الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الدكتور يحيى فارس المدية

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

UNIVERSITE DEDOCTEUR YAHIA FARES DE MEDEA



Faculté de technologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Présentée par

DJEGHLAL YOUSSERA

ABSI YAMINA

Filière: Génie des procédés et environnement

Option: Génie des procédés pharmaceutique

Thème

Evaluation de l'activité biologique des polyphénols de Carthamus caeruleus L (Asteraceae)

Proposés et Dirigés par :

Dr NEDJHIOUI Mohammed
Mme HAMIDI Nadjia

Année Universitaire: 2019/2020

Remerciements

Nous remercions d'abord ALLAH le tout puissant de nous avoir accordé la santé et le courage pour accomplir ce travail.

Nous tenons tout d'abord à remercier très vivement notre encadreur Mr NEDJHIOUI MOHAMMED enseignant à l'Université pour avoir accepté de codiriger ce travail. Qu'il soit également remercié pour sa disponibilité permanente, son aide, et ses précieux conseils et surtout sa gentillesse.

Je n'oublie pas de remercier le responsable du master MD HAMIDI NADJIA de m'avoir accueillie dans ce Master et pour sa permanente disponibilité, la qualité de ses conseils et avis sur les travaux que j'ai pu mener.

On remercie très vivementle Pr CHERIFI Hakima, pour l'honneur qu'il nous fait pour avoir accepter la présidence du jury.

J'adresse également mes remerciements au Dr KERMET SAID Hadjiraet au membres de jury d'avoir accepté de juger ce travail.

Et à toute personne qui a contribué de près ou de loin à l'élaboration de notre travail.



Dédicace

Avant tout chose, je remercie ALLAH, le tout puissant Pour m'avoir donné la force et la patience.

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immensejoie que je

Dédie ce travaille:

A Mes chers etmagnifiques parentspour leur patience, leur amour, leursoutien, leurencouragement et leurs sacrifices tout au long de ma vie aucune expression ne serait exprimer mon grand amour

A ma très cher sœur *Rawane*: que je souhaite un avenir en rose dans ses études en médecine

A mon très cher frère *Mohamed Ilias*:que je souhaite plein de bonheur et de réussite dans ta vie

A mes très chers frères *Omar Ferouk*et *Ahmed Abd El Ilah*que j'aime trop

À Mon encadreur NEDJHIOUI MOHAMMED Pour leur conseille, leur présence, et leur patience.A ma binôme *ABSI YAMINA* j'ai partagée avec elle les joies et les difficultés au suivi de notre travailSansoublier mes collègues de la promotion

YOUSSERA

Dédicace

Avant tout chose, je remercie ALLAH, le tout puissant Pour m'avoir donné la force et la patience.A tous les personnes qui m'encouragent toujours aux moments difficiles:

À mes très chers parents qui m'ont soutenue et encouragés durant toute la Période de mes études et à qui je souhaite une long et heureuse vie,

A mes très chers frères: Abd El kader , Mohamed,

Ahmed , Omar , Salah ,Maamar

A mes très cher sœurs:Fatima, Aicha

À Mon encadreur NEDJHOUI MOHAMMED Pour leur conseille, leur présence, et leur patience.

À Mon binôme de Ce travail: DJEGHLAL YOUSSERA

À mes chères amies : Soumia ,Nadjet , Meriem , Maymouna , Zahia qui a partagé toutes les bons et les mauvais moments avec moi.

Yamina

الملخص

النبتة المدروسة معروفة في شمال الجزائر و خاصة في منطقة القبائل. جذمورهايستعمل على نطاق واسع في الطب التقليدي باعتباره كريمة معالجة للحروق. خصصت هذه الدراسة لتقييم الخصائص المضادة اللأكسدة للمستخلصات المائيةالكحوليةالمائية,الإثانولية و جزيئاته و الخصائص المضادة للميكروبات للمستخلص الإثانولي و أخيراتقييم النشاط لكريمة الجذمور.

تركز عملنا على دراسة المركبات النباتية الثانوية، التي هي مجموعة غير متجانسة من المركبات الطبيعية التي بحكم التعريف ليست ضرورية وحيوية للخلية أو الكائن.

في هذا المؤشر، كان هدفنا أيضا تحديد وتصنيف وعرض الخصائص الدوائية من بعض الجزيئات ألساسية المستخدمة في الطب لصالح إلنسان.

دراستنا تظهر أن المركبات الثانوية تنقسم إلى ثالث أقسام: البوليفينول، القلوياتوالتربينويدات. هذه الجزيئات هي موجودة بأعداد كبيرة جدا وذات تنوع هيكلي هائل. إذن هي مميزات تكيفية تعرضت إلى االنتقاء الطبيعي في التطور.

الكلمات المفتاحية:L Carthamus caeruleus لخصائص المضادة للاكسدة، الخصائصالمضادة،

للميكروبات، آثار الجرح، المركبات الثانوية،

Résumé:

La plante Carthamus caeruleus L.est connue dans le nord algérien notamment en Kabylie sous son nom ‘Amarsgus, et son rhizome est largement utilisé en médecine traditionnelle sous forme de crème cicatrisante. La présente étude est consacrée pour évaluer les propriétés antioxydantes des extraits, les propriétés antimicrobiennes, et l’évaluation de l’activité cicatrisante de la crème cutanée en dernier.Notre travail est consacré à l’étude des métabolites secondaires végétaux, qui sont un groupe hétérogène de composés naturels et qui ne sont par définition pas nécessaires et vitaux pour la cellule ou l’organisme. Dans cet index, on a visé à identifier, classifier et présenter les propriétés pharmacologiques de quelques principales molécules utilisées en médecine au bénéfice de l’Homme.Notre recherche fait ressortir que les métabolites secondaires sont répartis en trois classes : les polyphénols, les alcaloïdes et les terpénoides. Ces molécules sont présentes en très grand nombre et d’une variété structurale extraordinaire, Donc sont des caractères adaptatifs qui ont été soumis à la sélection naturelle au cours de l'évolution.

