



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie-Microbiologie

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes

Thème

Préparation d'une pommade à base de racines de *Carthamus caeruleus* L et évaluation de quelques activités biologiques de ses extraits

Soutenu le 29.09.22

Présenté par :

M^{elle} AYOUNE DJAMILA

Devant le jury composé de :

Présidente : M^{me} CHEHRIT-HACID. F

Maitre de conférences B à l'UMMTO.

Examinatrice : M^{me} BENZAZZOUZ. K

Maitre de conférences B à l'UMMTO.

Promotrice : M^{me} DERMECHE. S

Maitre de conférences B à l'UMMTO.

Co-promotrice : M^{me} TABLI. N

Maitre de conférences B à l'UMMTO.

Année universitaire : 2021 /2022

Tout d'abord, je remercie LE BON Dieu tout puissant de m'avoir donné la santé, la force, le courage de surmonter tous les problèmes durant ces années d'études.

Mes remerciements s'adressent en particulier à ma promotrice Madame DERMECHE S., pour m'avoir encadrée et dirigée dans ce travail avec une grande rigueur scientifique. Sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'elle m'a accordée, m'a permis de réaliser ce mémoire.

Je tiens également à adresser mes plus sincères remerciements à ma copromotrice Madame TABLI. N pour ses corrections.

Mes vifs remerciements s'adressent aux membres de jury :

Madame CHEHRIT-HACID. F et Madame BENAZZOUZ. K pour avoir accepté d'examiner ce manuscrit.

J'assure ma profonde gratitude et à mon Chef de spécialité Monsieur LIMANE K. ainsi qu'à tous mes enseignants, je vous remercie énormément. Sans oublier Madame BOUDIAF que dieu bénisse son âme et qu'elle repose en paix.



dedicace

Je dédie ce travail.....

A ma très chère mère

AMZAL MALIKA : vous présentez pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessée de m'encourager et de prier pour moi. Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse dieu, vous préservez et vous accordez santé, longue vie et bonheur.

A mon père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours en vers vous AHMED. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes très chers frères : ALI, TAHAR, KADAR, SLIMANE, LYAS, HOCINE et mes beaux-frères : SAID, BENKASEM, LYAS, SAID et HAMID, j'exprime en vers vous à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour. Je vous souhaite un avenir plein de joie et de réussite.

A mes très chères sœurs : WIZA, BAYA, FATIHA, RAZIKA, NACIRA, ma belle-sœur FARIDA et mes tantes FADMA, RAZIKA, SAIDIA, OURDIA et LWIZA.

Ames meilleures amies : SAMIA, SAMIR, KAKINA, IMANE en qui j'ai toujours trouvé le soutien et le réconfort.

A mes neveux : MAHDI, ABEDSALAM, KHALED et YOUVA.

A mes nièces : HANA, MARYAM, ROMAYSA, RANIA, LYNDA, MARIA et SONIA.

A toutes les personnes qui m'aiment et que j'aime.

DJAMILA

Table de matières

Résumé	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Abréviations	
Introduction générale	1
Première Partie : synthèse bibliographique	
Chapitre I. Présentation de la plante	
I.1. Les différentes appellations de <i>Carthamus caeruleus</i> L.....	3
I.2. Description	3
I.3. Classification.....	4
I.4. Habitat et répartition géographique.....	5
I.5. Cycle biologique.....	5
I.6. Composition phytochimique des racines de <i>Carthamus caeruleus</i> L.....	5
I.7. Intérêt biologique de <i>Carthamus caeruleus</i> L.....	6
I.7. 1. L'utilisation traditionnelle.....	6
I. 7. 2. L'utilisation médicinale.....	6
I.8. Activités biologiques de <i>Carthamus caeruleus</i> L.....	6
I.8.1. Activité anti-oxydante.	6
I.8.2. Activité antibactérienne.....	7
I.8.3. Activité anti- fongique.....	8
Chapitre II. Techniques d'extraction des drogues végétales	
II.1. Les drogues végétales.....	10
II.2. Principe actif.....	10
II.3. Techniques d'extraction des drogues végétales.....	10
II.4. Les différentes formes galéniques.....	11

Deuxième partie : partie Expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

1. Matériel et Méthodes	12
1. 1. Matériel.....	12
1. 1. 1. Appareillage.....	12
1. 1. 2. Verrerie et petit matériel.....	12
1. 1. 3. Milieux de culture, solvants et réactifs utilisés.....	13
1. 1. 4. Matériel biologique	13
1. 1. 4. 1. Matériel végétal.....	13
1. 1. 4. 2. Souches utilisées.....	13
1. 2. Méthodes expérimentales.....	14
1.2.1. Préparation de la pommade (préparation à froid).....	14
1.2.2. Rendement d'extraction de la pommade	16
1.2.3. Dosages des composés phénoliques.....	16
1.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante.....	17
4. A. Test DPPH.....	17
4. B. Test ABTS.....	18
1.2.5. Evaluation de l'activité antibactérienne	19
1.2.6. Evaluation de l'activité antifongique.....	20

Chapitre II : Résultats et discussion

II. Résultats et discussion	21
2.1. A. Analyse qualitative.....	21
2.1. B. Analyse quantitative (rendement en pommade préparées).....	24
2.2. Résultats du dosage des composés phénoliques	25
2.3. Activité anti-oxydante des échantillons	27
2.4. Activité antibactérienne	28
2.5. Activité antifongique.....	29
Conclusion générale.....	30
Références bibliographiques	
Résumé	

Liste des figures

Figure 01 : <i>Carthamus caeruleus</i> L en début de floraison (Photographie originale Avril, 2022).....	4
Figure 02 : <i>Carthamus caeruleus</i> L en période de floraison (Photographie originale Avril, 2022).....	5
Figure 03 : Photographies de la préparation et la conservation de la pommade.....	14
Figure 04: Photographies des différentes étapes d'extraction de pommade à partir des racines <i>Carthamus caeruleus</i> L.....	15
Figure 05: Protocole de dosage des phénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu ...	17
Figure 06 : Diagramme récapitulant le protocole de l'étude de l'activité antioxydante des différents échantillons de <i>Carthamus caeruleus</i> L, on utilisant le DPPH.....	18
Figure 07: Protocole de l'étude de l'activité antioxydante des différents échantillons de <i>Carthamus caeruleus</i> L avec l'ABTS.....	19
Figure 08 : Les différentes parties de <i>Carthamus caeruleus</i> L, A- feuille, B- tige, C- fleur et D- racine (Photographies originales, 2022).....	21
Figure 09: Photographies montrant la différence de la couleur de la pommade obtenue relativement à celle de l'écorce des racines de <i>Carthamus caeruleus</i> L récoltées.....	22
Figure 10 : Photographies des pommades obtenues pour les quatre échantillons.....	25
Figure 11: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	26
Figure 12 : Histogramme récapitulant la teneur en polyphénols des extraits de <i>Carthamus caeruleus</i> L.....	27

Liste des tableaux

Tableau I: Récapitulatif des résultats de différentes recherches sur l'activité anti-oxydante de <i>Carthamus caeruleus</i> L.	7
Tableau II: Récapitulatif des résultats de l'activité antibactérienne retrouvée dans les articles de recherche à propos des feuilles et/ou des racines de <i>Carthamus caeruleus</i> L....	8
Tableau III : Récapitulatif des résultats de différentes recherches sur l'activité antifongique des feuilles et /ou des racines de <i>Carthamus caeruleus</i> L.	9
Tableau IV : Différentes formes galéniques.....	11
Tableau V: Appareillages utilisés lors du travail expérimental.	12
Tableau VI : Matériel utilisé durant le travail.....	12
Tableau VII: Milieux de culture, les solvants et réactifs utilisés.....	13
Tableau VIII : Les différentes souches bactériennes et fongiques utilisées.....	14
Tableau IX: Les différents échantillons de <i>Carthamus caeruleus</i> L étudiés avec leurs régions et leur date de récoltes.....	23
Tableau X: Rendements des pommades obtenus avec les différents échantillons.....	24
Tableau XI: Les différentes modalités utilisées.....	24
Tableau XII: Pourcentage d'inhibition obtenu pour les différents extraits de <i>Carthamus caeruleus</i> L avec le test DPPH.....	28
Tableau XIII : Pourcentage d'inhibition obtenu pour les différents extraits de <i>Carthamus caeruleus</i> L avec le test ABTS.....	28
Tableau XIV: Résultats des tests de l'activité antibactérienne des échantillons vis-à-vis des différentes souches testées (Valeurs d'inhibition en mm \pm écart type).....	29
Tableau XV: Résultats des tests antifongiques obtenus avec les différents extraits vis-à-vis des différentes souches testées.....	30

Liste des abréviations

AC	Acétate d'éthyle
ABTS	Acide 2,2- azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique
CP	Composés phénoliques
CGMS	Chromatographie en phase gazeuse couplée avec spectromètre de masse
DO	Densité Optique
DPPH	Diphényl Picryl hydrazyle
EM	Extrait de Malt
IC50	Concentration inhibitrice à 50%
GN	Gélose Nutritive
MH	Mueller Hinton
PDA	Pomme de Terre Dextrose Agar
PG I%	Pourcentage d'inhibition
UV	Ultraviolet
OMS	Organisation mondiale de la santé



Introduction générale

Introduction

Depuis la préhistoire, l'être humain recherche dans son environnement (plantes, animaux, esprits) de quoi soulager ses maux et traiter ses blessures. L'intérêt pour la médecine traditionnelle s'accroît constamment dans le monde. L'organisation Mondiale de la santé (OMS) a identifié 22000 de plantes utilisées par la médecine traditionnelle. Seules 3000 d'entre elles ont fait l'objet d'évaluations scientifiques (Lehmann, 2013) c'est une partie de la culture populaire, malgré le fait que cette forme de médecine ne soit pas aussi bien organisée qu'en Inde ou en Chine (Karthala, 2010).

Une recherche mondiale sur l'état de la médecine traditionnelle en général et sur l'emploi des plantes médicinales en particulier, a montré qu'ils entrent en compétition et en confrontation avec le système sanitaire conventionnel dans certaines régions (Karthala, 2010).

L'histoire de la médecine montre l'importance de ces espèces dans les thérapies (Karthala, 2010). Dans les pays émergents, entre 70 et 95 % de la population dépendent essentiellement des plantes médicinales traditionnelles pour leurs soins primaires (Ito *et al.*, 2012), en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne mais aussi parce que les plantes présentent une réelle efficacité. L'Afrique est considérée comme l'un des systèmes de santé les plus anciens et les plus diversifiés (Mothibe *et al.*, 2019) et reste une ressource pour la récupération de nouvelles entités chimiques qui peuvent être exploitées pour le développement ultérieur de nouveaux médicaments (Nafiu *et al.*, 2017).

En Algérie, la médecine traditionnelle occupe toujours une place de choix dans le traitement de nombreuses pathologies. Par exemple, en Kabylie beaucoup de recettes à base de plantes sont utilisées comme remèdes, parmi lesquelles *Carthamus caeruleus* L. occupe une grande importance et dont les racines sont utilisées pour traiter les brûlures grâce à ses propriétés astringentes (Hamadi *et al.* 2014).

Ces plantes font partie de notre alimentation quotidienne comme exemples le basilic, la menthe, l'ail, carduncelle bleu et le thé qui ont tous des effets plus ou moins importants sur l'organisme et sont utilisées lorsque les symptômes d'une maladie ou d'une infection sont ressentis afin d'être en bonne santé (Daniel Jourdain, 1997).

Le but de ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales. Le choix est porté sur le *Carthamus caeruleus* L. Une question qui se pose sur la méthode de préparation de cette plante afin d'être prête à utiliser et leur effet sur l'organisme humain?

Le présent manuscrit est divisé en deux parties. Dans la première partie, est présentée une étude bibliographique sur les connaissances botaniques et phytochimiques de la Famille des *Astéraceas* et de l'espèce *Carthamus caeruleus* L, son intérêt biologique et les différentes activités effectuées sur cette plante. La seconde partie, est réservée à l'étude expérimentale, comprenant les parties suivantes :

- ✓ La collecte des échantillons de différentes régions de Tizi-Ouzou pour faire l'extraction des pommades ainsi que le dosage des composés phénoliques ;

- ✓ L'évaluation des activités biologiques expérimentées : l'évaluation du pouvoir antioxydant des différents extraits par deux méthodes (avec le radical libre DPPH et le réactif d'ABTS) ainsi que l'évaluation des activités antibactériennes et antifongiques ;
- ✓ L'interprétation des résultats, et à la fin, une conclusion générale qui portera sur une lecture attentive des différents résultats obtenus.



