

Remerciements

*Nous tenons avant tout à remercier Dieu tout puissant, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail. En premier lieu, nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à notre encadreur **Mr MOUALEK I**, maître de conférences à la Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'Université Mouloud MAMMARI de Tizi-Ouzou, pour sa confiance, sa patience, son orientation, ses conseils et son aide tout au long de ce travail. Nous remercions également **Mr HOUALI K.** professeur au département de Biochimie et de Microbiologie de l'UMMTO et directeur du laboratoire LABAB pour son accueil, pour les conditions techniques mises à notre disposition durant la réalisation de ce présent travail, ainsi que pour l'honneur qu'il nous fait en présidant le jury de notre mémoire. Nos remerciements s'adressent à Mme LAHCEN et L'examinatrice de notre travail Mme IRATNI G. pour leurs aides si précieuses, pour leurs orientations et leurs soutiens. Enfin nous remercions toute personne ayant contribué de prêt ou de loin dans l'élaboration de ce travail.*

Dédicace

Dédicace Avec l'aide de Dieu tout puissant, qui a tracé le Chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie à :

La lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère Ouardia qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.

Mon cher père Mohand qui m'a appris le sens De la persévérance tout au long de mes études, pour Son sacrifice, ses conseils et ses encouragements.

À mes chères sœurs : Karima, Samira, Kahina.

Mon frère Koceila et à toute la famille.

À mes très chers amis

*Mélissa, Nawel, Thiziri, Jugurtha, Hanane, nassima, sarah ,
moh, hassin et malik,*

À ma tante qui m'a aidé et soutenu.

Sans oublier mon fiancé Aghiles qui m'a encouragé tout au long de mes études, malgré la distance.

Lydia

Je tiens à dédier ce travail à celle qui m'a tout appris et m'a tout donné, ma très chère maman, sans qui ce travail n'aurait pas eu lieu, merci pour tes encouragements, pour ta présence sans augure et pour ton dévouement.

À mon cher papa qui, même à des kilomètres a su m'apporter son soutien, merci pour ta bienveillance et ta présence tout au long de mon parcours

À mes sœurs adorées, Sonia et Kahina pour votre motivation et votre aide si précieuse

À mes frères et à l'ensemble de ma famille plus précisément mon oncle Smail et mes tantes pour leurs soutiens, amour et vivacité tout au long de l'élaboration de ce travail.

À mes amis, pour leurs accompagnements, leurs soutiens et leurs présences.

Melissa

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Partie I : synthèse bibliographique

Chapitre I : présentation de *Carthamus caeruleus*.L

1.Présentation du genre carthamus.....	3
2.Description botanique de <i>Carthamus caeruleus</i> .L	3
3.Nomenclature	5
4.Classification phylogénique	5
5.Habitat et distribution géographique	6
6.Composition chimique de la racine	6
7.Usage en médecine traditionnelle	8
8.Activité biologique de <i>Carthamus caeruleus</i> L	8

Chapitre II : Composés phénolique et activité biologique

1.Généralités sur les polyphénols	11
2.Classification des polyphénols	11
2.1.Les flavonoïdes	11
2.2.Les acides phénoliques	13
2.3.Les stilbenes	15
2.4.Les lignines	15
2.5.Les tanins.....	16
3.Biosynthèse des polyphénols	17
3.1.La voie de Shikimate.....	17

3.2.La voie de l'acétate malonate.....	18
4.Rôle et fonction biologique des polyphénols	19
4.1.Chez les végétaux.....	19
4.2.Chez humain.....	20
5.Activité biologique.....	21
5.1.Activité anti inflammatoire	21
5.1.1.L'inflammation.....	21
5.1.2.Médiateurs l'inflammation.....	21
5.1.3.Les différents types d'inflammation	23
5.1.4.Les anti- inflammatoires.....	23
5.1.4.1.Définition	23
5.1.4.2.Caractéristique des anti-inflammatoire	23
5.1.4.3.Les anti-inflammatoires synthétique	24
A.Les anti-inflammatoire non stéroïdiens	24
B.Les anti-inflammatoire stéroïdiens	25
5.1.4.4.Les anti-inflammatoires naturels	26
5.2.Activité antimicrobienne	27

Partie II: partie expérimentales

Chapitre III: matériels et méthodes

1.matériels biologique	29
1.1.Matériels végétal	29
1.2.Souches bactériennes.....	29
1.3.Prélèvements sanguins	29
2.Méthode	30
2.1.Préparation extrait	30
3.Détermination de la teneur en polyphénols totaux.....	30
4.Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	32

4.1. Test d'hémolyse	32
4.1.1. Préparation de la suspension	32
4.1.2. Test de l'innocuité de l'extrait vis-à-vis des cellules érythrocytaires	32
4.1.3. Hémolyse induite par une solution hypotonique	33
4.1.4. Hémolyse induite par la chaleur	35
4.1.5. Hémolyse induite par un oxydant	36
4.2. Test de dénaturation des protéines	37
5. Activité antibactérienne	38
6. Détermination de la CMI	38

Chapitre IV: Résultats et discussions

1. Détermination de la teneur en poly phénols	39
2. Innocuité de l'extrait vis-à-vis des cellules érythrocytaires	40
3. Protection des érythrocytes vis-à-vis d'un stress osmotique	41
4. Protection des érythrocytes vis-à-vis de la chaleur	43
5. Protection des érythrocytes vis-à-vis d'un oxydant	44
6. Inhibition de la dénaturation thermique de la BSA	46
7. Activité anti bactérienne	47
Conclusion	49

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des abréviations

AINS : anti-inflammatoires non stéroïdiens.

AIS : anti-inflammatoires stéroïdiens

BSA : Albumine sérique bovine.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

COX : Cycloxygénases.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

EAG : équivalent d'acide gallique

LABAB : Laboratoire de Biochimie Analytique et Biotechnologies.

LOX : lipoxygénases.

PB : Tampon phosphate

PBS : Tampon phosphate salin.

PLA₂ : phospholipase A₂.

UFC : Unité formant colonie.

GN : gélose nutritive

GR : globule rouge

CC : *Carthamus caeruleus L.*

PP : polyphénols

MH : muller- Hinton

CoA : coenzyme A

PAMP : pathogen associated molecular patterns

PPR : pentapatricopeptide repeat

NO : oxyde nitrique synthase

La liste des figures

Liste des figures	Le titre	Page
Figure 01	différentes parties de la plante <i>carthamus cearuleus L.</i>	04
Figure 02	structures des dérivés de l'acide benzoïque	14
Figure 03	structure de différents composés de stilbènes	15
Figure 04	structure générale de la lignine	16
Figure 05	structure des tanins hydrolysables	17
Figure 06	structure de tanins condensés	17
Figure 07	schéma représentatif de la synthèse des polyphénols par voie shikimate.	18
Figure 08	rôles biologique des polyphénols chez la plante et humain.	19
Figure 09	schéma récapitule les deux enzymes principaux de la cyclo-oxygénase ainsi que leurs rôles.	23
Figure 10	Schéma récapitulatif des protocoles expérimentaux adoptés.	28
Figure 11	les différentes étapes de préparation de la crème traditionnelle.	30
Figure 12	Schéma récapitulatif du protocole de dosage des polyphénols totaux.	31
Figure 13	schéma récapitulatif des étapes du test de protection vis-à-vis d'un stress hypotonique.	34
Figure 14	schéma récapitulatif des étapes du test de protection vis-à-vis d'un stress thermique.	35
Figure 15	protocole récapitulatif du test de protection vis-à-vis d'un stress oxydant.	36
Figure 16	protocole récapitulatif du test de la dénaturation thermique des protéines.	37
Figure 17	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	39
Figure 18	Représentation graphique de densité optique du test hémolyse comparée à la saponine.	40
Figure 19	Pourcentage de protection des hématies vis-à-vis de la lyse induite par un stress hypotonique en présence des différentes concentrations en extrait.	41
Figure 20	pourcentage de protection des cellules érythrocytaires vis-à-vis de la lyse induite par un stress thermique en présence des différentes concentrations d'extrait et d'aspirine.	43

Figure 21	pourcentage de protection des hématies vis-à-vis de la lyse induite par un stress oxydatif en présence des différentes concentrations en extrait.	44
Figure 22	pourcentage de protection de la dénaturation thermique de la BSA.	46
Figure 23	image représentant les érythrocytes non hémolysés en présence de l'extrait CC	
Figure 24	image représentant les érythrocytes hémolysés.	

La liste des tableaux

La liste des tableaux	Le titre	Page
Tableau I	différents nomenclature de <i>Carthamus caeruleus</i> L.	5
Tableau II	principales classe des flavonoïdes.	12
Tableau III	Principaux acides hydrox-cinnamiques.	15
Tableau IV	les différents composés de polyphénols ainsi que leurs activités biologiques	20
Tableau V	différents médiateurs de l'inflammation et leur site d'action	22
Tableau VI	les deux groupes des bactéries gram+et gram- utilisé, ainsi leur référence et pouvoir pathogène	29
Tableau VII	diamètres d'inhibition et concentration minimales inhibitrice de <i>carthamus caeruleus</i> L.	47
Tableau VIII	Différents appareillages, verreries et réactifs utilisés	

Les molécules bioactives issues des plantes, en raison de leurs multiples activités biologiques, éveillent actuellement un intérêt particulier dans les domaines sanitaire, agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique.

Le regain d'intérêt en thérapeutique pour ces biomolécules est motivé par le fait qu'elles présentent des effets secondaires limités ou inexistants comparativement aux molécules synthétiques qui en plus de causer de nombreux effets secondaires indésirables présentent des limites thérapeutiques, ce qui a détourné l'attention des scientifiques vers une méthode plus classique qui est l'utilisation des plantes médicinales, en raison de leurs vertus thérapeutiques attribuées aux métabolites secondaires comme les poly phénols, les terpènes et les flavonoïdes, ces derniers constituent un système de défense contre un stress chez la plante, la protégeant ainsi contre les différentes agressions biotiques et abiotiques. Ces molécules sont aussi utilisées dans l'industrie cosmétique, agroalimentaire, pharmaceutique, nutraceutique grâce à leurs nombreuses propriétés biologiques, comme leurs effets anti oxydant, anti inflammatoire, anti microbien et anti tumoral.

Parmi les différentes pathologies rencontrées, les maladies inflammatoires caractérisées par une réponse immunitaire complexe des tissus vasculaires à l'invasion par un agent infectieux, physique, chimique ou traumatique. C'est ainsi que les anti-inflammatoires ont été utilisés, malgré leur impact sanitaire important ajouté à cela leurs effets secondaires qui peuvent se manifester sous formes de lésions gastriques induites par (AINS) et une dépendance induite par (AIS) (SULEYMAN et *al.*, 2007), ainsi le développement de molécules bioactives puissantes et naturelles avec moins d'effets secondaires est nécessaire.

Par ailleurs, les infections bactériennes causées par l'utilisation anarchique, inadéquate et abusive des antibiotiques qui devient un problème de santé publique à cause de l'émergence de nouvelles souches multi résistantes, pour cela il est important de trouver un agent antimicrobien naturel.

La diversité des espèces végétales est une caractéristique de l'Algérie, qui pour sa grande superficie et la variation du climat offre une gigantesque variété de plantes médicinales. Parmi celle-ci l'espèce *Carthamus caeruleus* L. plus connue sous le nom de cardoncelle bleue est une espèce peu commune qu'on peut retrouver en méditerranée plus précisément dans certaines régions de KABYLIE.

Les racines de cette espèce sont récoltées dans la région de TIZI OUZOU et utilisés traditionnellement pour traiter les brûlures sous forme de pommade.

Afin de déterminer les propriétés biologiques de carthamus, nous avons réalisés une étude au sein du laboratoire LABAB, cette étude est basée sur l'analyse qualitative et quantitative de la racine de *Carthamus caeruleus* L. Tout en évaluant son activité anti-inflammatoire et antibactérienne.

1. présentation du genre carthamus

Le genre carthamus regroupent plusieurs espèces (environ 25 espèces) formant ainsi la famille des astéracées. Ce sont des plantes méditerranéennes assez proche des chardons, elles sont soit annuelles ou pérennes, elles sont connues pour être très épineuses. (DAHMANI.M.M, 2019).

2. Description botanique de *Carthamus caeruleus* L.

Carthamus caeruleus L. plus communément appelé cardoncelle bleue est caractérisé par la présence de fleur bleu, est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle à tige unique ou à tige très montante Les branches clairsemées vont de 0,2 m à 0,6 m, glabres, dressées et velues. La plante a un rhizome composé

La racine principale de l'évolution horizontale et la racine secondaire de l'évolution

Verticale,

La tige mesure environ 30 à 60 cm de long, est non ramifiée et sans ailes.

Les feuilles sont glabres ou pubescentes, à fortes nervures, à contour ovale ou lancéolé. La particularité de cette plante est que les feuilles inférieures ont des pétioles et des dents,

Et les feuilles supérieures, sessiles, avec des épines pédonculées ou dentaires. Elle possède

Grand capitule bleu-violet (3 cm de large, 3-4 cm de long),

Les fleurs sont bleues, mais il en existe plusieurs variétés

Donnant des fleurs violettes. Le carthame est visité par de nombreux insectes. Le fruit est un akène nettement plus court que les panicules, presque sphérique ou Quadrilatère flou, glabre et blanc. (BLAMEY ET GRAY-WILSON, 2000).



A: plante complète



B: tige



C: racine



D: fleur



E: feuille

Figure 01: différentes parties de la plante *Carthamus caeruleus* L. (image personnelles).

3. Nomenclature

Plusieurs noms sont attribués à *Carthamus caeruleus* L. selon différentes régions et langues.

Tableaux I : différents nomenclature de *Carthamus caeruleus* L.

Langues	Noms
Arab	Khorchof azraq
Arab algerie	Musgousse, emargosgos
Berbere	Arvive n taga, immerzezig, thaga n lexla
Francais	Cardoncelle bleue
Anglais	Blue thistle

4. Classification phylogénique

Les astéracées sont la famille la plus importante dans la division des spermatophytes.

Il comprend près de 25 000 espèces connues, réparties en 1 500 genres et 17 tribus

Il est largement répandu dans le monde (GUIGNARD, 1994). Selon APGIII (GROUP, 2009).

La classification du carthame est la suivante:

Règne : Plantae ;

Embranchement : Spermaphytes ;

Classe : Magnoliopsida ;

Ordre : Asterales ;

Famille : Asteraceae ;

Sous famille : Carduoideae ;

Groupe : Cardueae ;

Sous-groupe : Centaureinae ;

Genre : *Carthamus* ;

Espèce: *caeruleus*

5. Habitat et distribution

Carthamus caeruleus L. est décrite comme épineuse, elle pousse dans l'humus et les sols légers, les lieux non cultivés, les prés et sur le bord des chemins. Les champs et les jardins bien enfumés. Cette plante supporte tous types de sols, en particulier ceux qui contiennent de la matière organique fraîche. (BOULLARD, 2001)

Elle existe en Europe, en Afrique du Nord, en Afrique du Sud, en Asie et en Amérique du Nord et du Sud.

En ALGERIE, cette espèce se trouve à BOUIRA, TIZI OUZOU, TLEMCEN, SETIF et BOUMERDES, (MIOLANE, 2004).

6. Composition phytochimiques des racines de la plante

Le rhizome de carthames est très riche en polyphénols, amidon, saponine, stérol, acide gras polyinsaturé, mucilage, (HAMADI ET *al.*, 2014).

A-Les polyphénols

Les polyphénols sont des substances naturelles qui se trouvent dans le règne végétal. Les scientifiques ont identifiés plus de 12000 composés, allant des molécules simples aux composés très complexes. Leur accumulation dans les plantes varie quantitativement et qualitativement non seulement dans les différentes parties de la plante, mais aussi d'une espèce végétale à une autre. (SAFFDINE Karima, 2015)

B-Amidon

L'amidon est le principal polysaccharide de réserve des plantes supérieures. Il est biosynthétisé sous forme de grains, sa taille, sa forme et sa structure cristalline dépendent de ses origines végétales.

98-99% de l'amidon est essentiellement un homopolymère de D-glucose. La partie glucidique est un mélange de deux polymères avec des structures primaires très différentes : l'amylose une molécule essentiellement linéaire, et l'amylopectine, une molécule ramifiée. (MBOUGUENG Pierre Désiré, 2009).

C-Mucilage

Ce sont des macromolécules biologiques solubles dans l'eau, elles sont responsables de la viscosité des solutions et dans certains cas, on peut le trouver comme un gel à faible concentration. Chimiquement est de nature polysaccharides, ils sont utilisés pour l'épaississements des solutions et stabilisation des suspensions en évitant la cristallisation.

Ces substances ont principalement un effet calmant sur les tissus irrités. (Clément SAIDOU, 2012)

D-Acide gras

Ils sont composés d'une chaîne hydrocarbonée qui possèdent deux extrémités, une avec un groupement méthyle CH_3 , et l'autre avec un groupement carboxyle COOH , ce sont des constituants élémentaires des lipides, ils se définissent par le nombre de Carbones, degré d'insaturation et la position des doubles liaisons.

On distingue trois types d'acide gras selon le nombre d'insaturation (n) et / ou la présence ou non d'insaturation :

Les acides gras saturés : $n = 0$; exp : l'acide palmitique, acide stéarique... ;

Les acides gras insaturés : $1 < n \leq 2$; exp : acide oléique, acide linoléique... ;

Les acides gras polyinsaturés : $n > 2$; exp : acide linoléique...

Rôles des acides gras

Ils assurent plusieurs fonctions biologiques, comme précurseurs d'hormones stéroïdiennes (testostérone), c'est un élément de base de la membrane cellulaire (structure), et de réserve (masse grasse), c'est un isolant thermique, mais joue aussi un rôle esthétique puisqu'ils arrondissent les contours de notre corps. (MEGALI P, 2008).

E- Saponine

Le nom saponine vient du latin "sapo", qui signifie savon, car ces composés moussent en ajoutant de l'eau. Ils sont constitués d'un ou plusieurs aglycones non polaires liés avec plusieurs sortes de sucres.

La saponine est un glycoside de stéroïde ou de tri-terpénique. On distingue essentiellement les saponines stéroïdiques et les saponines tri-terpéniques, son rôle n'est pas bien d'écrit, mais elle sert généralement comme détergent.

Elles présentent des propriétés hémolytiques, antibactériennes, insecticides, molluscicides, anti-inflammatoires et analgésiques, (DONATIEN KONE, 2009).

7. Usage en médecine traditionnelle

La racine de *Carthamus caeruleus* L. sous forme semi solide est largement utilisée pour soigner les brûlures dans les régions de Boumerdes, Tlemcen, Tizi ousou et Sétif. Ce dernier est fabriqué à partir de racines pré-nettoyées et épluchées puis bouillies dans du lait ou de l'eau, Écrasé et extraire le liquide qui sera ensuite réduit en pommade et applicable sur la brûlure. (DAHMANI.M.M, 2019).

8. Activités biologique de *Carthamus caeruleus* L.

Comme toute plante médicinale *Carthamus caeruleus* L. possède de nombreux composés bioactifs responsables de nombreuses activités thérapeutiques.

a. Activité anti-inflammatoire

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire chez la Cardoncelle bleue a montré un excellent effet par rapport à un lot témoins.

L'extrait des racines de *Carthamus caeruleus* L, provoque une inhibition d'un œdème consécutif de l'infiltration des cellules inflammatoires et d'une sécrétion importante de médiateurs inflammatoires, cela est expliqué par sa richesse en flavonoïdes.

Les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires qui leur permettent de moduler le fonctionnement du système immunitaire. Ils sont capables de diminuer la libération d'histamine des basophiles et des mastocytes, donc l'intensité de la réaction inflammatoire sera réduite, (DAHMANI.M.M, 2019).

b. Activité cicatrisante

Le genre *Carthamus* est connu par sa richesse en stérols végétaux et en composants phénoliques. Le test d'évaluation de l'activité cicatrisante a permis de mettre en évidence le potentiel cicatrisant de la crème des racines de *Carthames caeruleus* L. sur le modèle animal

après induction des plaies, ensuite l'interprétation des observations est basée sur la comparaison de l'évolution de la surface des plaies entre les modèles traités par la crème de carthamus et les témoins négatifs (sans traitement de la crème) (DAHMANI.M.M, 2019).

c. Activité repousse des poils

L'étude de l'activité promotrice de la croissance des cheveux est réalisée sur un modèle animal, après avoir rasé par écrêtage pour observer le développement du follicule pileux en phase anagène (phase de croissance des poils), des résultats spectaculaires ont été obtenus qui démontrent l'induction de la phase anagène des poils traité par la crème de carthamus comparé au témoin (sans application de la crème), (DAHMANI.M.M, 2019).