Mots clés: Carthamus caeruleus **L,** propriétés antioxydantes, propriétés antimicrobiennes, activité cicatrisante, métabolites secondaires,

Summary

The plant Carthamus caeruleus L. is known in northern Algeria, especially in Kabylia, under its name: Amarsgus, and its rhizome is widely used in traditional medicine in the form of a healing cream. The present study is devoted to evaluate the antioxidant properties of extracts, antimicrobial properties, and evaluation of the wound healing activity of the skin cream last. Our work is devoted to the study of plant secondary metabolites, which are a group heterogeneous of natural compounds and which are by definition not necessary and vital for the cell or the organism. In this index, we aimed to identify, classify and present the pharmacological properties of some main molecules used in medicine for the benefit of man.Our research shows that secondary metabolites are divided into three classes: polyphenols, alkaloids and terpenoids. These molecules are present in very large numbers and of extraordinary structural variety. Therefore, they are adaptive characters that have been subjected to natural selection during evolution.

Key words: Carthamus caeruleus **L,** Antioxidant properties, Antimicrobial properties, healing properties, Secondary metabolites.

Tables des matières

LISTE DES ABREVIATIONS.

LISTE DES TABLEAUX.

LISTE DES FIGURES.

INTRODUCTION ……. 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I: Présentation botanique de Carthamus caeruleus.L

I.1 Genre Carthamus ……..…… 3

I.2 Position systématique ……..……. 3

I.3 Description botanique ……..…….…..... 4

I.4 Distribution géographique…….……..... 5

I.5 Utilisation traditionnel ……..... 6

I.6 Composition phytochimique des racines de la plante ……..……. 7

I.7 Propriété pharmacologique……..... 7

Chapitre II: les substances actives

II.1 Définition des metabolites secondaires…...…….…… 8

II.2 Les polyphénols ……..……...…….. 8

II.2.1 Biodisponibilité des polyphénols ……..…….…. 8

II.2.2 Absorption des polyphénols à partir de l'intestin grêle ……...……... 9

II.2.3 Conjugaison des polyphénols…….……. 9

II.2.4 Transport et concentration plasmatique des polyphénols ……..…… 10

II.2.5 Excrétion des polyphénols ……...…….….. 10

II.2.6 Etude de la toxicité des polyphénols…..…….……..…….. 10

II.2.6.1Toxicité aiguë ……..... 11

II.2.6.2Toxicité subaigüe ……. 11

II.2.6.3Toxicité à long terme ……..…. 11

II.3 Les flavonoïdes ……...… 12

II.3.1 Définition ……... 12

II.3.2 Structures chimique et classification …….. 13

II.3.3 Activité biologique des flavonoïdes ……..……..... 17

II.3.4 Composés phénoliques non flavonoïdes ……...……. 17

II.3.4.1 Les acides phénoliques ……..…… 17

II.3.4.2 Les lignanes et lignines ……..... 18

II.3.4.3 Les coumarines …… 18

II.3.4.4 Les xanthones ……..… 18

II.3.4.5 Les stilbènes …… 18

II.4 Les lipides ……..……... 18

II.4.1 Définition ……..…… 18

II.4.2 les lipides vrais ……...… 19

II.4.2.1 les acides gras …… 19

II.4.2.2 les lipides simple ...……..... 19

II.4.2.3 les lipides complex ……..... 20

II.4.3 lerole biologique ……..... 21

Chapitre III: les activités

III.3 l'activité antioxydante …….…..… 22

III.3.1 Radicaux libres et leurs dommages ……..……. 22

III.3.2 Le processus d'oxydation ……..… 22

III.3.2.1 Le stress oxydant ……..…… 22

III.3.3 Pathologies de stress oxydant……...…… 23

III.3.4 Les antioxydants ……..……. 24

III.3.4.1 Les sources d'antioxydants ……... 24

III.3.4.2 Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante …….……...… 24

Méthode de DPPH …….....….. 24

Test de la réduction du fer (FRAP) ……...…….. 25

III.4 Les antimicrobiens.. ……. 26

III.4.1 Les infections microbiennes……...…….. 26

III.4.2 Mécanismes d'action…… 26

III.4.3 Antibiotiques…… 27

III.4.4 Les composes phenoliques……..... 28

III.4.5 Résistance bactérienne……..… 28

III.4.6 Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne …….…. 29

III.4.6.1 Méthode de diffusion sur discs ……..... 29

III.4.6.2 Méthode de diffusion en milieu solide …….……....… 29

III.4.6.3 Méthode de dilution en milieu liquid ……...…….…….. 29

Partie expérimentale

Chapitre I:Matériels Et Méthodes

I.1 Matériel……...…..... 30

I.1.1 Matériel végétal……...……..... 30

I.1.2 Matériel non biologique……..... 31

I.2 Préparation de l'extrait des raciness et des feuilles …….……..... 32

I.3. Extraction des lipides par soxhlet……..…. 38

I.4. Rendement de l'extrait…..……..…..……..... 38

I.5. Détermination des constants phyico chimiques……..…..….. 39

La densité …….. 39

Indice d'acide ……..... 40

Indice de saponification ……..... 40

Indice d'estérification ……. 41

Indice de refraction ……..... 41

I.6. Analyse quantitative ……..... 41

I.6.1 Dosage de polyphénols totaux……..…….…..... 41

I.7. Activités biologiquesdes extraits des raciness et feuilles carthamus caeruleus…. 43

I.7.1 Activité antioxydante……..…… 43

I.7.2 Activité antibacteriennes…… 44

I.8 Chromatographie liquide haute performance(CLHP) …… 45

CONCLUSION ……... 48

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES ABBREVIATIONS:

APGIII: système de classification des plante à fleurs (la troisième version d'un modern).