**Première Partie : synthèse
bibliographique**



**Chapitre I : présentation de
la plante**

I.1. Les différentes appellations de *Carthamus caeruleus* L (Quenzel *et al.*, 1963)

- Nom vernaculaire Français : Carduncelle Bleue.
- Nom vernaculaire Anglais : Blue Thistle.
- Nom vernaculaire Arabe : Khorchof azraq.
- Nom vernaculaire Arabe Algérie : Musgousse, Mortgousse, Emar gosgos, Kenjdar.
- Nom vernaculaire berbère : Arvive'n taga, Immerzezig, Amresgous.

I.2. Description

Les *Astéraceae* constituent une famille vaste et répandue de plantes à fleur avec plus de 25,000 espèces d'herbes, d'arbustes et d'arbres (Kuete *et al.*, 2017 ; Filleul *et al.*, 2019).

Le *Carthamus ceuruleus* L est une plante vivace de 20 à 30 cm de hauteur, annuelle ou bisannuelle simple ou peu rameuse, dressée et anguleuse (Quézel et Santa, 1962) (Figure 01).

Selon Julve ph, (2021), elle est caractérisée par :

-Des feuilles brièvement pubescentes, les inférieures pétiolées lyres-pennatifoliées ou oblongues-lancéolées, dentées, les suivantes sessiles, demi-embarrassantes, sub auriculées, lobées ou dentées à dents ordinairement terminées par une pointe sétiforme subulée piquante ;

-Un gros involucre, sub globuleux à folioles extérieures à dents piquantes, les moyennes à appendice scarieux arrondi ou obtus, lacinié-cilié ;

-Des fruits forment des akènes blanchâtres, scabres et écailleux au sommet, lisses du reste, couronnées de soies bien plus longues que l'akène ;

-Elles sont caractérisées par la disposition des fleurs en capitule avec une couleur bleue. Cette structure forme un involucre (Hadj Salem, 2009), les fleurs sont de deux types : fleurs tubulées et fleurs ligulées, le tout donnant à l'ensemble l'apparence d'une seule fleur (Kuete *et al.*, 2017).



-Figure 01 : *Carthamus caeruleus* L en début de floraison (Photographie originale Avril, 2022).

I.3. Classification APG IV (Madani *et al.*, 2017)

- Clade: Angiospermes
- Clade: Mesangiosperms
- Clade: Eudicotylédoness
- Clade: Coreeudicos
- Clade: Superastéridées
- Clade: Astéridées
- Clade: Campanulidéess
- Clade: Asterales
- Clade: Asteraceae
- Clade: *Carthamus* L
- Clade: *Carthamus caeruleus* L

I.4. Habitat et répartition géographique

Le *Carthamus caereuleus* L est une espèce qui pousse sur les terres humifères et légères, dans les chemins, les coupes des bois, les jardins bien fumés (Patrikos, 2018). Cette espèce préfère les endroits ensoleillés du bassin méditerranéen. Elle est originaire du Sud-ouest d'Asie (Mioulane, 2004) mais elle se localise dans l'Australie, l'Amérique, l'Europe (Grèce, Italie, France, Portugal, Espagne) (Coste, 2011) et l'Afrique de nord (Algérie, Maroc, Tunisie, Libye) (Benhamou et Fazouane, 2013).

En Algérie, le *Carthamus caereuleus* L se trouve dans les régions côtières méditerranéennes (Tipaza, Annaba, Bejaia, Sidi bel- abbés et dans les hauts plateaux : Sétif) (Benhamou et Fazouane, 2013). Elle se trouve également à Bouira, Tizi-Ouzou, Tlemcen et Boumerdes.

I.5. Cycle biologique

Carthamus caeruleus L est une plante herbacée vivace. Les graines germent généralement vers fin Mars début Avril, la floraison a lieu en Mi-juin (Coste, 2011) (Figure 02). La pollinisation peut être soit entomophile (par les insectes), soit anémophile (par le vent) (Mihoub *et al.*, 2017).



-Figure 02: *Carthamus caeruleus* L en période de floraison (Photographie originale Avril, 2022).

I.6. Composition phytochimique des racines de *Carthamus caeruleus* L

D'après les résultats de Benhamou et Fazouane (2013), Dahmani (2018), les racines et les feuilles de *Carthamus caeruleus* L sont riches en tanins galliques, flavonoïdes, saponines et en mucilages. Cette étude a également montré l'existence d'une réelle diversité moléculaire, qui confère à la plante des vertus médicinales importantes à valoriser.

I.7. Intérêt biologique de *Carthamus caeruleus* L

1.7.1. Utilisation traditionnelle

Cette plante est très connue dans le Nord Algérien notamment en Kabylie, les études ethnobotaniques ont montré que la majorité de la population locale utilise cette plante pour traiter les maladies de la peau comme un cicatrisant qui contribue à guérir les brûlures et les inflammations articulaires. Le remède consistait à le préparer dans l'eau, ou dans le lait. La crème obtenue est appliquée directement sur la partie brûlée et des résultats spectaculaires ont été observés chez des personnes traitées par cette dernière (Benhamou et Fazouane (2013).

1.7.2. Utilisation médicinale

Des études menées pour confirmer les effets thérapeutiques des extraits de rhizomes de *Carthamus caeruleus* L. ont en démontré : l'activité antioxydante (De Beer *et al.*, 2002) , antimicrobienne, antivirale (Moghadamtousi *et al.*, 2014), anti- inflammatoire (Zhang *et al.*, 2016), antiproliférative (Chen *et al.*, 2018), ainsi que l'activité cicatrisante en cas de brûlures à différents degrés. Ces activités seront détaillées dans la partie suivante.

I.8. Activités biologiques de *Carthamus caeruleus* L

I.8.1. Activité antioxydante

Après extraction des molécules bioactives, les chercheurs ont utilisés plusieurs méthodes afin d'évaluer, *in vitro* l'activité antioxydante des extraits de *Carthamus caeruleus* L. Il s'agit principalement des méthodes de piégeage des différents radicaux comme le 2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et le 2,2- azinobis 3- ethylbenzothiazoline 6- sulphonate (ABTS) ou le pouvoir réducteur par la méthode de réduction du fer, Ferric Reducing Antioxidant Power, (FRAP). Cette activité est mesurée par le pourcentage d'inhibition des radicaux libres et la détermination de concentration minimale inhibitrice de chaque extrait (Popovici *et al.*, 2010).

*Méthode du 2,2- diphényl-1- picrylhydrazyl (DPPH)

Ce test est basé sur la mesure de la capacité de réduction des antioxydants envers DPPH, par spectrophotomètre UV-visible, qui est un radical libre stable en raison de la délocalisation d'électron. Il présente une couleur violette foncée, et qui donne une absorption maximale à une longueur d'onde de 517nm (Dahmani, 2019). Cette méthode est très utilisée pour distinguer les extraits de plantes les plus riches en biomolécules, les résultats de plusieurs études menée sont présentés dans le (tableau I). Dans les travaux de Dahmani (2018), le teste de DPPH a été réalisé sur les extraits de *Carthamus caeruleus* L avec l'utilisation de différents solvants (méthanol et l'acide ascorbique), ce dernier a montré que le meilleur résultat est noté pour l'extrait méthanolique comparativement aux résultats obtenus lors de traitement avec l'acide ascorbique (Prior *et al.*, 2005 ; Saffidine, 2015).

-Tableau I : Récapitulatif des résultats de différentes recherches sur l'activité antioxydante de *Carthamus caeruleus* L.

Partie Utilisée	Solvant d'extraction	Analyse	Composés	%d'inhibition Test DPPH	Région	Référence
Racines	Méthanol Ethanol	CGMS	Polyphénols	37%	Boumerdes	Dahmani (2018)
	Ethanol Hexane Méthanol	CGMS	Polyphénols Sesquiterpènes Acides gras	Extrait éthanolique 66,67%	Alger	Toubane <i>et al.</i> , (2017)
	Méthanol Hexane Acétate	CGMS	Poly phénols totaux	Extraits aqueux plus efficace 57,71%	Boumerdes	Baghiani <i>et al.</i> , (2010)

I.8.2. Activité antibactérienne

Le mot antimicrobien est issu des termes grecs, « anti » signifiant « contre » et « bios » c'est « vie ». C'est toute substance qui tue ou inhibe la croissance des microorganismes dont les bactéries, les champignons, les virus ou les parasites (Chevalier *et al.*, 2012).

D'après les études effectuées par Saffedine *et al.* (2013), le test de sensibilité des bactéries aux différents extraits de racines et de feuilles de *Carthamus caeruleus* L, a permis de montrer que les effets antibactériens sont significatifs et variables vis-vis des bactéries Gram+ que Gram – . Cette étude souligne que les extraits des feuilles ne montrent pas le même effet que les racines.

En 2015, Saffedine a réalisé ce test par la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton agar puis mesuré en (mm) les diamètres des zones claires d'inhibition supérieures ou égales à 10 mm. Les résultats obtenus ont montré des activités significatives similaires avec un diamètre d'inhibition respectivement de $20 \pm 1,5$ mm et $15 \pm 2,0$ mm à l'encontre de *Bacillus cereus* et *Acinetobacter baumannii*. Par contre le *Staphylococcus aureus* a montré une forte sensibilité avec un diamètre de 20 mm. D'autre part, *Escherichia coli* et *Enterococcus faecalis* ont des activités de l'ordre de $11,5 \pm 1$ mm et 10 ± 1 mm.

Les résultats de l'activité antibactérienne retrouvée par Saffedine *et al.*, (2013 ; 2015 ; 2018) réalisée au niveau de la wilaya de Sétif sont présentés dans le tableau II.

-Tableau II: Récapitulatif des résultats de l'activité antibactérienne retrouvée dans les articles de recherche à propos des feuilles et/ou des racines de *Carthamus caeruleus* L.

Organe exploité	Type d'extraction	Méthode Analyse	Composés identifiés	Noms de souches microbiennes utilisées	Résultats Diamètre en mm
Feuilles	Méthanol/ eau	Diffusion sur disque et micro dilution	Composés phénoliques	<i>Staphylococcus aureus</i>	20±1
			Polyphénols	<i>Escherichia coli</i>	23±1
			flavonoïdes	<i>Bacillus cereus</i>	10±0,6
Racines	Ethanol Méthanol	Diffusion sur disque et micro dilution	Flavonoïdes	<i>Staphylococcus aureus</i>	12
			saponines	<i>Escherichia coli</i>	11±1
				<i>Bacillus cereus</i>	13
Racines	Méthanol	Diffusion en milieu gélosé	Polyphénols	<i>Staphylococcus aureus</i>	20
			flavonoïdes	<i>Escherichia coli</i>	11,5±1
				<i>Bacillus cereus</i>	20 ±1,5
Feuilles	Ethanol Méthanol	Diffusion en milieu gélosé	Flavonoïdes	<i>Staphylococcus aureus</i>	20±1
			Polyphénol	<i>Escherichia coli</i>	23±1
				<i>Bacillus cereus</i>	10±1
Racines	Ethanol Méthanol	Diffusion en milieu gélosé	flavonoïdes	<i>Staphylococcus aureus</i>	25±1
			Composées phénoliques	<i>Acinetobacter baumannii</i>	26

I.8.3. Activité anti- fongique

D'après plusieurs études, notamment celles de Saffedine (2015), Belkhiri *et al.*, (2009) et Mami *et al.*, (2020), les huiles essentielles et les extraits d'hydrolats issus des racines de *Carthamus caeruleus* L possèdent une activité antifongique très intéressante vis- à-vis des champignons phytophagènes (tableau III) ainsi que des activités insecticides.