Le screening phytochimique des racines de *Carthamus caeruleus* L. a montré une richesse remarquable de cette plante médicinale en flavonoïdes. Un certain nombre de chercheurs ont montré un effet des flavonoïdes sur la croissance des cheveux, en renforçant la paroi du capillaire des petits vaisseaux sanguins alimentant les follicules pileux (MADAAN et al., 2017), Ainsi, les flavonoïdes sont impliqués dans la stimulation de la phase télogène (phase de repos) en anagène et provoquent aussi l'expression de certains facteurs de croissance.

d. Activité anti-oxydante

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour estimer l'activité antioxydante in vitro. Certains d'entre eux s'appuient sur la capacité réductrice des composés comme indicateur important de leur potentiel antioxydant, d'autres reposent sur des mesures moléculaires pour piéger les composés de radicaux libres (JAVANMARDI et al., 2003). Les trois méthodes les plus couramment utilisées sont : la méthode d'élimination des radicaux libres DPPH, la méthode de réduction du fer FRAP et la méthode de piégeage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

L'analyse de l'activité antioxydante in vitro a montrée un pouvoir réducteur et une activité anti-radicalaire important de l'extrait polyphénoliques. Un fort pouvoir anti-radicalaire est noté chez l'extrait poly-phénolique, qui est relativement similaire à celui du produit standard (l'acide ascorbique). (DAHMANI.M.M, 2019).

e. Activité antimicrobienne

L'évaluation du potentiel antimicrobien de l'extrait polyphénolique est réalisée sur plusieurs microorganismes. La sensibilité des germes vis-à-vis des métabolites secondaires est exprimée par l'apparition des zones d'inhibitions déterminées par la méthode de diffusion sur le milieu gélosé,

Des études ont montrées que l'extrait éthanolique de *Carthamus caeruleus* L. Inhibe la croissance des bactéries et champignons, ex : *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, et *Aspergillus niger*, (DAHMANI.M.M, 2019).

Ces résultats sont en accord avec ceux de (SAFFIDINE et *al.*, 2013). L'existence d'un potentiel anti infectieux important en particulier vis-à-vis des souches bactériennes responsables d'infections cutanées. Ce qui justifie l'utilisation de ces plantes en médecine traditionnelles en application dermique.

Composés phénoliques et activité biologique**1. Généralité sur les polyphénols**

Les poly phénols sont un grand groupe de composés chimiques présents dans toutes les plantes. La répartition peut varier selon le tissu ou l'organe considéré ; leur contenu Peut également varier selon la saison ou l'état de Différenciation cellulaire (SWAIN et BA TE-SMITH, 1962 et 1965).

Ce sont principalement des métabolites secondaires, largement répandus dans le règne végétal. Ces composés sont présents dans toutes les parties de la plante, Mais il existe une répartition hétérogène entre les différentes organisations (WAKSMUNDZKA-HAJNOS et SHERMA, 2010).

Les composés phénoliques forment une grande famille avec un très vaste ensemble de composés chimique qu'il est difficile a caractérisé, leurs point en commun au niveau structural est la présence d'au moins un noyau benzénique au quel est rattaché au moins un groupement hydroxyle libre ou participe a une autre fonction : hétérosides, éther et ester.

La famille des poly phénols est très diversifiées, cela dépendra de la structure puisqu'on peut trouver des phénols simple comme l'acide phénolique mais aussi des phénols complexes, ces deux catégories sont définies a partir de leur structure.

2. Classification des polyphénols**2.1. Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes forment un groupe de substance très variables aux niveaux structural, ils sont généralement présent dans les fruits, les légumes, les céréales, les tiges, les feuilles etc.

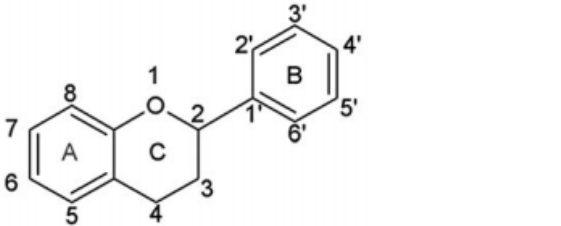
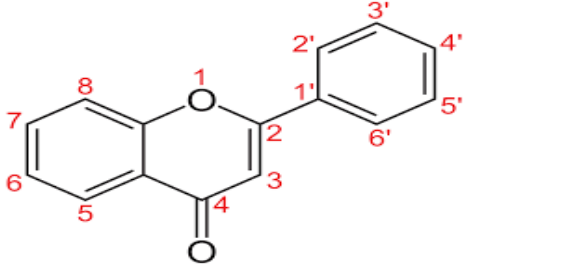
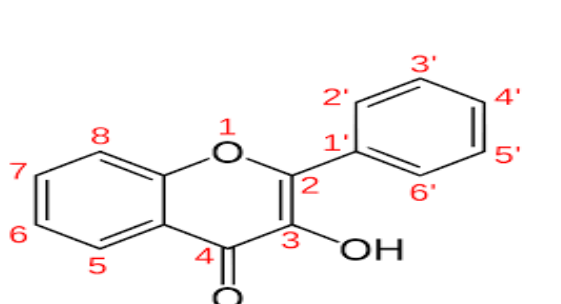
Ils sont connu pour leurs bienfaits sur la santé, et sont considérés comme des composés indispensables dans divers domaines (médical, cosmétiques, pharmaceutiques ...) et cela grâce a leurs propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoire, anti-cancérigènes.

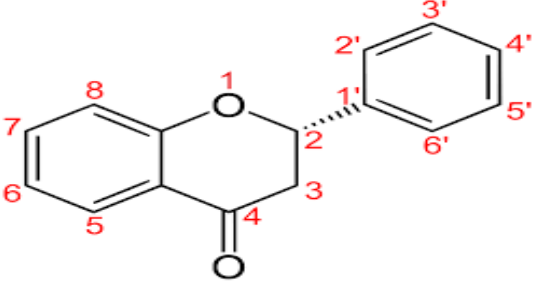
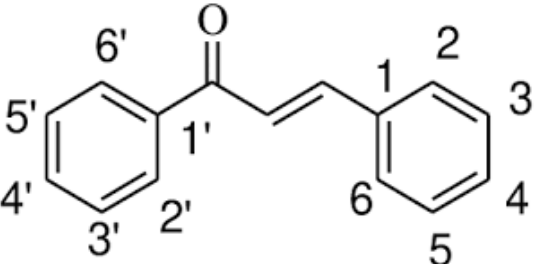
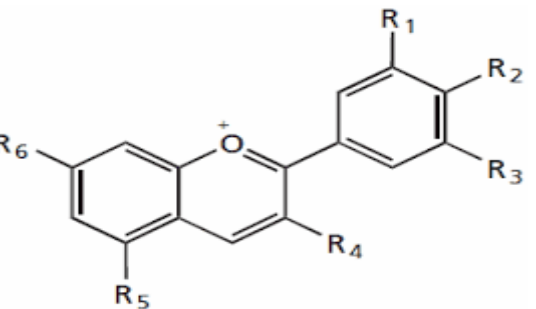
Les flavonoïdes jouent un rôle important dans les activités biologiques, chez la plante ils sont connu pour être synthétisé dans divers sites et sont donc responsables de la couleur et

de l'arome des fleurs, ainsi ils protègent la plante des différents stress biotiques ou abiotiques comme les UV.

Les composés flavonoïdes appartiennent à une catégorie de composés phénoliques à bas poids moléculaire, ils sont regroupés en plusieurs sous-groupes qui comprennent les flavones, les flavonols, les chalcones, les isoflavones, les flavanones, les anthocyanins.

Tableau II : principales classes des flavonoïdes.

Structure	Classe
 <p>Structure de base</p>	<p>Structure de base des flavonoïdes : Composé de trois cycles A, B et C. Les deux cycles A et B sont des cycles aromatiques reliés par 3 carbones (cycle C)</p>
 <p>Flavone</p>	<p>Les flavones: Ils sont caractérisés par la liaison du C2-C3 dans le squelette des flavonones (AKROUM, 2011). Ils ont une proximité structurale très importante avec les flavonols, mais ils sont peu courants (CROZIER, 2007)</p>
 <p>Flavonol</p>	<p>Les flavonols: Ils représentent la classe la plus répandue (D'ARCHIVIO, 2007). Le positionnement d'un groupement hydroxyle au niveau du C3 (cycle c) de la structure précédente nous donne le flavonol</p>

 <p style="text-align: center;">Flavanone</p>	<p>Les flavanones:</p> <p>Ils subissent de nombreux changements au niveau structural comme l'hydroxylation, glycosylation et l'O-méthylation. Il est identifié grâce à un groupement carbonyle en position 4 du flavane (AKROUM, 2011)</p>
 <p style="text-align: center;">Chalcone</p>	<p>Les chalcones :</p> <p>ils sont caractérisés principalement par la présence d'un noyau pyranique central ouvert comparativement aux autres flavonoïdes (LEOPOLDINI <i>et al</i> ; 2011)</p>
 <p style="text-align: center;">anthocyanin</p>	<p>Les anthocyanins :</p> <p>ce sont des pigments naturels donnant la couleur rouge ou bleue à certains végétaux (MAZZA <i>et al</i> ; 2004), ils sont aussi responsables de la protection des plantes contre la lumière mais aussi dans l'attraction des insectes pollinisateurs. Ils sont aussi caractérisés par la présence d'un atome d'oxygène chargé au niveau du cycle central C (LEOPOLDINI <i>et al</i> ; 2011)</p>

2.2. Les acides phénoliques

Ce sont les formes les plus simples, sont caractérisés par une fonction acide et plusieurs fonctions phénols. Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature, on distingue deux sous-types de poly-phénols :

- Les acides hydroxy-benzoïques
- Les acides hydroxy-cinnamiques

a. Les acides hydroxy-benzoïques

Ce sont les dérivés de l'acide benzoïque, dont la structure de base (C6-C1), sont très communs, ils peuvent se retrouver sous forme libre que combinés, à l'état d'esters ou d'hétérosides, ces composés sont abondants dans les fruits et légumes, à titre d'exemple : l'acide gallique qui est un élément principal de la structure des tannins hydrolysables, acide vanillique, acide cinnamique, l'acide salicylique. (MACHEIX *et al.*, 2005).

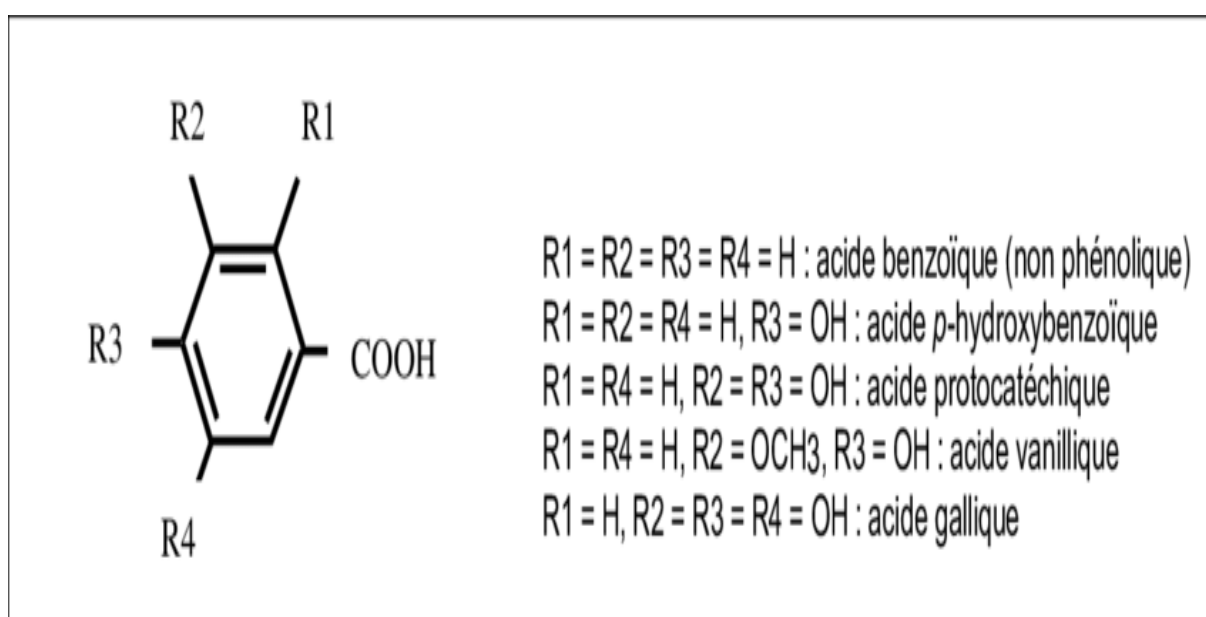
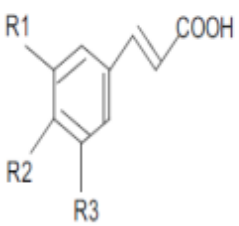


Figure 02 : structures des dérivés de l'acide benzoïque

b. les acides hydroxy- cinnamiques

Ils représentent une classe très importante dont la structure de base (C6-C3), dérivé de celle de l'acide cinnamique, ils se trouvent souvent dans les feuilles de thé, graines de café, vin rouge, ils se trouvent à l'état d'ester ou combinés à des sucres (HOSSEINI *et al.*, 2016), dont les plus abondants sont: l'acide *p*-coumarique, l'acide caféique et l'acide férulique .

Tableau III: Principaux acides hydroxy-cinnamiques

Structure	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH3	OH	H	Acide férulique
	OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

2.3.les stilbènes

Les stilbènes font partie d'un groupe très vaste de polyphénols, celui des dérivés de l'acide cinnamique (phénylpropanoïdes) (LERAY, 2010). Le stilbène est un composé phénolique contenant au moins deux cycles aromatiques reliés par une double liaison. Le resvératrol et le pterostilbène font partie de la famille des stilbènes, ce sont des composés synthétisés par les plantes suite à un stress, notamment attaque bactérienne, virales, et fongiques. Ces molécules peuvent s'oxydés sous l'action d'enzymes oxydase et les peroxydases (PERRET, 2001).

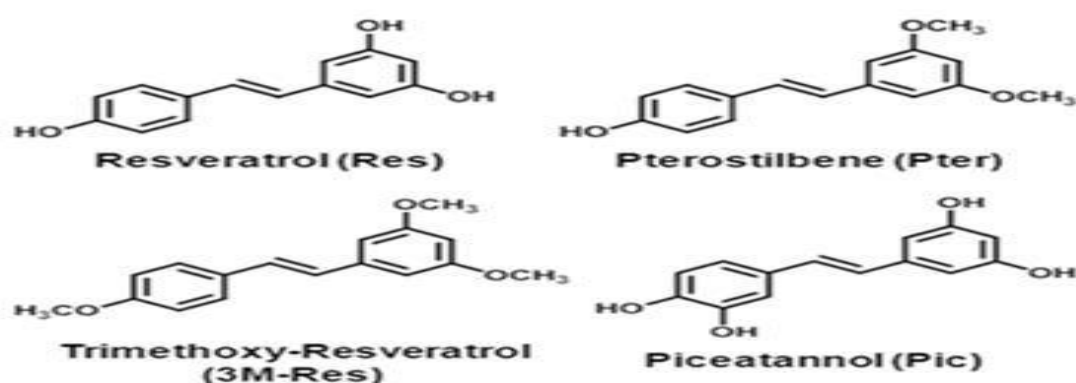


Figure 03 : structure de différents composés de stilbènes

2.4.Les lignines

Les lignines résultent de la condensation d'unités phénylpropaniques. Quatre groupes peuvent être considérés : les lignines, les néolignines, les oligomères, et les norlignines, ces composés de haut poids moléculaire formés par condensation de deux sous-unités C6-C3,

avec la cellulose et les dérivés hémicellulosiques, qui forment le bois (MARTONE *et al.*, 2009). Le rôle des lignines dans l'évolution des végétaux est la formation d'une barrière mécanique, la rigidité et réduisant la digestibilité des sucres de la paroi. Les lignines participent à la résistance des plantes aux microorganismes et herbivores, la lignification est une réponse courante à l'infection ou la blessure (MURRY *et al.*, 1982).

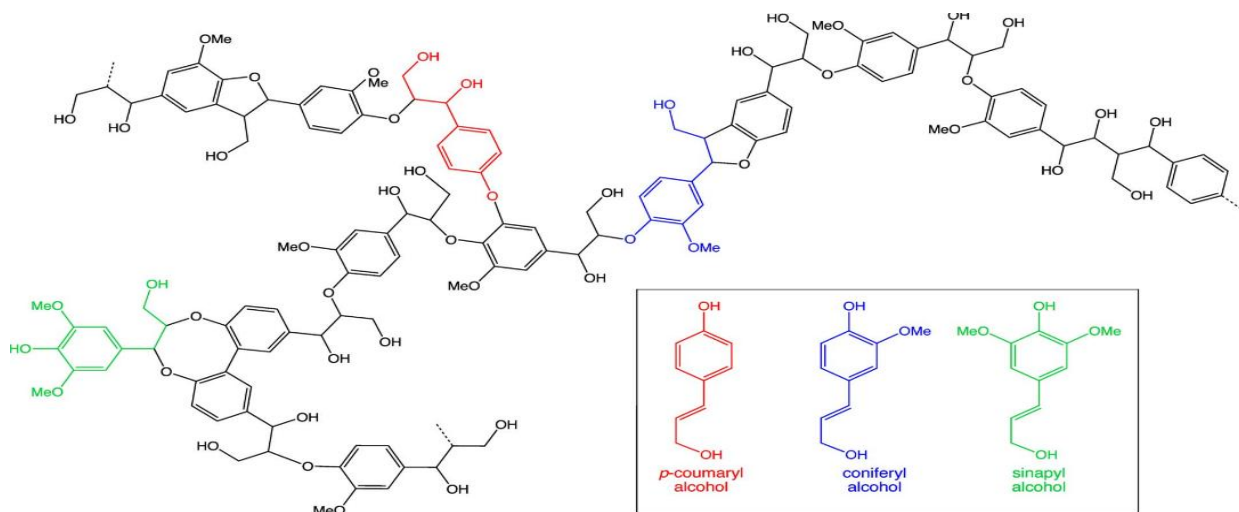


Figure04 : structure générale de la lignine (STEPHAN KÄLIN, 2019).

2.5. Les tanins

Les tanins sont définis comme des composés phénoliques hydrosolubles. Ces composés ont la capacité de se combiner et de précipiter les protéines, Ces combinaisons varient d'une protéine à une autre selon les degrés d'affinités (HARBORNE *et al.*, 2009). En outre, les tanins s'associent à d'autres polymères organiques tels que les glucides, les acides nucléiques, les stéroïdes et les alcaloïdes, pour former avec eux des complexes stables (HASLAM, 1998).

Selon la structure, on a deux types de tannins : les tannins hydrolysables et les tannins condensés, qui diffèrent par leurs structures chimiques et leurs origines biogénétique (SCHOFIELD *et al.*, 2001) .

a. Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des polymères d'acide gallique (C6-C1), lorsque ce composé se lie à un carbohydrate on parle de *gallotannins*, et lorsqu'il se lie à un ester en position C3 on parle de galloyles, ce dernier ainsi formé appelé *ellagitannins* à haut poids moléculaire. Ces deux composés sont dit hydrolysables car ils peuvent être attaqués et dépolymérisés par une action enzymatique ou chimique. Ces tanins sont structurellement

différents des tanins condensés, bien que les deux soient des polymères de haut poids moléculaire.

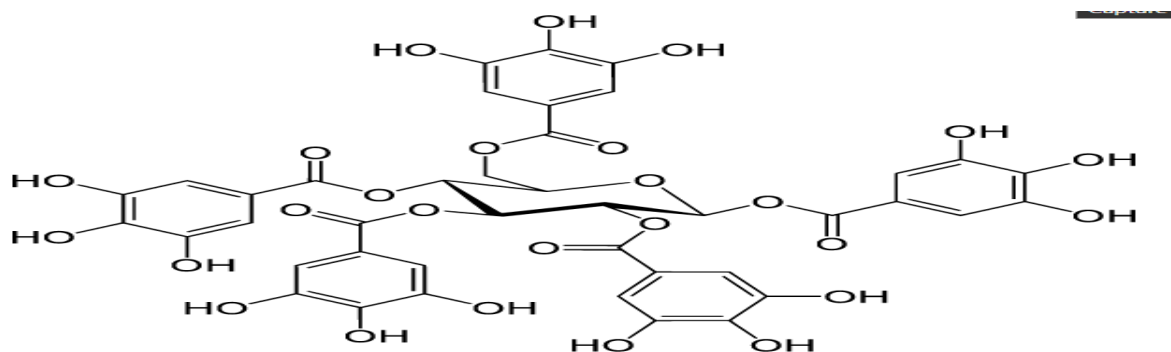


Figure 05 : structure des tanins hydrolysables (glucose pentagalloyle), (YIKRAZUUL, 2010).

b. tanins condensés

Appelés aussi tanins catéchiques ou proanthocyanidines, ce sont des polymères de flavonoïdes, ils sont constitués d'unités de flavan-3-ols liés entre eux par des liaisons carbone-carbone de type 4→8 ou 4→6, ils ne possèdent pas de sucre dans leur structures, et lorsqu'ils s'hydrolysent ils ne donnent pas de composés simples comme le glucose ou les acides phénoliques simples, comme dans le cas des tanins hydrolysables mais plutôt des anthocyanidines (ANDERSEN et MARKHAM, 2006).

