure 18: La coupe histologie du tissu hépatique de lot traité par l'intrait (lot 7) (G×10)

L'examen microscopique des coupes histologiques réalisées sur les foies des animaux traités par 8µl de l'intrait d'*inula viscosa* montre une cytolysé hépatique avec des congestions vasculaires et des hémorragies.

3.4.2.2 Examen des coupes histologiques du poumon des animaux traités par 8µl de l'intrait d'*inula viscosa* observés au microscope optique G x 10

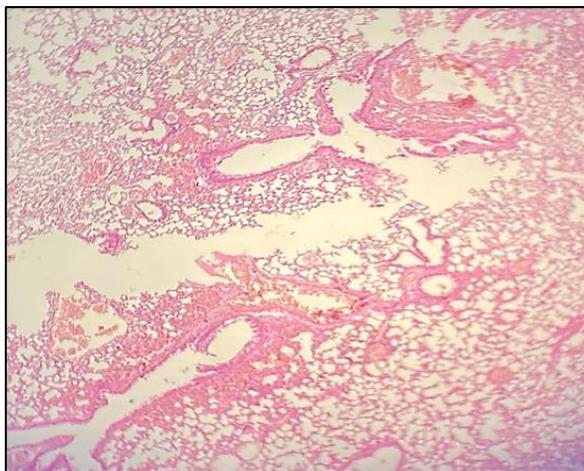


Figure 19: Coupe histologique du poumon du groupe traité par l'intrait (lot 7) (G×4)

L'examen microscopique des coupes histologiques réalisées sur le poumon des animaux traités par 8µl de l'intrait d'*inula viscosa* démontre un poumon emphysémateux, avec hémorragie alvéolaire (inondation alvéolaire). Présence d'hémosidérine avec des lésions d'alvéoles et de bronchioles.

4. Etude de la toxicité subchronique

4.1. Examens cliniques

Tableau 11: Résultats des signes cliniques observés pendant les 14 jours.

		Peau	Poils	Yeux	Le comportement	Mortalité
Lots (2)	Souris(1)	—	—	—	Agité	—
	Souris(2)	—	—	—	Agité	—
	Souris(3)	—	—	—	Agité	Le 3 ^{ème} jour
	Souris(4)	—	—	—	Agité	Le 2 ^{ème} jour
	Souris(5)	—	—	—	Agité	—
Lots (3)	Souris(1)	—	—	—	Agité (+)	Le 2 ^{ème} jour après le traitement
	Souris(2)	Rougeur 	Perte de poils	Male au yeux 	Fatigué	Le 3 ^{ème} jour
	Souris(3)	—	—	—	Agité	—

	Souris(4)	—	—	—	Agité (++)	Le 13 ^{ème} jour
	Souris(5)	—	—	—	Agité	—
Lots (4)	Souris(1)	—	—	—	Agité	—
	Souris(2)	—	—	—	Agité	Le 12 ^{ème} jour
	Souris(3)	—	—	—	Agité(+)	—
	Souris(4)	—	—	—	Agité(++)	—
	Souris(5)	Rougeur	Perte de poils	—	Fatigué et très perturbé	Le 6 ^{ème} jour (pas de traitement depuis le 4 ^{ème} jour)
Lots (5)	Souris(1)	—	—	—	Agité et des vibration	Le 7 ^{ème} jours
	Souris(2)	—	Perte de poils	—	Agité et des vibration	—
	Souris(3)	—	—	—	Agité et des vibration	—

	Souris(4)	—	—	—	Agité et des vibration	—
	Souris(5)	—	—	—	Fatigué	Le 2 ^{ème} jour
Lots (6)	Souris(1)	—	—	—	—	Le premier jour
	Souris(2)	—	Perte de poils	—	Fatigué	Le 6 ^{ème} jour après le traitement
	Souris(3)	Rougeur	—	—	Agité	—
	Souris(4)	—	—	—	Fatigué	Le 6 ^{ème} jours
	Souris(5)	Rougeur	Perte de poils	—	Fatigué	Le 8 ^{ème} jour

4.2. Effet sur le poids corporel des animaux

Pendant toute la période de l'expérience, un suivi du poids corporel des animaux a été effectué chaque jour.

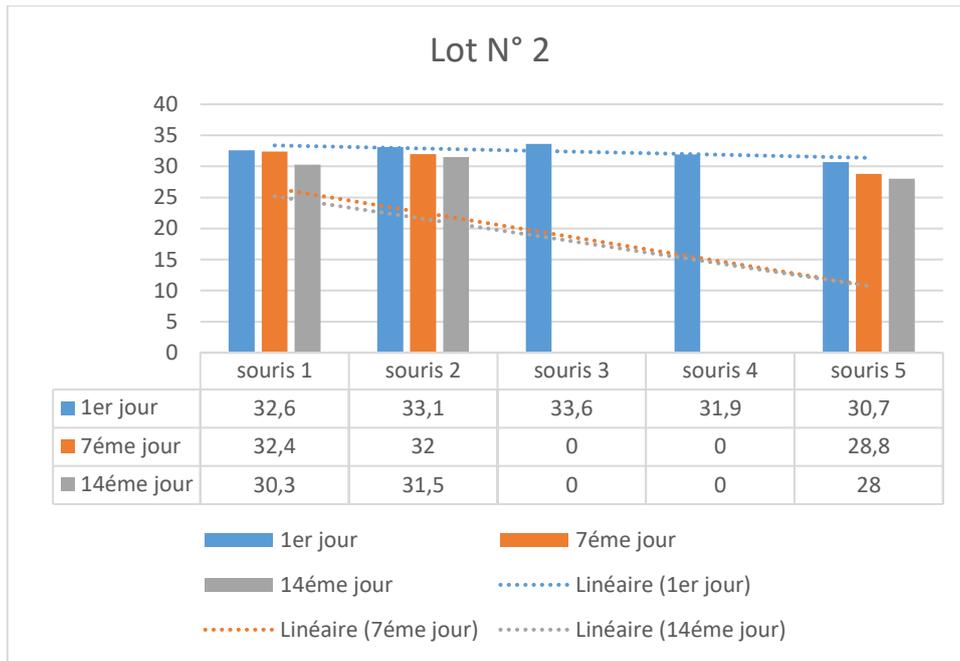


Figure 20: Histogramme du poids corporel des souris recevant la dose des 400mg/kg

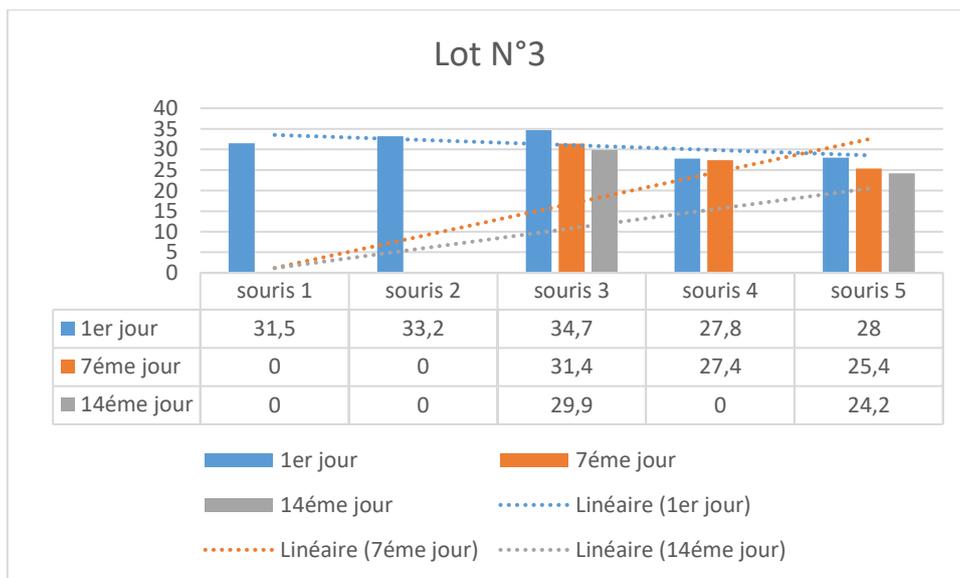


Figure 21: Histogramme du poids corporel des souris recevant la dose des 800mg/kg