Saffedine (2015) a rapporté que les extraits de racines de *Carthamus caeruleus* L ont un potentiel antifongique très important, L'activité de différents extraits de racines de *Carthamus caeruleus* L a été testée sur quatre souches fongiques dont *Candida albicans* (champignon parasite de l'homme), *Aschochyta rabiei*, *Fusarium oxysporum albidinis* et *Fusarium Var coeruleum* (souches fongiques phytopathogènes). La méthode de diffusion sur gélose Sabouraud pour *Candida albicans* et la méthode de diffusion sur la gélose de l'extrait de malt pour les trois souches fongiques phytopathogènes ont été utilisées. Les résultats ont montré que les souches fongiques testées étaient résistantes aux extraits issus des feuilles de *Carthamus caeruleus* L mais très sensibles aux extraits de racines de *Carthamus caeruleus* L et plus particulièrement *Candida albicans*. Cette plante pourrait être exploitée comme une

source d'agents antifongiques naturels et offre une alternative de lutte biologique contre les infections fongiques des plantes.

-Tableau III. Récapitulatif des résultats de différentes recherches sur l'activité antifongique des feuilles et /ou des racines de *Carthamus caeruleus* L.

Organe exploité	Type d'extraction	Méthode Analyse	Composés identifiés	souches microbiennes utilisées	Résultats Diamètre en mm	Région	Références
Racines	Méthanol Ethanol	Diffusion sur milieu gélose Sabouraud	Composés phénoliques Polyphénols flavonoïdes	- <i>Aschochyta rabiei</i> , - <i>Fusarium oxysporum albidinis</i> - <i>Fusarium Var coeruleum</i>	11±1,2 11,3±2,5 10,3±0,6	Sétif	Saffedine <i>et al.</i> , (2013)
Huile essentielles	Ethanol Méthanol	Diffusion sur disque et micro-dilution	Flavonoïdes saponines protéines	<i>Penicillium expansum</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Rhizopus oryzae</i>	53,3<20 33,3<20 53,2<20 11,1<20	Sétif	Belkhiri <i>et al.</i> (2009)

Chapitre II : Techniques d'extraction des drogues végétales

II.1. Les drogues végétales

Les drogues végétales représentent les parties de la plante qui sont utilisés à des fins thérapeutiques principalement entières, fragmentées ou coupées (racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, graines....) (Vercauteren, 2012).

La drogue est donc la partie la plus riche en principe actif issues de plantes fraîches ou desséchées (Hélène L, 2013)

Les monographies des pharmacopées précisent la nature de l'organe utilisé, généralement désigné par le terme de « drogue ». Les composés synthétisés peuvent varier en fonction de l'organe, d'où l'importance du choix de la drogue comme matière première (Wichtl, 2003).

II.2. Principe actif

Ce sont des substances chimiques qui se trouvent dans la plante médicinale agissant de façon isolée ou en association pour une action thérapeutique (Pelt, 2003). C'est-à-dire, ce sont des molécules qui est contenu dans drogue végétale ou une préparation à base de drogue végétale présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'Homme ou l'animal (Vercauteren, 2011-2012).

Une plante médicinale peut contenir des centaines, des milliers de principes actifs différents. Cependant toutes les plantes ne contiennent pas le même type de principe actif, et c'est la raison pour laquelle on ne produit pas le même type d'extrait à partir de toutes les plantes (Jorite, 2015).

Les principes actifs se classent en de nombreux groupes, dont trois grands groupes chez les plantes :

- les polyphénols, tels que les flavonoïdes et les tanins ;
- les composés azotés, tel que les alcaloïdes ;
- les terpènes et stéroïdes, tel que les saponosides, les huiles essentielles (Laurant-Berthoud *et al.*, 2016).

II.3. Techniques d'extractions de drogues végétales

Le mode de préparation conditionne la composition et la teneur en principe actif. Il existe trois étapes préalables avant l'extraction :

- 1) Le choix de la matière première : plante : plante fraîche, plante sèche ou plante stabilisés.
- 2) Le traitement préalable de la drogue : concassés, broyée plus ou moins finement selon le degré d'extraction recherché.
- 3) Le choix du solvant : l'eau, l'alcool, la glycérine, l'acétone, le méthanol etc....

L'extraction peut être effectuée par

- **Macération** : cette technique est réservée aux substances actives de la plante qui peuvent être altérés par la chaleur, ou nécessitent un temps très long pour se dissoudre car ce sont des substances solubles à froid (Hourret, 2004). Elle consiste à laisser la partie de la plante à utiliser dans un solvant (l'eau, alcool ou huile) pour une durée assez longue (quelques heures à quelques jours) (Morigane, 2017).
- **Infusion** : elle convient aux drogues fragiles (Fleurs, Feuilles et graines) et riches en huiles essentielles, facile à extraire (Catier, 2007). Elle consiste à verser de l'eau bouillante sur la partie de la plante à utiliser en couvrant la préparation pour éviter la volatilisation des principes actifs puis en laissant refroidir la préparation (Sebai, 2012).
- **Décoction** : c'est une technique réservée aux espèces ou aux parties de plantes plutôt coriaces (les rameaux, les racines et l'écorce). Consiste à faire bouillir dans l'eau la partie de la plante à utiliser soit séchée ou fraîche pendant quelques minutes (Mességué, 1975).

II.4. Les différentes formes galéniques

L'art de la formulation des médicaments est la galénique. Le nom de cette science est vient de *Galien*, médecin grecque de l'antiquité (129-201), qui a formalisé la préparation des drogues et qui est nos jours considéré comme le père fondateur de la pharmacie.

Une forme galénique c'est à la fois un système de présentation et de conservation du médicament et un système de mise à disposition de la substance active à l'organisme du patient comme elle est indiquée dans le tableau suivant :

-Tableau IV: Différentes formes galéniques


La forme solide	La poudre : Extraits secs, Gélules et Comprimés
La forme semi-solide	-Pommade et crème
La forme liquide	-Tisanes, Sirops, Hydrolats, Teinture mère et Huile essentielle

Le choix de la forme galénique se fait en fonction de sa composition chimique et de la spécificité des différentes formes galéniques, on utilisera une technique bien déterminée afin de rendre bio disponible les molécules actives (Morel, 2008).



2^{ème} partie :

Partie expérimentale



Matériel et méthodes

Le présent travail a été effectué au niveau du Laboratoire de Biochimie Analytique et Biotechnologies à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, durant la période comprise entre fin février et fin juin de l'année universitaire 2022.

Cette étude consiste à préparer une pommade à base d'une plante médicinale et l'évaluation de quelques activités biologiques de divers échantillons de pommade extraites de différents échantillons de *Carthamus caeruleus* L collectés dans diverses régions de la Wilaya de Tizi-Ouzou.

I. Matériel et Méthodes

I.1. Matériel

I.1.1. Appareillage

Les différents appareils utilisés dans cette étude sont donnés dans le tableau ci-dessous.

-Tableau V: Appareillage utilisé lors du travail expérimental.

Appareil	Référence	Appareil	Référence
Spectrophotomètre UV-visible	BIOTECH ENGINEERING MANAGEMENT CO.LTD(UK) ,VIS-7220G	Balance de précision	Kern, sartorius, BP121S
Balance	DENVER INSTRUMENT, MXX612	Bain marie	WiseBath (Fuzzy control system)
Vortex	VELP scientifica, Heidolph	Autoclave	Pbinternational
Agitateur magnétique	Labinco, Variomag Poly 15NETEZ	Etuve 37°C et 28°C	Binder, Memmert
Congélateur	ENIEM	Réfrigérateur	MAXIPOWER

I.1.2. Verrerie et petit matériel

Les verreries et petit matériel utilisés durant le travail sont regroupés dans le tableau VI.

Tableau VI : Verrerie et petit matériel durant le travail.

Verrerie	Petit matériel
-Tubes à hémolyse, béchers -Entonnoirs, éprouvettes -Fioles jaugées, erlenmeyers -Tubes à essai stériles -Flacons teintés et non teintés	-Bec bunsen, mortier. -Pincettes, anses à boucle, spatules, micropipettes, barreaux magnétiques, pipettes Pasteur ; portoirs pour tubes. -Boîtes de pétri en verre et en plastique ; flacons ECBU -Disques de papier wattman N°1 ; écouvillons. -Eppendorfs, embouts jaunes et bleu.

I.1.3. Milieux de culture, solvants et réactifs utilisés

Les différents milieux de culture, solvants et réactifs utilisés sont résumés dans le tableau ci-dessous.

-Tableau VII : Milieux de cultures, solvants et réactifs utilisés.

Milieux de culture	Solvants	Réactifs	Produits
-Gélose nutritive	-Ethanol à 96%.	-Folin_Ciocalteu.	-HCl (4N).
-Gélose Mueller Hinton	-Acétate d'éthyle.	-DPPH	-Acide gallique.
-Gélose cœur cervelle.		-ABTS	-Carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7%.
- Gélose à l'extrait de Matt			- Acide ascorbique
- Pomme de terre Dextrose Agar			

I.1.4. Matériel biologique

I.1.4.1. Matériel végétal

Cette plante est récoltée en printemps (de Mars et d'Avril 2022) dans différentes régions de Tizi-Ouzou : d'Aghrib à Azfoune, Sanana, Tala waamar et lwrika à Tizi Gheniff. Les racines de *Carthamus caeruleus* L sont préalablement lavées et séchées puis utilisées pour la préparation d'une pommade pour chaque échantillon.

I.1.4.2. Souches utilisées

Les bactéries utilisées sont des souches de références de type ATCC (American type Culture Collection). Ces souches proviennent de la collection du laboratoire de recherche de la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'UMMTO.

Les souches de champignons utilisées proviennent de la collection du laboratoire des Maitrise des Energies Renouvelables (Equipe Biomasse et Environnement) de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia.

Les différentes souches microbiennes utilisées sont présentées dans le tableau VIII.

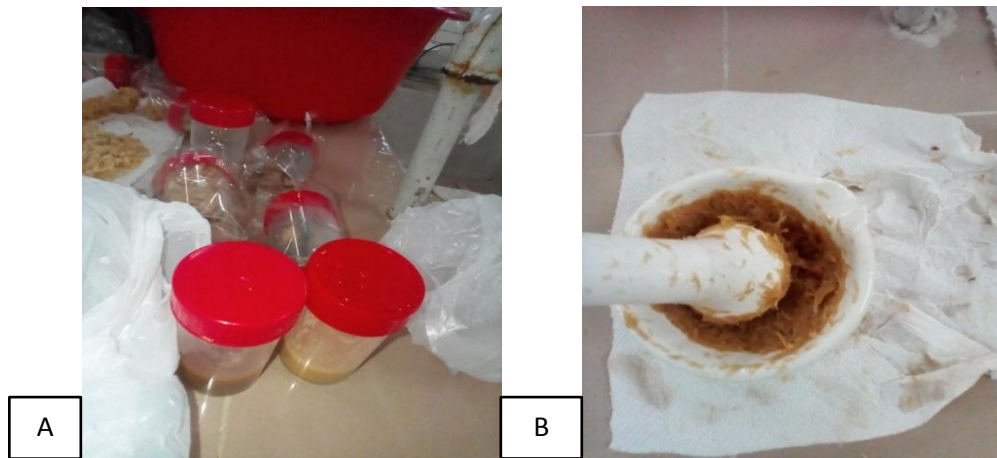
-Tableau VIII : Les différentes souches bactériennes et fongiques utilisées.