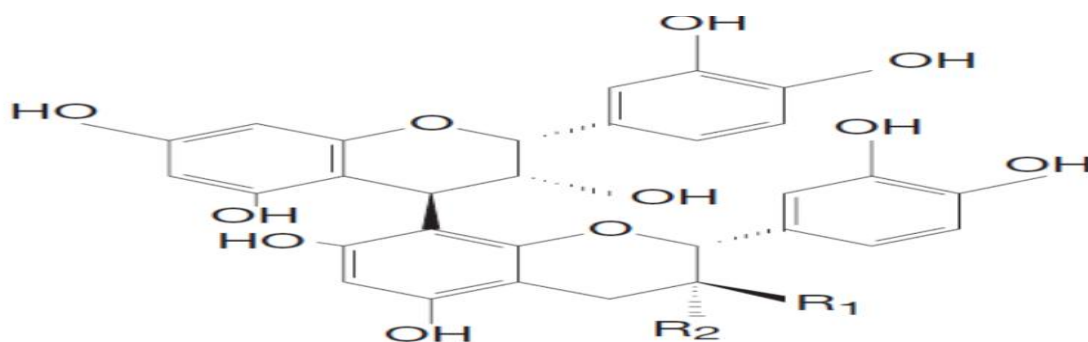


Figure 06 : structure de tanins condensés

3. La biosynthèse des poly phénols

3.1.voie shikimate

Le terme shikimate provient de la plante japonaise *shikimi-no-ki* ou bien plus communément appelé l'anis étoilé, d'où elle a été isolée pour la première fois. Cette voie est connue pour être utilisée par les bactéries, les champignons et les plantes.

Les métabolites secondaire (pp) sont issue des acides aminés aromatique qui sont synthétisé via cette voie, de nombreuses hypothèses montrerais que chez les plantes supérieure, cette voie de synthèse se déroulerait au niveau des chloroplastes et que la majorité des protéines intervenants sont issue du stroma (RICHTER, 1993).

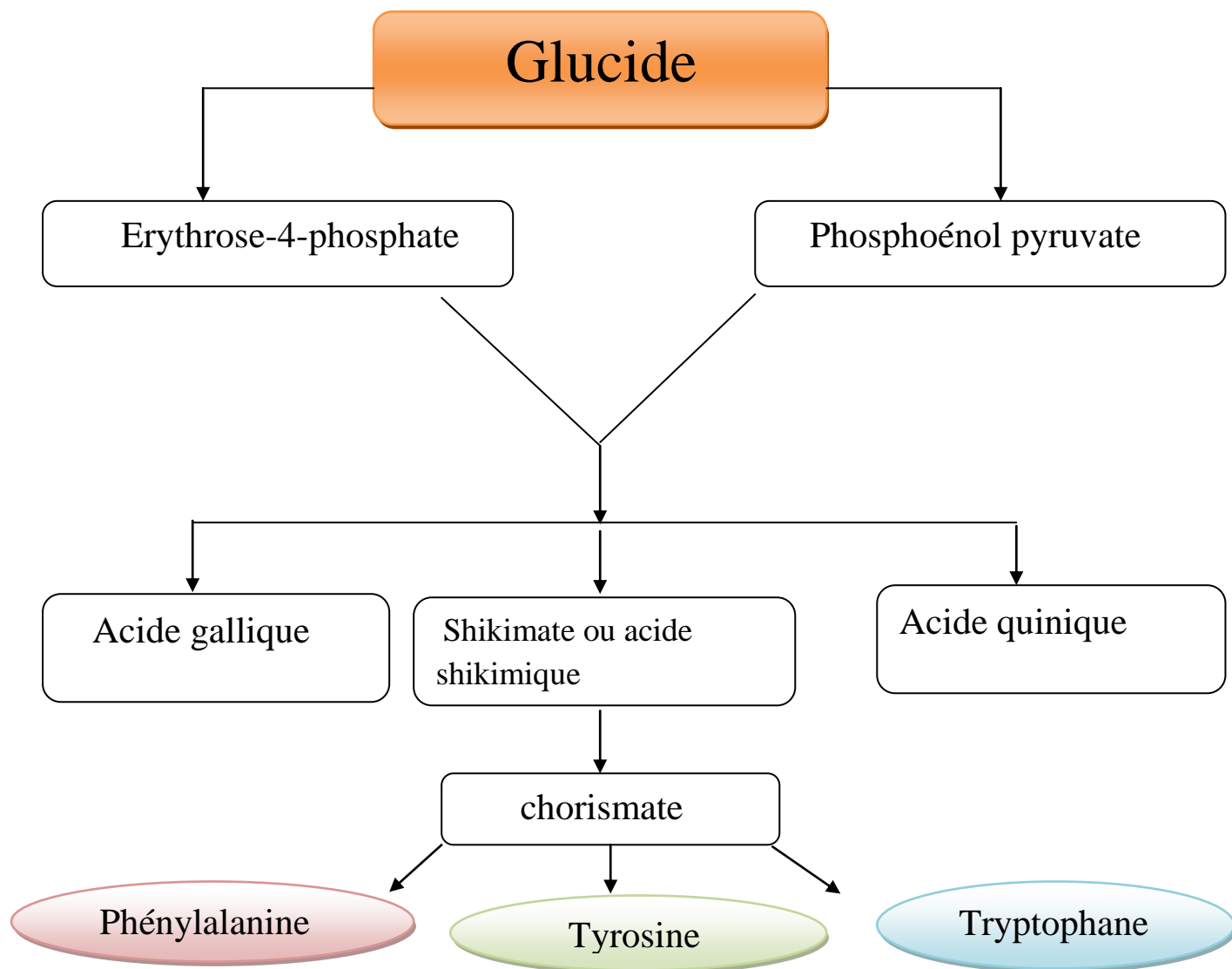


Figure 07 : schéma représentatif de la synthèse des polyphénols par voie shikimate. (MARGHEM, 2009).

3.2.La voie acétate-malonate

Cette voie est connue pour être utilisée chez les microorganismes, elle est à l'origine d'un large éventail de composés aromatiques, ils sont aussi formés par condensation d'unités d'acétates.

Ce mode de déroulement est celui qui prédomine chez les plantes non vertes (comme la synthèse de l'acide pénicillique par les penicilliums), et il consiste en la cyclisation des chaînes poly cétonique, qui sont obtenues par la condensation des groupements acétates, et elle ne se fait qu'après carboxylation de l'acetylCoA (coenzyme A) en malonylCoA (MARGHEM, 2009).

4. Rôles et fonction biologiques des polyphénols

Les polyphénols attirent de plus en plus l'attention des chercheurs en raison de leurs nombreuses propriétés et effets bénéfique non seulement chez la plante, mais aussi sur la santé humaine grâce à leurs richesses en molécules bioactif.

4.1.chez les végétaux et l'être humain

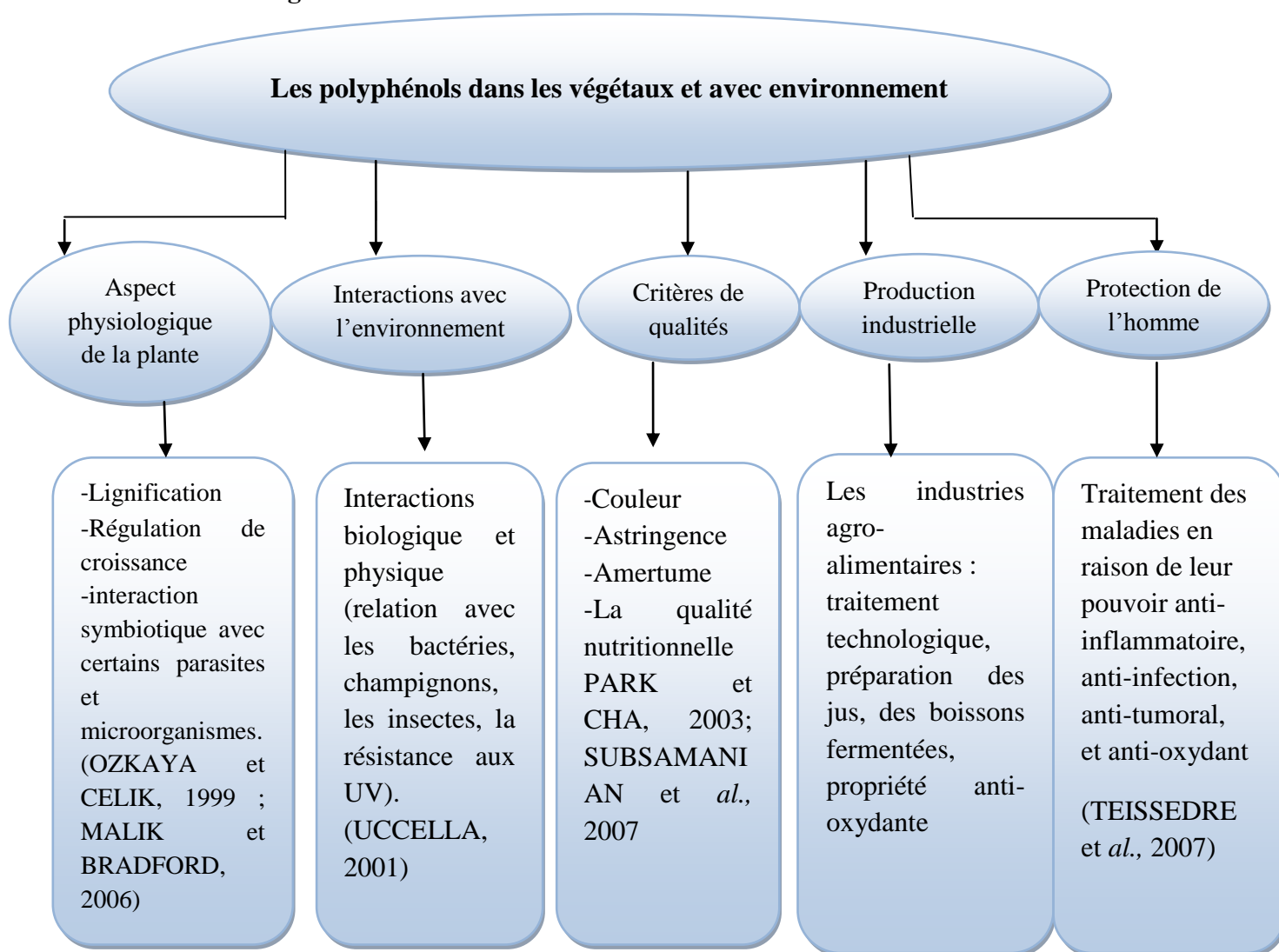


Figure 08 : rôles biologique des polyphénols chez la plante et humain ainsi que leurs interactions avec l'environnement

4.2. Les différents composés des polyphénols ainsi que leurs rôles

Les nombreuses activités biologiques des molécules bioactives issues des végétaux expliquent l'intérêt particulier qu'elles suscitent dans de nombreux domaines qu'ils soient sanitaires, agroalimentaires, cosmétiques ou pharmaceutiques.

Tableau IV : les différents composés de polyphénols ainsi que leurs activités biologiques.

Les polyphénols		Rôles biologiques
Les flavonoïdes	Flavonols	Les plus abondants des aliments, sont composés de la Quercétine, ils ont une très forte capacité anti-oxydante en raison de leurs structures chimique, qui aident à piéger les radicaux libres. (LIU et <i>al.</i> , 2012).
	Flavones	Composés Apigénine : ont des activités physiologiques remarquables, notamment des propriétés antimicrobiennes et antivirales. (STAFFORD 1990).
	Flavanones	Potentiel anti-inflammatoire et antioxydant via la molécule bioactive L'héspéridine (un glycoside de flavanone) (SUSHWETA MAHALANOBISH, 2019).
	Isoflavones	Plusieurs activités ont été démontrées par (BOTTA B ; et <i>al.</i> , 2009), tel que l'activité antimicrobienne, anti-inflammatoire, anti tumoral,
	Flavanol	Composé de la Catéchine qui a un pouvoir antioxydant et antibactérien
	Anthocyane	Les caractéristiques importantes de ce composé est sa capacité anti-oxydante, anti-fongique (CASTANEDA-OVANDO et <i>al.</i> , 2009)
Acide phénolique	-Les acides hydroxy-benzoïques. - Les acides hydroxy-cinnamiques.	-l'acide cinnamique, l'acide salicylique, l'acide gallique et l'acide vanillique sont des bases de médicaments connus. -l'acide p-coumarique, l'acide caféique et l'acide férulique. Les dérivés phénoliques semblent toxiques pour tous types de microbes (COWEN, 1999).

Tanins	-tanins hydrolysables. -tanins condensés.	Action antimicrobienne en raison de la capacité d'inactiver les adhésines (COWEN, 1999).
Stilbènes	-Resveratrol. -ptérostilbène.	Présents en petite quantité, ont un rôle anticancéreux
Lignines		Assurent la rigidité de la plante

5. Activité biologique

5.1. Activité anti-inflammatoire

5.1.1. L'inflammation

L'inflammation est la réponse de l'organisme aux attaques provoqués par des éléments physiques (chaleur, froid, rayons...) ou biologiques (microorganismes, piqûres d'insectes...) ou liées à des éléments endogènes (tels que des composés produits par une réponse immunitaire (complexe immuns, anticorps cytotoxique, cytokines...). Quelle que soit la nature du déclencheur, la manifestation de la réponse inflammatoire est la même, mais l'intensité et la durée sont différentes.

5.1.2. Médiateur de l'inflammation

Lors d'une éventuelle infection, l'entrée d'un corps étranger (un pathogène) est immédiatement détecté par l'organisme, et ceci grâce aux récepteurs PRR présent sur les cellules immunitaires qui reconnaissent les PAMP qui sont des molécules propres aux pathogènes, suite à cela la réaction immunitaire est activée et on aura la libération de molécules appelées les médiateurs de l'inflammation.

Les médiateurs de l'inflammation sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau V : différents médiateurs de l'inflammation et leur site d'action (MAYOL, 2021)

Médiateurs	Cellules sources	Cible	Action	
Histamine	- mastocyte et basophiles	Vaisseaux sanguin	-augmente la perméabilité vasculaire -agit au niveau du système nerveux	
Cytokines	TNF α	-macrophages, cellules dendritiques, mastocytes	cellules endothéliales	-active la production de facteur de croissance. -stimule l'expression de molécules d'adhérence et la production de chimiokines. -active le système microbicide.
	IL1	-leucocytes, cellules endothéliales, fibroblastes.	Centre de l'hypothalamus	-provoque des effets locaux et des symptômes plus généraux (effets systémiques) -induction de la fièvre
	IL6	-phagocytes (macrophages, cellules dendritiques) -cellules endothéliales	phagocytes	-modification de l'endothélium -favorise le recrutement des monocytes -production de protéines de la phase aigue.
Chimiokines	-Cellules sentinelles	Cellules leucocytaire	-forment un gradient -dirigent la migration des populations leucocytaires	
Médiateurs lipidiques		Neutrophiles macrophages	Induisent l'augmentation de la dilatation des vaisseaux et leur perméabilité -facilite l'arrivé sur le site de l'inflammation	

5.1.3. Les Différents types d'inflammation

Il existe principalement deux types d'inflammation :

a. Inflammation aigue

C'est une réponse rapide de l'organisme face a un pathogène, cette réaction dure peu de temps (varie de quelques jours a quelques semaines).

b. Inflammation chronique

C'est une inflammation prolongés (lorsque l'inflammation aigue ne disparaît pas d'elle-même), elle peut durer plusieurs semaines voir plusieurs années (IWALEWA et *al*, 2007 ; CHARLES et *al*, 2010). Et ceci soit parce que le pathogène ne peut pas être éliminé par le corps comme dans le cas des infections latentes, soit parce que le pathogènes persiste, ou bien parce que le corps a développé une maladie auto-immune.

5.1.4. Les anti-inflammatoire**5.1.4.1.Définition**

Un anti-inflammatoire ou antiphlogistique, il s'agit d'un groupe de médicaments destinés à traiter une réaction inflammatoire, ils peuvent provoquer des effets secondaires avec parfois des allergies, des intoxications (en cas de surdosage, ou interaction avec d'autre médicaments).

On distingue deux types d'anti-inflammatoires : les corticoïdes (anti-inflammatoires stéroïdiens) et anti-inflammatoires non stéroïdiens. (MCGETTIGAN ET HENRY, 2013).

5.1.4.2.Caractéristiques des anti-inflammatoires

Tous les anti-inflammatoires, y compris les non stéroïdiens inhibent la synthèse des prostaglandines.

En plus de l'activité AI, ils ont aussi des effets analgésiques, et antipyrétiques.

Présentent des fonctions acides et des caractères acides.

Sur le plan effets secondaire les AI provoquent une lésion gastrique.

Ils inhibent les agrégations plaquettaires (fluidifient le sang), donc pas de formation des caillots (thrombose), mais ils aggravent les hémorragies.

5.1.4.3. Les anti-inflammatoire synthétique

A. Anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS)

Ce sont des médicaments aux effets analgésiques, antipyrétiques, et anti-inflammatoires, (MCGETTIGAN ET HENRY, 2013), appartient à la famille l'acide acétylsalicylique avec un mode d'action très similaire ils agissent en bloquant l'action de la cyclo-oxygénase (COX), (RICCIOTTI et *al.*, 2018), c'est une enzyme qui intervient dans une cascade de réactions aboutissant à la formation de prostaglandines impliquées dans l'inflammation (rougeur, douleur, chaleur etc.), la fièvre, l'agrégation des plaquettaire (à faible dose seulement), et la protection de la muqueuse de l'estomac. La COX existe sous deux types

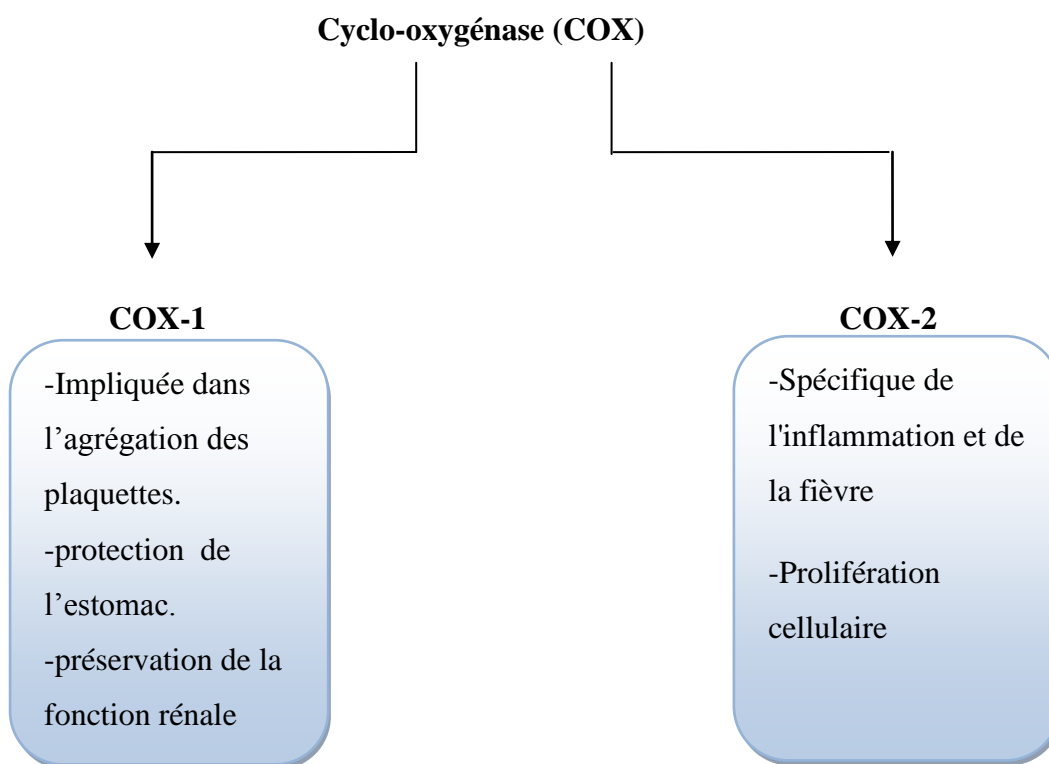


Figure 09 : schéma récapitulant les deux enzymes principaux de la cyclo-oxygénase ainsi que leurs rôles

➤ Les effets secondaires des AINS

Les AINS présentent des complications, ce dernier dépend de la nature de l'AINS et souvent de sa posologie ainsi que le terrain du malade et des médicaments associés (J.-M. Bonnetblanc, 2008) :

- Effets indésirables digestifs.