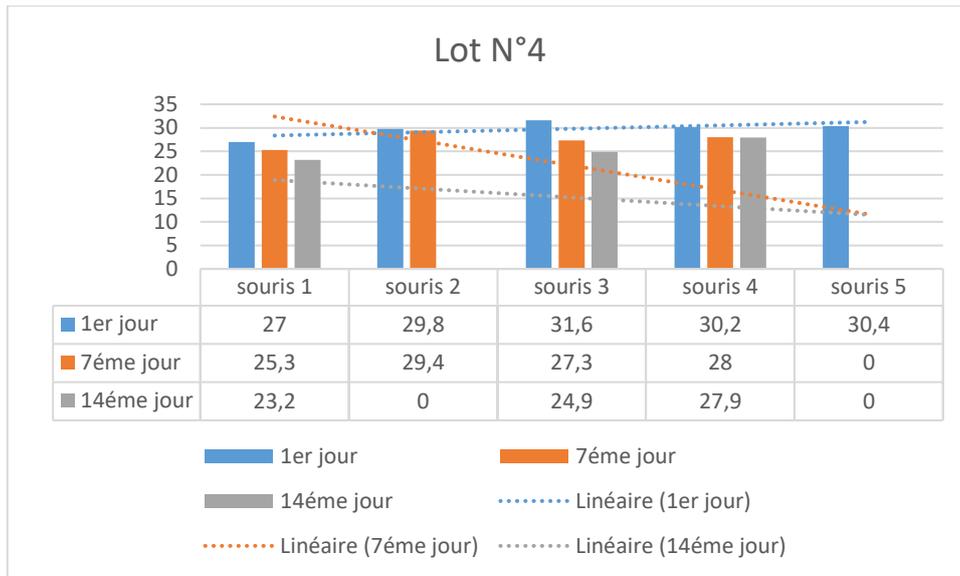


Figure 22: Histogramme du poids corporel des souris recevant la dose des 1200mg/kg

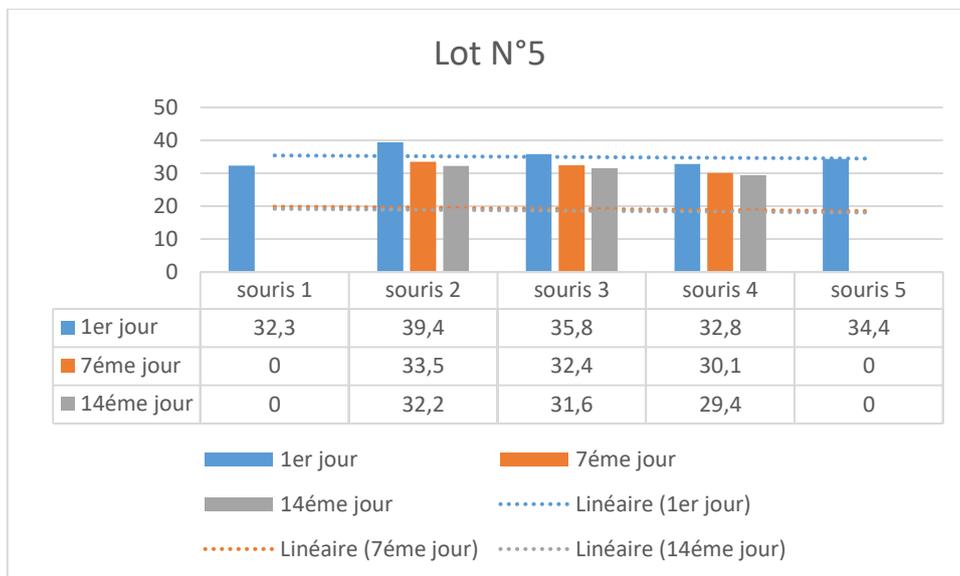


Figure 23: Histogramme du poids corporel des souris recevant la dose des 1600mg/kg

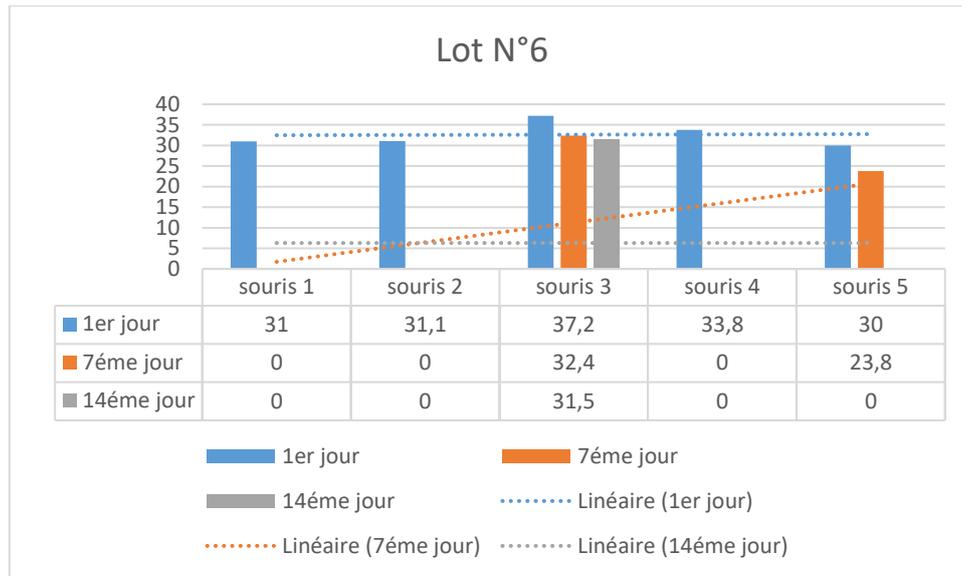


Figure 24: Histogramme du poids corporel des souris recevant la dose des 2000mg/kg

Tableau 12: poids corporel des souris lot témoin.

Lot 01 témoin	1 ^{er} jour	7 ^{ème} jour	14 ^{ème} jour
Souris 1	30,9	31	31
Souris 2	30,3	30,7	31,3
Souris 3	32,1	32	32,1
Souris 4	32,2	32,4	32,6
Souris 5	32,3	32,7	33

- Dans le lot témoin, on a noté une croissance normale et régulière. Le poids moyen noté le premier jour est de 31.56g et de 32g le 14ème jour.
- Par contre, tous les animaux des 5 lots traités ont connu une régression pondérale avec une variation négative pour chaque lot.

4.3. Test de toxicité de l'extrait

L'administration par voie orale des 05 doses de l'extrait d'*Inula viscosa* L provoqué chez les souris des changements plus ou moins importants, avec des signes de toxicité telle qu'une diminution de poids et des changements physiques.

4.3.1. Taux de mortalité

Le taux de mortalité est important pour choisir la dose sécuritaire à l'aide d'un modèle animal « souris » pendant une période définie.

Tableau 13: résultat de mortalité

Doses (mg /kg)	Nombre de souris	Nombre de souris morts	Mortalité %
400(mg/kg)	5	2	40%
800(mg/kg)	5	3	60%
1200(mg/kg)	5	2	40%
1600(mg/kg)	5	2	40%
2000(mg/kg)	5	4	80%

D'après la méthode de Trévan (1927) Le protocole opératoire consiste en l'administration de doses croissantes du produit à examiner à tous les animaux du lot, ensuite, le pourcentage de mortalité est noté. Le pourcentage est ainsi représenté graphiquement en fonction de la dose administrée, une courbe en sigmoïde est ainsi obtenue. C'est la courbe de revan

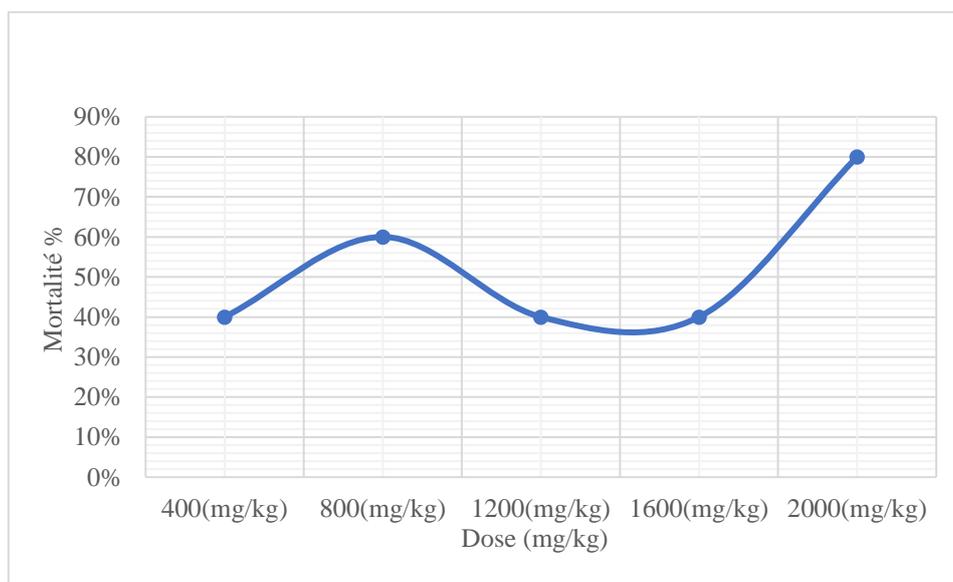


Figure 25: Taux de mortalité des souris en fonction de la dose d'*Inula viscosa*

4.4. Etude histologique des organes

4.4.1. Etude macroscopique

4.4.1.1. L'examen macroscopique du foie des souris traitées par des doses croissantes d'*inula viscosa*

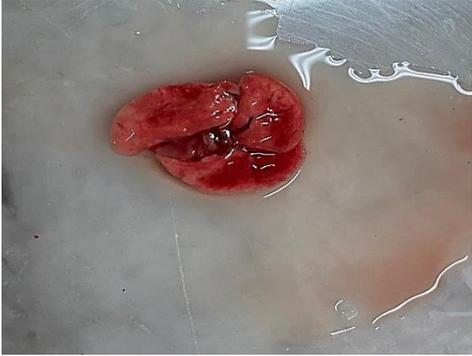
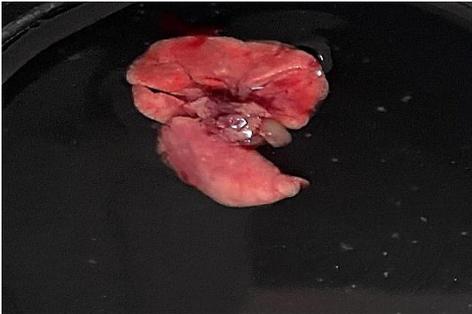
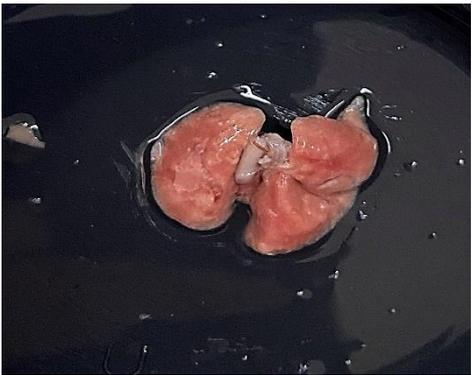
Tableau 14: L'état macroscopique du foie