Les souches bactériennes	Les souches fongiques
- <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	- <i>Aspergillus flavipes</i>
- <i>Staphylococcus aureus</i> MU50	- <i>Fusarium</i> sp.
- <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	- <i>Penicillium</i> sp
- <i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	- <i>Aspergillus niger</i>

I.2.Méthodes expérimentales

I.2.1. Préparation de la pommade (préparation à froid)

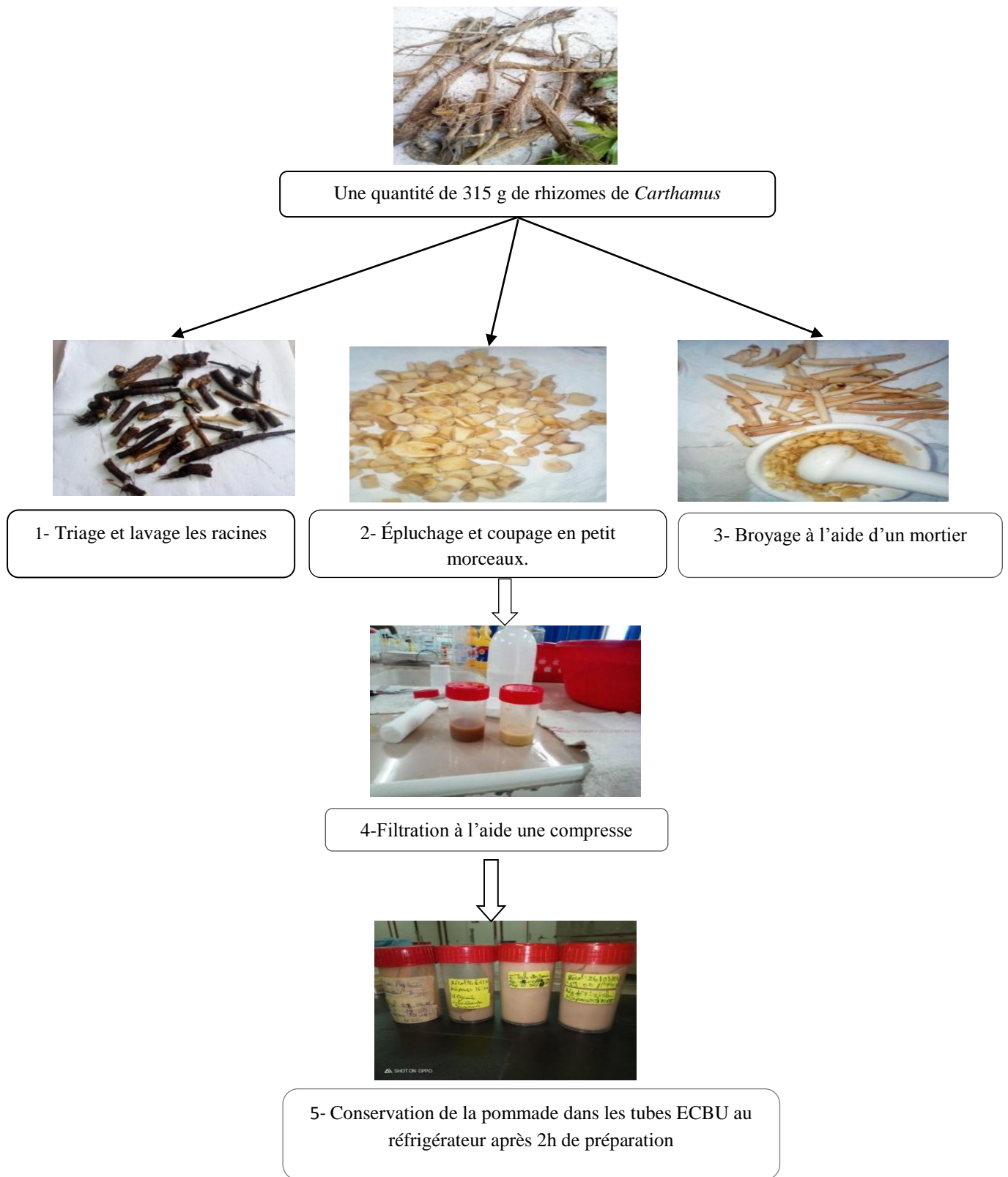
Les racines de *Carthamus caeruleus* L fraîchement récoltées de différentes régions ont été utilisées pour préparer la pommade traditionnelle. Les racines sont triées, rincées, épluchées puis découpées en petits morceaux. Ensuite, elles sont pilées dans un mortier en rajoutant des gouttes (0,2 ml) d'eau distillée puis filtrées à l'aide d'une compresse dans des flacons stériles pour obtenir un liquide (Figure 04). Ce dernier va former par la suite une pommade (Environ 1h à 2h après la préparation) (figure 03) prête à l'utilisation directe sur les brûlures. La pommade est ensuite conservée à 4°C.



- **Figure 03:** Photographies de la préparation et la conservation de la pommade.

A- Conservation de la pommade dans des flacons stériles.

B- Mortier pour piler les racines.



-Figure 04: Photographies des différentes étapes de récupération de la pommade de *Carthamus caeruleus* L

I.2.2. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction de la pommade à partir des racines de *Carthamus caeruleus* L est calculé selon la formule ci-dessous

$$\text{Rendement (\%)} = \text{poids de l'extrait obtenu} / \text{poids de racines récoltées} \times 100$$

I.2.3. Dosage des composés phénoliques

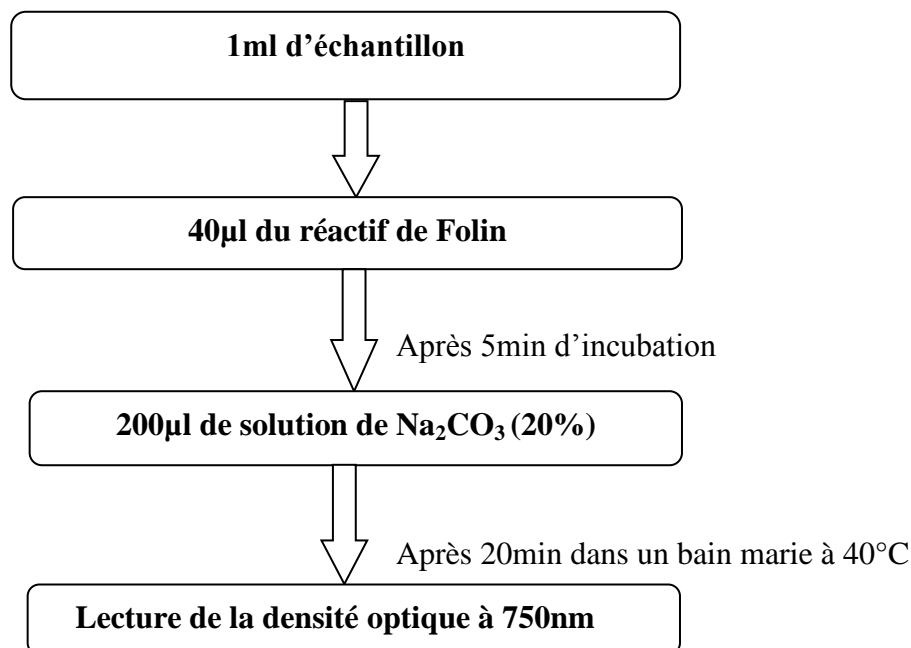
La teneur en polyphénols totaux dans la pommade de la plante est estimée par la méthode de Folin – Ciocalteu décrite par Le *et al.* (2007).

❖ Principe

Cette méthode repose sur l'interaction des composés phénoliques avec le réactif de Folin-Ciocalteu, ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$). Ce réactif est réduit, lors de l'oxydation des phénols en un complexe de coloration bleu dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques qui se trouvent dans le milieu, et donnant un maximum d'absorption à une longueur d'onde de 750 nm (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1968).

❖ Méthode

Le protocole expérimental utilisé est celui décrite par Yap *et al.* (2009) avec quelques modifications (Figure 05). Des séries de dilutions ont été réalisées dans des tubes à essais. Un volume de 40µl du réactif Folin-Ciocalteu est ajouté à 1ml de chaque dilution, après 5minutes, 200 µl de la solution aqueuse de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 20% sont additionnés au milieu réactionnel. Enfin, le mélange est incubé dans un bain marie à 40°C pendant 20 min et à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 760 nm au spectrophotomètre contre un blanc sans extrait. La quantification des composés phénoliques a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire, de la forme $y=ax$, réalisée en utilisant l'acide gallique comme standard. La concentration des composés phénoliques est calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage établie (0-200µg/ml), les résultats sont exprimés en équivalent de ce dernier (Figure 11. P26).



-Figure 05 : Protocole de dosage des phénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu

I.2.4. Evaluation de l'activité anti-oxydante

*Test DPPH

❖ Principe

Le radical DPPH est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité anti-oxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse (Bozin *et al.*, 2008).

A température ambiante, le radical DPPH présente en solution alcoolique, une intense coloration violette qui disparaît au contact d'une substance donneuse de protons. Cette décoloration met en évidence le pouvoir anti radicalaire d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517nm (Masuda *et al.*, 1999), cette réduction est mesurable par UV- Visible (Hara *et al.*, 2018).

❖ Méthode

Le protocole expérimental utilisé est celui décrit par Molyneux, (2004) avec quelques modifications (Figure 06). Des séries de dilutions ont été préparées dans des tubes éppendorfs déjà identifiés. Ensuite, 20µl d'échantillon sont ajoutés à 1ml de la solution DPPH (0.39 mg/100ml). L'acide ascorbique est testé, comme référence. Les absorbances ont été mesurées à 517 nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité. Trois essais sont effectués pour chaque concentration de l'échantillon testé. Les résultats de l'activité anti- radicalaire ou l'inhibition des radicaux libres est exprimée en pourcentage d'inhibition (I%) estimés selon l'équation ci-dessous.

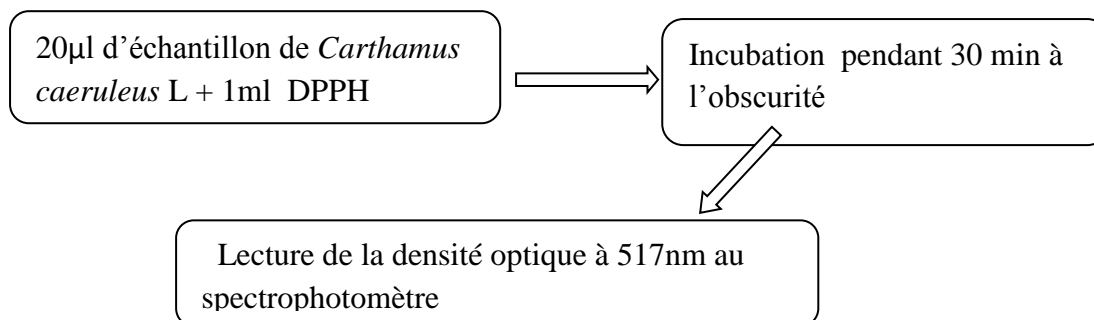
$$\% \text{ d'inhibition} = ((\text{Abs contrôlée} - \text{Abs test}) / \text{Abs contrôlée}) \times 100$$

Avec

I% : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire.

Abs Contrôlée : Absorbance de la solution du DPPH.

Abs test : Absorbance de l'échantillon.



-Figure 06 : Diagramme récapitulatif le protocole de l'étude de l'activité antioxydante des différents échantillons de *Carthamus caeruleus* L, on utilisant le DPPH (Molyneux, 2004)

*Test ABTS

Tout comme le DPPH, l'ABTS est un composé chimique qui a également été utilisé pour évaluer l'activité anti-oxydante des extraits de *Carthamus caeruleus* L, en évaluant leur capacité à piéger le radical cationique ABTS⁺ et donc à ralentir ou inhiber son action.

❖ Principe

Lors de la mise en œuvre de ce test, l'ABTS incolore est préalablement oxydé avec du persulfate de potassium (K₂S₂O₈) pour former le radical cationique ABTS⁺ de couleur bleu-vert. L'addition d'un composé antioxydant donneur de protons engendre la réduction du radical ABTS⁺ en ABTS. L'activité anti-oxydante est déterminée par la décoloration de la solution et s'exprime par le pourcentage d'inhibition (%I) de l'absorbance à 734 nm, longueur d'onde à laquelle le radical ABTS⁺ présente une bande d'absorption caractéristique (Osman *et al.*, 2006 ; Moon *et al.*, 2009). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard d'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions.

❖ Mode opératoire

Une solution mère d'ABTS stable est préparée en mélangeant 0,5ml d'une solution aqueuse d'ABTS avec 0,5 ml de persulfate de potassium préalablement préparée. Le mélange est laissé à l'obscurité et à température ambiante pendant 12 à 16 heures. Pour la réaction une quantité de cette solution (1ml) est ensuite diluée avec l'éthanol afin d'obtenir une absorbance de 0,80 à 734 nm. Un volume de 1ml de cette solution est ensuite ajouté à 10µl de chaque

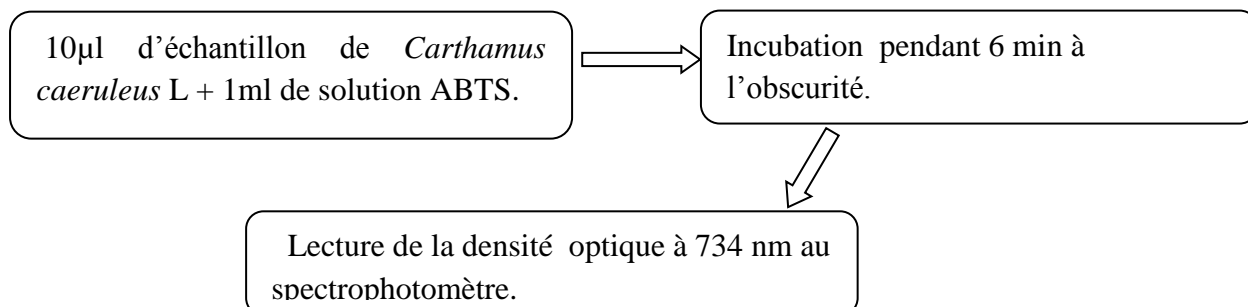
extrait dilué à la même concentration, après 6min l'absorbance est obtenue à 734 nm (Figure 07).