UDP-GT5: UDP-glucuronyl transférase.

COMT6: catéchol-O-methyltransférase.

DL50: une mortalité de 50% dans une population d'animaux.

DME: la dose maximale sans effet toxique.

Nox: complexe enzymatique mombranaireapartenant à la classe des oxydoreductases.

cytochromeP450: protéines ayant d'hème (cofacteur) pour les reactions d'oxydoréduction.

PKC: proteins Kinases (enzymes) impliquées dans la regulation (proteins cible).

PLA2: famille d'enzymes qui hydrolysent les acides gras.

AND: acide désoxyribonucléique continent l'information génétique (génome).

LTC4: le locotriène C4, compose biochimique de la famlle des lecotriènes.

PAF: Facteur activateur des plaquettes.

l'IL8: une molecule produite par les cellules épithéliales.

C5a: fragment de proteins.

LTB4: leucotrière impliqué dans l'inflammation.

COX: cyclooxygénases.

ERO: stress oxydatif.

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power.

ORAC: Oxygen Radical Absorbance Capacity.

TEAC: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity.

ABTS: 2,2-azinobis 3-ethylbenzothyazoline 6-sulphonate.

DPPH+: 2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl.

DPPH°: 2,2'-diphenyle-1-picryl hydrazyl.

DPPH: 2.2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl.

DPPH•: 2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle.

CMI: la concentration minimale inhibitrice.

LISTE DES TABLEAUX

Liste des tableaux:

N° Tableau	Titre de tableau	Page
Tableau I.1.	Position taxonomique de Carthamus caeruleus.	03
Tableau I.2.	Différentes appellations de Carthamus caeruleus L	04
Tableau II.1	Structure des différentes classes de flavonoides	14.15.16
Tableau II.2	les differents acides gras	19
Tableau II.3	les différentslipides simples	20
Tableau II.4	les différentslipides complexes	21
Tableau III.1	Quelques pathologies du stress oxydant.	23
Tableau IV.1	les rendement des extrait de feuille et de racines	35
Tableau IV.2	Les souches utilisées dans le test de l'activité antibactérienne	40

LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES:

N° Figure	Titre de figure	Page
Figure I.1	Différentes partie de Carthamus caeruleus L. a: plante entière; b: racine; c : tige ; d: feuille ; e: Fleur.	**04.05**
Figure I.2	Répartition de Carthamus caeruleus L dans le monde	**06**
Figure I.3.	La crème traditionnelle issue de rhizome de carthamus caeruleus	**06**
FigureI.4	La poudre de rhizome de Carthamus caeruleus L.	**07**
Figure II.1	Structure de base des flavonoïdes	**12**
Figure III.1	Facteurs intervenants dans le stress oxydatif	**23**
Figure III.2	Structure chimique du radical libre DPPH•	**25**
Figure III.3	Réaction de test DPPH	**25**
Figure III.4	Schéma sur la réaction de test FRAP (FerricReducingAntioxidant power)	**26**
Figure III.5	Mécanismesd'action des antibiotiques	**27**
Figure IV.1	Localisation de la commune BordjBounaama dans la wilaya de TISSEMSILT	**30**
Figure IV.2	l'organe sèche des racines de	**30**

	Carthamus caeruleus	
Figure IV.3	Poudre des raciness et feuilles de Carthamus caeruleus	31
Figure IV.4	l'extraithydroalcoolique (méthanolique , éthanolique)	**32**
Figure IV.5	Schéma d'extraction des racine de carthamus caeruleus	**33**
Figure IV.6	Montage d'un extracteur de soxhlet	**34**

Introduction générale

Introduction

La dépendance de l'homme par rapport à la nature est immense, ne serait-ce que parce qu'il fait lui-même partie de cette nature.

Dès son origine, l'homme cherchait à ceprocurer des remèdes, à calmer ses maux et à réduire ses souffrances. Pour cela, il àutilisé des produits qui étaient à sa portée. Le règne végétal lui fournissant en grande partie son alimentation fut son premier champ d'expériences. Peu à peu, il a appris à discerner les propriétés des plantes, leurs vertus, et leurs toxicités.[1]

La médecine traditionnelle est facilement accessible et son coût est abordable, son utilisation a connu un regain d'attention et d'intérêt dans le monde, notamment en Chine où environ 40% de l'ensemble des soins de santé relèvent de la médecine traditionnell. [2]

Aujourd'hui, l'industrie pharmaceutique est le secteur économique qui regroupe les activités de recherche, de fabrication et de commercialisation des médicaments pour la médecine humaine ou vétérinaire. C'est l'une des industries les plus rentables et importantes économiquement, au monde. Cette activité est exercée par les laboratoires pharmaceutiques et les sociétés de biotechnologie.

Pour se soigner, La médecine par les plantesest une source importante de biomolécules présentant des vertus thérapeutiques en comparaison avec les organismes marins, les microorganismes, et les champignons [3]. Elles contiennent une grande diversité de biomolécules très intéressantes pour le développement de médicaments contre divers cibles pharmacologiques. Parmi les 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. [4]

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'au moins une de ses parties (feuille, tige, racine etc.) peut être employée dans le but de se soigner. Elles sont utilisées depuis au moins 7.000 ans avant notre ère par les hommes et sont à la base de la phytothérapie. Leur efficacité relève de leurs composés, très nombreux et très variés en fonction des espèces, qui sont autant de principes actifs différents.