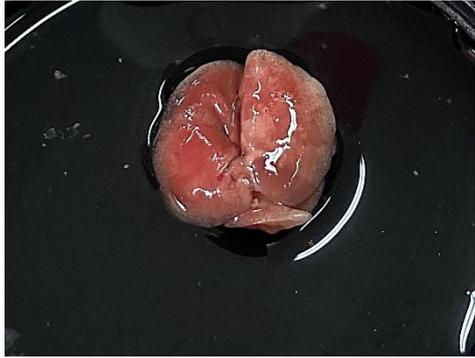
Le groupe	L'état	Le foie
Lot Témoin	Le foie semble lisse, brillant et uniformément coloré en rouge-brun, sans signes de nécrose ni de décoloration.	
Lot des souris recevant la dose des 400mg/kg	Le foie peut sembler normal, sans changements visibles macroscopiques.	
Lot des souris recevant la dose des 800mg/kg	Légères variations possibles en termes de couleur ou de texture, mais globalement normal.	

<p>Lot souris recevant la dose des 1200mg/kg</p>	<p>Changements subtils, légères zones de pâleur</p>	
<p>Lot des souris recevant la dose des 1600mg/kg</p>	<p>Zones de pâleur plus prononcées, possible hétérogénéité de la texture</p>	
<p>Lot des souris recevant la dose des 2000mg/kg</p>	<p>Changements macroscopiques significatifs, zones de décoloration</p>	

4.4.4.2. L'examen macroscopique du foie des souris traitées par des doses croissantes d'*inula viscosa*

Tableau 15: L'état macroscopique du poumon

Le groupe	L'état	Le poumon
<p>Lot Témoin</p>	<p>Le poumon apparaît rose pâle, homogène, avec une texture spongieuse et sans zones de consolidation ou de décoloration.</p>	
<p>Lot des souris recevant la dose des 400mg/kg</p>	<p>Le poumon peut paraître normal, sans modifications macroscopiques visibles.</p>	
<p>Lot des souris recevant la dose des 800mg/kg</p>	<p>Légères variations possibles en termes de couleur ou de ture, mais globalement normal.</p>	

<p>Lot des souris recevant la dose des 1200mg/kg</p>	<p>Des changements subtils sont observés, avec de possibles légères zones de pâleur ou de congestion.</p>	
<p>Lot des souris recevant la dose des 1600mg/kg</p>	<p>Des zones de pâleur plus marquées sont notées, avec une éventuelle texture plus hétérogène et une légère consolidation.</p>	
<p>Lot des souris recevant la dose des 2000mg/kg</p>	<p>Des altérations macroscopiques significatives sont observées, incluant des zones de décoloration et de nécrose.</p>	

4.4.2. Etude microscopique

Dans le but d'évaluer l'effet de l'extrait brut d'*Inula viscosa L*, nous avons réalisé des coupes histologiques au niveau du foie et poumon, chez tous les groupes des souris.

L'examen histologique est conçu dans le but de compléter nos résultats précédents.

4.4.2.1. Examen des coupes histologiques du foie des différents groupes observés au microscope optique G x 10

Les résultats de l'étude histologique de foie des différents groupes sont présentés dans les figures suivantes :

1) Examen des coupes histologiques du foie de groupe témoin

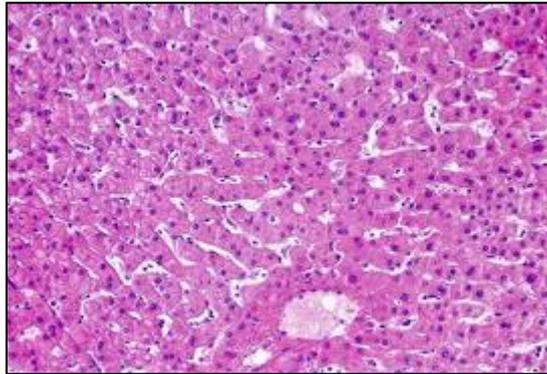


Figure 26: Coupe histologique du tissu hépatique du groupe Témoin. (G×10)

La coloration des coupes de foie des souris saines montre une structure hépatique normale avec des lobules hépatiques, unités structurales et fonctionnelles du foie.

2) La coupe histologique du foie des souris recevant 400mg/kg

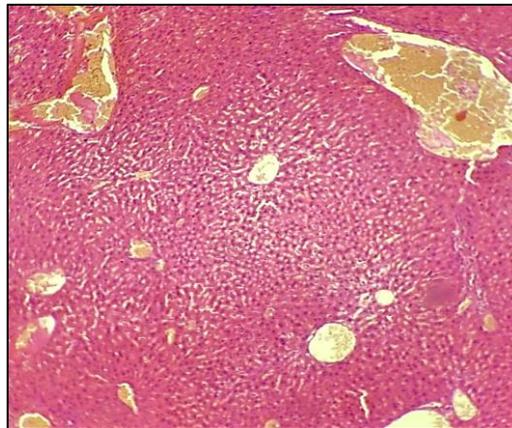


Figure 27: La coupe histologie du tissu hépatique des souris recevant 400mg/kg (G×10)

Ces coupes montrent des infiltrats inflammatoires discrets, de rares petits nodules, les veines Centro-lobulaires dilatées. On a noté l'absence de nécrose.

3) La coupe histologique du foie des souris recevant la dose des 800mg/kg

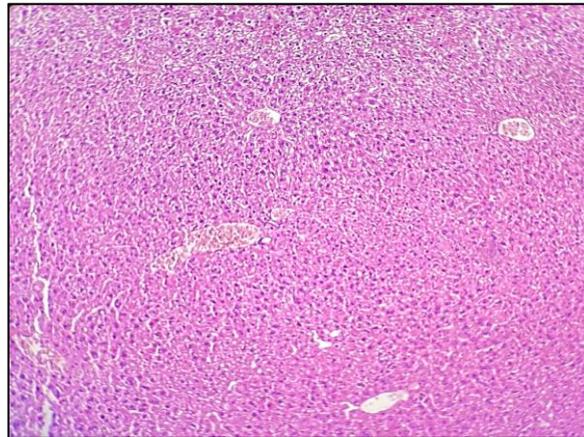


Figure 28: La coupe histologie du tissu hépatique des souris recevant 800mg/kg (G×10)

Cet examen microscopique montre une cytolysse hépatique, un cytoplasme granulaire, infiltrat modéré au sein des lobules, congestion vasculaire, des foyers de stéatose hépatique et une hémorragie.

4) La coupe histologique du foie des souris recevant 1200mg/kg

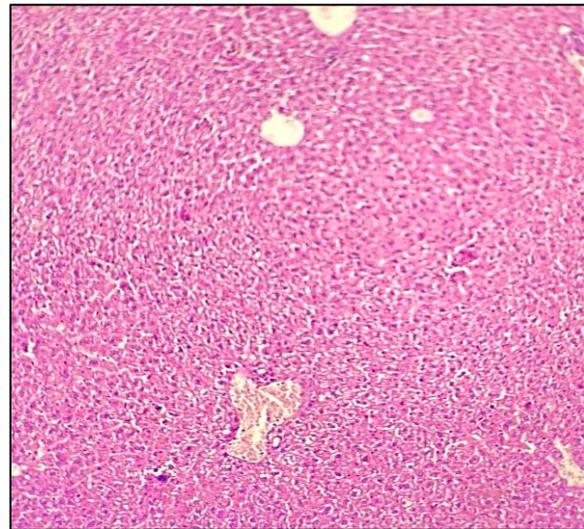


Figure 29: la coupe histologique du tissu hépatique des souris recevant 1200mg/kg (G×10)

La coupe histologique montre un infiltrat inflammatoire diffus, plus intense que chez les souris des lots précédents, essentiellement péri-canaliculaire et pré-vasculaire, la congestion vasculaire, les foyers de stéatose hépatique et une Hémorragie sont aussi notés.