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (PI) du radical ABTS+ donné par la formule suivante :

$$PI (ABTS+) = ((AC-A) / AC) \times 100$$

Avec

- **PI (ABTS+):** pourcentage (%) d'inhibition du radical ABTS+.
- **AE :** absorbance de l'échantillon ou standard testé.
- **AC :** absorbance du contrôle sans extrait.



-Figure 07 : Protocole de l'étude de l'activité antioxydante des différents échantillons de *Carthamus caeruleus* L avec l'ABTS.

I.2.5. Evaluation de l'activité antibactérienne

Afin de mettre en évidence l'activité antibactérienne, la méthode utilisée repose sur la diffusion des échantillons à partir des puits effectués sur un milieu solide dans les boîtes de Pétri. Une boîte de Pétri avec un disque d'antibiotique est utilisée comme un témoin.

Les résultats positifs sont exprimés par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des puits, plus le diamètre de la zone est important plus la sensibilité des souches est élevée vis-à-vis de la concentration testée.

❖ Pré cultures des souches bactériennes

Les bactéries étudiées sont repiquées sur gélose nutritive puis incubées à l'étuve à 37° pendant 18 heures afin d'avoir une culture jeune et des colonies bien isolées qui vont servir à préparer l'inoculum.

❖ Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé à partir des colonies jeunes de bactéries à tester stérilement. Les colonies isolées sont prélevées à l'aide d'une pipette pasteur stérile et homogénéisées dans l'eau physiologique par le vortex. Cette suspension doit correspondre à une opacité, selon Mac Farland, proche de 10^8 - 10^7 UFC/ml qui correspond à une DO de 0,08 à 0,1 mesurée à 625nm.

❖ **Mode opératoire**

Dans des conditions stériles et à l'aide d'un écouvillon, le milieu Mueller Hinton est ensemencé par la suspension de la souche à étudier. Des puits étant réalisés à l'aide d'embouts stériles pour déposer la pommade. Le nombre de puits correspond au nombre d'échantillons, un disque d'antibiotique est déposé à l'aide d'une pince stérile au centre de la boîte. Les boîtes sont ensuite incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures. Les manipulations sont répétées 2 fois pour chaque test.

❖ **Lecture des résultats**

Si le puits contenant la pommade est entouré d'une zone d'inhibition le test est positif. La lecture des résultats se fait en se basant sur la mesure des zones d'inhibitions obtenues. La sensibilité aux différents extraits est classée selon le diamètre des zones d'inhibitions.

I.2.6. Evaluation de l'activité antifongique

Afin de mettre en évidence l'activité antifongique, la méthode utilisée repose sur la diffusion des échantillons à partir des puits sur un milieu gélosé à l'extrait de malt. Un disque de champignon est déposé au centre de la boîte de Pétri. Un teste témoin est effectué avec le disque de champignon sans l'avoir entouré de puits contenant les échantillons.

Les résultats sont exprimés par l'apparition ou pas d'une zone d'inhibition autour des puits, plus le diamètre de la zone est important plus la sensibilité des souches est élevée vis-à-vis de la concentration testée.

❖ **Pré culture des souches de champignons**

Les champignons étudiés sont repiqués sur un milieu (PDA), les spores sont ensemencés avec un écouvillon par la méthode des stries et dans des conditions stériles, puis incubés à 28° pendant 48 heures afin d'avoir une culture jeune.

❖ **Mode opératoire**

Des puits étant effectués à l'aide d'embouts stériles, qui vont servir pour déposer la pommade. Le nombre de puits correspond au nombre d'échantillons, puis un disque de champignon à tester est déposé à l'aide d'une pince stérile au centre de la boîte. Les boîtes sont ensuite incubées à 28° C pendant 48 à 72 heures. Les manipulations sont réalisées en duplicata pour chaque test.

❖ **Lecture des résultats**

Le test est considéré positif si les puits qui contiennent la pommade apparaissent après incubation entourés d'une zone d'inhibition dont le diamètre permet de déterminer la sensibilité des germes vis-à-vis des champignons. La lecture des résultats se fait en se basant sur la mesure des zones d'inhibition obtenues. La sensibilité aux différents échantillons est classée selon le diamètre des zones.



Résultats et discussion

2. résultats et discussion

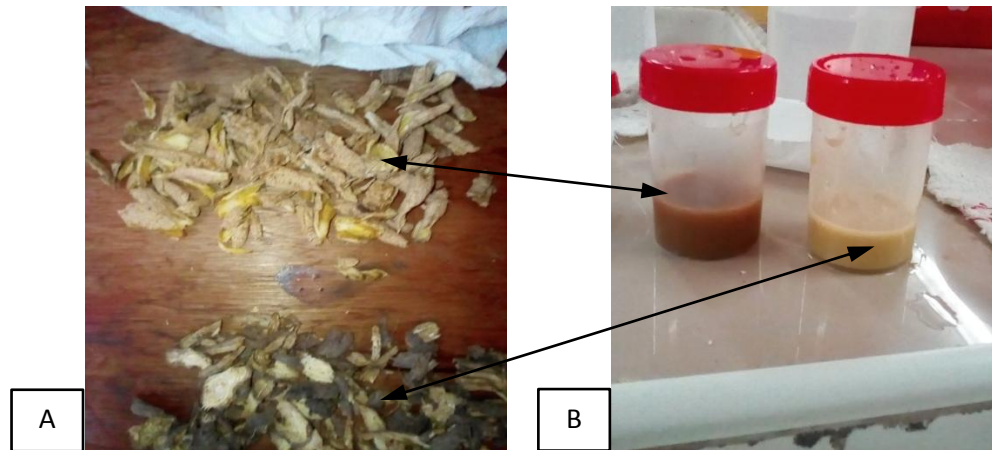
2.1. Analyse qualitative

Les échantillons de *Carthamus caeruleus* L sont récoltés avec toutes ses parties (racines, feuilles, tiges et fleurs) et sont illustrés dans la figure 08.



Figure 08 : Les différentes parties de *Carthamus caeruleus* L, A- feuilles, B- tige, C- fleur et D- racines (Photographies originales, 2022).

Les différents extraits montrent une différence dans la couleur de l'écorce des racines et de la pommade (Figure 09 et le tableau IX), ceci peut être dû à la variabilité des conditions environnementales selon l'humidité et la température. En effet, cette plante se développe et se reproduit avec succès dans un large éventail d'habitats (Puri *et al.*, 2018).











-Figure 09: Photographies montrant la différence de couleur obtenue entre la pommade et celle de l'écorce des racines de *Carthamus caeruleus* L récoltées.

A- La couleur de l'écorce pour les deux échantillons Sanana et Talawaamar.

B- La couleur de pommade pour ces deux échantillons.

Tableau IX : Les différents échantillons de *Carthamus caeruleus* L étudiés avec leurs régions, caractéristiques et date de récolte.

Echantillon	Région	Mois et année	Photographies des feuilles	Photographies des racines	Caractéristiques de l'échantillon
E-01	Agheribs	Avril 2022			Racine : marron claire sans ramifications. Feuille : vert avec des petits pétioles sans épines. Pommade : marron foncé.
E-02	Lwrika	Mars 2022			Racine : marron foncé vers le noir sans ramifications. Feuille : vert plus claire par rapport à d'autres avec des épines et des pétioles plus longs. Pommade: marron claire.
E-03	Talawaamar	Mars 2002			Racine : une seule racine avec des ramifications, marron foncé. Feuille : vert claire sans épines. Pommade : marron claire.
E-04	Sanana	Mars 2022			Racine : principale sans ramification, marron claire. Feuille : vert claire avec des épines. Pommade : marron foncé.

2.2. Analyse quantitative (rendements en pommades préparées)

L'extraction de la pommade à partir des rhizomes de *Carthamus caeruleus* L a été réalisée avec de l'eau distillée (0,2 ml) pour chaque échantillon (Figure10).

Le rendement des extraits obtenus a été déterminé par rapport à la quantité de racines récoltées (matière sèche) avant broyage (Tableau X). Il a été déterminé comme indicateur des effets des différents types de solvants sur les conditions d'extraction (Dhamani *et al.*, 2017).

-Tableau X : Rendements de la pommade obtenus avec les différents échantillons.

Région	Rendement en %
1-Agheribs de la commune d'Azafoune.	7,97
2-Lwrika de la commune de Tizi Ghennif.	17,69
3-Talawaamar de la commune de Tizi Ghennif.	25,96
4-Sanana de la commune de Tizi Ghennif.	8,43

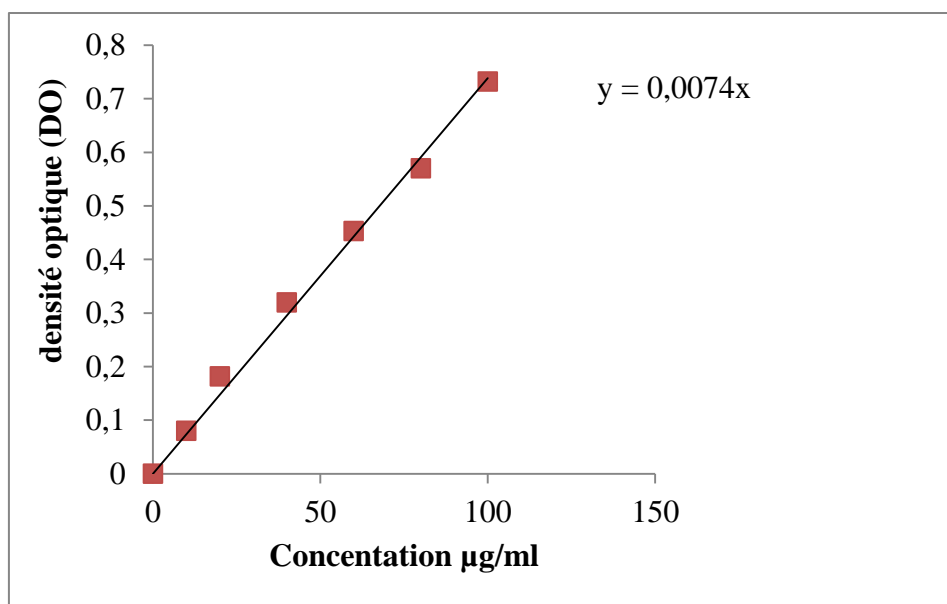
Selon le test Anova, le rendement varie d'une région à l'autre. Les meilleurs rendements en pommade sont enregistrés pour les échantillons Lwrika et Talawaamar et sont de l'ordre de 17,69% et 25,96% respectivement. La différence observée entre ces teneurs en pommade serait relative aux conditions environnementales de chaque région de l'échantillon récolté (l'humidité, la température, propriétés du sol, altitude.....).



-Figure 10 : Photographies des pommades obtenues pour les quatre échantillons.