L'Algérie par sa position biogéographique offre une très grande diversité floristique. A cet effet, Nous nous sommes intéressées aux plantes médicinales qui existent dans la wilaya de tissemsilt.

L’espèce Carthamus caeruleus L. (مروسقس)est connue sous le nom de Cardoncelle bleue [5]. C'est une espèce peu commune rencontrée en Méditerranée dans les clairières humides des forêts, les plaines, les bords des ruisseaux, et surtout dans les terrains argileux.[6]

Les racines de cette espèce sont très utilisées dans le traitement des brûlures dans la région de Boumerdes, Tizi-Ouzou ,Sétif et Telemcen, sous forme de pommade [7]. Cette dernière est préparée à partir des racines préalablement lavées et épluchées, puis bouillies dans du lait ou de l’eau. Ces racines sont ensuite écrasées, réduites en pommade, appliquée sur les brûlures.

Afin de confirmer l’efficacité de Carthamus caeruleus pour le traitement des plaies et des brûlures, des expérimentations ont été effectuées, en particulier l’évaluation de la propriété antioxydant, antimicrobien, anti-inflammatoire et cicatrisant.

L’objectif du présent travail est une contribution à l’étude de l’activité antioxydante et de l’activité antibactérienne, le taux de polyphénole,huiles végétale de Carthamus caeruleus.

La présentation de nos travaux est répartie comme suit:

- **La première partie**: est consacrée à une étude bibliographique et une présentation botanique du genre Carthamus et sur notre plante Carthamus caeruleus; ainsi que la présentation des métabolites secondaires et l’activité biologique sur la plante.
- **La deuxième partie** : concerne l’expérimentation réalisée sur la plante étudiée qui présente les méthodes d’extraction, des constantes physico chimiques des lipides, le dosage quantitatif, ainsi que la méthode utilisée pour évaluer leurs activités antioxydante, antibactérienne, détermination de la CMI, la séparation par HPLC.

Enfin, une conclusion relatant l’essentielle des résultats, accompagnée de perspectives conclue notre manuscrit.

Partie bibliographique

Chapitre I:Etude botanique de Carthamus caeruleus

I.1.Genre Carthamus

Carthamus caeruleus L fait partie de la famille Asteraceae, qui veut dire étoile « aster » en Grèce [8]. C'est une famille appartenant aux Dicotylédones comprenant plus de 1500 genres et plus de 25000 espèces, c'est la famille la plus importante des Angiospermes, ce sont presque toujours des plantes herbacées avec souvent des racines charnues : rhizomateuses, tubéreuses ou pivotantes [9], occupant tous les continents sauf l'Antarctique [10]. Le genre Carthamus comprend 14 espèces d'annuelles et vivaces herbacées dont le Carthamus caeruleus L.

I.2.Position systématique:

Les Astéracées représentent la plus importante famille de la division des spermatophytes. Elle comprend près de 25 000 espèces connues, groupées en 1500 genres repartis en 17 tribus répandues à travers le monde [11]. D'après APGIII [12], la position taxonomique de Carthamus caeruleus est la suivante:

Tableau I.1. Position taxonomique de Carthamus caeruleus.[12]

Taxonomie	**Description**
Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphites
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Sous famille	Carduoideae
Groupe	Cardueae
Sous-groupe	Centaureinae
Genre	Carthamus
Espèce	Carthamus caeruleus L

Tableau I.2.différentes appellations de Carthamus caeruleus L.

Langues	Noms vernaculaires
Arabe	Khorchof azraq,
Arabe Algérie	Musgousse, Mortgousse, Emar gosgos
Berbère	Arvive'n taga, Immerzezig
Français	Cardoncelle bleue
Anglais	Blue thistle

I.3.Description botanique:

Carthamus caeruleus est une herbe annuelle ou bisannuelle à tige ascendante simple ou très peu rameuse de 0.2m à 0.6m, glabre dressée et velue. La plante possède un rhizome composé d'une racine principale qui évolue horizontalement, et des racines secondaires évoluant verticalement (Figure.1b). La tige mesure environ 30 à 60 cm de long, non ramifiée, et n'ont pas des ailes (Figure.1c). Les feuilles sont glabres ou pubescentes, fortement nervées, à contour ovale ou lancéolé (Figure.1d). La plante est caractérisée par des feuilles inférieures pétiolées et dentées, et des feuilles supérieures sessiles amplexicaules ou dentées-épineuses. Elle possède des capitules bleus violets, gros (3 cm de large sur 3-4 cm de long), solitaires au sommet de la tige et des rameaux, globuleux ou ovoïdes.Les fleurs sont bleues mais quelques variétés donnent des fleurs r violettes. Très mellifère, le carthame est visité par de nombreux insectes (Figure.1e). Le fruit est un akène nettement plus court que l'aigrette, subglobuleux ou obscurément tétragones, glabres et blanchâtres. (Figure 1) (Blamey et Grey-Wilson, 2000).





Figure I.1.différents partie de Carthamus caeruleus L. a: plante entière; b: racine; c : tige ; d: feuille;e: Fleur.