5) La coupe histologique du foie des souris recevant 1600mg/kg

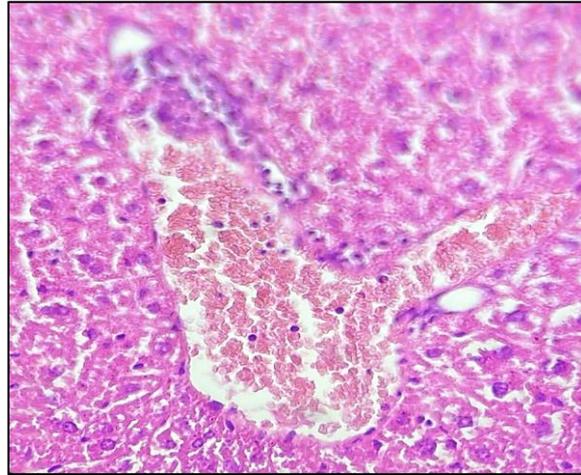


Figure 30: la coupe histologique du tissu hépatique des souris recevant 1600mg/kg (G×10)
Ces coupes montrent un infiltrat inflammatoire diffus, plus intense que chez les souris des précédents lots, essentiellement péri-canaliculaire et pré-vasculaire, congestion vasculaire avec une hémorragie.

6) Les coupes histologiques du foie des souris recevant 2000mg/kg

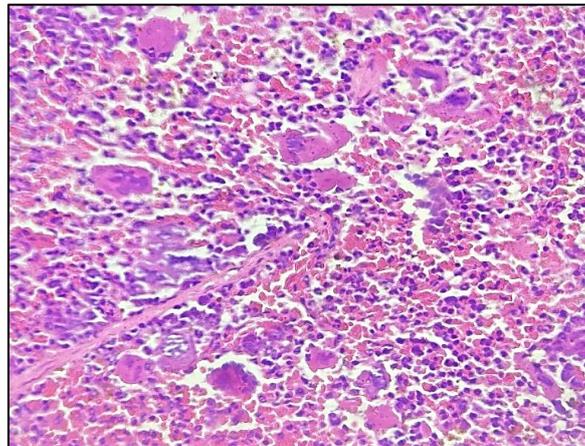


Figure 31: La coupe histologie du tissu hépatique des souris recevant 2000mg/kg (G×10)

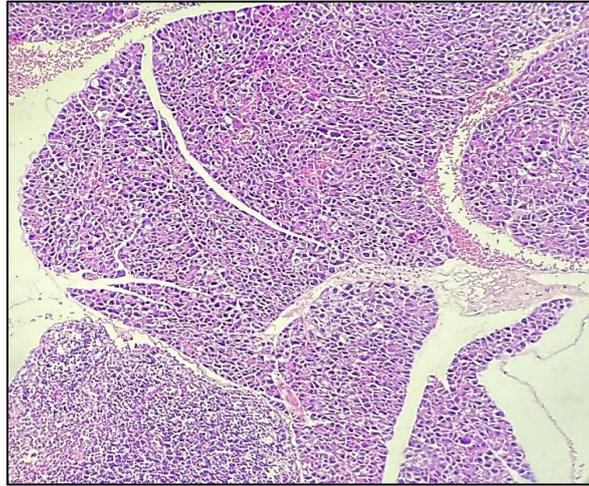


Figure 32: La coupe histologie du tissu hépatique des souris recevant 2000mg/kg (G×10)
Lésion précancéreuse.

La coupe histologique montre un inflammation dense et aiguë avec des territoires de dysplasie hypothécaire. On a noté un lésion précancéreuse, réaction cellule géante multi-nucléaire, foyer d'abcédassions et une hémorragie.

4.4.2.2. Examen des coupes histologiques du poumon des différents groupes observés au microscope optique G x 10

1) Examen des coupes histologiques du poumon de groupe témoin

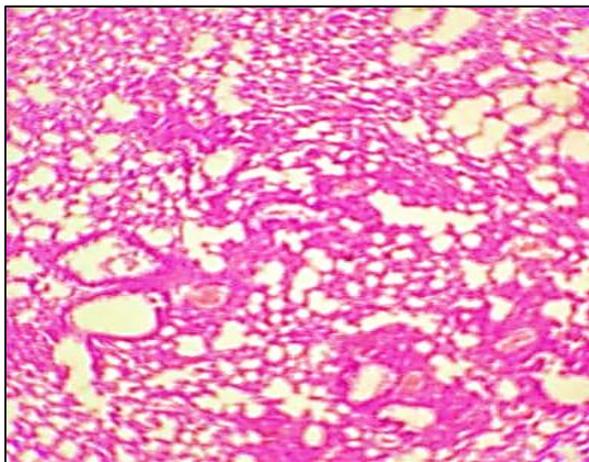


Figure 33: Coupe histologique du poumon du groupe Témoin. (G×10)

L'examen microscopique des coupes histologiques des poumons des souris témoins a montré une structure normale.

2) La coupe histologique du poumon des souris recevant 400mg/kg

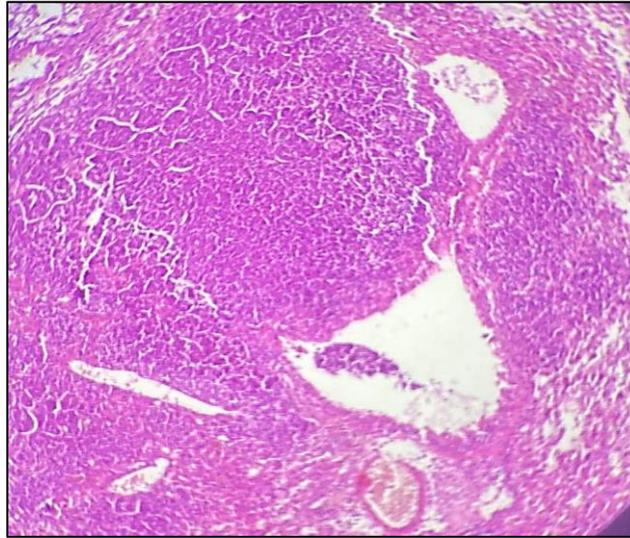


Figure 34: Coupe histologique du poumon des souris recevant 400mg/kg (G×4)

La coupe histologique montre un infiltrat mononuclé en amas pré-bronchiolaire avec présence de bulles d'emphysème on a observé un discrète lésion de préportite et un inflammation subaigüe chronique (lymphocyte / plasmocyte/ nitrophile).

3) La coupe histologique du poumon des souris recevant 800mg/kg

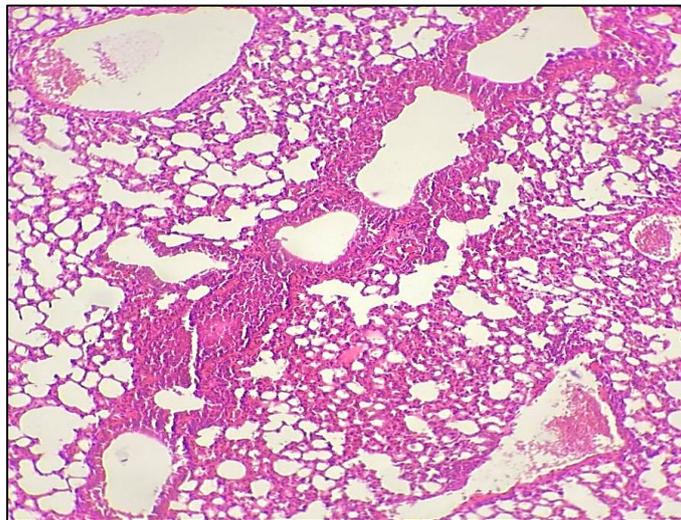


Figure 35: Coupe histologique du poumon des souris recevant 800mg/kg (G×10)

D'après la coupe histologique on a observé un inflammation subaigüe chronique modéré et une inflammation des alvéolites.

4) La coupe histologique du poumon des souris recevant 1200mg/kg

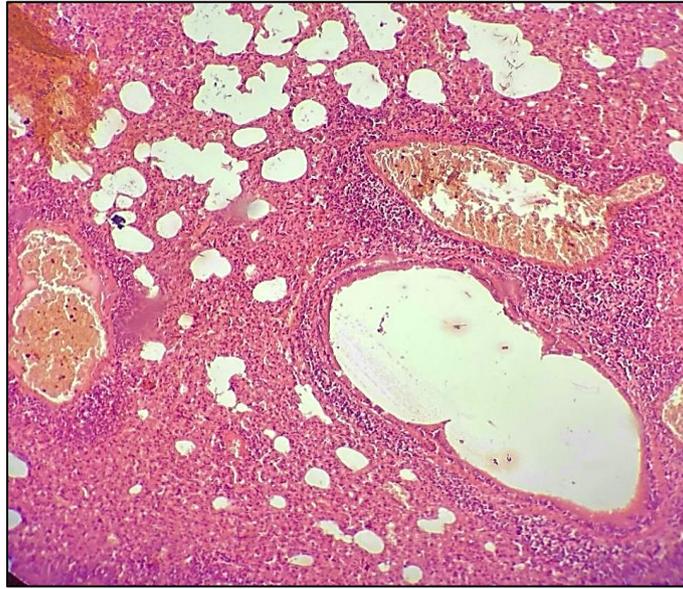


Figure 36: Coupe histologique du poumon des souris recevant 1200mg/kg (G×10)

La coupe histologique montre un poumon emphysémateux, avec hémorragie alvéolaire (inondation alvéolaire), inflammation modérée, infiltrat (lymphocyte / plasmocyte majoritairement mononucléaire/ quelque nitrophile) avec une lésion d'alvéoles et de bronchioles.