- Réactions cutané-muqueuses (exprimés comme allergie consistent en prurit, éruptions diverses, stomatite, rhinite, bronchospasme, œdème de Quincke ou choc anaphylactique).
- Complications rénales : rétention hydro-sodée, insuffisance rénale aiguë.
- Complications cardiovasculaires : favorise les accidents thrombotiques (infarctus du myocarde, accident vasculaire cérébral).
- Complications gynéco-obstétricales : les AINS exercent une activité tocolytique et exposent le fœtus à une fermeture prématurée du canal artériel.
- Divers : les AINS provoquent parfois des troubles neurosensoriels (céphalées, vertiges, acouphènes, etc.), des ulcérations du grêle ou une œsophagite. Les cytopénies sanguines sont rares, de même que les hépatites à expression clinique ; les érythèmes polymorphe, etc.

B. Les anti-inflammatoire stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens ou glucocorticoïdes, est une famille de médicaments dérivés synthétique des hormones naturels comme le cortisone et le cortisol, qui sont très efficaces et utilisés pour le traitement des maladies inflammatoires chroniques tel que l'asthme, l'arthrite rhumatoïde, les maladies inflammatoires de l'intestin et les maladies auto-immune (CRUPI ET CUZZOCREA, 2018).

Les ANS ont un mécanisme d'action commun, (VINCENT RICHARD, 2021) ils agissent en modulant l'expression génique d'un certains nombre de protéines impliquées dans la réaction inflammatoire, ce qui induit la limitation symptomatologie de l'inflammation d'un certains nombre d'organes, d'appareils, de tissus et aussi de sièges d'inflammations (os, articulations, rein, peau, poumons ...), ce dernier est effectué par :

-Inhibition de la production de cytokines pro-inflammatoire (IL-1, IL-6, IL-8, TNFalpha) :

→ Diminution de l'afflux de macrophages et de granulocytes sur le site inflammation.

-Inhibition de l'expression des molécules d'adhésion :

→ Diminution des migrations trans endothéliales des cellules phagocytaires.

-Inhibition de la phosphorylase A2 et COX2 :

→ Inhibition de la synthèse d'éicosanoïdes pro-inflammatoires (prostaglandines, thromboxane, leucotriènes).

-Inhibition de la NO synthase inductible :

→ Diminution de la production d'espèces radicalaire. (Vincent Richard, 2021).

➤ Les effets secondaires des AIS

- Hypercorticismes iatrogènes : dysfonctionnement du métabolisme glucidique et lipidique induisent l'obésité, hypokaliémie, intolérance en glucose, hyperlipidémie, manifestation cutanée et des ostéonécroses épiphysites....etc.
- Complications digestives : responsables de dyspepsie et favorisent les perforations intestinales.
- Risques infectieux : les corticoïdes favorisent des infections latentes après une thérapeutique sous- jacente ou d'une surinfection causée par les germes opportunistes.
- Manifestations neuropsychiques : effet orexygène, insomnie, troubles psychiatriques.
- Complications oculaire : myopie.
- Complications particulières aux infiltrations : effets généraux liés à la diffusion systémique du médicament.
- Complication cardiovasculaire risque de mortalité cardiovasculaire. (J.-M. BONNETBLANC, 2008).

5.1.4.4. Les anti-inflammatoires naturels

Les plantes médicinales sont considérées comme une source de nouvelles molécules avec plusieurs activités biologiques, notamment l'activité anti-inflammatoire (KAZEMI et *al.*, 2018).

Le premier niveau d'action anti-inflammatoire des polyphénols réside dans l'inhibition de la PLA2. Le deuxième quant à lui réside dans l'inhibition des cyclooxygénases (COX) et des lipoxygénases (LOX) (HONG et *al.*, 2001 ; CHANDRASEKHARAN et *al.*, 2002).

La famille des Astéracées contient un grand nombre d'espèces médicinales possédant des principes actifs divers (SÜLSEN et *al.*, 2017). dans de nombreux cas, l'effet thérapeutique de ces plantes médicinales a été corrélé à la présence de métabolites secondaires de types lactones sesquiterpéniques, caractéristiques de cette famille (LOBSTEIN et *al.*, 2017).

Le genre *Carthamus* a révélé la présence de plusieurs composés bioactifs tels que le carthamine, le carthamone, le caryophyllène, le décanal, le décane, P-le cymène, le quinochalcone, le tinctormine de *Carthamus tinctorius* (LOU et *al.*, 2017), les flavonoïdes, des

glycosides et des sérotonines de *Carthamus lanatus* (STAGOS et *al.*, 2018), Plusieurs auteurs ont rapportées des activités pharmacologiques pour le genre *Carthamus* (LOU et *al.*, 2017) . En effet l'extrait de *Carthamus tinctorius* montre une forte inhibition des cyclooxygénases COX-1 et COX-2 (WANG et *al.*, 2014).

5.2. Activité antimicrobienne

Depuis le début de leurs vie, les êtres humains sont exposé a dénombrables micro organismes qui colonisent le corps, pour y résister il y a de nombreux moyens : soit la barrière anatomique ou le mécanisme de résistance naturelle (défense immunitaire innée) (KAUFMANN, 1997).

Pour y remédier, l'antibiothérapie a était préconisé, mais la prescription a grande échelle a entrainé la sélection de souches multi résistantes ceci les a forcé à s'orienter vers la découvertes de nouveaux moyens thérapeutique.

C'est a ce moment la que la phytothérapie a était prise en considération, cette méthode bien connue de nos ancêtres a revu le jour, elle consiste à l'utilisation des plantes a des suites thérapeutiques.

Les extraits végétaux exercent une activité anti microbienne et ceci grâce a la présence de biomolécules tels que les poly phénols et plus précisément les flavonoïdes qui agissent sur la membrane plasmique en causant des dommages structurels et fonctionnels, mais ce n'est pas tout puisqu'ils causent l'inhibition des enzymes extracellulaire et la séquestration de substrat nécessaire a la croissance microbienne etc. (MILANE, 2004 ; PIEBOJI, 2007 ; ZHANG et al, 2009 ; LUIS et al, 2014).

Le travail expérimental que nous avons réalisé a été effectué au sein du laboratoire de recherche de Biochimie Analytique et Biotechnologie (LABAB) de la faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'université Mouloud MAMMARI de Tizi-Ouzou (UMMTO), durant la période comprise entre avril et juillet de l'année 2021.

Au cours de cette étude, nous nous sommes intéressés aux effets anti-inflammatoires et antibactériens des racines de *Carthamus caeruleus* L. Nous avons en premier lieu déterminé la teneur en poly phénols totaux d'extraits des racines de cette plante, pour ensuite en évaluer les effets biologiques. Le choix de cette plante a été motivé par son utilisation fréquente en médecine traditionnelle, mais aussi par le fait que peu d'études ont été menées sur l'activité anti-inflammatoire et antibactérienne de celle-ci. L'évaluation des propriétés biologiques s'est d'abord portée sur l'effet protecteur de l'extrait aqueux de cette plante vis-à-vis des érythrocytes par l'hémolyse induit par la solution hypotonique, chaleur, et stress oxydative. Puis, nous avons mis en évidence l'effet protecteur de carthamus vis-à-vis de la dénaturation thermique de la BSA, à la fin on détermine l'activité anti-bactérienne de l'extrait.

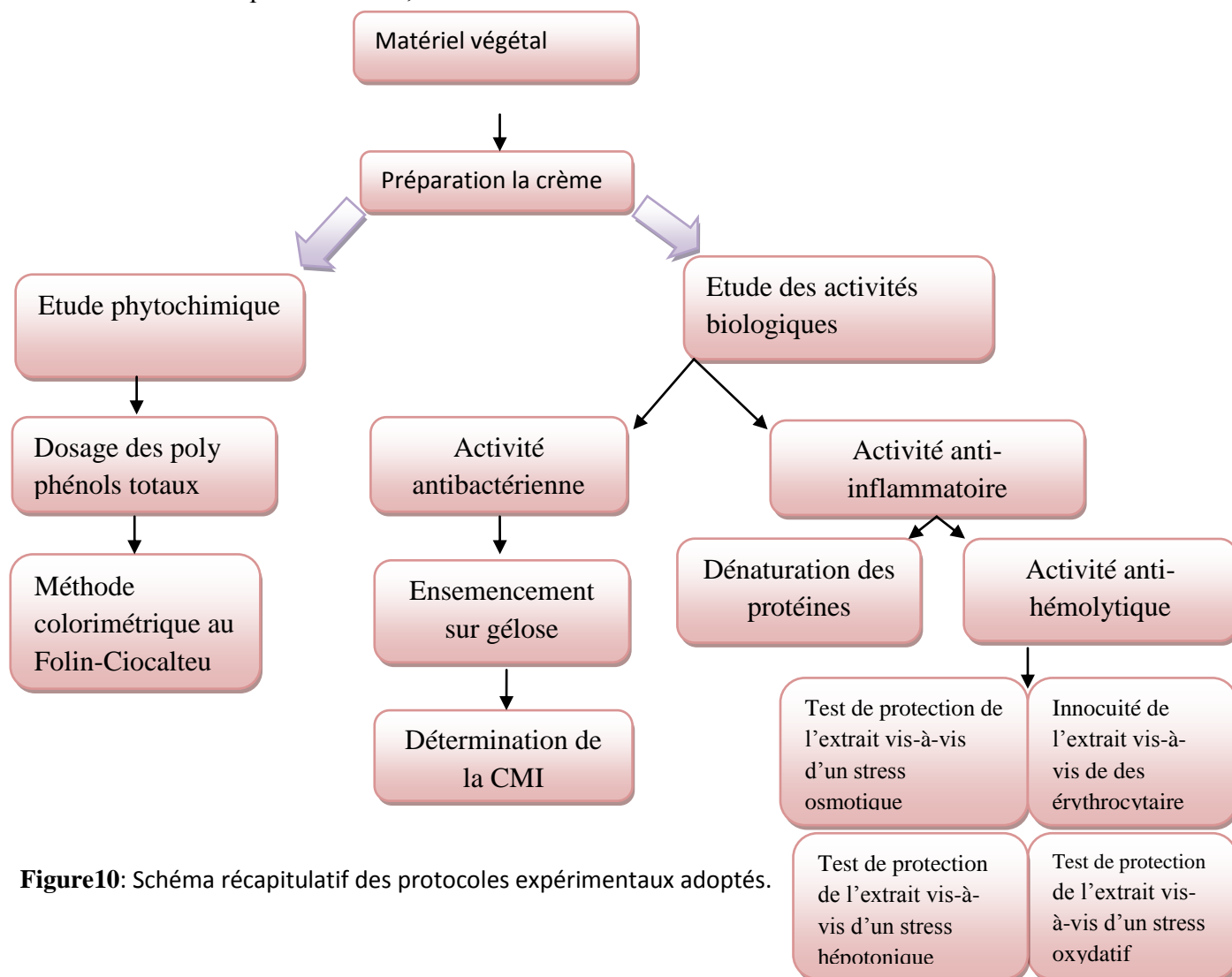


Figure10: Schéma récapitulatif des protocoles expérimentaux adoptés.

1. Matériels biologiques

1.1. Matériel végétal

Le choix de la plante *Carthamus caerulus* L. est motivé par son usage traditionnel qui consiste principalement à traiter les brûlures. Les racines de carthamus ont été récoltées au mois de mai 2021, dans la région de FREHA dans la wilaya de Tizi-Ouzou (Algérie). Le choix de la zone d'échantillonnage est motivé par son éloignement de la route et de toute exploitation agricole.

1.2. Les souches bactériennes

L'activité antibactérienne de carthamus est évaluée sur quatre souches bactériennes à savoir : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* qui proviennent de la collection d'unité de microbiologie appliqué au laboratoire de recherche en biochimie analytique et biotechnologies (LABAB) d'université mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

Tableau VI : les deux groupes des bactéries gram+et gram- utilisés, ainsi que leurs références

Micro-organismes	Espèces	Références
Bactéries bacilles à gram-	<i>-Escherichia coli</i>	ATCC 25922
	<i>-Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 25852
Bactéries cocci à gram+	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC43300
	<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876

1.3. Prélèvement sanguins

Dans cette étude, le sang utilisé provient de volontaires sains, non-fumeur, n'ayant pas suivies de traitements médicaux. Les échantillons sont récupérés dans des tubes héparinés puis conservés à 4°C°

2. Méthodes

2.1. Préparation de la crème traditionnelles (forme semi-solide)

Les racines de carthmus sont récoltées, lavées, épluchées, puis mixées pour obtenir un mélange hétérogène (le liquide et les insolubles), ainsi ce dernier est essoré pour récupérer un liquide épais mis au frais. Au bout de 7h, le liquide va être réduit en pommade (forme semi-solide)



Figure 11 : les différentes étapes de préparation de la crème traditionnelle (images personnelles).

3. Détermination de la teneur en polyphénols

La teneur en phénols totaux d'extrait de *Carthamus caeruleus L.* a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu, (LI et *al.*, 2008), ce réactif est un mélange de complexes d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et l'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀) de couleur jaune, (BOIZOT et CHARPENTIER, 2006). Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif. Elle entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 760 nm, l'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité des poly phénols totaux présents dans cet extrait.

On mélange 200µl de notre extrait ou d'acide gallique à une concentration de 1500µl/mg à 1ml du réactif Folin-Ciocalteu dilué au dixième (1/10). Après 4min on ajoute 800µl de

carbonate de sodium (Na_2CO_3) a fin de stabilisé la réaction. Enfin le mélange réactionnel est mis à incuber à l'abri de la lumière pendant 45min.

Le complexe coloré est alors quantifié par la lecture de son absorbance (DO) à une longueur d'onde de 760nm.

La quantification des poly phénols a été déterminée en fonction d'une courbe d'étalonnage, réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations, dans les mêmes conditions que l'échantillon (WONG et *al.*, 2006), les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EGA/g).

La figure 12 récapitule les différentes étapes du protocole appliqué pour le dosage des poly phénols

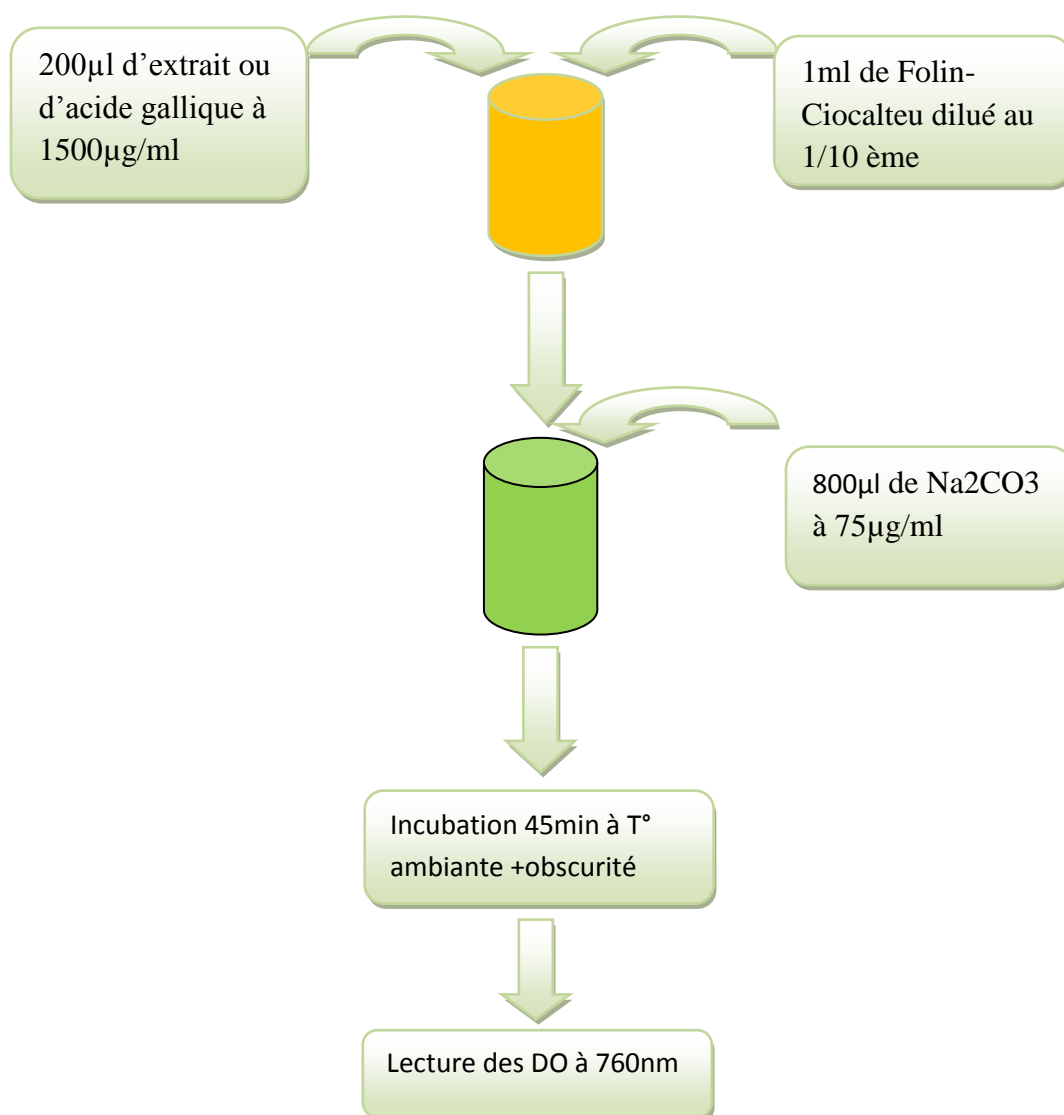


Figure12 : Schéma récapitulatif du protocole de dosage des poly phénols totaux.

4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

Les érythrocytes constituent un modèle cellulaire très important pour l'étude de l'activité anti-inflammatoire des extraits végétaux. Cette activité peut être évaluée par l'inhibition de l'hémolyse induite par une solution hypotonique, la chaleur, stress oxydatif (SHINDE *et al.*, 1999).

4.1. Test d'hémolyse

Les tests hémolytiques sont réalisés à partir de globules rouges aussi appelé érythrocytes. L'activité de stabilisation de la membrane est évaluée en hémolysant les cellules érythrocytaires et ceci grâce à une solution hypotonique, la chaleur et l'oxydant.

L'exposition des cellules érythrocytaires à une concentration hypotonique élevée, à la chaleur et à un oxydant induit la rupture de la membrane des érythrocytes conduisant ainsi à la libération de leurs contenu cellulaire (hémoglobine), on procède par la suite à la mesure de l'absorbance pour déterminer l'intensité de l'hémolyse (MOUALEK *et al.*, 2016).

4.1.1. Préparation de la suspension érythrocytaire

Le sang utilisé dans ce travail a été prélevé chez des volontaires sains au niveau de l'université de MOULOUZ MAMMERI mais aussi au pré de la famille, le sang récolté dans des tubes héparinés est conservé au frais à 4°C au niveau du laboratoire, ensuite on procède au lavage qui consiste en l'élimination du surnageant (sérum) par centrifugation à 2000rpm pendant 10min à 4°C pour au final récupérer le culot érythrocytaire. L'opération est répétée 3 fois successivement grâce à un tampon phosphate salin (PBS) (PH 7,5 ; 0.9% NaCl).

4.1.2. Test de l'innocuité de l'extrait vis-à-vis des cellules érythrocytaires

Avant d'étudier l'activité protectrice de stabilisation membranaire de l'extrait, nous sommes intéressés sur son innocuité vis-à-vis des cellules érythrocytaires, pour cela le test d'hémolyse a été réalisé pour une gamme de concentration de l'extrait aqueux allant de 50 à 500µg/ml a été préparé dans un tampon phosphate (Ph7.4 ; 0.9% NaCl) à un hématocrite de 2%. Le mélange a été incubé pendant 10min à température ambiante, puis centrifugé à 300g à 4°C pour enfin lire l'absorbance du surnageant à 540nm.

On compare nos résultats avec un témoin positif induisant une hémolyse totale comme la saponine, un hémolytique de référence, à une concentration de 1200µg/ml, a été

utilisé pour déterminer le pourcentage de protection, les pourcentages d'hémolyse de chacune des concentrations utilisées sont calculés suivant l'équation ci- dessous.

$$\text{Pourcentage de l'hémolyse (\%)} = [D_{OE} - D_{Oc} / D_{Oc+}] \times 100$$

D_{OE} : densité optique de l'échantillon

D_{Oc-} : densité du contrôle négatif

D_{Oc+} : densité du contrôle positif.

4.1.3. Protection de érythrocytaire vis-à-vis de stress hypotonique

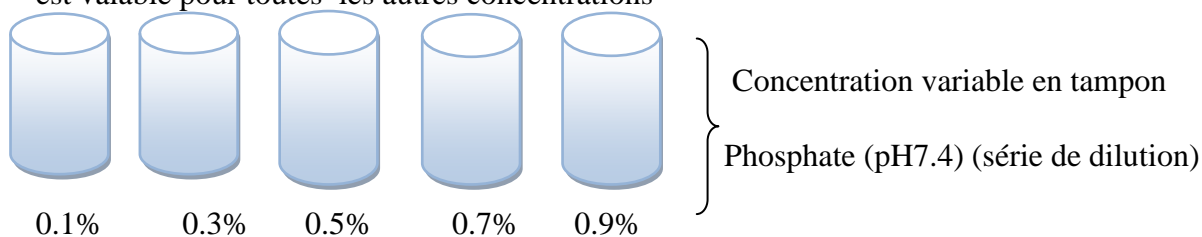
Une fois que le sang collecté dans des tubes héparinés, les globules rouge sont séparés du plasma par centrifugation à 300g pendant 10min à 4°C, le culot est lavé 3 fois avec un tampon phosphate (pH 7.4, NaCl 0.9%).