I.4.Distribution géographique

C'est une espèce peu commune que l'on peut rencontrer dans les terrains maigres. Elle préfère les lieux secs et ensoleillés du bassin méditerranéen. Elle est originaire du Sud- Ouest de l'Asie (Mioulane, 2004), elle est répandue dans le reste de l'Asie, en Afrique du nord (Algérie, Maroc, Tunisie, Libye), en Australie, les deux Amériques ainsi qu'en Europe (Grèce, Italie, France, Portugal, Espagne)[13]. En Algérie, elle se trouve dans les régions côtières (Tipaza, Annaba, Bejaia, Boumerdes, Sidi bel- abbés et Bouira ainsi que dans les hauts plateaux Sétif). [14][15]



FigureI.2.Répartition de Carthamus caeruleus L dans le monde.[16]

I.5.Utilisation traditionnel

L'utilisation de Carthamus caeruleus L est répandue en Algérie, les études ethnobotaniques sur Carthamus caeruleus ont montré que la majorité de la population locale (74,98%) utilisent les racines de cette plante pour la guérison des brûlures de divers degrés. [14]. La partie utilisable est le rhizome, sous forme de poudre ou de crème préparée dans l'eau, ou dans le lait. Des rhizomes frais du Carthamus caeruleus.L sont utilisés pour préparer la crème traditionnelle; les rhizomes sont nettoyés, épluchés et couper dans des petits morceaux et bouillis dans l'eau pendant 12 heures.Ils sont refroidis, ensuit filtrés, pour obtenir la crème qui est prêt pour l'utilisation. [14] (Figure 2)



Figure I.3. La crème traditionnelle issue de rhizome de carthamus caeruleus. [14]



Figure I.4. La poudre de rhizome de Carthamus caeruleus L.[14]

I.6.Composition phytochimique des racines de la plante

Le rhizome est particulièrement riche en: amidon (0.23± 0.01g/g de masse humide), stérols (à effet hypocholestérolémiant), saponines, acides gras polyinsaturés et mucilages (ont un pouvoir calmant sur les tissus irrités).[17]

I.7.Propriété pharmacologique

En corrélation avec leur usage traditionnel, deux études ont été menées afin de confirmer les effets pharmacologiques de Carthamus caeruleus L. La première menée en 2010 par [15] et collaborateurs qui ont démontré une forte activité antioxydant ainsi des études faites par [14] indique que les racines de Carthamus caeruleus L active le phénomène de cicatrisation en cas de brulures à différents degrés.

Chapitre II:

les substances actives

II.1 Définition des metabolites secondaires

Le terme « métabolitesecondaire », qui a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphériques indirectement essentielles à la vie des plantes. Telles que la communication intercellulaire, la défense, la régulation des cycles catalytiques (Guillaume, 2008).

Les métabolites secondaires (SM) sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Dont plus de 200.000 structures ont été définies[18] et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique.

II.2 Les polyphénols

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative hétérogène entre les différents tissus. Plus de 8000 structures ont été identifiées [19], allant de simples molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins [20]. Ils sont synthétisés par l'ensemble des végétaux et ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, faible température, carences). Les polyphénols contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume).[21]

II.2.1Biodisponibilité des polyphénols

La biodisponibilité d'un nutriment varie, non seulement en fonction de l'aliment ingéré, mais aussi en fonction des conditions physiologiques propres à l'individu qui consomme l'aliment: l'absorption par les cellules de l'intestin, le transport vers les organes et l'utilisation par l'organisme (Heaney, 2001). Les phytomicronutriments ayant le plus fort « potentiel santé » sont, d'après les connaissances actuelles, les caroténoïdes, les composés phénoliques et les phytostérols (Borel, 2014). Les effets des polyphénols sur la santé sont indissociables de la notion de biodisponibilité, qui intègre un grand nombre de paramètres comme l'absorption

intestinale, l'excrétion des métabolites dans la lumière intestinale, le métabolisme par la microflore, le métabolisme intestinal et hépatique, les propriétés des métabolites circulants (structures, cinétiques d'apparition et d'élimination, liaison à la sérum albumine et autres protéines du plasma), la captation cellulaire, le métabolisme dans les tissus cibles, la sécrétion biliaire et l'excrétion urinaire.[22]

II.2.2Absorption des polyphénols à partir de l'intestin grêle

Les aglycones et les O-β-D-glucosides peuvent être notablement absorbés dans le petit intestin, les premiers par diffusion passive, les seconds selon deux mécanismes : une absorption directe des glucosides via le transporteur de glucose sodium-dépendant, suivie par une hydrolyse des glucosides dans le cytosol par une β-glucosidasecytosolique, ou en impliquant la lactase phloridzine hydrolase, une glucosidase de la bordure en brosse de l'intestin qui catalyse l'hydrolyse extracellulaire des glucosides, suivi par l'absorption de l'aglycone ainsi libéré par diffusion passive.[23]

II.2.3 Conjugaison des polyphénols

L'absorption des polyphénols dépend de leur poids moléculaire. A cause des grandes différences de poids moléculaire et de leur hydrosolubilité, les proanthocyanidines sont faiblement absorbées dans l'intestin grêle et rapidement métabolisés et éliminés[24]. Après hydrolyse, les formes aglycones sont absorbées par les enthérocytes intestinaux où ils seront glucuronidés par l'UDP-GT5 durant leur transfert de l'intestin vers la veine porte hépatique. La même réaction a également lieu dans les cellules hépatiques. La dose ingérée détermine également le site primaire du métabolisme.