5) La coupe histologique du poumon des souris recevant 1600mg/kg

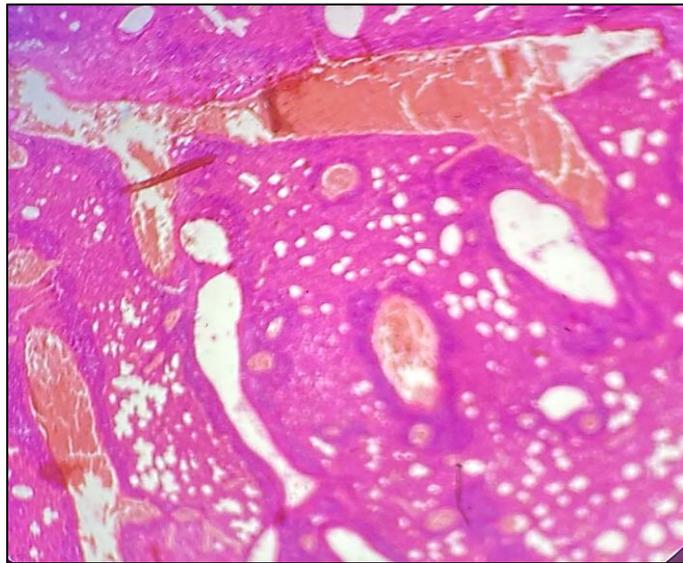


Figure 37: Coupe histologique du poumon des souris recevant 1600mg/kg (G×10)

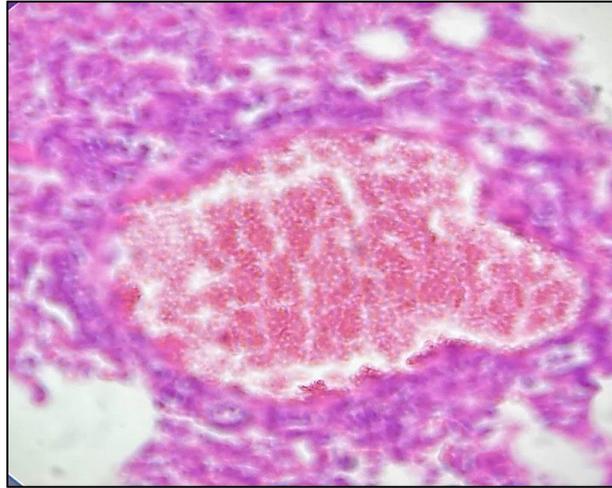


Figure 38: Congestion vasculaire. (G×4)

Ces coupes montrent une inflammation modérée à sévère avec un infiltrat (lymphocyte / plasmocyte majoritairement mononucléaire/ quelque nitrophile/ sidérophages). On a marqué aussi un congestion vasculaire, inflammation des alvéolites et un lésion d'alvéoles et de bronchioles.

6) La coupe histologique du poumon des souris recevant 2000mg/kg

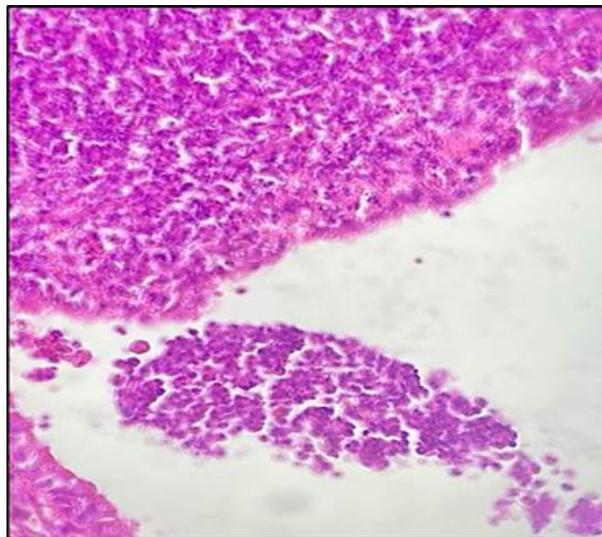


Figure 39: Coupe histologique du poumon des souris recevant 2000mg/kg (Inflammation des alvéolites et des bronchioles) (abcès) (G×40)

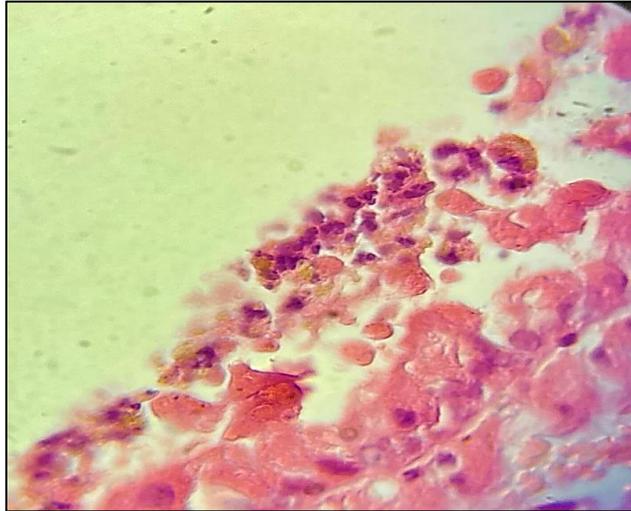


Figure 40: Lésions bronchiolaires (G×100)

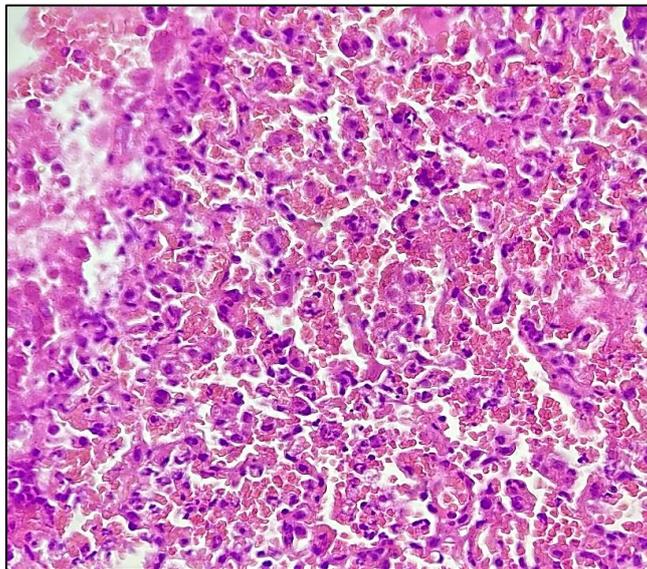


Figure 41: Hémorragie alvéolaire (G×40)

Ces coupes montrent une inflammation aiguë superlative des alvéolites et bronchiolites, infiltrat très dense, des lésions alvéolaires et bronchiolaires avec une hémorragie alvéolaire.

Chapitre IV

Discussion

La plante *Inula viscosa* est largement employée dans la médecine traditionnelle pour traiter diverses affections. De nombreux usages thérapeutiques liés à cette plante (choix des parties utilisées, méthodes d'administration, doses recommandées, etc.) sont documentés dans plusieurs pays à travers le monde. (seca *et al.*, 2014). En effet, elle est utilisée pour ses effets anti-inflammatoires (Al-Dissi *et al.*, 2001 ; Barbetti *et al.*, 1985), antipyrétiques (Lauro et Rolih., 1990), antidiabétiques (yaniv *et al.*, 1987), antiphlogistiques (Lev et Amar, 2000) et pour le traitement de pathologies gastroduodénales (Alarcon *et al.*, 1993). Ces propriétés thérapeutiques sont liées à sa richesse en métabolites secondaires.

1. Le rendement de l'extraction

L'extrait des feuilles d'*Inula viscosa* fraîche nous a permis d'obtenir une poudre marron foncé avec un rendement de 2,27% , ce dernier est modeste en comparaison avec d'autres chercheurs. (Wang *et al.*, 2004) ont enregistré des rendements respectivement de (16.7% à 27.8%). Un rendement de (23.90%, 20.08% et 13.35%) est noté dans le travail des chercheurs Marocains (Chahmi *et al.*, 2015) ; en effet, cette différence dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été faite. Autrement, cette différence peut être due à la nature de la matière végétale (Smith *et al.*, 2001). La quantité varie selon l'organe prélevé, le moment de la récolte et la méthode utilisée. Elle est étroitement liée aux conditions environnementales telles que la pluviométrie, l'altitude, la latitude et le type de sol. Le stockage et l'emballage affectent également le rendement. (Lee *et al.*, 2003).