2.2. Résultats de dosage des composés phénoliques

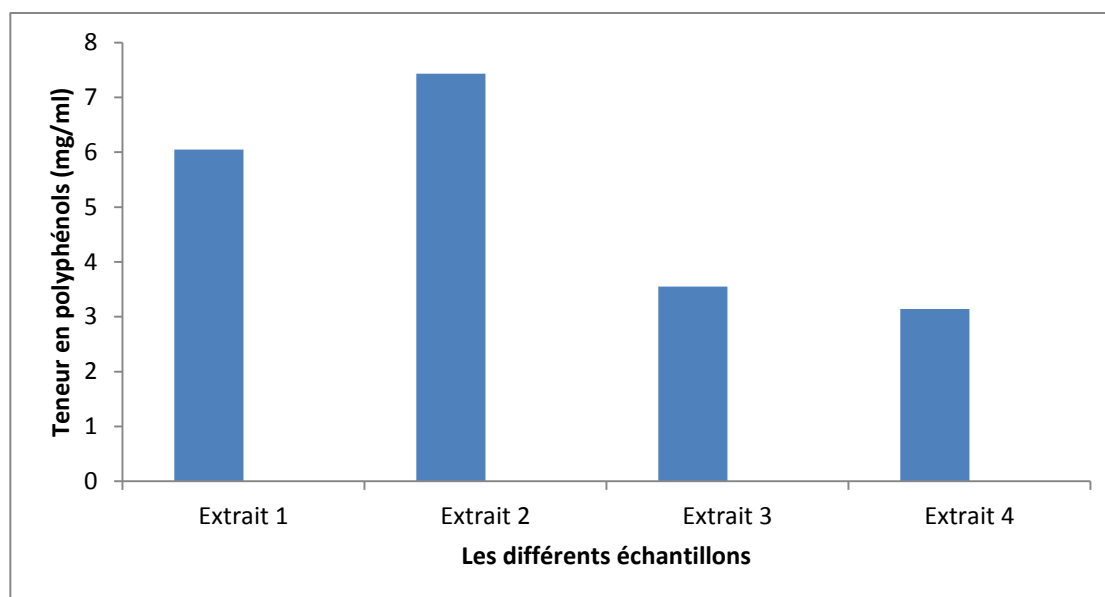
La concentration en CP de chaque extrait, déterminée selon la procédure de Folin-Ciocalteu est calculée à partir de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique (Figure 11. P26), sa formule de régression linéaire est $Y = 0,0074 X$ avec une gamme de 0,08 à 0,732.



-Figure 11 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux en équivalent d'acide gallique (ug/ml).

Selon Tasioula Margari *et al.*, (2001), la détermination quantitative des CP est réalisée selon la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. Cependant, cette méthode ne donne pas d'indication sur la nature des CP présents dans l'extrait ce qui la rend pas très spécifique. En fait, cette méthode donne un aperçu sur la qualité réductrice d'un ensemble de composés en plus des CP (Obied *et al.*, 2005).

Cette méthode satisfait aux critères de reproductibilité, de la disponibilité du réactif de Folin et la méthode qui est bien standardisée, c'est un test largement pratiqué dans les laboratoires de recherche à travers le monde (Huang *et al.*, 2013). Dans cette étude, les polyphénols obtenus de différents extraits du *Carthamus caeruleus* L sont dosés, leur concentration a été déterminée (Figure 12). D'après les résultats affichés, on remarque une différence notable par rapport aux concentrations obtenues. Pour les extraits 1 et 2, ils ont montrés les plus fortes teneurs en polyphénols, qui sont de l'ordre de $6,05 \pm 0,206$ mg/ml et $7,43 \pm 0,946$ mg/ml. Tandis que les extraits 3 et 4, ils présentent des teneurs inférieures qui sont de l'ordre de $3,55 \pm 0,289$ mg/ml et $3,14 \pm 0,325$ mg/ml. La différence observée entre ces extraits sur le plan de leurs teneurs en polyphénols peu revenir aux conditions environnementales de chaque région de l'échantillon récolté (l'humidité, la température, l'eau...).



-Figure 12: Histogramme récapitulant la teneur en polyphénols des extraits de *Carthamus caeruleus* L (Agheribs (l'extrait 01), Lwrika (02), Tala waamar (03), Sanana (04)).

Les résultats obtenus dans la présente étude sont en accords avec ceux de Saffidine (2018) qui a montré une grande variabilité du taux des polyphénols dans les extraits issus du même organe.

2.3. Activité anti-oxydante des échantillons

3.1. Résultats obtenus avec le test au radical DPPH

Ce test est le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité anti-oxydante en raison de sa rapidité, sa sensibilité, sa commodité et de sa reproductibilité (Bozin *et al.*, 2008 ; Nur Alam *et al.*, 2013). Au départ, le DPPH est sous forme 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl radicalaire. Ce radical a une couleur violette en raison de l'électron non apparié et de l'azote. Après réaction avec l'atome d'oxygène d'un capteur de radicaux, le DPPH-H réduit (2,2-diphényl-1-picrylhydrazin) sera transformé en jaune.

En générale, l'activité anti-oxydante augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait, mais la concentration conduisant à une activité anti-oxydante maximale dépend étroitement des extraits et elle est aussi dépendante du test de l'activité anti-oxydante employé (Lafka *et al.*, 2007).

L'activité antioxydante des quatre extraits de *Carthamus caeruleus* L avec le radical libre DPPH a été exprimée en pourcentage d'inhibition pour différentes dilutions effectuées et sont présentés dans le tableau XII.

Tableau XII : Pourcentage d'inhibition obtenu pour les différents extraits de *Carthamus caeruleus* L avec le test DPPH.

	Extrait 01 (Aghribs)	Extrait 02 (Lwrika)	Extrait 03 (Tala waamar)	Extrait 04 (Sanana)
Dilution	Inhibition (% moyen)			
10 ⁻²	64,31 %	70,48%	71,06%	64,41%
10 ⁻³	45,03%	50,69%	53,48%	50,51%
10 ⁻⁴	28,92%	33,64%	34,49%	34,09%

D'après les résultats, une diminution dans le pouvoir antioxydant des différents extraits est notée selon l'augmentation de la dilution. Pour la dilution 10⁻³, le pourcentage d'inhibition de chaque extrait est proche de la valeur IC50. Les pourcentages d'inhibition sont de l'ordre de 45,03 ± 6,32 %, 50,69 ± 0,84 %, 53,48 ± 7,30 % et 50,51 ± 4,85 %, respectivement pour les extraits 01, 02, 03 et 04.

Les résultats obtenus pour ces extraits avec ce radical libre sont en accord avec ceux de (Baghiani *et al.*, 2010), Après avoir testé différents extraits de *Carthamus caeruleus* L, soit un pouvoir antiradicalaire allant de 23 à 79 %.

Ainsi, le pouvoir antioxydant des différents extraits serait relatif aux conditions de l'environnement qui influencent sur la composition chimique de cette plante qui est fortement liée à la présence des métabolites secondaires comme les CP et les flavonoïdes (Rahmouni *et al.*, 2018). Ces résultats concordent avec ceux obtenus à partir des espèces appartenant au même genre (Elhawary *et al.*, 2011 ; Wang *et al.*, 2013 ; Hlila *et al.*, 2015 ; Al-Qudah *et al.*, 2017).

3.2. Résultats obtenus avec le test au réactif ABTS

La capacité des différents extraits de *Carthamus caeruleus* L à inhiber le radical cation ABTS⁺ est évaluée et les résultats ont été exprimés en pourcentages d'inhibitions des dilutions effectuées (tableau XIII). D'après les résultats enregistrés, une diminution est notée dans le pouvoir antioxydant des différents extraits selon la dilution effectuée. Pour la dilution 10⁻³, les extraits 01, 02, 03 et 04 possèdent des activités antioxydantes relativement proches des IC50, elles sont de l'ordre de 48 ± 7,07 %, 53,56 ± 3,03%, 52,06 ± 5,14 % et 50,28 ± 10,50%, respectivement.

Tableau XIII : Pourcentage d'inhibition obtenu pour les différents extraits de *Carthamus caeruleus* L avec le test ABTS.

	Moyenne (%)			
	Extrait 01	Extrait 02	Extrait 03	Extrait 04
10 ⁻²	56,42 %	61,42%	66,78%	60%
10 ⁻³	48%	53,56%	52,06%	50,28%
10 ⁻⁴	41,85%	42,92%	46,4%	46,5%

La forte activité antioxydante enregistrée pour les extraits peut être expliquée par la nature polaire des molécules au sein de l'extrait qui est parfois un facteur déterminant de l'activité

anti-oxydante. En effet, plusieurs études ont montré que les extraits des végétaux qui contiennent des molécules polaires montrent une activité anti radicalaire plus élevée.

Plusieurs études réalisées sur les plantes de même genre ont montré l'efficacité de ces espèces comme agents antioxydants piègeurs des radicaux ABTS. Les extraits à différentes polarités possèdent des activités très remarquables envers ce radical (Hlila *et al.*, 2013 ; Hlila *et al.*, 2015).

2.4. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits obtenus est réalisée à l'égard de plusieurs microorganismes et a été estimée par le test de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton agar. La sensibilité des germes vis-à-vis des extraits est exprimée par l'apparition des zones d'inhibition. Les valeurs en mm des zones ou diamètres d'inhibition relatives aux différentes souches testées ont été calculées et les résultats ont été présentés dans le tableau XIV.

Tableau XIV : Résultats des tests de l'activité antibactérienne des échantillons vis-à-vis des différentes souches testées (Valeurs d'inhibition en mm \pm écart type).

Souches	Antibiotique (E15)	Extrait Aghrib (01)	Extrait Lwrika (02)	Extrait Talawaamar(03)	Extrait Sanana(04)
<i>Staphylococcus aureus</i> MU50	25 \pm 7,07	10,75 \pm 1,06	—	10,70 \pm 2,12	—
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	25 \pm 7,07	10,75 \pm 1,06	18,5 \pm 1,41	11,5 \pm 2,2	—
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	—	—	—	—	—
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	—	—	—	—	—

— : absence d'activité

D'après les résultats trouvés, tous les extraits testés ont montré une inhibition de la croissance bactérienne contre au moins une souche excepté l'extrait 04.

Staphylococcus aureus ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25922 sont résistantes à tous les extraits de la plante, aucune zone d'inhibition n'est produite autour des puits, l'absence de l'activité antibactérienne des extraits envers ces souches pourrait être expliquée par beaucoup de facteurs liés à la nature de cette plante, la concentration des extraits ou du principe actif, au mauvais choix de techniques, problèmes de diffusion et aux conditions et outils de manipulations.

Bacillus cereus ATCC 14579 est sensible à la majorité des extraits (01, 02 et 03) avec des zones d'inhibition différentes ou le diamètre est de l'ordre de 10,75 \pm 1,6 mm ; 18,5 \pm 2,12 mm et 11,5 \pm 2,2 mm respectivement pour les extraits 01, 02 et 03. Par contre, l'extrait 04 n'a montré aucune activité contre toutes les souches. L'activité observée dans tous les extraits de cette espèce pourrait être due à la présence de différentes classes de métabolites

secondaires connues par leurs propriétés antibactériennes à savoir : les CP, les tannins, les quinones, les stérols et triterpénoïdes (Daglia 2012; Singh *et al.*, 2016; Usman *et al.*, 2018).

2.5. Activité anti fongique

L'activité anti fongique a été également exprimée en termes de présence d'une inhibition autour des puits formés par chaque extrait testé. Les quatre échantillons étudiés présentent un effet inhibiteur différent selon la souche fongique testée (tableau XV). D'après les résultats notés, une activité remarquable est obtenue avec les extraits 01 et 02 vis-à-vis de tous les types de champignons testés. Cependant, l'extrait 03 n'a pas d'activité contre *Aspergillus niger* et l'extrait 04 ne présente aucune action inhibitrice contre les différentes souches testées. Les résultats rejoignent ceux de John *et al.*, (2018) lesquels en menant une étude sur une autre plante de la même famille, ont trouvé une activité antifongique remarquable vis-à-vis les souches testées.

-Tableau XV: Résultats des tests antifongiques obtenus avec les différents extraits vis-à-vis des différentes souches testées.

	Extrait 01	Extrait 02	Extrait 03	Extrait 04
<i>Fusarium sp</i>	++	+	+	--
<i>Aspergillus flavipes</i>	++	+	+	--
<i>Aspergillus niger sp</i>	+	+	--	--
<i>Penicillium sp</i>	++	+	+	--

-- : absence d'activité

++ : présence d'activité

Le pouvoir antifongique mis en évidence pourrait être expliqué par les composés naturels appelés métabolites secondaires que contiennent ces plantes. Il est assez difficile d'attribuer l'effet antifongique à un seul métabolite qu'un extrait. Cet effet inhibiteur dépend de la nature et la concentration de la ou les substances à un caractère antifongique présentes dans chaque extrait (Mohammadi, 2013). Par conséquent, l'activité biologique d'une plante naturelle est en relation directe et en corrélation avec sa composition chimique (Hadji *et al.*, 2016).