Les doses supérieures aux apports journaliers recommandés (de l'orge du mg/ jour) à la dose physiologique sont métabolisées d'abord dans le foie, tandis que les doses physiologiques sont métabolisées d'abord au niveau de la muqueuse intestinale [25]. Ces formes glucuronées sont les plus importantes trouvées dans le foie et dans d'autres organes. Les polyphénols contenant un noyau catéchol (catéchines et quercétine) peuvent être méthylés par la COMT6. Il existe aussi d'autres voies de métabolisation comme la sulfatation par les sulfotransférase 7. Ces processus de conjugaison représentent un processus de détoxification métabolique commun à tous les xénobiotiques, pour faciliter leur élimination biliaire et urinaire en augmentant leur hydrophilie.[25]

II.2.4 Transport et concentration plasmatique des polyphénols

Les métabolites circulants sont liés à des protéines, en particulier à l'albumine. L'affinité des polyphénols pour cette protéine varie en fonction de leur structure chimique. Cette liaison a des conséquences sur la délivrance des métabolites aux cellules et tissus [26]. Une variation de pH induit un changement de conformation de l'albumine, conduisant à la dissociation du complexe. L'absorption cellulaire pourrait être proportionnelle à la concentration de métabolites non liés. Les concentrations plasmatiques atteintes après consommation dépendent de la nature des polyphénols et de la source alimentaire.[27]

II.2.5 Excrétion des polyphénols

Les polyphénols sont principalement éliminés par les urines et la bile. Les métabolites hautement conjugués sont préférentiellement éliminés via la bile tandis que les moins conjugués comme les monosulfatés sont préférentiellement excrétés via l'urine. La quantité totale de métabolites éliminés dans les urines est hautement corrélée à la concentration plasmatique maximale. Le pourcentage d'excrétion urinaire est plus important pour les flavanones des agrumes (4-30% de la consommation) que pour les flavonols (0,3- 1,4%). Pour les catéchines,en retrouve dans les urines : 0,5 à 6% pour le thé [26]. De plus, une faible teneur est retrouvée dans le plasma sanguin 30 min à 1 heure après ingestion.[28]

Cette faible disponibilité peut être due au fait qu'il existe, dans cette sous-classe, un nombre de structures moléculaires élevé et qu'il existe un nombre important de métabolites pouvant être générés.[26]

II.2.6Etude de la toxicité des polyphénols

L'étude de la toxicité concerne des domaines très variés. En effet, l'homme est constamment exposé à la toxicité des médicaments en passant par les végétaux, les animaux, les produits industriels et bien d'autres[29]. Toutes les substances chimiques administrées présentent une certaine toxicité au-delà d'une certaine dose. Ainsi, une drogue possédant des effets pharmacologiques peut être utilisée comme médicament, si la toxicité des doses administrées est négligeable. Les essais de toxicité accompagnent donc les essais d'activités biologiques au cours de la sélection de nouvelles molécules. La toxicité peut être appréciée entre autre par la détermination de la DL50. Elle est dans sa forme la plus simple la dose d'un composé qui

provoque une mortalité de 50% dans une population d'animaux ayant reçus une administration unique d'un produit dans des conditions expérimentales bien définies. Cette détermination est fondée sur l'évaluation des réponses de tout ou rien: mort ou survie des animaux.[30]

II.2.6.1 Toxicité aiguë

La toxicité aiguë peut se définir comme celle qui provoque la mort ou de très graves troubles physiologiques après un court délai suivant l'absorption par voie transtégumentaire, pulmonaire ou buccale, en une fois ou en plusieurs répétitions d'une dose assez importante d'un composé nocif[31]. L'étude de la toxicité aiguë est aussi qualitative et quantitative des phénomènes toxiques qu'il est possible de rencontrer après l'administration de la substance active. Elle décrit les symptômes observés, y compris les phénomènes locaux et permet: l'indication de la dose maximale sans effet toxique (DME), c'est à dire la dose la plus élevée pour laquelle aucun effet toxique n'est relevée par rapport au lot témoin; la notation de la dose minimale pour laquelle la mort survient à tous les animaux de l'expérimentation et la détermination de la DL50. [32]

II.2.6.2Toxicité subaigüe

Dans ce type de toxicité, une proportion significative de la population peut survivre à l'intoxication, bien que tous les individus aient présenté des signes cliniques se produisant
à court terme sur des organes cibles, parfois réversibles et découlant de l'absorption répété du toxique, mais à des dose plus faible que celle de la toxicité aiguë.[33]

II.2.6.3Toxicité à long terme

C'est l'exposition à de très faibles concentrations, parfois même infimes, à des substances dont la répétition d'effets cumulatifs finit par provoquer des troubles beaucoup plus insidieux et irréversibles. Il est à signaler que des troubles de toxicité se manifestent souvent après une longue imprégnation de l'organisme.[34] Des essais de toxicité par administration répitée chez l'animal sont toujours effectués lorsqu'une molécule présente un éventuel intérêt thérapeutique.[35]

II.3Les flavonoïdes:

II.3.1 Définition:

Les flavonoïdes constituent une large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols [36]. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux surtout dérivés du benzo- -pyrone (cycle A et C dans la Figure 4) (Hendrich, 2006). Les flavonoïdes sont des composés phénoliques, très abondants dans la nature, trouvés partout dans les plantes développées et ils ont été identifiés dans toutes les parties de la plante y compris les feuilles, les racines, les tiges, les fleurs, le pollen, le nectar, les graines et l'écorce (Cermak et al., 1998; Tim Cushnie et Lamb, 2005). Ils diffèrent les uns des autres par le degré d insaturation, le mode d hydroxylation ou de méthylation et par le type du sucre attaché, ils peuvent être sous forme aglycone ou hétéroside (Markham, 1982). Les flavonoïdes sont présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles assurant ainsi la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultraviolet. Les formes hétérosides des flavonoïdes s'accumulent dans les vacuoles et dans les cellules épidermiques. [37]

À cause de leur occurrence à beaucoup de plantes mangeables, les flavonoïdes constituent une composante importante dans la majorité des régimes alimentaires quotidiens (Hendrich, 2006). Les sources communes de flavonoïdes sont: les oignons, les pommes, les tomates, le vin rouge (quercetine, rutine), le pamplemousse, le thé noir (kaempferol), les graines de soja (genisteine, daidzeine), le persil, le céleri (apigenin) et le thé (catechins) (Hendrich, 2006). Il y a des flavonoïdes consommés comme des composantes d'aliments, quelques autres sont extraits des plantes immangeables, et appliqués comme des compléments d'aliments, par exemple silibin, qui est extrait du chardon de lait (Fraschini, 2002).