Ce taux très faible, peut être expliqué par la période de la récolte de notre échantillon frais qui coïncide avec la saison pluvieuse. Cela signifie que la majeure partie de la plante est constituée d'eau.

2. Analyse qualitative

2.1. Screening phytochimique

D'après les résultats obtenus, on constate qu'*Inula viscosa* présente une diversité moléculaire en métabolites secondaires. Cette de la région de GUELMA s'est montrée avec une présence des flavonoïdes, des Tanins totaux, des saponosides et des Alcaloïdes, du Mucilage. Par contre il y a une absence des oses et holosides et composés réducteurs.

Inula viscosa classé étant une espèce à usage anti diabétique et antioxydant vu sa richesse en Flavonoïdes. De plus sa teneur en tanins, en saponosides et en coumarines (Draâ El Mizan plus

que Cap Djenet) (**Benhammou ,2006**) (**Djedioui,2010**) fais de cette plante un antibactérien, un antiviral et un antifongique. Cette Notion est confirmée par **Wang et al (2005)**.

En comparant nos résultats avec ceux obtenus par **Khalil et al (2007)** et **Benyahia (2014)**, sur les feuilles de la même espèce récoltées dans la région Tlemcen en mois de novembre, Il semble que les composants de cette plante partagent des similarités pour certains composés et des différences pour d'autres. Ceci est probablement dû à une biodiversité moléculaire résultant de changements dans l'environnement. Ces variations peuvent également être attribuées à l'âge des plantes au moment de la récolte.

Selon **Ghestenet et al. (2001)**, il est confirmé que les tanins ont tendance à s'accumuler dans les organes végétaux matures. De plus, la saison de récolte et les conditions climatiques peuvent également influencer la concentration des substances bioactives dans les plantes.

3. Evolution pondérale

En suivi de l'évolution pondérale a montré la présence d'une perte en poids chez les animaux traités par l'extrait comparativement aux témoins ; par contre on a une prise en poids chez les animaux traités par l'intrait comparativement aux témoins et les animaux traités par l'extrait. Pareillement, d'autres auteurs ont montré aussi l'effet de l'administration orale des extraits des plantes médicinales sur le poids corporel des animaux (**H. RHIOUANI et al., 2003**). Le changement du poids est utilisé comme un indicateur général des effets indésirables des composés chimiques (**H. LAKMICHY et al., 2011**) (**J. EL HILALY et al., 2004**).

4. Etude de la toxicité aiguë

Le traitement de la souris avec une dose de 8µl de l'intrait d'*Inula viscosa* s'est avéré non toxique.

L'ensemble des animaux utilisés est resté en vie et n'a présentés aucun signe de toxicité tour au long de la période d'observation. Etant donné que la dose utilisée n'a produit aucun signe clinique de toxicité.

Dans l'étude de toxicité aiguë représentée dans notre étude, nos intraits d'*Inula* à la dose de 8µl n'ont provoqué ni signe visibles de toxicité ni de mortalité.

5. Etude de la toxicité sub-chronique

Les plantes médicinales, en particulier, semblent offrir une option importante et peuvent susciter l'intérêt des professionnels de la santé. Cependant, ces derniers ne sont pas toujours enclins à rechercher les données scientifiques nécessaires pour évaluer les avantages et les risques associés. Cette situation peut créer un déséquilibre d'information où les patients peuvent être mieux informés que les professionnels de la santé, ce qui peut entraîner une incompréhension entre les soignants et les patients. (Huet, M.2013).

Inula viscosa L. une plante largement présente dans de nombreux pays méditerranéens, est depuis longtemps un élément central de la médecine traditionnelle en raison de ses multiples bienfaits thérapeutiques. (Susplugas *et al.*,1980).

En effet, dans ce travail, les animaux recevant les doses supérieures à 400 mg / Kg de l'extrait aqueux ont montré des changements de comportements et des signes d'intoxication plus ou moins graves (Perte des poils, changement de comportement, rougeur...). Plusieurs cas de mortalité ont été enregistré depuis la plus faible dose. Au totale, 25 souris femelle ont été traitées par voie orale avec un extrait aqueux à Cinq doses différente et surveillés pendant 14 jours. Sauf 12 souris ont survécu jusqu'à la fin de la période d'observation.

A l'issue du test d'évaluation de la toxicité sub-chronique la DL50 est estimée supérieur à 500 mg / Kg et inférieure à 1800 mg/Kg par voie orale.

6. Influence du traitement sur les variations histologiques

6.1.Au niveau du foie

D'après les résultats interprété dans les études histologiques, on a noté des signes d'hépatotoxicité dans tous les foies des souris des lots traités par l'extraits aqueux et l'intrait (Infiltrat inflammatoire, congestion vasculaire, des foyers de stéatose hépatique, hémorragie ...) avec variation d'intensité d'une dose a une autre.

6.2.Au niveau du poumon

D'après les résultats interprété dans les études histologiques, on a noté des signes d'une toxicité pulmonaire dans tous les poumons des souris des lots traités par l'extraits aqueux et l'intrait (Infiltrat mononuclée en amas pré-bronchiolaire, présence de bulles d'emphysème, inflammation subaigüe chronique, hémorragie, inflammation des alvéolites...) avec variation d'intensité d'une dose à une autre.

- Nos résultats sont en total désaccord avec ceux de **Manal A. Abbas *et al.*,2017** qui ont étudié l'administration par voie orale des extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs d'*Inula viscosa L.*, et ont noté l'absence de toxicité aiguë chez des souris albinos Swiss aux doses 400 mg/kg et 800mg/kg et leur étude histologique des organes (foies et reins) à la dose 800mg/Kg n'a pas montré de signe de toxicité des extraits méthanoliques.
- **OUAHCHIA Célia *et al.*,2017** ont étudié la toxicité de l'extrait d'acétone d'*Inula viscosa*, ils ont noté que la morphologie histologique du foie et des reins est normale contrairement à nos résultats qui indiquent que l'extrait d'*I. viscosa* présente une toxicité hépatique ou rénale remarquable sur les coupes histologiques.
- Cette grande différence peut être expliquée par la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été faite, la nature de l'extrait (aqueux, d'acétone, méthanoïque ...), la répartition géographique et l'espace étudié.
- Par contre on a remarqué une similarité dans la détermination de la dose létale médiane (DL50) avec celui de **OUAHCHIA Célia *et al.*,2017** qu'ils ont montrés que La DL50 de l'extrait acétonique s'est avérée être de 829,5 mg/kg.

Conclusion

Conclusion

Le rôle des plantes dans la médecine traditionnelle est connu depuis très longtemps, la recherche apporte les preuves scientifiques de leur efficacité, mais aussi de leur toxicité reposant sur des données résultantes de l'expérimentation *in vivo* et *in vitro*. Parmi les plantes médicinales traditionnelles il y en a celles qui peuvent être toxiques à des fortes doses ou faibles doses comme elles peuvent être non toxique après administration prolongée.

Notre travail a fait l'objet d'une étude sur l'espèce *Inula viscosa*.L, qui appartient à la famille des Asteraceae, une des familles la plus fréquente dans le règne végétal. Cette étude met en lumière une meilleure utilisation de cette espèce végétale.

L'étude menée a été de contribuer à l'évaluation de la toxicité aiguë de l'intrait et la toxicité sub-chronique de l'extrait brut sur des souris femelles en réalisant des coupes histologiques sur le tissu hépatique et pulmonaire des souris.

A la lumière des résultats obtenus, nous avons conclu :

- La préparation de l'extrait brut des feuilles du *Inula viscosa* nous a permis d'obtenir un rendement de 2,27% c'est un rendement moyennement bon.
- La préparation de l'intrait des feuilles du *Inula viscosa* nous a permis d'obtenir un rendement de 82,5 et c'est un très bon rendement.
- Le screening Phytochimique a révélé plusieurs métabolites secondaires tel que les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes, mucilage et les saponosides. C'est une plante riche en différents métabolites secondaires.
- La dose de 8µl de l'intrait n'a pas montré d'effet toxique sur les tissus étudiés.
- Par contre de l'extrait brute, nous a permis de noter un pourcentage de mortalité moyennement élevés avec des dommages tissulaires, qui pourrait être due aux dose utilisées . En effet la plante utilisée dans cette étude était sous sa forme fraîche, et d'après certaines études, la plante fraîche contient des substances plus au moins toxiques qui disparaissent par séchage.