Conclusion générale

Conclusion Générale

Dans le cadre de la recherche de substances naturelles biologiquement actives, les plantes médicinales restent toujours une source fiable de principes actifs douées de plusieurs propriétés thérapeutiques. Dans ce contexte, cette étude est menée sur l'évaluation des propriétés biologiques d'une plante médicinale largement utilisée par la population algérienne : *Carthamus caeruleus* L, elle est couramment employée pour soigner plusieurs maladies comme les brûlures et les infections.

Ce travail a été consacré au dosage de composés phénoliques et à l'évaluation des activités anti-oxydante et antimicrobienne des extraits obtenus à partir des racines de *Carthamus caeruleus* L. Le dosage au réactif de Folin Ciocalteu montre que les échantillons sont relativement riches en composés phénoliques totaux.

L'étude de l'activité anti-oxydante des différents échantillons effectuée par les deux tests de piégeage au radicaux libres DPPH et l'ABTS, a montré que tous les extraits possèdent une activité anti-oxydante appréciable qui varie en fonction de la concentration. Les résultats indiquent que les dilutions à 10^{-3} des extraits se rapprochent des valeurs IC50.

Par ailleurs, l'effet antibactérien des extraits est mis en évidence par la méthode de diffusion sur un milieu gélosé vis-à-vis de certaines souches bactériennes pathogènes : *Staphylococcus aureus* MU50, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Bacillus cereus* ATCC 14579. Les extraits 01, 02 et 03 ont montré une activité antibactérienne contre les deux souches de *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* MU 50, par contre l'extrait 04 ne présente aucune activité vis- à-vis de ces souches. En revanche, les quatre extraits ne montrent aucune activité vis- à -vis d'*Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Parallèlement, l'analyse de l'activité anti-fongique révèle que les extraits 01, 02 et 03 présentent des activités vis- à- vis des souches *Aspergillus flavipes*, *Fusarium sp* et *Penicillium sp* contrairement à l'extrait 04 qui ne présente aucune activité à l'égard de différentes souches.

Les résultats obtenus sont encourageants, à cet effet, il convient d'approfondir cette étude pour élaborer une meilleure pommade avec de nouvelles formulations en perspectives.



Références bibliographiques

- **Agardh C. (1825)**. Plantes terrestres Embryophytes, Cormophytes, *Inventaire national du patrimoine naturel*.
- **Al-Quad M. (2017)**. New flavone glycoside from *Scabies proliferate* L. Aerial parts which *in vitro* antioxidant and cytotoxic activities. *Natural product research*. 31(24), 2865-2874.
- **Arroudj L., Zitouine C. (2017)**. Evaluation des activités biologiques d'une plante médicinale locale *Carthamus caeruleus* L. *Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du diplôme Master. Faculté des sciences de la Nature et de la vie. Université AMIRA- Bejaia*. 3, (4).
- **Baghiani A. (2009)**. Antioxidant and radical scavenging properties of *Carthamus caeruleus* L. extracts grow wild in Algeria flora. *Communicate Scientiae revista*. 1(2): 128-136.
- **Baghiani A., Boumerfeg S., Belkhiri F., Khennouf S., Charef N., Harzallah D., Arrar L., Mosaad Attia A-W. (2010)**. Antioxidant and radical scavenging properties of *Carthamus caeruleus* L extracts grow wild in Algeria flora. *Communicate Scientiae revista* 1(2): 128-136.
- **Baghiani A. (2012)**. Medicinal plants used traditionally in the Algerian folk medicine for gastrointestinal disorders and hypertension: total polyphenols, flavonoids and antioxidant activity. *Laboratoire de biochimie appliquée, Université Ferhat Abbas Sétif 1*.
- **Benhamou A., Fazouane F. (2013)**. Ethnobotanical study, phytochemical characterization and healing effect of *carthamus caeruleus* L. rhizomes. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 3(1), 61-68.
- **Berchts J., pres L. (1820)**. Plantes terrestres Embryophytes, Cormophytes, *Inventaire national du patrimoine naturel*.
- **Belkhiri F. (2009)**. Activité antibactérienne et antioxydante de *Thamus communis* L et *Carthamus caeruleus* L. *Thèse de Magister. Département de biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif 1*.
- **Boullard B. (2001)**. Livre, Plantes médicinales du monde (*réalité et croyances*). Edition: Estem, 636.
- **Boumerfeg S. (2010)**. Antioxydative properties of *Tamus communis* L., *Carthamus caeruleus* L. and *Ajuga Iva* L. extracts. *Thèse de Doctorat. Département de biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif 1*.
- **Bozin B., Mimica-Dukic N., Bogavac M., Suvajdzic L., Simin N., Samojlik L., Couladis M. (2008)**. Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of *Achillea collina* Becker ex Heimer l SL and *A. pannonica* Scheele essential oils. *Molecules*. 13(9), 2058-2068.
- **Brahimi M., Arsenovic M., Laraba S., Sladojevic S., Boukhalfa K., Moussaoui A. (2018)**. Deep Learning for plant diseases: detection and saliency map visulization.in human and machine learning. 93-(117). *Springer, cham*.
- **Catier O., Roux D. (2007)**. Botanique pharmacognosie phytothérapie. *Collection Porphyry, 3éme Edition, France*, (141).
- **Chemouri F.Z., Ghezloui B.E., Benabadji N. (2015)**. Floral Diversity of the Tlemcen Mountains (*Western Algeria*). *Ecologia Blkanica* 7.
- **Chevalier P., Dutil L. (2012)**. L'usage des substances antimicrobiennes en production animale : position des experts et des gouvernements. *Québec : Institut National de santé publique du Québec*, (45).

- **Chiolero (2000)**. Les inhibiteurs sélectifs de la cyclo oxygénase de type 2 : moins d'effets rénaux que les anti-inflammatoires non stéroïdiens classiques. *Néphrologie*, 21(8), 425-430.
- **Conway G.A., Slocumb J.C., (1979)**. Plants used as abortifacients and emmenagogues by Spanish New Mexicans. *Journal of Ethno pharmacology*, 1(3):241-261.
- **Daglia M, (2012)**. Polyphenols as antimicrobial agents, *Current opinion in biotechnology*. 23(2), 174-181.
- **Dahmani. (2017)**. Effect of extraction method on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1193-S1199.
- **Dahmani., Mohammed M., Laoufi R., Selama O., Arab K. (2018)**. Gas chromatography coupled to mass spectrometry characterization, anti-inflammatory effect, wound-healing potential, and heir antioxidant and anticancer properties, *Molecules* 15, 731367352.
- **Dahmani., Mohammed M. (2019)**. Evaluation de l'activité biologique des polyphénols de *Carthamus caeruleus* L (Asteraceae). *Thèse de doctorat en Biochimie et Microbiologie appliquées. Boumerdes: Université de M'Ahmed Boughera-Boumerdes*, (81).
- **De Beer D., Joubert E., Gelderblom W.C.A., Manley M. (2017)**. Phenolic compounds: a review of their possible role as vivo antioxidants of wine logy. *South African Journal of Enology and Viticulture*. 23(2), 48-61.
- **Elhawary S.S., Eltantawy M.E., Sleem A.A., Abdallah H.M., Mohamed N.M. (2011)**. Investigation of phenolic content and biological activities of *Scabiosa atropurpurea* L. *World Applied Sciences Journal*. 15(3), 311-317.
- **Filleul E. (2019)**. Les Astéracées : description botanique, biologique et étude de plantes médicinales et toxique. (*Thèse d'exercice, Université de Limoges*)
- **Hadji P., Coleman R.E., Wilson C. (2016)**. Adjuvant bisphosphonates in early breast cancer: consensus guidance for clinical practice from a European Panel. *Annals of Oncology* 27(3): 379-90.
- **Hadj Salem Dj. (2009)**. Extraction, Identification, caractérisation des activités biologiques des flavonoïdes de *Ntraria retusa* et synthèse de dérivés acylés de ces molécules par voie enzymatique. *Université de Lorraine*.
- **Haeckel E. (1866)**. *World Register of Marine Species Plantae Haeckel, GBIF Backbone Taxonomy*.
- **Hamadi F., Boudif K., Gougam H., Djouab A., Allane T., Benmounah A., Benamara S. (2014)**. Caractérisation d'une préparation semi-solide traditionnelle et anti-brulure utilisée dans certaines régions d'Algérie.
- **Hara K., Someya T., Sano K., Sagane Y., Watanabe T., Wijesekara R.G.S. (2018)**. Antioxidant activities of traditional plants in Sri Lanka by DPPH free radical –scavenging assay. *Data in Brief*, 17, 870-875.
- **Hlila (2013)**. Phenolic composition, antioxidant and anti-acetylcholinesterase activities of the Tunisian *Scabiosa arenaria*. *Pharmaceutical biology*. 51(5), 525- 535.
- **Hlila (2015)**. α -Glycosidase inhibition by Tunisian *Scabiosa arenaria* Forssk. Extracts. *International journal of biological macromolecules*. 77, 383-389.
- **Hlila (2015)**. Acetyl-cholinesterase inhibitory and antioxidant properties of roots extracts from the Tunisian *Scabiosa arenaria* Forssk. *Industrialo Corps and Product*. 67, 62-69.
- **Hostettman K., Marston A. (1995)**. *Sponins* (1 ed). *New York: Cambridge University Press*, 25(4), 562.

- **Houdret J.C. (2004)**. Bien se soigner par les plantes. *Paris: Solar Edition*.
- **Huang C., Wilde A., Ebmeyer J., Skouroumounis G., Taylor D. (2013)**. Examination of the Phenolic Profile and Antioxidant Activity of the Leaves of the Australian Native Plant *Smilax glycyphylla*. *Journal. National. Product*, 76 (10): 1930-6.
- **Ito. (2012)**. Classification of thyroid follicular cell tumors: with special reference to borderline lesions, *Endocrine Journal*.
- **Javanmrdi J., Stushnoff C., Locke E., Vivanco J. (2003)**. Antioxydant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food chemistry* 83, 547-550.
- **John M., Velez-Haro I., Nydia E., Buitimea C., Rosas B, Jorge M.T., Génesis V. (2018)**. Effect of the roots extract from *Heliopsis longipes* on *Aspergillus parasiticus* growth, *biotecnia /XX(3)*; 127-134.
- **Jorite J. (2015)**. La phytothérapie, une discipline entre passé et futur : de l'herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel. *Sciences pharmaceutiques. ffdumas-01188820*.
- **Julve Ph., (1998)**. Base Flor. *Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France*.
- **Kardile M., Mahajan U., Shaikh H., Goyal S., Patil C. (2016)**. Membrane stabilization assay for anti-inflammatory activity yields false positive results for samples containing traces of ethanol and methanol. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. 5(3), 493-497.
- **Karthik K., Kumar B.R.P., Priya V.R., Kumar S.K., Rathore R.S.B. (2013)**. Evaluation of anti-inflammatory activity of *Canthium parviflorum* by in-vitro method. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*. 1(5), 729.
- **Kuete, V., Mbaveng, A. (2017)**. Medicinal spices and vegetables from Africa. Therapeutic Potential against Metabolic, Inflammatory Infections and systemic Diseases. Academic P. DSc hang, Cameroon: *Mica Haley*. ISBN 9780128092866.
- **Lafka T.I., Sinanoglou V. J., Lazos E. S. (2007)**. On the extra ration and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes *Food Chemistry*, 125, 92-98.
- **Laurent-Berthoud C., Mollet C., Quémoun A.C., Carillon A. (2016)**. La notion de totem de la plante. In : Du bon usage des plantes médicinales : 57 plantes et leur meilleure forme galénique. *Saint-Julien-en-Genevois, Suisse : Editions Jouvence*.
- **Lehmam H. (2013)**. Le médicament à base de plantes en Europe : statut, enregistrement, contrôles, droit. *Université de Strasbourg, Français*.
- **Le K., Chiu F., Neg K. (2007)**. Identification and quantification of antioxidants in *Fructus Lycii*. *Food Chemistry*. 105(1), 353-363.
- **Link. (1829)**. *Inventaire national du patrimoine naturel*.
- **Lithander A. (1992)**. Intercellular fluid of way bread (*Plantago major*) as a prophylactic for mammary cancer in mice. *Tumor Biology*, (13)138-141.
- **Madani A., Nur E. (2017)**. Evidences from morphological investigations supporting APG III and APG IV classification of the family Apocynaceae Juss. *European Academic Journal of Biological*
- **Mami. (2020)**. Hyperparathyroïdie secondaire au lithium : à propos d'une observation clinique *Annales d'Endocrinologie* 81(4), 376.