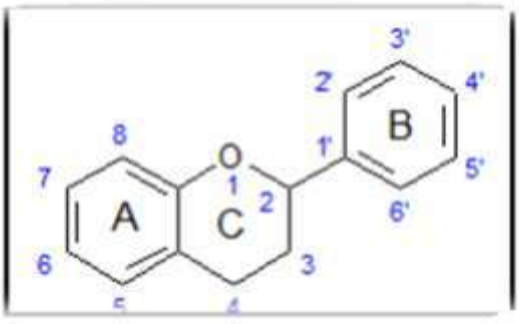
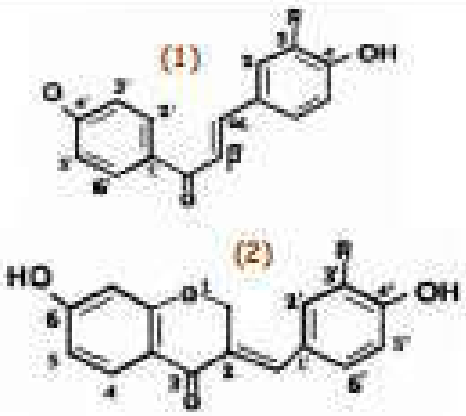
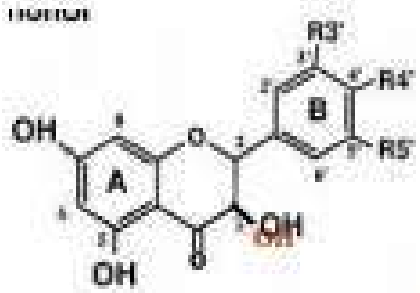
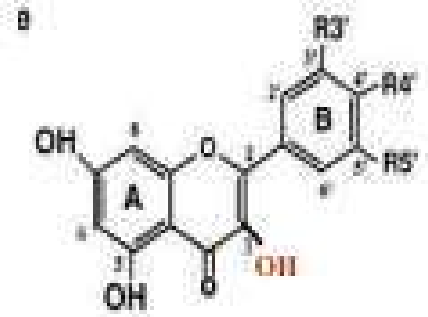


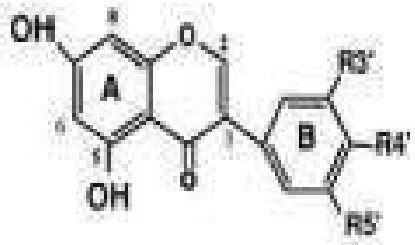
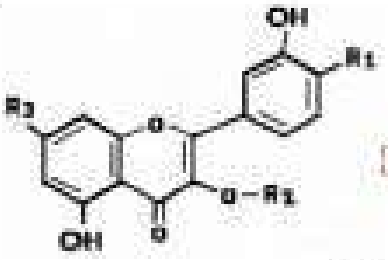
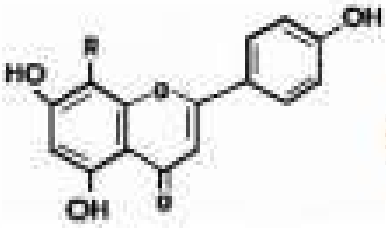
Figure II.1. Structure de base des flavonoïdes. [38]

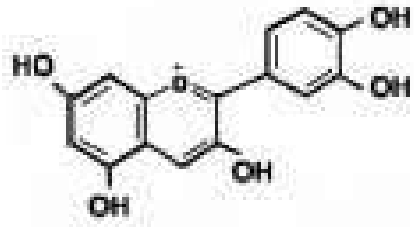
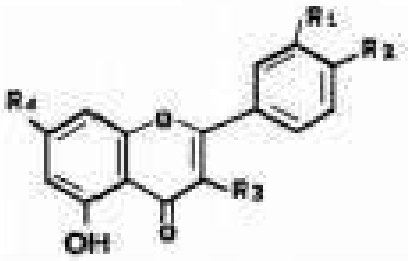
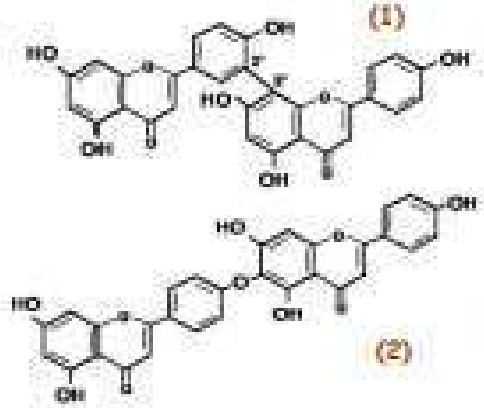
II.3.2Structures chimique et classification

Presque 6500 différentes structures de flavonoïdes ont été décrites chez les plantes [39]. A l'exception des chalcones, ces métabolites secondaires sont toujours tricycliques, leur squelette carboné C6-C3-C6 est caractérisé par la présence de deux cycles benzoïques A et B et d un hétérocycle oxygéné [40] [41]. En tenant compte de la nature chimique de la molécule, et des positions de moitiés substituant des anneaux A, B et C, les flavonoïdes sont divisés en 14 différents groupes[42] [43]. Six des groupes sont particulièrement bien connus et caractérisés : les flavones, isoflavones, flavanones, flavonols, flavanols (catechins) et anthocyanidines (Heim et al., 2002)[43]. Selon la position à laquelle l'anneau B est attaché au benzo- -pyrone le coeur de la molécule, on distingue les flavonoides (cycle B est attaché à la position 2 d'anneau C) et les isoflavonoides (cycle B est attaché à la position d'anneau C).[43]