80µl des cellules érythrocytaires sont mélangées à 2ml de tampon phosphate (pH7.4) à des concentrations variable en NaCl (0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9%), et chaque concentration est combinée à des concentrations variable de l'extrait (250, 500, 750, 1000, 1250, 1500µg/ml).

Le mélange est incubé 10 minutes à 37 °C sous agitation douce puis centrifugé à 300 g pendant 10 minutes à 4°C. L'absorbance du surnageant est mesurée à 540 nm et le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse est calculé par l'équation suivante :

$$\text{Inhibition de l'hémolyse (\%)} = (DO1 - DO2 / DO1) \times 100$$

La figure récapitule les différentes étapes du protocole appliqué pour l'hémolyse induit par stress hypotonique on prend exemple la concentration de l'extrait 250µg/ml. Cette illustration est valable pour toutes les autres concentrations



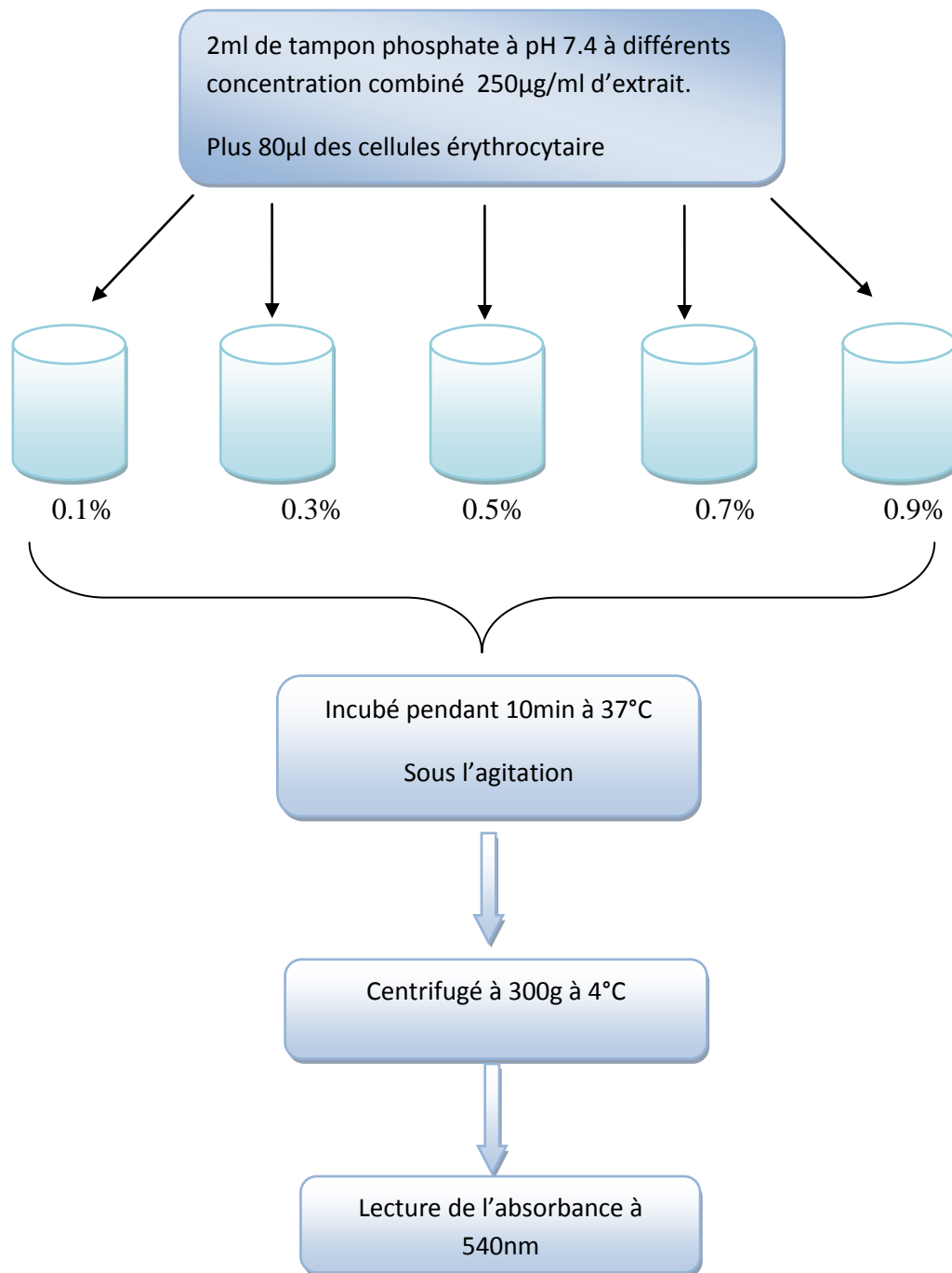


Figure 13 : Schéma récapitulatif des étapes du test de protection vis-à-vis d'un stress hypotonique

4.1.4. Hémolyse induite par la chaleur

La détermination de l'activité protectrice de l'extrait vis-à-vis de l'hémolyse provoqué par un stress thermique est réalisée in vitro par la méthode spectrophotométrique décrite par (SAKAT *et al*, 2010).

2 ml de différentes concentrations d'extrait (500 à 1500µg/ml) dissoute dans un tampon phosphate (pH 7,4 ; NaCl 0.9%) est mélangé avec 80µl de globule rouge (2%).

Le mélange réactionnel est incubé dans un bain-marie à 56°C pendant 30 minutes. Après incubation les tubes sont directement refroidis à l'eau du robinet, puis on centrifuge pendant 10 minutes à 4°C puis l'absorbance du surnageant est estimée à 560nm.

La détermination du pourcentage de protection s'est faite en utilisant l'aspirine comme anti-hémolytique de référence. L'évaluation de l'activité anti-hémolytique de l'aspirine a été effectuée dans les mêmes conditions opératoires que celles utilisées pour l'échantillon de plante. En parallèle, un test positif a été effectué en remplaçant l'eau physiologique par 1 ml d'eau distillée provoquant ainsi une hémolyse totale (100% hémolyse).

Le pourcentage de protection contre l'hémolyse induite par la chaleur est calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Protection(\%)} : 100 - (\text{Do échantillon} / \text{Do contrôle}) \times 100$$

La figure 14, récapitule les étapes suivies lors de la réalisation de ce test

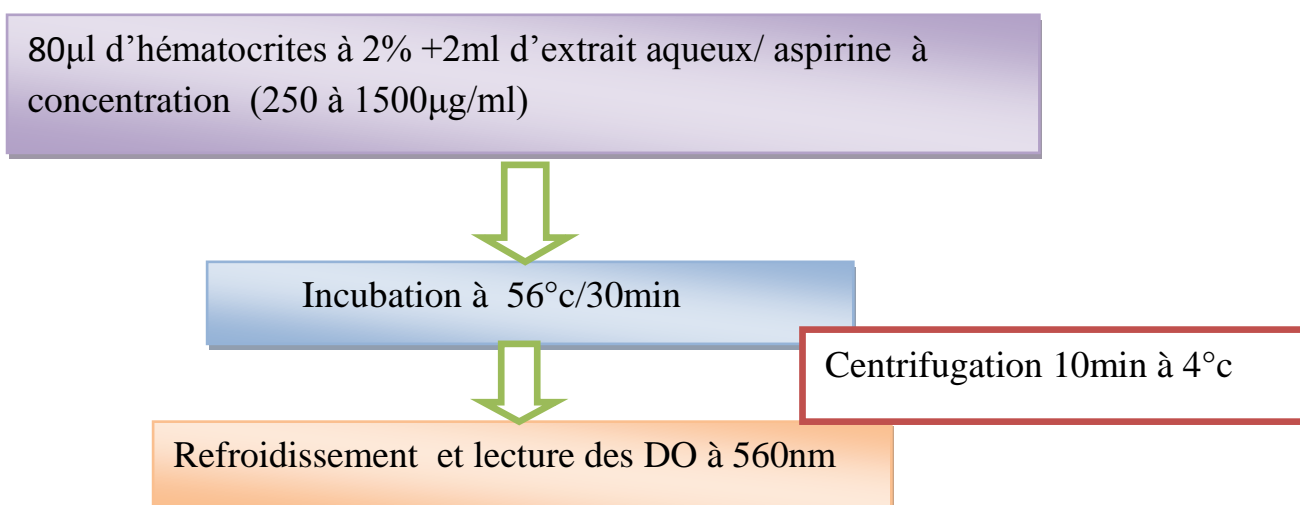


Figure 14 : schéma récapitulatif des étapes du test de protection vis-à-vis d'un stress thermique.

4.1.5. Hémolyse induite par un oxydant

0,01 ml d' HOCl solubilisé dans 50ml de suspension mère, 2 ml de la solution a différentes concentrations sont incubés pendant 7 minutes, on ajoute 80 μl de sang dans chaque tubes puis on réincube une autre fois pendant 15min. on met au bain-marie pendant 10min a 50°C, on centrifuge la solution a 300g pendant 10min a 4°C. On récupère le culot et l'absorbance est déterminé à 540nm

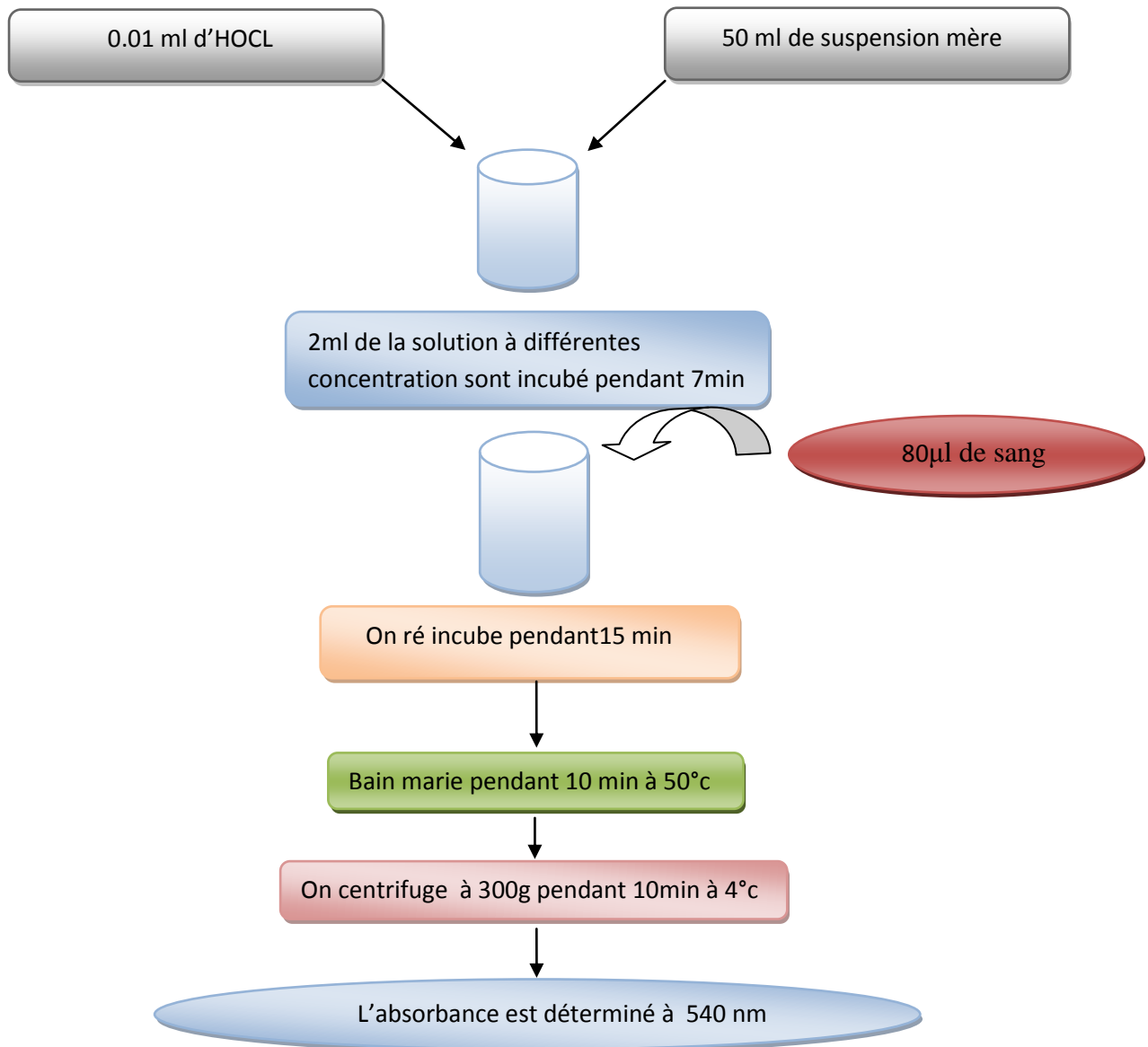


Figure 15 : protocole récapitulatif du test de protection vis-à-vis d'un stress oxydant

4.2. Inhibition de la dénaturation thermique de la BSA

L'inhibition de la dénaturation thermique de la BSA est réalisée par la méthode de (KARTHIK *et al.*, 2013).

50ml d'extrait sont préparés, puis on entame la préparation des différentes concentrations (500 à 1500 $\mu\text{g/ml}$) au quel on ajoute 2ml de BSA à 0.2% préalablement préparée dans du PBS (PH 6,4 ; NaCl 0,9%) les tubes sont ensuite chauffé à 72°C pendant 5 minutes, une fois refroidis nous lisons l'absorbance de chaque tube à 660nm.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation thermique de la BSA est calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Protection (\%)} : 100 - (\text{DO échantillon} / \text{DO contrôle}) \times 100$$

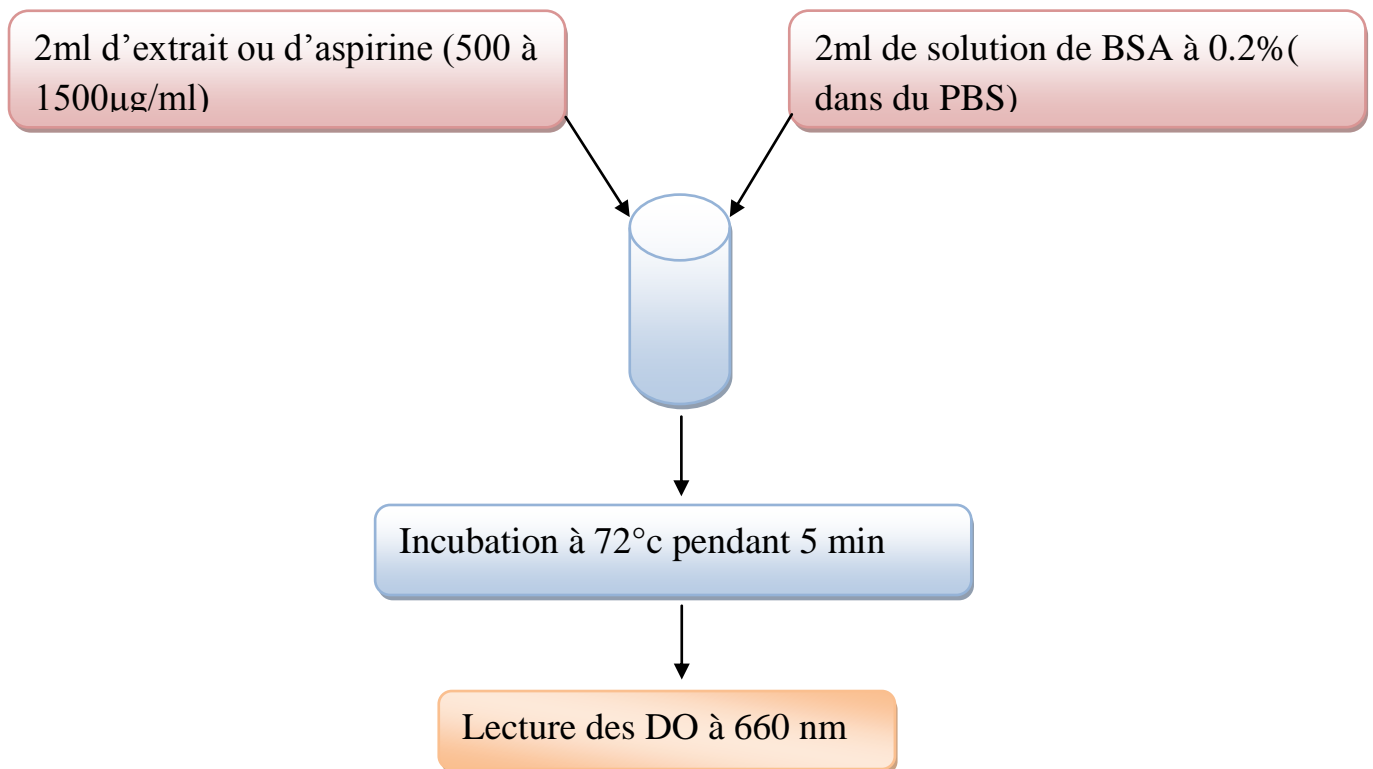


Figure 16 : protocole récapitulatif du test de la dénaturation thermique des protéines.

5. Activité antibactérienne

La sensibilité des bactéries aux extraits est déterminée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé, elle nous permet aussi de déterminer l'activité inhibitrice de nos extraits sur la croissance des bactéries.

La revivification des souches microbienne est réalisée pour revivifier les souches sur milieu GN dans des tubes de conservation, celle-ci sont incubées a l'étuve a 37°C pendant 24h.

Le repiquage sur milieu nutritif est effectué par la méthode des stries puis incubées à 37°C pendant 24h, cela permet d'obtenir une culture jeune et bien isolée.

L'inoculum est ensuite préparé a partir des colonies jeunes obtenue lors du repiquage dans de l'eau physiologique 0.9%, celle-ci sont prélevées à l'aide d'une anse puis homogénéisé, par la suite l'absorbance est déterminé a une longueur d'onde de 620nm, elle doit varier entre 0.8 et 1 (standardisation).

Les boites de pétries sont préparé et coulé de gélose MULLER-HINTON en surfusion, l'épaisseur est d'environ 4mm pour permettre une diffusion réussi de l'extrait, pour à la fin obtenir un antibiogramme réussi (DEHMANI M.M, 2018).

Détermination de la CMI

La détermination des concentrations minimal inhibitrices est réalisée sur milieu solide (MH) (DZOMBA et MCHANYEREYI, 2012) pour les souches sensible a l'extrait.

L'inoculum bactérien est réalisé dans l'eau physiologique stérile avec une densité optique entre 0.08 et 0.10 à 620 nm ; une série de dilution de l'extrait est réalisée dans de l'eau distillée stérile.

Une série de disque imbibé par des concentrations décroissantes (15µg/disque) sont disposé à la surface des boites de pétri préalablement ensemencées par l'inoculum bactérien, laissées environ 20 minutes sur la paillasse pour une pré diffusion de l'extrait puis incubé à 37°C pendant 24 heures.

La concentration minimale inhibitrice correspond à la plus petite concentration d'extrait qui inhibe la croissance de la culture bactérienne.

Résultats et discussions

1. Détermination de la teneur en poly phénols

L'extrait brut obtenu par macération dans l'eau distillée a subi une analyse quantitative par dosage spectrophotométrique de la teneur en poly phénols.

La quantification des poly phénols a été déterminée en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon (WONG et *al.*, 2006), les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EGA/g). La courbe ci-dessous montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations.