*Références
bibliographique*

Références bibliographiques

A

- **Abdelouahid LAFTOUHI, Meriem SLIMANI, Mohamed BOUHRIM, Hannou Zerkani, Nouredine ELOUTASSI, Zakia. RAIS, Abdslam TALEB, Mustapha TALEB. (2023)** Ethnobotanical Study and Phytochemical Screening of Some Plants from the Study Area Taounate (North of Morocco), 1883P
- **Ait Youssef M, (2006).** Plantes médicinales de Kabylie, édition ., Ibis Press, Paris :164
- **AIT YOUSSEF M. (2006).** Plantes médicinales de Kabylie, ed. Ibis Press, Paris :164.
- **Alarcon de la Lastra C, Lopez A, Motiva V.(1993).** Gastroprotection
- **Al-Dissi NM, Salhab AS, Al-Hajj HA. (2001).** Effects of Inula viscosa leaf extracts on abortion and implantation in rats. J Ethnopharmacol 77:117–21.
- **Ali-Shtayeh MS, Abu Ghdeib SI (1999)** Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. Mycoses 42 :665–72
- **Aşkin Çelik T. Aslantürk Ö.S. (2010).** Evaluation of Cytotoxicity and Genotoxicity of Inula viscosa Leaf extracts with Allium Test. Journal of Biomedicine and Biotechnology;1-9.
- **Ayoub Bensakhria. (2018)** - Toxicologie Générale - Généralités, formes d'intoxications, Chapitre II, 2018 - analyticaltoxicology.com

B

- **Baba Aissa F. (1991).** Les plantes médicinales en Algérie. Coédition Bouchène et Ad-Diwan, p 11,159.
- **Baba Aissa F. (2000) .** Encyclopédie des plantes utiles .Flore d'Algérie et du Maghreb , substances végétales d'Afrique , d'orient et occident .
- **Bakkara F.A., Benhammou N., et Panovska T.K.(2008).** Biological activities of the essential oil and ethanolic extract of Inula viscosa from the Tlemcen region of Algeria. advances in food sciences, 29 (3)., p (3-139).
- **Barbetti P, Chiappini I, Fardella G, Menghini A. (1985)** A new eudesmane acid from Dittrichia (Inula) viscosa. Planta Med 51 :471.

- **Baytop T. (1984).** Therapy with Medicinal Plants in Turkey. Anal Press, Istambul. P: 167
- **Benhammou N., et Atik Bekkara F. (2005).** Contribution à l'étude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle d'*Inula viscosa*. Mémoire de Master en Chimie. Université de Tlemcen., p(19).
- **Benhammou N. (2006).** Etude des activités antimicrobiennes et antioxydantes des huiles essentielles et des composés phénoliques de *Pistacia lentiscus*, *Pistacia atlantica* et *Inula viscosa* de la région de Tlemcen Magister en biologie, université Aboubekr Belkaid, Faculté des sciences, Département de Biologie, pp.1-145.
- **BENSEGUENI-TOUNSI L. (2001).** Etude in vitro de l'effet antibactérien et antiphlogistique de : *Inula viscosa*-*Lawsonia inermis*- *Asphodelus microcarpus*- *Aloe vera*-*Juniperus oxydrus*, Thèse de Magistère en médecine vétérinaire. Option Biologie Animale, Département de vétérinaire, Faculté des sciences, Université de Constantine.
- **Benyahia ; A. (2014).** Contribution à l'étude photochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales *Inula viscosa* et *Inula montana* Master en chimie ; Molécule Bioactive synthèses et application Tlemcen ; Université Aboubakr Belkaid 2014 ,53p.
- **Benyahia A. (2014).** Contribution à l'étude photochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales *Inula viscosa* et *Inula montana*. Master En Chimie. Université aboubakr belkaid - Tlemcen, 53p
- **Berhail boudoda, H. (2014) .** Etude phytochimique et Etude biologique des espèces *Biscutella raphanifolia*, *Zilla macroptera*, *Inula graveolens* et *Inula viscosa* ; thèse de doctorat université constantine 1 , faculté des sciences exactes , département de chimie
- **Bismuth, C., Baud, F., Fréjaville, P.P., Garnier, R. (1987).** Toxicologie clinique. Paris : Flammarion Médecine Sciences. 956p.
- **Bouyahya, A. Et-Touys, A. Khouchlaa, A. El-Baaboua, A. Benjouad, S. Amzazi, N. Dakka, Y. Bakri. (2018)** Notes ethnobotaniques et phytopharmacologiques sur *Inula viscosa* Volume 16, supplément 1, Décembre 2018 .
- **Brullo S., Marco G. D. (2000).** Taxonomical revision of the genus *Dittrichia* (Asteraceae).

- **Bssaibis F., Gmira N. & Ounine KH. (2007).** Approche floristique, ethnobotanique, phytochimique et activité biologique de *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter. Journée Scientifique «Ressources Naturelles Et Antibiothérapie», Faculté Des Sciences – Kenitra.
- **BssaibisF., GmiraN., Meziane. (2009).** Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* (L.) W Greuter. Industrial, sanitary and environmental microbiology journal; 13 (1) :44-45.

C

- **Cafarchia C, De Laurentis N, Milillo MA. (2002)** Antifungal activity of essential oils from leaves and flowers of *Inula viscosa* (Asteraceae) by Apulian region. *Parassitologia* 44:153–6
- **Chahmi N., Anissi J., Jennan S., Farah A., Sendide K., & El-Hassouni M. (2015).** Antioxidant activities and total phenol content of *Inula viscosa* extracts selected from three regions of Morocco. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(3), 228-233.
- **Chahmi, N., Anissi, J., Jennan, S., Farah, A., Sendide, K., & El Hassouni, M. (2015).**Antioxidantactivities and total phenol content of *Inulaviscosa*aextractsselectedfromthreeregions of Morocco. *Asian Pacific Journal ofTropical Biomedicine*, 5(3), 228-233.
- **Chaou S. (2017).** Caractérisation phytochimique de la partie aérienne de la plante médicinale *Inula viscosa* L. (Asteraceae) de la région de Djinet (Boumerdés). Mémoire de Master en Biochimie Appliquée. Université de Boumerdés., p (3-6).

D

- **De Smet, P. A. (1993).** An introduction to herbal pharmacoepidemiology. *Journal of ethnopharmacology*, 38(2-3), 189-195.
- **Dembélé F. ; Samaké S. ; Togola I. et al. (2021).** Etudes ethnobotanique et phytochimique d'espèces ornementales utilisées au Mali : cas de *Terminalia catappa* (L.) dans le district de Bamako. *IJAR*, 7(6), pp.01-07.

- **Djaoui, L., & Messaoudene, W. (2017).** Exploitation de la filière des quatre (4) plantes médicinales (Fenugrec, Camomille, Eucalyptus, Thym) à des fins thérapeutiques (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- **Djedioui A. (2010).** Evaluation de l'activité hypoglycémisante de l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* : une plante de l'Est Algérien chez le rat avec un diabète induit. Mémoire du magistère. Université Badji Mokhtar-Annaba. 111 p.
- **Dupont, F., Guignard, J.L. (2007).** Abrégés botanique systématique moléculaire. 14^{ème} édition révisée, Masson.

F

- **Fanny Longpré, Nadia Desnoyers, Dorine Gilbert. (2022)** Technique de gavage chez les rongeurs. Université du Québec à Trois-Rivières . PNF-209
- **Fauron R ; Donadieu Y. (1983).** La phytothérapie. Les thérapeutiques différentes. Edition Moline. Page 245.
- **Fournier, P. (1947).** Livre des plantes médicinales et vénéneuses de France. Ed. Lechevalier. Tome 1 : 176-178.
- **Franz-xavier, R. (2010).** Guide pratique de toxicologie pour les professionnels de l'industrie/la santé/ l'environnement 2^{ème} édition. P 6-8-9-12-14-16-20-22.

G

- **Ghalem M. (2014).** Effets antioxydants et anti-inflammatoires des extraits de *Zizyphus lotus* et *Anthyllis vulneraria*. Thèse de Doctorat en Physiologie et Biochimie de la Nutrition. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen, faculté des Sciences de la Nature de la Vie, des sciences de la Terre et de l'Univers, Tlemcen : 160.
- **Ghestman C., Culea M., Cozar O. (2001).** Comparative analysis of some active principles of herb plants by GC/MS- *Talanta*; vol.53; pp. 253-262.
- **Gilles, G. (2004).** Notions de Toxicologie. Québec : Commission de la Santé et de la Sécurité du Travail du Québec. 67 p.
- **Gokbulut A, Ozhan O, Satilmis B, (2013)** Antioxidant and antimicrobial activities, and phenolic compounds of selected *Inula* species from Turkey. *Nat Prod Commun* 8:475–83

- **Gomes C., Lourenc E.L.B., Liuti E. B., Duque A.O., Nihi F., Lourenc A.C., Mendes T.C.,Junior A.G., Dalsenter P. R. (2012).** Evaluation of subchronic toxicity of the hydroethanolic extract of *Tropaeolum majus* in Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology* 142, 481-487.
- **Guignard, J.L. (1994).** *Abrégé Botanique*. 9ème Ed : p 203-204

H

- **H. LAKMICH, F. Z. BAKHTAOUI, C. A. GADHI, A. EZOUBEIRI, Y. EL-JAHIRI, A. EL-MANSOURI, I. ZRARA, & K. LOUTFI. (2011).** Toxicity Profile of the Aqueous Ethanol Root Extract of *Corrigiola telephiifolia* Pourr. (Caryophyllaceae) in Rodents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1 – 10
- **H. RHIOUANI, J. EL-HILALY, Z. H. ISRAILI, & B. Lyoussi. (2008).** Acute and sub-chronic toxicity of an aqueous extract of the leaves of *Herniaria glabra* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 118 378 – 386
- **H.O. Edeoga, D. E. Okwu and B.O Mbaebie. (2005).** Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants; *African Journal of Biotechnology* Vol. 4 (7), pp. 685-688.
- **Halimi A. (1997).** *Les plantes médicinales en Algérie*, Beraki, 300 p.
- **Hernandez V., Recio M.C., Mànez S., Prieto J.M., Giner R.M., et Rios J.L. (2001).** A mechanistic Approach to the In Vivo Anti-Inflammatory Activity of Sesquiterpenoid compounds isolated from *Inula viscosa*. *Planta Med.* 67: 726-731.
- **Hmamouchi M. (2001).** *Les plantes médicinales et aromatiques marocaines. Utilisations traditionnelles, marché, biologie, chimie, pharmacologie, toxicologie, lexique.* 2e édition, Fédala, Moham-media, Maroc, pp 324–31
- **Hmamouchi, M. (1998).** Bibliographic research in the countries of the Maghreb. *Medusa Newsletter*, 2, 7-12.
- **HOPKINS W.G., (2003).** *Physiologie végétale*. édition de boeck université-Bruxelles -p: 267-283.