- **Markov M. (1992).** On the pharmacology of *Plantago major*. Poster 6 at the 2 and International Congress on Ethno pharmacology, *Uppsala, Sweden. July 2-4, 1992 (Swedish Academy of pharmaceutical Sciences)*.
- **Mark W Chase., James L.R. (2009).** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APGIII. *Botanical Journal. Linnean. Society* (161): 105-121.
- **Masuda T., Yonemori S., Oyama Y., Takeda Y., Tanaka T., Andoh T. (1999).** Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: Activity of the leaf extracts. From seashore plants. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 47(4): 1749-1754.
- **Matev M., Angelova I., Kiochev A., Leseva M., Stefanov G. (1982).** Clinical trial of a *Plantago major* preparation in the treatment of chronic bronchitis. *Vutreshni Bolesti*, 21(2): 133-137.
- **Mességué M. (1975).** Mon herbier de santé. *Paris: Opera mundi Edition*.
- **Mihoub L., Robert T., Ghashghaie J., Vilatersana R., Lamy F., Benmrid R., Lamothe-Sibold M., Aid F. (2017).** Phylogenetic position of two endemic *Carthamus* species in Algeria and their potential as sources of genes for water use efficiency improvement of safflower. *Journal of Systematics and Evolution* 55, 34-43.
- **Mioulane P. (2004).** Encyclopédie universelle des 15000 plantes et fleurs de Jardin. 2ème Edition: *Larousse, Paris, France*. 1104.
- **Mohammadi Z. (2013).** Etude phyto chimique et Activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie. (*Thèse de doctorant*), *Université de Tlemcen, Algérie*.
- **Molyneux P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal. Science. Technologie.*, 26(2): 211-219.
- **Moon J. K., Shibamoto T. (2009).** Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(5): 1655-1666.
- **Morel J. (2008).** Traité pratique de phytothérapie, *Edition: Grancher*.
- **Moreira L., Dias L., Etestevinho L. (2005).** Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal. *Journal of Food and chemical toxicology*, (46): 3482-3485.
- **Mothibe E., Sibanda M. (2019).** African traditional medicine: *South African perspective, Traditional and Complementary Medicine*, 1-27.
- **Nafiu. (2017).** Preparation, standardization, and quality control of medicinal plants in Africa. *Medicinal spices and vegetables from Africa*, 1716204.
- **Noor H., Juing M., Chee B.J., Kuehb L., Zolkepli O. (2000).** Medicinal Properties of *Plantago major*: hypoglycemic and male fertility studies. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 96: 2181-2196.
- **Novak., Takht. (1967).** Présentation de Magnoliidae (Magnoliidées, Angiospermes). (Français).
- **Nur Alam M.D., Sharififar F., Khatib M., Behravan E., Afzadi M.A. (2013).** Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 21, 143-152.

- **Obied H.K., Allen M.S., Bedgood D.R., Prenzler P.D., Robards K. (2005).** Investigation of Australian olive mill waste for recovery of bio phenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 9911-9920.
- **Oh Y., Kang O., Kim S., Mun S., Park C., Kim Y., Lee Y., Han S., Keum J. (2012).** Anti-inflammatory effect of sinomenine by inhibition of pro-inflammatory mediators in PMA plus A23187-stimulated HMC-1 Cells. *Eur Rev Med Pharmacol Science* 16, 1184-1191.
- **Osman. (2016).** *In vitro* xanthine oxidase and albumin denaturation inhibition assay of *barringtonia racemosa* L. and total phenolic content analysis for potential anti-inflammatory use in gouty arthritis. *Journal of intercultural ethno pharmacology*, 5(4), 343.
- **Pastrikos G. (2018).** *Carthamus caeruleus* L. (*Cardueae, Asteraceae*), a new record for *rodeos Island, Greece*.
- **Pelt J.M. (2003).** Les drogues. Leur histoire, leurs effets, *Edion . Dion*.
- **Porpovic C., Saykova I. S., Tylkowski B. (2010).** Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4, 25-39.
- **Prior R.L., Wu X., Chaish K. (2005).** Standardized methods for the determination proanthocyanic fractions from cranberry juice. *Journal Med Food*: 8(1): 36-40
- **Puri A., Prakash D., Yunus N. (2018).** a review on ethno medicinal, pharmacological and phytochemical aspects of *Sonchus oleraceus* L. (*asteraceae*). 8(3), 01-09.
- **Quézel P., Santa S. (1963).** Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. *Edition du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, Tome I.565*.
- **Rahmouni N^b, Pinto D.C., Berhidja N., Benavache S., Silva A. (2018).** Lipophilic composition of *Scabiosa stellata* L: an underexploited plant from Batna. *Chemical Papers*. 72(3), 753-762.
- **Ribéreau-Gayon P., Gauthert R.J., (1968).** Les composés phénoliques des végétaux, *Edition Duodi, Paris, (254)*.
- **Saffedine K., Sahli F., Zerroug M. (2013).** Antimicrobial activity of an Algerian medicinal plant: *Carthamus caeruleus* L, *Pharmacogn. Commun*, 3, 4(71-76).
- **Saffedine K. (2015).** Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Cathamus caeruleus* L. et de *Plantago major* L. *Thèse de doctorat en science, Université de Ferhat Abbas, Sétif*. 92.
- **Saffidine K. (2018).** Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus* L et de *plantago major* L. *Thèse de doctorat en science, Université de Ferhat Abbas-Sétif 1*.
- **Samuelsen AB. (2000).** The traditional uses chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. *Journal of Ethno pharmacology*, 71:1-21.
- **Sebai M., Boudali M. (2012).** La phytothérapie entre la confiance et méfiance (*Thèse*). *Chleff : Institut de formation paramédical Châtia*.
- **Singh A. (2016).** Spatially coordinated replication and minimization of expression noise constrain three- dimensional organization of yeast genome; *DNA Res* 23(2): 155-69.
- **Sofowora A. (2010).** *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. KARTHALA Editions*.
- **Suman S. (2010).** Phytochemical investigation of *Sonchus oleraceus* leaves and *Citrullus colocynth* root. *Journal Herbal Med Toxically*, 4: 159-62.

- **Takht., Novak. (1967).** Phylogénétique pragmatique classification des litiges plantes vasculaires flore d'Ukraine. *Université national de Kiev nommée d'après taras Chevtchenko.*
- **Tasioula M., Otu. (2001).** Simultaneous Determination of Phenolic Compounds and Tocopherols in Virgin Olive oil Using HPLC and UV Detection, *Food Chemistry*, 74(3), 377-383.
- **Toubane A., Rezzoug S.A., Besombes C., Daoud K. (2017).** Optimization of Accelerated Solvent Extraction of *Carthamus caeruleus* L. Evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activity of extracts. *Industrial crops and products* 97, 620-631. *Toxicants of zebra fish larvae. Food chemistry*, 134(2): 717-724
- **Usman H., Kaigama A.U., Ibisagba O.O., Fulata A.M., Ahmed I.A. (2018).** Phyto constituents' evaluation and antimicrobial efficacy of the crude flavonoids and spooning root bark extracts of Terminalia avicennioides and Fichus polity. *Journal of Herb med Pharmacology*. 7(2), 106- 111.
- **Vercauteren J. (2011-2012).** Plan, formules et illustration du cours de pharmacognosie Université Montpellier I Laboratoire de Pharmacognosie. *Médicament à base de plantes.*
- **Wang X., Wang W., Li L., Perry G., Lee H.G., Zhu X. (2014).** Ant nociceptive and anti-inflammatory activities of extract and two isolated flavonoids of *Carthamus tinctorius* L. *Journal of ethno pharmacology* 151, 944-950.
- **Wichtl M., Anton R. (2009).** *Plante thérapeutique*, 2^{ème} Edition Lavoisier, (692).
- **Williamson A. (2011).** Infection, inflammation and lung function decline in infants with cystic fibrosis. *American journal of respiratory and critical care medicine* 184(1), 75-81.
- **Yap C.F., Ho C.w., Aida W. M., Chan S. W., Lee C.Y., Leong Y.S. (2009).** Optimization of extraction condition of total phenolic compounds from star fruit (*A verrhocarambola* L) residues. *Sins Malaysian*, 38(4): 511-520.
- **Zhang H., Tsao R. (2016).** Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Curent Opinion in Food Science*. 8, 33-42.
- **Zorofchian M., Habsah A., Pouya H., Hassan T., Sazaly A., Keivan Z. (2014).** *a review on antibacterial, antiviral and antifungal activity of curcumin. Biomed research international.*

Résumé

Les plantes médicinales sont connues pour leur utilisation dans le traitement de plusieurs pathologies en Algérie, le savoir-faire des guérisseurs traditionnels, d'une valeur inestimable est un point de départ pour l'investigation pharmacologique de ces médicaments naturels. Cette étude s'articule autour de deux axes dont le premier est consacré à la préparation d'une pommade à base des racines de *Carthamus caeruleus* récoltés. Le second, concerne l'évaluation de quelques activités biologiques des extraits préparés à bases de ces pommades.

Au cours de cette étude, quatre échantillons de *Carthamus caeruleus* (Agherib, Lwrika, Talawamar et Sanana) récoltés à partir de différentes régions de la wilaya de Tizi Ouzou ont été utilisés. Les résultats du dosage des composés phénoliques des extraits ont révélés une différence notable par rapport aux concentrations obtenues.

Concernant les résultats du potentiel antioxydant des extraits obtenus avec le radical libre DPPH et l'ABTS, ceux-ci montrent que les pourcentages sont relativement proches à une dilution de 10^{-4} et sont de l'ordre de 28,92%, 33,64%, 34,49%, 34,09% et de 41,85%, 42,92%, 46,04%, 46,50%, respectivement pour les quatre échantillons et les deux tests.

Les extraits testés, excepté l'extrait 04, ont montré une activité antibactérienne avec un diamètre qui varie de 10,75 à 25 mm contre *Bacillus cereus* ATCC 14579 et *Staphylococcus aureus* MU50. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25922 sont résistantes à tous les extraits de la plante sans aucune zone d'inhibition. *Bacillus cereus* ATCC 14579 est sensible à la majorité des extraits (01, 02 et 03) excepté l'extrait 04. Une activité antifongique est notée pour les extraits 01 et 02 lorsqu'ils sont testés contre *Aspergillus flavipes*, *Fusarium sp* et *Penicillium sp*.

Mots clé: *Carthamus caeruleus*, polyphénol, antioxydante, antibactérienne et antifongique.

Summary

Medicinal plants are known for their use in the treatment of several pathologies in Algeria, the know-how of traditional healers, of inestimable value, is a starting point for the pharmacological investigation of these natural medicines. This study revolves around two axes, the first of which is devoted to the preparation of an ointment based on the roots of *Carthamus caeruleus* harvested. The second concerns the evaluation of some biological activities of the extracts prepared from these ointments.

During this study four samples of *Carthamus caeruleus* (Agherib, Lwrika, Talawamar and Sanana) harvested from different regions of the wilaya of Tizi Ouzou were used. The results of the dosage of the phenolic compounds of the extracts revealed a notable difference compared to the concentration obtained. Concerning the results of antioxidant potential of the extracts obtained with the free radical DPPH and the reagent ABTS, these show that the percentages relatively close and are of the order of 28, 92%; 33, 64%; 34,49%; 34,09% and 41,85%; 42,92%; 46,04%; 46,50% respectively for the four samples and the two tests.

All the extracts tested showed inhibition of bacterial growth against strains tested with a diameter varying from 10,75 to 25 mm against *Bacillus cereus* ATCC 14579 and *Staphylococcus aureus* MU 50. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 25922 are the most resistant strains to all plant extracts without any zone of inhibition. *Bacillus cereus* ATCC 14579 is the most sensitive to the majority of extracts (01, 02 and 03) except extract 04. Antifungal activity is noted for extracts 01 and 02 when tested against *Aspergillus flavipes*, *Fusarium sp* and *Penicillium sp*.

Keywords: *Carthamus caeruleus*, polyphenol, antioxidant, antibacterial, and antifungal.