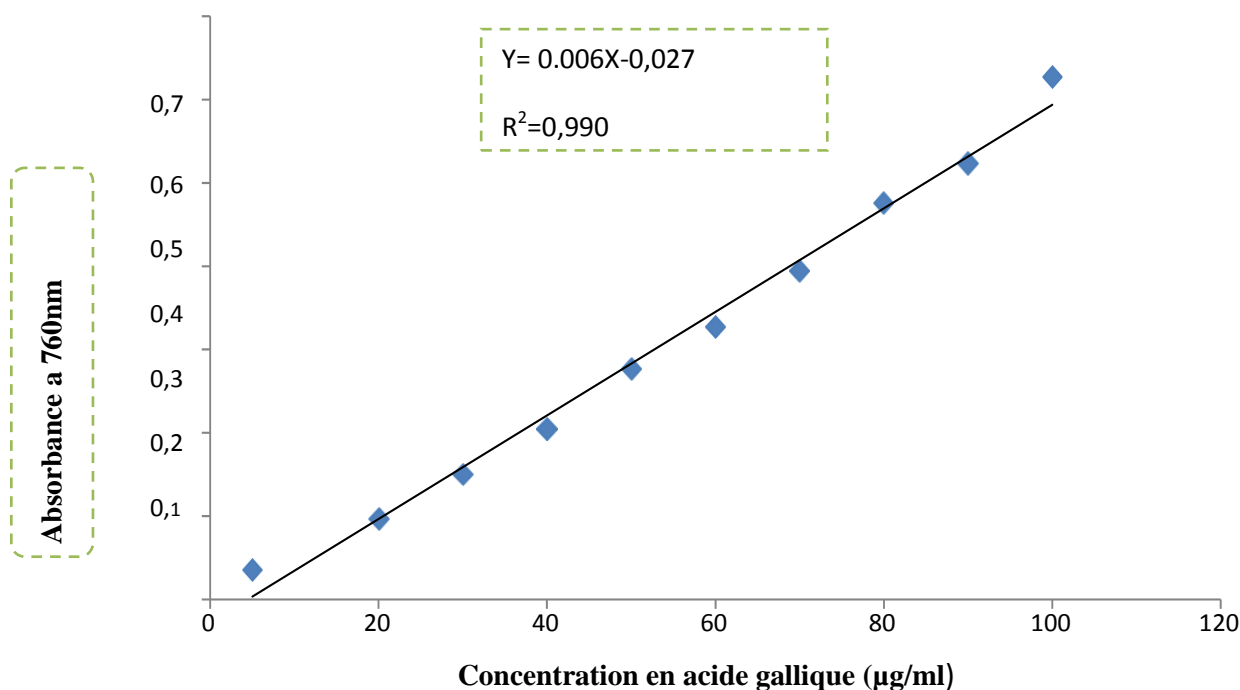


Figure17 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

La quantité des poly phénols totaux de l'extrait de l'espèce *Carthamus.caeruleus* L. est calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage ($y=0.006X-0.027$, $R^2=0.990$).

L'extrait aqueux de la racine de l'espèce *Carthamus caeruleus* L. est caractérisé par une teneur en poly phénols totaux 17 ± 0.2 mg EAG/g d'extrait. Celle-ci est relativement inférieure à celle rapportée par (SAFFDINE Karima, 2015) (27.17 ± 1.64 mg EAG/g d'extrait de CC).

Cette valeur faible qu'on a obtenue ne se traduit pas par une quantité faible en poly phénols ; d'après des études faites, l'extraction importante en PPT dépend du temps d'extraction et le type de solvant utilisé, ainsi une extraction hydro-méthanolique présente un taux de poly phénols plus élevé de 99.94 ± 3.53 mg EAG/g d'extrait de l'espèce *Carthamus caeruleus* L. par rapport à l'extrait hydro-éthanolique avec une valeur de 69.06 ± 1.67 mgEAG/g d'extrait de CC (SAFFDINE Karima, 2015).

Le rendement de poly phénols dépend de plusieurs facteurs extrinsèques et intrinsèques comme la méthode d'extraction et la région de récolte (LEE et al., 2002), la solubilité des composés phénoliques en fonction de leur degré de polymérisation, de leurs interactions avec les autres constituants et le type de solvant utilisé (FALLEH et al., 2008).

2. Innocuité de l'extrait vis-à-vis des cellules érythrocytaires

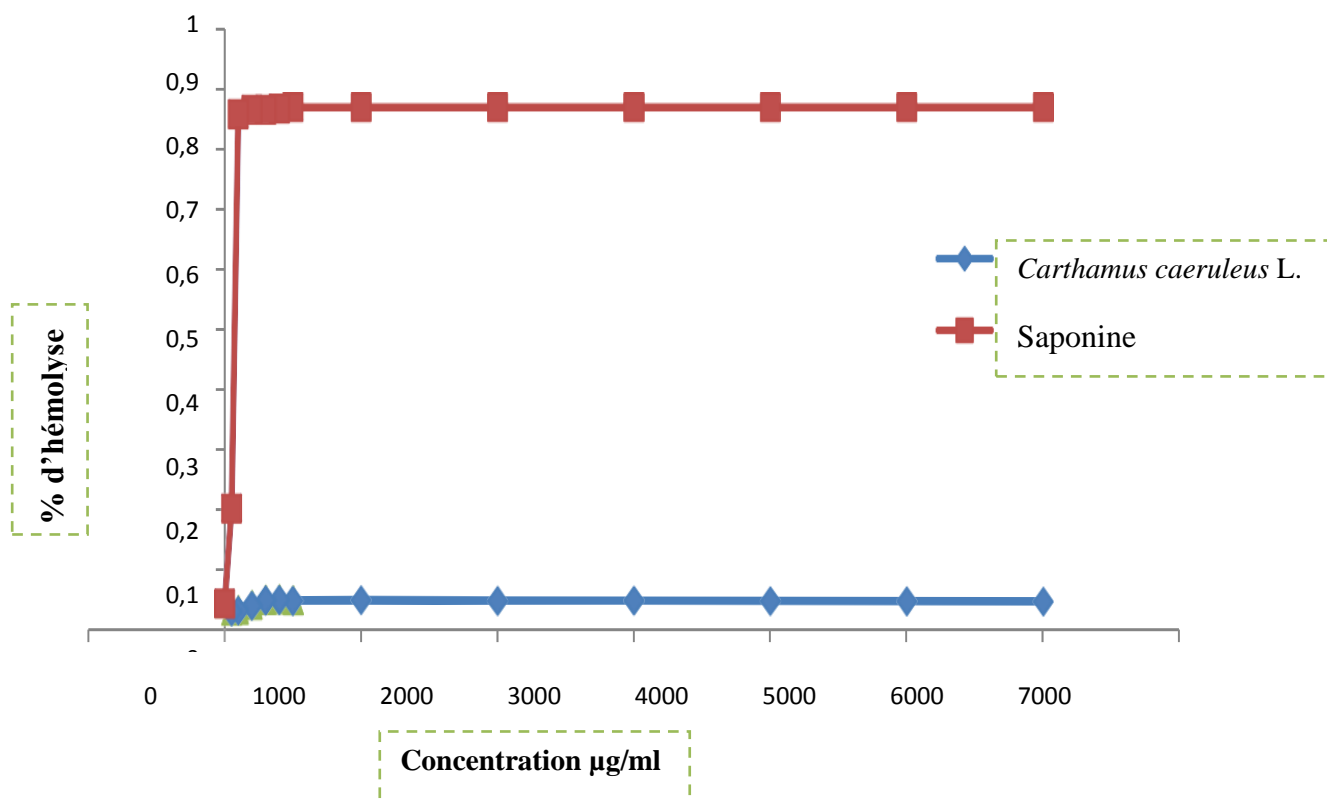


Figure18 : Représentation graphique de la densité optique du test d'hémolyse comparée à la saponine.

Ces résultats indiquent que l'extrait de plante ne présente pas d'effet hémolytique comparativement à la saponine. Ceci est démontré par les densités optiques enregistrées pour les tubes où les cellules érythrocytaires sont mises en contact avec l'extrait qui sont

relativement inférieures à celles de la saponine et proche de celles du témoin négatif (sans extrait).

Plusieurs études ont montrés que la capacité à lyser les érythrocytes est l'une des caractéristiques les plus importantes de la saponine (SHARMA *et al.*, 2012). Cette hémolyse induite par la saponine est généralement attribuée à leurs propriétés amphiphiles due à la présence de la fraction glucidique qui interagit avec la membrane érythrocytaire (VOUTQUENNE *et al.*, 2002).

Cependant, l'innocuité de l'extrait de carthamus vis-à-vis des cellules érythrocytaires est liée à la nature des composés apolaires qui le constituent (TAKEBAYASHI *et al.*, 2010).

3. Protection des érythrocytes vis-à-vis d'un stress osmotique

Les résultats de l'hémolyse *in vitro* réalisés sur les globules rouges humains par la solution hypotonique de NaCl obtenus sont illustrés dans **la figure 19** qui exprime le pourcentage d'inhibition d'hémolyse en fonction de la concentration en extrait.

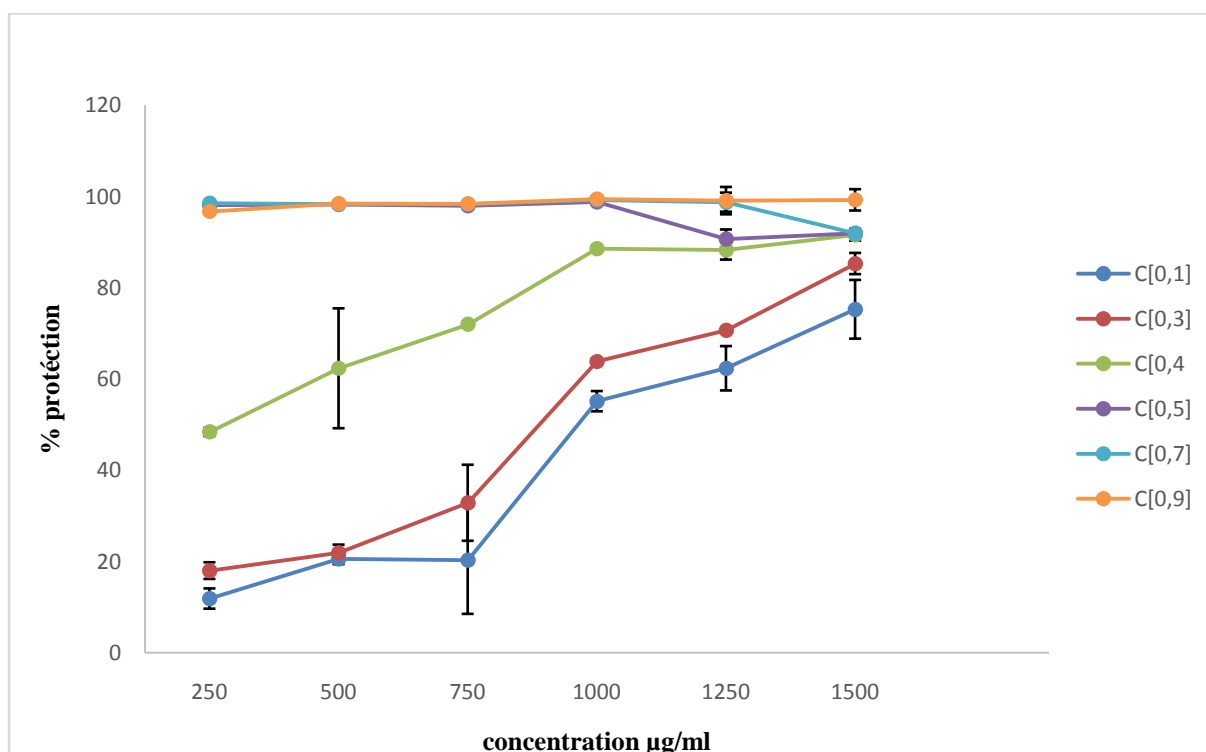


Figure 19 : pourcentage de protection des hématies vis-à-vis de la lyse induite par un stress hypotonique en présence des différentes concentrations en extrait.

On remarque que l'augmentation du pourcentage de protection est proportionnelle à l'augmentation de la concentration en extrait.

Le taux d'hémolyse des globules rouge dépend de la concentration d'NaCl, en effet pour la concentration en extrait **250µg/ml** (concentration relativement faible en extrait), l'activité hémolytique la plus prononcée est observée dans le milieu à 0.1%,0.3% de NaCl où les valeurs de protection enregistrées sont respectivement de 11.88 ± 2.22 , 18.1 ± 1.82 tandis que dans les autres solutions, nous enregistrons pour 0.4% NaCl, une protection de 48.4 ± 0.9 . Les taux d'hémolyse diminuent de façon importante pour les autres concentrations. Ainsi pour les concentrations de 0.5, 0.7 et 0.9%, nous obtenons des taux de protections respectifs de 98.15 ± 0.5 , 98.33 ± 0.46 et 98.56 ± 0.48 .

Une protection significativement plus importante est observée pour les concentrations plus élevées. Le taux de protection de 62.36 ± 4.86 , 70.72 ± 0.42 , 88.3 ± 2.12 , 90.7 ± 2.09 , 98.77 ± 1.67 , 99.11 ± 3.0 pour la concentration **1250µg/ml** qui exprime un effet **maximal**, respectivement pour les concentrations en NaCl 0.1, 0.3, 0.4, 0.5, 0.7, 0.9%.

Ces résultats sont relativement plus important que ceux enregistrés par (MOUALEK et al., 2016) sur l'extrait aqueux d'*Arbutus unedo*, avec des pourcentages de protection qui sont respectivement de 46.15, 79.53, 70.78, 71.95 et 76.46 % aux concentrations de 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 et 0.9 % de NaCl, aussi des travaux déjà faits sur d'autres genres de plantes Ainsi, (RAHMAN et al., 2015) ont montré que les extraits de *Oryza sativa* présentaient une activité anti-hémolytique avec un pourcentage de 63,77% à une concentration de 500µg/ml. Alors que (LOUERRAD et al., 2016) ont trouvé que les extraits de *Hyloxylon scoparium* présentent un effet protecteur avec un pourcentage d'inhibition de lyse de 63,85% à une concentration de 5g/l

L'effet anti-hémolytique des extraits de plantes peut être attribué au fait que l'extrait équilibre la pression osmotique entre les deux milieux, ou se fixe sur l'aquaporine qui empêche l'eau d'entrer dans les hématies (LOUERRAD et al., 2016).

Des études ont démontrées que les poly phénols ont la capacité de stabiliser la membrane des globules rouges contre la lyse osmotique. Cette activité est effectuer grâce à la répartition des composés phénoliques dans les membranes cellulaires et la restriction qui en résulte sur la fluidité de la membrane pourrait gêner strictement la diffusion des radicaux libres et ainsi diminuer la cinétique des réactions radicalaires (SUWALSKY et al. 2007). Nous avons remarqué que les substances de la famille des flavonoïdes sont responsables de l'activité anti hémolytique et plus exactement la classe des flavonols (DAI et al., 2006).

4. Protection des érythrocytes vis-à-vis de la chaleur

L'effet protecteur de l'extrait aqueux de *Carthamus caeruleus* L. vis à vis de la lyse érythrocytaires induite par un stress thermique est illustrés dans **la figure20**.

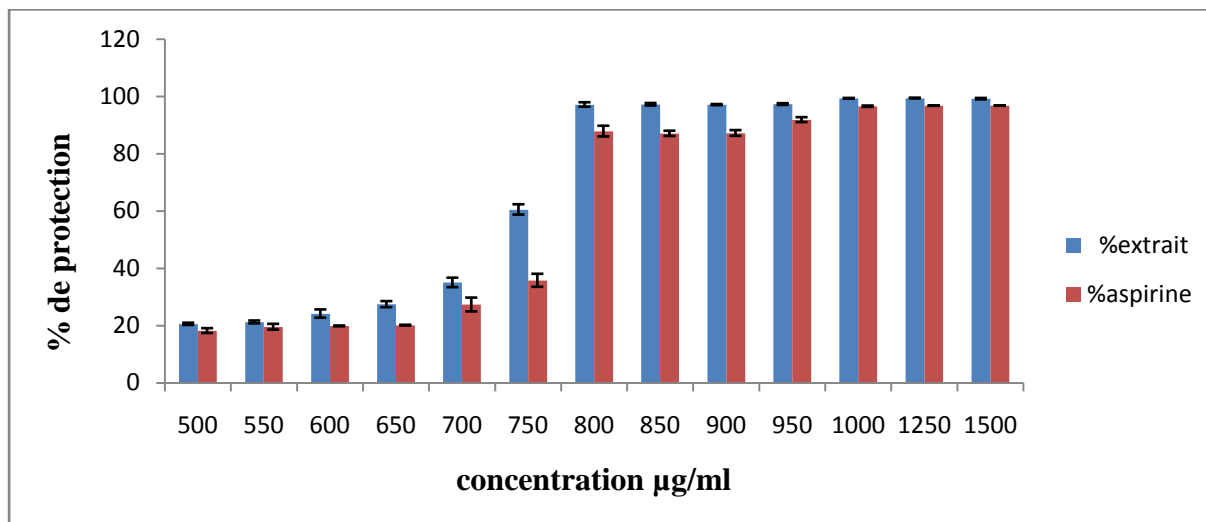


Figure20 : pourcentage de protection des cellules érythrocytaires vis-à-vis de la lyse induite par un stress thermique en présence des différentes concentrations d'extrait et d'aspirine.

Ces valeurs nous indiquent clairement l'effet protecteur de l'extrait mais aussi qu'il est dose dépendant

Les données récoltées pour des concentrations allant de **500µg/ml** à **1500µg/ml** nous montre une bonne protection des cellules érythrocytaires avec une protection allant de 20.58% ±0.37 à 99.17 % ± 0.24, Une protection significative est observée à une concentration de **1250µg/ml** dont la valeur est de 99.38% ±0.125, elle correspond à l'effet protecteur maximal.

Ces valeurs sont nettement plus supérieurs a celle obtenue avec l'aspirine qui varient entre 18.22% ±0.84 à 96.75% ±0.06 pour des concentration allant de 500µg/ml a 1500µg/ml, Ces résultats sont aussi comparer a ceux obtenue par (MOUALEK et *al.*, 2016) pour l'extrait aqueux d'*arbutus unedo* (79.66% ± 1.92%) qui sont relativement inferieur aux résultats obtenus, ainsi l'extrait aqueux de *Carthamus caeruleus* L. est nettement plus efficace.

Les érythrocytes sont facilement altérables lorsqu'ils sont exposés a des températures relativement élevés, ils sont amener à se déformer et a devenir sphérique, ce qui induit par la suite une faible capacité à résister à l'hémolyse (GERSHFELD et MURAYAMA, 1988).

La protection contre la lyse des érythrocytes induits par la chaleur s'explique par l'interaction de l'extrait avec les protéines membranaires, évitant ainsi leurs dénaturations.

L'effet non hémolytique de l'extrait serait certainement causé par les enzymes inhibitrices impliqué dans la production de médiateurs chimique (VIDHYA *et al.*, 2016).

Des molécules comme les poly phénols se fixerait sur les protéines membranaire ce qui induit un changement conformationnelle (CHAUDHURI *et al.*, 2007).

5. Protection des érythrocytes vis-à-vis des d'un stress oxydatif

L'effet stabilisant de l'extrait aqueux de la plante étudiée face à la lyse érythrocytaire induite par HOCl est illustré dans **la figure 21**. Ces résultats sont exprimés en pourcentage de protection par rapport à la concentration en extrait végétal utilisé.

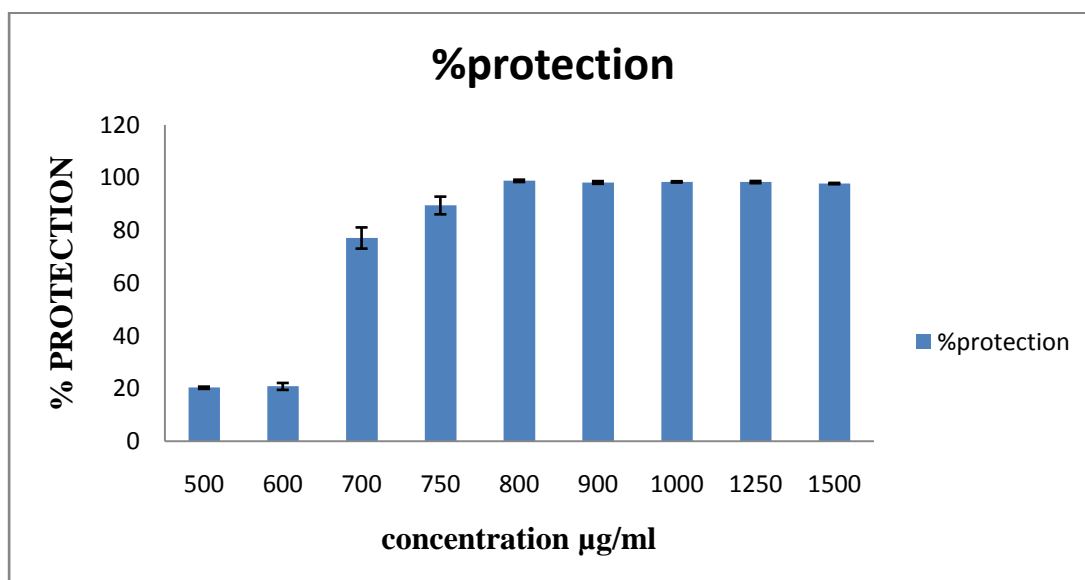


Figure 21 : Pourcentage de protection des hématies vis-à-vis de la lyse induite par un stress oxydatif en présence des différentes concentrations en extrait.

L'étude de l'effet protecteur de l'extrait de *Carthamus caeruleus* L. contre l'hémolyse oxydative induite par HOCl présente un effet dose dépendant, comme illustré dans **la figure 21**. Le pourcentage de protection maximal enregistré est de l'ordre de $98.81 \pm 0.44\%$ à la concentration de $800\mu\text{g} / \text{ml}$ d'extrait.