- **Huet, M. (2013).** Les plantes médicinales chez les malades atteints de cancers: pratiques courantes et éléments de leur évaluation. *Bulletin du cancer*, 100(5), 485-495.

I

- **Imad Eddine Haoui, Ratiba Derriche, Leila Madani & Zahia Oukali (2016).** Extraction of Essential Oil from *Inula viscosa* (L.) Leaves: Composition, Antifungal Activity and Kinetic Data

J

- **J. EL HILALY, Z. H. ISRAILI & B. LYOUSSEI, (2004).** Acute and chronic toxicological studies of *Ajuga iva* in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*, 91 43 – 50

K

- **Khalil E.A., Afifi F.U., Al-Hussaini M., (2007)** .Evaluation of the woundhealing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in pluronic F127 using mice (*Mus musculus*). *Journal of Ethnopharmacology* , Vol 129 : 104-112
- **Kheyar-Kraouche N, Boucheffa S, Bellik Y, Farida K, Brahmi-Chendouh N., (2023).** Exploring the potential of *Inula viscosa* extracts for antioxidant, antiproliferative and apoptotic effects on human liver cancer cells and a molecular docking study.
- **Koudou, D. D. (2019).** Toxicité subchronique chez le rat de l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Holarrhena floribunda* (G. DON) T. Durand & Schinz, une plante utilisée dans le traitement traditionnel du diabète en Côte d'Ivoire (Doctoral dissertation, Université Nangui Abrogoua (Côte d'Ivoire); NUMERO D'ORDRE 493).

L

- **Lauro L, Rolih C. (1990).** Observations and research on an extract of *Inula viscosa* Ait. *Boll Soc Ital Biol Sper* 66:829–34
- **Lee K.W., Kim Y., Lee H.J et Lee C.Y., (2003).** Cocoa Has More PHENOLIC phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.*, 51 : 7292-7295.

- **Léger, J.** (2007). Fiche de Flore de *Dittrichia viscosa* subsp. *Viscosa*. Tela botanica vol 3 : 3.
- **Lev E, Amar Z.** (2000). Ethnopharmacological survey of traditional drugs sold in Israel at the end of the 20th century. *J Ethno- pharmacol* 72:191–20

M

- **Mahmoudi, H., Hosni, K., Zaouali, W., Amri, I., Zargouni, H., Hamida, N. B., ... & Ouerghi, Z.** (2016). Comprehensive phytochemical analysis, antioxidant and antifungal activities of *Inula viscosa* aiton leaves. *Journal of Food Safety*, 36(1), 77-88.
- **Manal A. Abbas, Nagham A. Hameed, Ekbal H. Al-Khateeb and Rana M-N. Al Ha,** (2017) Evaluation of Toxicity and Fertility Effects of *Inula viscosa* Aerial Parts Extract in Male Rats, *Jordan Journal of Biological Sciences*, Volume 11, Number 2, June 2018 , ISSN 1995-6673 , Pages 147 – 154
- **Maoz M., Neeman I.,** (2000). Effect of *Inula viscosa* extract on chitin synthesis in dermatophytes and *Candida albicans*. *Journal of Ethnopharmacology*, 71, 479 - 482.

O

- **OCDE.** (1979). Résumé des considérations du rapport des groupes d'experts de l'OCDE sur la toxicologie à court et à long terme. In : Lignes directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques. Paris: OCDE.P. 1-15.
- **OECD.** (2000). Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment N°19.
- **OECD,** (2008). Guidance Document on Acute Oral Toxicity. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment N°24.
- **Oliver J. A.** (1986). Opportunities for using fewer animals in acute toxicity studies. In *Chemicals Testing and Animal Welfare* (The National Chemicals Inspectorate). Sweden:Solna.P. 119-142.

- **Omezzine F., Daami-Remadi M., Rinez A., Ladhari A., Haouala R. (2011).** In vitro assessment of *Inula* ssp. organic extracts for their antifungal activity against some pathogenic and antagonistic fungi. *African Journal of Microbiology Research*; 5: 3527- 3531.
- **Ouahchia, C., Cherif, H. S., Hamaidi-Chergui, F., Marzen, L., Deradji, S., Hemma, R., ... & Saidi, F. (2017).** Acute and subacute toxicity of *Inula viscosa* L.(*Dittrichia viscosa* L.) methanolic extracts.
- **Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.
- **Ozkan, E., Karakas, F. P., Yildirim, A. B. B., Tas, I., Eker, I., Yavuz, M. Z., & Turker, A. U.(2019).** Promising medicinal plant *Inula viscosa* L.: Antiproliferative, antioxidant, antibacterial and phenolic profiles. *Progress in Nutrition*, 21(3), 652-661.

P

- **P Parolin, MI Scotta, C Bresch - Phyton, (2014) - SciELO Argentina**
- **ParolinP ;scotta M1et Bresch C(2014)Biology of *Dittrichia viscosa* a Mediterranean, ruderal plant ;international Journal of expérimental Botany ;83(251-261).**

Q

- **QUEZEL P. & SANTA S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Centre national de la recherche scientifique, Tome 2 :218-940

R

- **Ramli bakhta, 2013.** Extraction des flavonoïdes de la plante *Inula viscosa* de la région d'Oran et mise en évidence de l'activité microbienne
- région des Ziban. Edition Dar El Houda, Algérie. ISBN : 978-9931-438-00-7.
- **Ruckebusch,Y.(1981).** Physiologie, pharmacologie, thérapeutique animales. Paris : Maloine.380p.

S

- **Susplugas, C., Balansard, G. & Julien, J.(1980).** Evidence of anthelmintic action of aerial part from *Inula viscosa* Ait. *Herba Hung*, 19: 19-33.

T

- **Talib WH, Mahasneh AM . (2010).** Antimicrobial, cytotoxicity and phytochemical screening of Jordanian plants used in traditional medicine. *Molecules* 15:1811–24
- **Tegegne G., Pretorius J.C. (2007).**In vitro and in vivo antifungal activity of crude extracts and powdered dry material from Ethiopian wild plants against economically important plant pathogens. *BioControl*; 52: 877–888.
- **Teixidor-Toneu I, Martin GJ, Ouhammou A, (2016).** An ethno-medicinal survey of a Tashelhit-speaking community in the High Atlas, Morocco. *J Ethnopharmacol* 188:96–110

W

- **Wang, W. Q., Ben-Daniel, B. H., and Cohen, Y., (2004).** Extracts of *Inula viscosa* control downy mildew caused by *Plasmopara viticola* in grapevines. (Abstr.) *Phytoparasitica* 32:208.
- **Wang, W. Q., Ben-Daniel, B. H., and Cohen, Y.,(2004).** Extracts of *Inula viscosa* control downy mildew caused by *Plasmopara viticola* in grapevines. (Abstr.) *Phytoparasitica* 32:208.
- **Wang, W., Ben-Daniel, B. H., & Cohen, Y. (2004).** Control of plant diseases by extracts of *Inula viscosa*. *Phytopathology*, 94(10), 1042-1047.
- **Wenqiao Wang, B, H, Ben Daniel ET Yigal Cohen. (2004).** Control of Plant Diseases by Extracts of *Inula viscosa*, *Phytopathology*, PP: 1042-1047

Y

- **Y. Karumi,"PA. Onyeyili and VO Ogugbuaja (2004).** Identification of Active Principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) Leaf Extract. *J. Med. Sei.*, 4 (3): 179-182 July-September, 2004

Z

- **Zeguerrou R., Guesmia H., Lahmadi S (2013).** Recueil des plantes médicinales dans la
- **Zhao Y. M., Zhang M. L., Shi Q. W., Kiyota H., (2006).** Chemical Constituents Of Plants From The Genus Inula. Chem. Biodivers. 3, 371–384.

Sites internet

- https://www.abeillesentinelles.net/imgfr/files/plantes_melliferes_720_inule_visqueuse.pdf