Ces résultats sont relativement importants que ceux enregistrés par (MOUALEK *et al.*, 2016) sur l'extrait aqueux d'*Arbutus unedo*, avec pourcentages de protection $73.90 \pm 2.08\%$ à la concentration de $1 \text{ mg} / \text{ml}$ de la plante. Nos résultats sont en coïncidence avec l'étude

effectué par (IRATNI et *al.*, 2015) sur l'extrait aqueux de *Pistacia lentiscus* qui nous montre une protection contre l'hémolyse de 92.53%, à une concentration en extrait de 1000µg/ml.

A travers la littérature, les érythrocytes et les lipides membranaires lorsqu'ils sont soumis à un stress oxydatif considérable, ils perdent un atome d'hydrogène d'une chaîne d'acide gras insaturé initiant ainsi la peroxydation lipidique qui se propage sous forme de réaction en chaîne. Par conséquent, un systèmes antioxydants enzymatiques comme la catalase et la superoxyde dismutase, et non enzymatiques principalement le glutathion, l' α -tocophérol et l'ascorbate interagissent pour lutter contre ces stress oxydatifs. Cependant, de tels antioxydants endogènes ne sont pas tout à fait suffisants dans des conditions de stress oxydatif extrême, d'où la nécessité de s'appuyer sur des antioxydants exogènes (NAQINEZHAD et *al.*, 2012; MENDES et *al.*, 2011 ; DAI et *al.*, 2006 ; CHAUDHURI et *al.*, 2007). Dans ce contexte, les flavonoïdes s'avèrent très efficaces pour lutter contre les dommages médiés par les radicaux libres.

CHAUDHURI et ses collaborateurs (2007) ont conclu que les flavonoïdes, à savoir la fisétine, la quercétine, la chrysin, la morine et la 3- hydroxyflavon, interagissent avec les composants lipidiques et protéiques des membranes des globules rouges. Ils ont trouvé que les flavonoïdes provoquent une extinction appréciable de la fluorescence tryptophane des protéines membranaires. Suggérant une proximité étroite des sites de liaison des flavonoïdes dans la membrane fantôme aux résidus tryptophane des protéines membranaires ce dernier, jouent un rôle crucial dans la détermination de leurs propriétés anti oxydantes. En outre, les flavonoïdes se sont avérés efficaces pour arrêter partiellement l'augmentation de la micro viscosité des membranes fantômes (résultant de la peroxydation), ce qui est important pour maintenir le caractère déformable facile des érythrocytes. De plus, l'activité anti hémolytique des flavonoïdes est liée à l'augmentation de l'intégrité membranaire des membranes érythrocytaires incorporées de flavonoïdes (CHAUDHURI et *al.*, 2007).

Enfin, les flavonoïdes peuvent être incorporés dans la membrane érythrocytaire et précisément à proximité des résidus tryptophane où elle exerce son effet anti hémolytique qui dépendant de son activité anti oxydante par le piégeage des radicaux libres et l'empêchement de la propagation de la peroxydation en chaîne, essentiellement des phospholipides tout en maintenant l'intégrité membranaire et en inhibant par la suite l'hémolyse de la cellule.

6. Inhibition de la dénaturation thermique de la BSA

Le taux d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines détermine les propriétés anti inflammatoire de *Carthamus caeruleus* L. ainsi le modèle utilisé est la dénaturation de la BSA, cette étude nous détermine la capacité de notre extrait à réduire voir inhiber la dénaturation. Les résultats obtenus sont illustré dans **la figure 22**, ils expriment la fluctuation du pourcentage de protection vis-à-vis de la dénaturation.

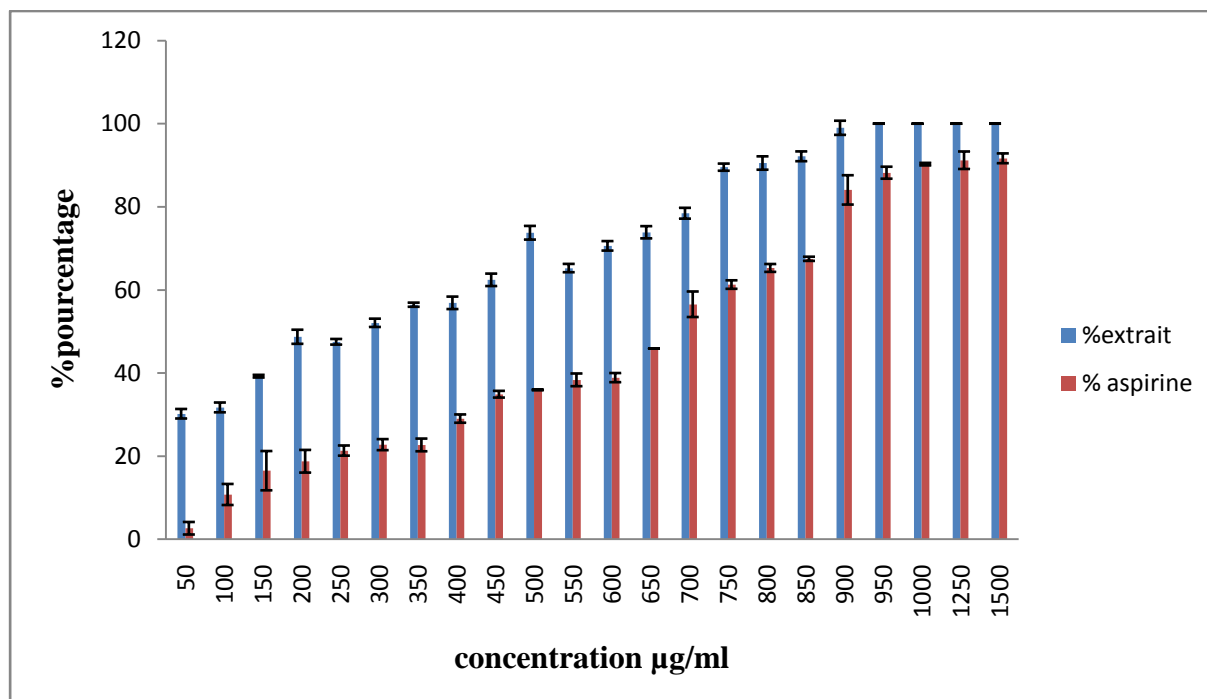


Figure 22 : pourcentage de protection de la dénaturation thermique de la BSA

La capacité d'inhibition de la dénaturation est relativement proportionnelle à la dose de l'extrait (dose dépendante).

L'extrait montre un pourcentage allant de $30.17\% \pm 1.148$ à $100\% \pm 0$ pour des concentrations variant de **50 à 1500 $\mu\text{g/ml}$** comparativement à l'aspirine qui montre une protection moins importante qui est de $2.6\% \pm 1.5$ à $91.67\% \pm 1.17$ pour les mêmes concentrations.

Ces résultats sont aussi comparé à ceux obtenu par (MOUALEK et *al.*, 2016) pour l'inhibition de la dénaturation thermique par *Arbutus unedo*, qui montre un pourcentage très inférieure de $74.28\% \pm 0.86$, l'extrait de *Carthamus caeruleus* L. montre une meilleur efficacité.

3- activité antibactérienne

Détermination de la CMI

L'évaluation du pouvoir antibactérien de l'extrait aqueux est démontré sur plusieurs microorganismes, l'apparition de zone d'inhibition est un signe de sensibilité des germes face à l'extrait, dans le tableau suivant sont inclus les résultats obtenue en (mm) des diamètres d'inhibition.

L'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *Carthamus caeruleus* L. a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion sur disque vis-à-vis de 4 souches bactériennes : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25852, *Bacillus cereus* ATCC 10876.

Tableau VII: diamètres d'inhibitions et concentrations minimales inhibitrices de *Carthamus caeruleus* L.

Gram-	Souches bactériennes	Antibiotique Nitrofurantoin 300µg	Extrait	CMI µg/ml
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	18.5	0	-
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 25852	16.4	0	-
Gram+	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	22.5	11.67± 1.15	375
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	24.5	0	-

En vu des résultats obtenue, l'extrait aqueux de *Carthamus caruleus* L. A la concentration de 1500µg/ml présente une activité vis-à-vis d'une seule souche bactérienne : *Bacillus cereus* ATCC 10876

Les données confirment que l'extrait possède un effet plus important sur *Bacillus cereus* avec un diamètre d'inhibition de : 1.167± 0.115, et avec une CMI de 375µg/ml. L'absence de zone d'inhibition pour les autres souches montre leurs résistances vis-à-vis de l'extrait aqueux.

Peu d'études montreraient l'effet anti bactérien de l'extrait aqueux de *Carthamus caeruleus L.*, ce qui rend la comparaison des résultats difficile, néanmoins ils sont comparés à ceux obtenus par (MOUALEK et al., 2016) (12.3 ± 0.5 pour *B.cereus*).

L'extrait aqueux montre aucune activité pour les autres souches bactériennes ce qui peut être expliqué par la faible concentration de poly phénols dans l'extrait aqueux, puisque l'eau ne recueille pas une quantité importante de poly phénols contrairement aux alcools (SAFFIDINE et al., 2013), il est aussi influencé par la capacité de diffusion dans le milieu gélosé. Les bactéries Gram négatif semblent être plus résistantes vis-à-vis de l'extrait par rapport aux bactéries Gram positif en raison de la nature et de la complexité de leur structure. En effet, les LPS, constituants essentiels de la membrane des Gram négatif sont responsables de l'imperméabilité des macromolécules hydrophobes.

L'effet antibactérien serait dû à la présence de tannins, mais aussi de poly phénols dans l'extrait.

Conclusion

Dans le but de rechercher de nouvelles substances bioactive à intérêt thérapeutique, nous sommes intéressés à valoriser les vertus de *Carthamus caeruleus* L. par une caractérisation phytochimique et une évaluation des activités biologiques.

L'objectif assigné à cette étude est l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire et antibactérienne de l'extrait aqueux de rhizome de *Carthamus caeruleus* L.

Dans un premier temps, un dosage des polyphénols totaux par la méthode colorimétrique au réactif folin-ciocalteu a été effectué. Celui-ci a montré que l'extrait aqueux de CC contient une teneur modérée en PPT avec une valeur de 17 mg EAG/g d'extrait, cela ne signifie pas une quantité faible en PP d'après les autres travaux réalisés sur CC, une teneur importante en ces métabolites bioactif dépend de la méthode d'extraction et le types de solvant.

Avant d'évaluer les activités biologique nous avons testé la cyto-toxicité de notre extrait sur la base d'un model animale cellulaire érythrocytaire, la sensibilité érythrocytaire a été relevée à différentes concentration en extrait, cette étude a montrée que l'extrait de CC ne provoque pas d'hémolyse, comparativement à la saponine.

L'évaluation de l'effet anti-inflammatoire via la stabilisation des membranes des érythrocytes, et l'inhibition de dénaturation des protéines BSA ont montrés une excellente activité, notant pour la protection des érythrocytes vis-à-vis d'un stress osmotique où l'extrait a montré une efficacité de l'ordre de $88.3 \pm 2.12\%$ à 0.4% NaCl à une concentration en extrait de $1250 \mu\text{g/ml}$, pour ce qui de la stabilisation des érythrocytes vis-à-vis d'un stress oxydant (HOCl), ainsi que de la chaleur, la protection obtenu avec l'extrait de CC sont respectivement de $98.81 \pm 0.44\%$ à une concentration $800 \mu\text{g/ml}$ d'extrait, et 99.38 ± 0.125 à $1250 \mu\text{g/ml}$ d'extrait CC, et celle de dénaturation des protéines notre plante a marqué un excellent effet contre la dénaturation de la BSA de l'ordre de 100% de protection a une concentration de $1500 \mu\text{g/ml}$.

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux des rhizomes de *Carthamus ceeruleus*.L a été évaluée sur quatre souches bactériennes par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Les résultats ont montré que l'extrait n'a pas d'activité contre toutes les souches sauf *bacillus cereus*

Conclusion

L'ensemble de ces résultats justifie l'utilisation traditionnelle de *Carthamus caeruleus* L. est démontrant son potentiel comme source de biomolécules aux multiples applications thérapeutiques.

Notre travail met en relief de nouvelles voies d'investigations ainsi que de nombreuses perspectives comme :

- Purifications des extraits des racines de *Carthamus caeruleus* L. afin d'identifier les molécules bioactives à l'origine des effets pharmacologiques.
- Une analyse par une chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse chromatographique (LCMS).
- Effectuer des tests microbiens sur d'autres souches fongiques puisqu'on utilise cette plante en usage traditionnel contre l'eczéma.
- Développer un modèle *in silico* d'une molécule bioactive des racines de *Carthamus caeruleus* L.
- L'élargissement de l'éventail des activités et des tests utilisés comme hypocholestérolémiant et hypoglycémiant
- Le passage aux tests *in vivo*.
- Effectuer des tests pour trouver des modes de conservation pour la crème.
- Faire des extractions avec d'autres solvants (éthanolique, méthanolique...) pour avoir un meilleur rendement en molécules bioactives comme les polyphénols.

Références bibliographique

Référence bibliographique

A

AKROUM S. (2011). Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels

ALALTA R., ARZYM A., HAMEL F. (2007). Etude de l'activité biochimique et neutraceutique des poly phénols université de JIJEL

B

BLAMEY M. et GREY-WILSON C. (2009). Toutes les fleurs de méditerranée : les fleurs, les germinées ; les arbres et les arbustes. Les guides du naturaliste. 560pages

BOIZOT N. ET CHARPENTIER J-P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Cahier des Techniques de INRA, Numéro spécial: 79–82.

BOTTA B., MENENDEZ P., ZAPPIA G., LIMA R.A.D., TORGE R. AND MONACHE G.D. (2009). Prenylated isoflavonoids: botanical distribution, structures, biological activities and biotechnological studies. An update (1995-2006). *Current Medicinal Chemistry*, 16: 3414–3468

BOULLARD B. (2001). Plantes médicinales du monde (réalité et croyances). ESTEM, ISBN. PP. 515-516.

BUEVA A. ET GUIGNARD J.P. (1994). Renal Function in Preterm Neonates. *Pediatr Res* 36, 572–577 (1994).

C

CASTANEDA-OVANDO A., PACHECO-HERNANDEZ M.L., ELENA PAEZ-HERNANDEZ M.E., RODRIGUEZ J.A., CARLOS ANDRES GALAN-VIDA C.A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: a review. *Food Chemistry*, 113(4): 859–871.

CHANDRASEKHARAN N. V., DAI H., ROOS K. L. T., EVANSON N. K., TOMSIK J., ELTON T. S., & SIMMONS D. L. (2002). COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(21), 13926-13931.

Références bibliographique

CHAUDHURI SUDIP ET AL. (2007). « Interaction of Flavonoids with Red Blood Cell Membrane Lipids and Proteins: Antioxidant and Antihemolytic Effects ». *International Journal of Biological Macromolecules* 41(1): 42-48.

CLEMENT SAIDOU. (2012). Propriétés physico-chimiques et fonctionnelles des gommes hydrocolloïdes des écorces de *Triumfetta cordifolia* et *Bridelia thermifolia*. Autre. Université de Grenoble.

COUSSENS L.M., ZENA W. (2002). Inflammation and cancer. *Nature* 2002, 420: 860-867.

CROZIER A., JAGANATHI., et CLIFFORD M (2007). Phenols, polyphenols and tannins : chapitre 1 in book : plant secondary metabolites : occurrence, structure and role in the human diet. Oxford, United Kingdom, black well publishing ; p.383.

CRUPI R. ET CUZZOCREA S. (2018). Mannuronic Acid as an Anti-inflammatory Drug, Alginates and Their Biomedical Applications. Springer, pp. 257-268.

D

DAHMANI M.M. (2019). Evaluation de l'activité biologique des polyphénols de *Carthamus caeruleus* L (Asteraceae) ; thèse de doctorat ; université DE M'HAMED BOUGUERA-BOUMERDES.120p.

DAI FANG ET AL. (2006). « Protective Effects of Flavonols and Their Glycosides against Free Radical-Induced Oxidative Hemolysis of Red Blood Cells ». *Life Sciences* 78(21): 2488-93.

D'ARCHIVIO M., FILESI C., DI BENEDETTO R., GARGIULO R., GIOVANNINI C., MASELLA R.(2007). polyphenols, dietary sources and bioavailability.

DJEHA N., HAMEURLAINE F., KHELFAT S. (2008). Biologie et pharmacologie des polyphénols, cas de : quercetine et rutine. Université de jijel.

DONATIEN KONE. (2008/2009). enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes – extraction, identification d'alkaloides – caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante [thèse]. France : université de BAMAKO.

Références bibliographique

DUMAS C., CHARRIERE- LADREIX Y. (1997). Etude cytochimique des poly phénols: généralités concernant les lignines et les sécrétions de tannins et d'aglycones flavonique. Département de biologie vegetal université de grenoble.

DZOMBA P. ET MUCHANYREYI N. (2012). Potential antimicrobial plants extract based therapeutic from temnocalyxobovatus roots. European Journal of Medicinal Plants, 2(3), 209-215

EZHILARASI P N., KARTHIK P., CHHANWAL N & ANANDHARAMAKRISHNAN C. (2013). nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review

F

FALLEH H., KSOURI R., CHAIEB K., KARRAY-BOURAOUI N., TRABELSI N., BOULAABA M., ABDELLY C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. Comptes Rendus Biologies 331, 372-379.

Frederickson F. ET D. M. Introducción a la inmunidad y a la inflamación. En: Las bases farmacológicas de la terapéutica, capítulo 34. McGraw-Hill Interamericana editores, n°13.

G

GERSHFELD N L., et MURAYAMA M. (1988). Thermal instability of red blood cell membrane bilayers: temperature dependence of hemolysis

GODHANDARAMAN S., ET RAMALINGAM V. (2016). In vitro anti-inflammatory activity of different parts of *Pedalium murex* (L.)

GONZALEZ-PARAMAS A.M., SANTOS-BUELGA C., DUENAS M. AND GONZALEZ-MANZANO S. (2011). Analysis of flavonoids in foods and biological samples. Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 11: 1239–55.

H

HAMADI F., BOUDIF K., DJOUAB A., ALLANE T., BENMOUNAH A. ET BENAMARA S. (2014). Phytothérapie clinique : Caractérisation d'une préparation semi-solide traditionnelle antibulbure. Phytothérapie, France : 1-7.

Références bibliographique

HARBOURNE N., MARETE E., JACQUIER J.C. ET O'RIORDAN D. (2009). Effect of drying methods on the phenolic constituents of meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) and willow (*Salix alba*). *LWT- Food Science and Technology*, Vol. 42: 1468-1473.

HASLAM E. (1998). Practical polyphenolic : from structure to molecular recognition and physiological action. Edition Cambridge University Press ; Cambridge ; United kingdom.422p.

HIRTZ D., THURMAN D J., GWINN-HARDY K., MOHAMED M., CHAUDHURI A R., ET ZALUTSKY R. (2007). How common are the “common” neurologic disorders?

HONG J. (2001). Development of Rat Prostatitis Model by Oral Administration of Isoflavone and Its Characteristics. *Yonsei medical journal*, 42(4), 395-404.

HOSSEINI R., MOOSAVI F., RAJAIAN F.H., SILVA T., MAGALHAES D., SASO L., MIRI R., BORGES F. et FIRUZI O. (2016). Discovery of neurotrophic agent based on hydroxycinnamic acid scaffold. *Chimical biology and drug design*,88(6),926-937.

I

IRATNI AICHE G., MOUALEK I., MESTAR GUECHAOU N., MEZAACHE AICHOOR S., ZERROUG M.M. et HOUALI K. (2015). In vitro evaluation of biological activities of *Pistacia lentiscus* aqueous extract. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(11), 133-139.

J

J. M. BONNETBLANC. (2008).Item 174 – Prescription et surveillance des anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens :EM Consulte,article 187852.

JAVANMARDI, J., STUSHNOFF, C., LOCKE, E., VIVANCO, J. (2003). Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food chemistry* 83, 547-55.

K

KAZEMIAN H., GHAFOURIAN S., SADEGHIFARD N., HOUSHMANDFAR R., BADAKHSH B., TAJI A., SHAVALIPOUR A., MOHEBI R., EBRAHIM-SARAIE H.S., HOURI H. (2018). In vivo antibacterial and wound healing activities of Roman

Références bibliographique

chamomile (*Chamaemelum nobile*). *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)* 18, 41-45. **L**

KUREK-GORECKA A., RZEPECKA-STOJKO A., GORECKI M., STOJKO J., SOSADA M et SWIERCZEK-ZIEBA G., Structure and Antioxidant Activity of Polyphenols Derived from Propolis, ISSN 1420-3049

LEE J.Y., CHANG E.J., KIM H.J., PARK J.H., CHOI S.W. (2002). Antioxidative flavonoids from leaves of *Carthamus tinctorius*. *Archives of pharmacal research* 25, 313.

LEOPOLDINI, M., N. RUSSO ET M. TOSCANO (2011). "The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants." *Food Chemistry* 125(2): 288-306.

LERAY C. (2010). Les lipides dans le monde vivant. Edition Lavoisier TEC et DOC ,p5.

LI H.-B., WONG C.-C., CHENG K.-W., CHEN F. (2008). Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT-Food Science and Technology* 41, 385-390

LIU H., ZHANG L ; AND LU S. (2012). Evaluation of antioxidant and immunity activities of quercetin in isoproterenol-treated rats. *Molecules*, 17: 4281–4291.

LOBSTEIN A., COUIC-MARINIER F., BRIOT C. (2017). Huile essentielle de Laurier noble. *Actualités Pharmaceutiques* 56, 57-60. Lorke, D., 1983. A new approach to practical acute toxicity testing. *Archives of toxicology* 54, 275- 287.

LOU L.-L., LIU S., YAN Z.-Y., LIN B., WANG X.-B., HUANG X.-X., SONG S.-J. (2017). Tetrahydro- β Carboline alkaloids from *Carthamus tinctorius* L. with tyrosinase inhibitory activity. *Phytochemistry Letters* 22, 107-112.

LOUERRED Y., HADI R. et KAID-HARCHE M. (2016). Etude de la peroxydation lipidique chez une plante médicinale *Haloxylon scoparium* POMEL. *Journal of Bioresources Valorisation*.1(1), 28-33.

M

MACHEIX J.J., FLEURIET A., JAY-ALLEMAND C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques, 192 pages.

Références bibliographique

MADAAN A., JOSHI V., KISHORE A., VERMA R., SINGH A.T., JAGGI M., SUNG Y.K. (2017). In vitro Hair Growth Promoting Effects of Naringenin and Hesperetin on Human Dermal Papilla Cells and Keratinocytes. American Journal of Dermatology and Venereology 6, 51-57.

MALIK N.S.A. ET BRADFORD J.M. (2006). Changes in oleuropein levels during differentiation and development of floral buds in “Arbequina”olives. Scientia Horticulturae, Vol. 110 : 274-27.

MARTONE P., ESTEVEZ J., LU F., RUEL K., DENNY M., SOMERVILLE C., RALPH J. (2009). Discovery of Lignin. Current biology, 19(2): 169–75.

MAYOLI K. (2021). les médiateurs de l'inflammation. Institut français de l'éducation.

MAZZA G., CACACE J., DKAY C. (2004). Methods of analysis for anthocyanins in plants and biological fluids.

MBOUGUENG P. D. (2009). Influence des amidons natifs ou acétylés de manioc et de pomme de terre sur les propriétés physico-chimiques et texturales de la pâte de bœuf (bos indicus) [thèse]. Université de Ngaoundere.

MCGETTIGAN P., HENRY D. (2013). Use of non-steroidal anti-inflammatory drugs that elevate cardiovascular risk: an examination of sales and essential medicines lists in low-, middle-, and high income countries. PLoS medicine 10, e1001388.

MEGALI PETER. (2008). Profil et métabolisme des acides gras dans les tissus de la perche commune *Perca fluviatilis* L. INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Agroalimentaires.

MENDES LIDIA., VICTOR FREITAS., PAULA BAPTISTA., ET MARCIA CARVALHO. (2011). « Comparative antihemolytic and radical scavenging activities of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaf and fruit ». Food and Chemical Toxicology 49(2011): 2285– 2291

MERGHEN R. (2009). Éléments de biochimie végétale. Editions bohaeddine. Alger, Algerie. P111-123.

Références bibliographique

MIOLANE P. (2004).Encyclopedie universelle de 15000 plantes et fleurs de jardin. Larousse ISBN.

MOUALEK I., IRATNI AICHE G., MESTAR GUECHAOUI N., LAHCENE S. et HOUALI K. (2016). Antioxidant and anti-inflammatory activities of Arbutus unedo aqueous extract. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 6(11): 937–944.

Murry R.D.H., Mendez J. et Brown S.A. (1982). the natural coumarins Occurrence Chemistry and Biochemistry. Ed. Chichester John Wiley and Sons, UK. New York. England. 702p.

N

NAQINEZHAD A., NABAVI SM NABAVI SF., ET EBRAHIMZADEH MA. (2012). « Antioxidant and Antihemolytic Activities of Flavonoid Rich Fractions of Artemisia Tschernieviana Besser ». European review for medical and pharmacological sciences 16 Suppl 3.

O

OZKAYA M.T. ET CELIK M. (1999). Quantitative analysis of phenolic compounds in olive cuttings. Acta Horticulturae, Vol. 26: 477-480.

P

PANCHE A. N., DIWAN A.D., CHANDRA S.R. (2016). flavonoides: an overview , cambridge univesity.

Park H. J. et Cha H. C. (2003). Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. Korean journal of biological society., Vol. 7 : 327-330.

PARK H.H., LEE S., SON H.Y., PARK S.B., CHOI E.J., SINGH T.S., HA J.H., LEE M.G., KIM J.E., HYUN M.C., KWON T.K., KIM Y.H. AND KIM S.H. (2008). Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells. Archives of pharmacal research, 31(10):1303-11.

PERRET C. (2001). Analyse de tanins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par Botrytis cinerea. Thèse de Doctorat .Université de Neuchâtel. Suisse. 184 p.

Références bibliographique

R

RAHMAN H.M.C., ESWARAI AH. A., M. DUTTA. (2015). "In-vitro anti-inflammatory and antiarthritic activity of *Oryza sativa* var. joha rice (an aromatic indigenous rice of assam)." American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences 15(1): 115-121.

RENAUD J. AND MARTINOLI M.G. (2011). Propriétés neuroprotectrices, antioxydantes et antiinflammatoires du resvératrol dans les neurones dopaminergiques. Médecine Sciences Amérique, 1(1): 1–14.

RICCIOTTI E., CASTRO C., TANG S.Y., BRIGGS W.T., WEST J.A., MALIK D., RHOADES S.D., MENG H., LI X., LAHENS N.F. (2018). Cyclooxygenase-2, Asymmetric Dimethylarginine and the Cardiovascular Hazard from NSAIDs. Circulation, CIRCULATIONAHA. 118.033540

S

SAFFDINE KARIMA. (2015). Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *CarthamusCearuleus* L.et DE *Plantago Major* L [thèse]. Université Ferhat Abbas Sétif ; 2015.

SANTAMARIA – ROMERO S., FERRERA-CERRATO R., J. ALMAREZ-SUAREZ J., GALVIS-SPINOLA A., BAROIS-BOULLARD I. (2001). dinámica y relaciones de microorganismos, c-orgánico y n-total durante el composteo y vermicomposteo : dynamics and relationships among microorganisms, c-organic and n-total during composting and vermicomposting.

SCHOFIELD P., MBUGUA D., PELL A. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. Animal feed science and technology 91, 21-40.

SEIGLER D. S., 1998- Plant secondary metabolism. ed. kluwer academic, boston, 295p.

ANDERSEN Y.M. ET MARKHAM K.R., (2006). Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications. Ed. CRC, Taylor & Francis, Boca Raton, Florida, 1226p.

SHARMA O.P., KUMAR N., SINGH B., BHAT T.K. (2012). An improved method for thin layer chromatographic analysis of saponins. Food chemistry. 132(1), 671-674.

STAFFORD H. A. (1990). Flavonoid metabolism. CRC Press, Boca Raton, FL. 298 pages.

Références bibliographique

STAGOS D., BALABANOS D., SAVVA S., SKAPERDA Z., PRIFTIS A., KERASIOTI, E., MIKROPOULOU E.V., VOUGOGIANNOPOULOU K., MITAKOU S., HALABALAKI M. (2018). Extracts from the Mediterranean Food Plants *Carthamus lanatus*, *Cichorium intybus*, and *Cichorium spinosum* Enhanced GSH Levels and Increased Nrf2 Expression in Human Endothelial Cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.

STEPHAN KÄLIN. (2019). Le bois, ce paradox., rencontres WOODRISE.

SUBRAMANIAN S., STACEY G. ET YU O., (2007) Distinct, crucial roles of flavonoids during legume nodulation. *Trends Plant Sci.*; Vol. 12: 282-285.

SÜLSEN V.P., LIZARRAGA E., MAMADALIEVA N.Z., LAGO J.H.G. (2017). Potential of Terpenoids and Flavonoids from Asteraceae as Anti-Inflammatory, Antitumor, and Antiparasitic Agents. *EvidenceBased Comple*.

SUSHWETA MAHALANOBISH. 2019. Anti-inflammatory efficacy of some potentially bioactive natural products against rheumatoid arthritis : book : Discovery and Development of Anti-Inflammatory Agents from Natural Products.p61-100.

SUWALSKY MARIO., JOSE DUGUET., ET HERNAN SPEISKY. (2017). « An In Vitro Study of the Antioxidant and Antihemolytic Properties of *Buddleja Globosa* (Matico) ». *The Journal of Membrane Biology* 250(3): 239-48.

SWAIN T. et SMITH B. (1962 et 1965). Evolution of flavonoid compound

T

TAKEBAYASHI J., CHEN J., TAI A. (2010). A method for evaluation of antioxidant activity based on inhibition of free radical-induced erythrocyte hemolysis. In *Advanced Protocols in Oxidative Stress II* (pp. 287-296). Humana Press, Totowa, NJ.

TEISSEDRE P.L., VIZZINI M.I., DI MAGO D., LA NEVE I., GIAMMANCO S., LA GUARDIA M. ET GINMANCO M. (2007). Composition de vins rouges siliciens et leurs propriétés nutraceutiques. 8th international enology symposium. June 25, 26 and 27. Bordeaux.

U

Références bibliographique

UCCELLA N. (2001). Olive biophenols : biomolecular characterization, distribution and phytoalexin histochemical localization in the drupes. Trends Food Science and Technology., Vol. 11: 315-327.

URQUIAGA I. et LEIGHTON F. (2000). Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress.

V

VINCENT RICHARD. (2021). Médicament/ par spécialité : Corticoïde : les point essentiels ; pharmacomédicale.org .

VOUTQUENNE L., LAVAUD C., MASSIOT G., MEN-OLIVIER L.L. (2002). Structure-activity relationships of haemolytic saponins. Pharmaceutical biology. 40(4), 253-262.

W

WAKSMUNDZKA-HAJNOS M. et SHERMA J. (2010). high performance liquid chromatography in phytochemical analysis

WANG Y., CHEN P., TANG C., WANG Y., LI Y., ZHANG H. (2014). ANTINOCICEPTIVE AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITIES OF EXTRACT AND TWO ISOLATED FLAVONOIDS OF CARTHAMUS tinctorius L. Journal of ethnopharmacology 151, 944-950.

WONG S.P., LEONG L.P., KOH J.H.W.(2006). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. Food chemistry 99, 775-783.

Y

YIKRAZUUL. (2010). Beta-penta-O-galloyl-glucose.svg. Source WIKIMEDIA COMONS

Annexes

Solution de PBS

Préparée en mélangeant progressivement

- 0.26 g de NaH_2PO_4 ,
- 2.17 g de Na_2HPO_4
- 8.17 g de NaCl dans 1 litre de H_2O , jusqu'à l'obtention d'un pH de 7.4.

Solutions à différentes concentrations de NaCl

- 0.9 % de NaCl (0.9 % g de NaCl dans 100 ml de PBS à pH 7.4) ;
- 0.7 % de NaCl (0.7 % g de NaCl dans 100 ml de PBS) ;
- 0.5 % de NaCl (0.5 % g de NaCl dans 100 ml de PBS) ;
- 0.3 % de NaCl (0.3 g de NaCl dans 100 ml de PBS).

Solution d'aspirine

0.15 g d'aspirine dans 100 ml de PBS (à pH 7.4 et 0,9 % de NaCl).

Solution de BSA

0.15 g de BSA dans 100 ml de PBS (à pH 7.4 et 0,9 % de NaCl).

Solution de saponine

0.12 g De saponine dans 100 ml de PBS (à pH 7.4 et 0,9 % de NaCl).

Gélose Mueller-Hinton

- Hydrolysate acide de caséine.....17.50g
- Extrait de viande.....2.00g
- Amidon.....1.50g

Annexes

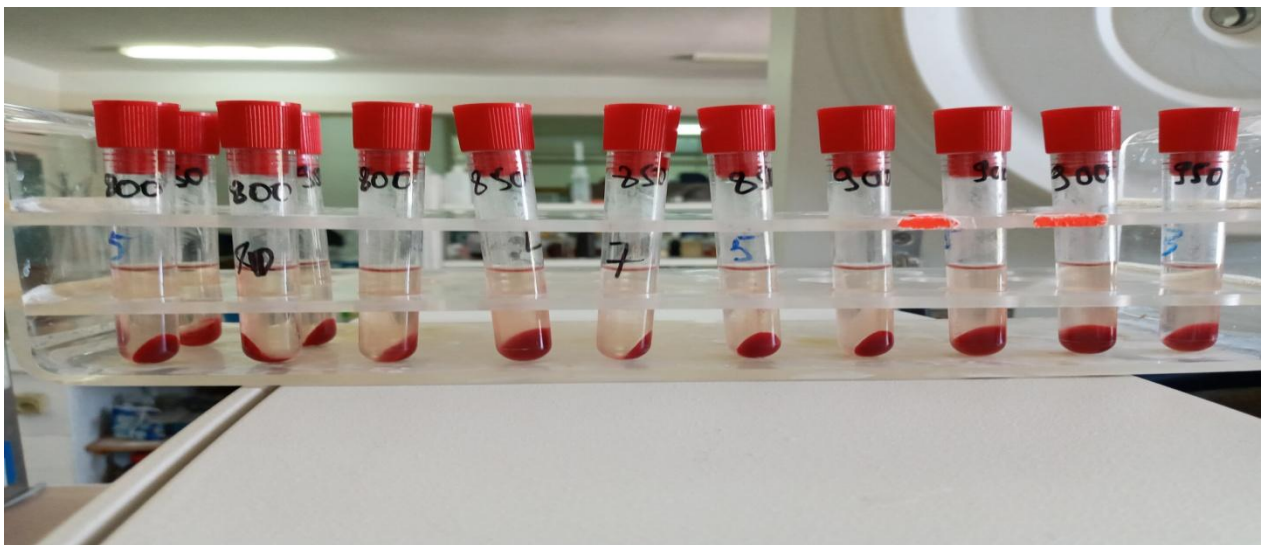
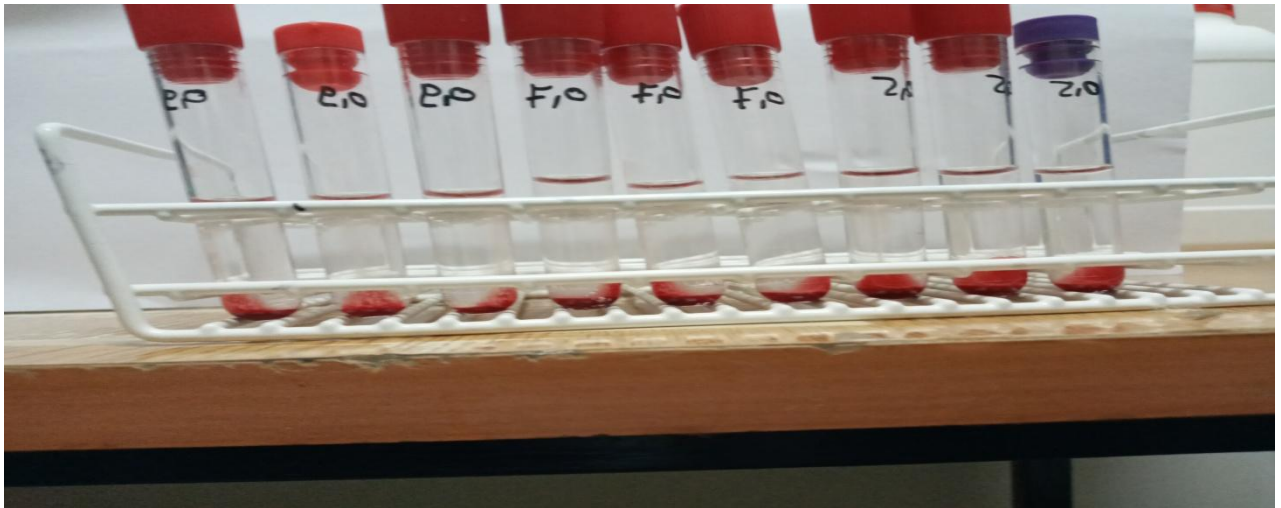


Figure 23 : image représentant les érythrocytes non hémolysés en présence de l'extrait CC

Annexes



FIGURE 24 : image représentant les érythrocytes hémolysés.

Tableau VIII : différents appareillages, verreries et réactifs utilisés

Appareillage	verreries	Réactifs et solutions	Autres
-Balance de précision -Agitateur magnétique -Centrifugeuse réfrigérée -Lyophilisateur -Vortex -Spectrophotometre UV-visible -Bain marie	-Eprouvettes -Erlenmeyer -Bechers -Entonnoir -Fioles -Tubes à essai	-Acide gallique -Folin-ciocalteu - Sels : Carbonate de sodium (Na_2CO_3), chlorure de sodium (NaCl), phosphate dissodique (Na_2HPO_4) et le phosphate monossodique(NaH_2PO_4) -Aspirine -BSA -saponine.	-papier whatman -micropipette réglable -barreaux magnétique -spatule, pissette, pourtoirs.

Annexes

Résumé

Résumé

Le présent travail vise à déterminer les vertus anti inflammatoire et anti bactérienne de l'extrait aqueux des racines de *Carthamus caeruleus L.* Dans un premier temps, la détermination de la teneur en poly phénols totaux a été effectué, ce qui a donné un résultat prometteur vu qu'il s'agit d'un extrait aqueux avec un taux de : 17mg EAG/g.

Par la suite, l'extrait aqueux de *Carthamus caeruleus L.* a montré une activité anti hémolytique a l'égard des différents stress subis par les cellules érythrocytaires, mais ceci sans oublier l'évaluation de l'innocuité de l'extrait vis-à-vis des ces cellules, les résultats obtenus montrent une protection optimale des hématies à hauteur de $98.81 \pm 0.44\%$ vis-à-vis du stress oxydatif, $99.38 \pm 0.125\%$ vis-à-vis du stress thermique et 88.3 ± 2.21 (à 0.4% NaCl) vis-à-vis du stress osmotique. Par ailleurs, le pouvoir anti-inflammatoire de *Carthamus caeruleus L.* a pu être mis en évidence, notamment avec la méthode d'inhibition de la dénaturation thermique de la BSA. Les résultats enregistrés montrent une protection des protéines vis-à-vis de la dénaturation thermique à un taux de 100% de protection.

L'étude de l'activité antibactérienne de *Carthamus caeruleus L.* a montré les limites de son potentiel antibactérien. En effet une seule souche *Bacillus Cereus* ATCC 10876 s'est avéré sensible à l'extrait aqueux et a montré une sensibilité avec une CMI de 375µg/ml

Les données récoltées au cours de cette étude nous ont permis de confirmer l'efficacité de *Carthamus Caeruleus L.* et de conforter son pouvoir anti inflammatoire.

Mots clé : *Carthmus Caeruleus L./racines/* anti inflammatoire/ antibactérien/ extrait aqueux/ polyphénols.

Abstract

This presented research work aims to determine the virtues of *Carthamus caeruleus L.* That involves the research of bioactive molecules, that contain therapeutic properties.

However, also to determine the difference anti-inflammatory and antibacterial activities of the aqueous extract. First of all, the determination of the content of total polyphenols was carried out that gave a promising result since it is an aqueous extract with a level of 17 mg EAG/g.

Moreover, the aqueous extract of *Carthamus caeruleus L.* showed anti-hemolytic activity away from the various stresses undergone, but this without forgetting the evaluation of the harmlessness of the extract with respect of the erythrocyte cells, the results obtained show more optimal protection against red blood cells with a percentage $98.81 \pm 0.44\%$ for oxidative stress but, also $99.38 \pm 0.125\%$ for heat stress and therefore $88.3 \pm 2.21\%$ (0.4% NaCl) for hypotonic stress, the protection of the erythrocytes against different stresses was more significant. In addition, the anti-inflammatory power of *Carthamus caeruleus L.* has been demonstrated in particular with method of inhibition of BSA, the test shows an optimal protection of the extract with respect to proteins with a level of protection of 100% with advances the effectiveness of the aqueous extract.

Carthamus caeruleus L. turn out to be an antibacterial since the study of the antibacterial activity shows a sensitivity to aqueous extract. *Bacillus cereus* ATCC10876 show that a sensitivity with a MIC 375µg/ml.

The collected data during this study allowed us to confirm the effectiveness of the *Carthamus caeruleus L.* and to bring an important biological value to its anti-inflammatory and antibacterial power.

Key words : *Carthamus caeruleus L./root/* anti-inflammatory/ antibacterian/aqueous extract/ polyphenols.