TableauII.1. Structure des différentes classes de flavonoides.[44]

Classes	Structure chimique	Caractéristiques
Chalcones et **Aurones**		**-Chalcones** (1): présentent un chainon tricarboné cétonique - insaturé **(Markham, 1982).** **Aurones** (2): l hétérocycle comprend deux atomes de carbone. **(Harborne, 1994)**
Flavanones et **Flavanonols**		**-Flavanones et Flavanonols :** caractérisés par l'absence de la double liaison C2-C3 **(Lee *et al.*, 1994).** **Les Flavanonols** différent des **flavanones** par la présence de groupement hydroxyles en C3 **(Pierpoint, 1986).**
Flavones et **flavonols**		- **Flavones et Flavonols :** caractérisés par la présence de la double liaison C2-C3 **(Formica et Regelson, 1995).** **Flavonols** : possèdent en plus un groupement hydroxyle en C3 **(Formica et Regelson, 1995).**

Isoflavonoïdes		- **Isoflavonoïdes :** caractérisés, par un enchaînement en C15, mais qui est ici réarrangé selon un motif 1,2diphényl propanique **(Bruneton, 1993).** - Dérivés par cyclisation des chalcones dans lesquels le noyau B est lié au C3 du noyau C **(Hahlbrock, 1981).**
Hétérosides flavonoïdiques	 (1)  (2)	**-Hétérosides flavonoïdiques** divisés en flavonoïdes-**O**-glycosides et flavonoïdes-**C**-glycosides. **-Flavonoïdes-O-glycosides** (1) : un ou plusieurs groupements hydroxyles sont liés à un ou plusieurs sucres par une liaison acide labile. Le sucre est habituellement un glucose, un galactose ou un rhamnose. **-Flavonoïdes-C-glycosides** (2) : la liaison s'établit entre le C1 du sucre et le C6 ou C8 du flavonoïde.

Anthocyanidines		**- Anthocyanidines** : possèdent un hétérocycle de type benzopyroxonium à oxygène tétravalent. Ils sont responsables de la couleur rouge, bleu et pourpre des fruits.
Flavonoïdes sulfatés	 $R_1=R_2=R_3=R_4=OSO_3$	**- Flavonoïdes sulfatés** : flavonoïdes hydrosolubles, caractérisés par la présence de 1 à 4 résidus sulfates liés aux groupements hydroxyles du phénol ou du sucre (**Varin *et al.*, 1987**).
Biflavonoïdes		**-Biflavonoïdes :** résultent de la condensation de deux flavonoïdes par des liaisons de type carbone-carbone (1) ou de type éther (2). Ils peuvent être résulte ou non de même type (biflavone, biflavanone, flavone- flavanone).

II.3.3Activité biologique des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont une classe de composés ubiquitaires dans les plantes vasculaires et représentent un des plus grands groupes de produits phénoliques naturels. Ils interviennent dans la pigmentation des fleurs, la protection des plantes contre les radiations UV de type B et leur défense contre les herbivores et les attaques microbiennes.[39][45]

De nombreux polyphénols ; les flavonoïdes et d'autres composés phénoliques sont des molécules complexes et ont des actions potentielles multiples, ils sont capables de se fixer sur certaines protéines et enzymes et de modifier les équilibres enzymatiques [46]. En règle générale, les composés phénoliques sont des inhibiteurs enzymatiques [47]; [48] en ont le pouvoir d'inhiber plusieurs enzymes tel que la télomérase, glutamate dehydrogenase, cyclooxygenase, lipoxygenase, xanthine oxidase, la matrice metalloproteinases, cytochrome P450 et les activités d'enzyme sulphotransferase, en affectant des sentiers de transduction de signal et le fait d'interagir en avec sirtuins[49];[50]. De plus, les polyphénols sont capables d'inhiber l'histidine décarboxylase, la PKC, la PLA2, la myéloperoxydase, la NADPH oxydase (NOX) [51] Alors que, certains isoflavones inhibent d'une manière non spécifique la catéchol-Ométhyl transférase, ce qui augmenterait la quantité des catécholamines et donc provoquerait une élévation de la résistance vasculaire [45]. Les flavonoides peuvent aussi interagir avec les systèmes de transport de médicaments cellulaires, rivaliser avec le glucose pour le transport transmembranaire, se mêler du règlement du cycle cellulaire, inhiber la glycosylation protéinique, moduler les activités de la paraoxonase, myeloperoxydase et la thyroïde peroxidase, augmenter la production d'oxyde nitrique endothélial et affecter la fonction de plaquette[52];(Schroeter et al., 2006).

II.3.4Composés phénoliques non flavonoïdes

II.3.4.1Les acides phénoliques

Ils sont les dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type C6-C1. Ils existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucoside et peuvent également être intégrés dans des structures complexes comme certains tanins (Gresele et al., 2011). L'acide gallique et son dimère (l'acidehexahydroxydiphénique). Sont les éléments constitutifs des tanins hydrolysables. D'autres aldéhydes correspondant à ces acides. Comme la vanilline, sont utilisés dans le secteur pharmaceutique [46] ;(Lafay et Gilizquierdo, 2008).

II.3.4.2Les lignanes et lignines

Les lignanes de structure en (C6-C3) désignent quant à eux des molécules qui résultent le plus souvent de l'établissement d'une liaison entre deux C de la chaine latérale de deux acides hydroxycinnamiques (Chira et al., 2008).

II.3.4.3Les coumarines

Les coumarines dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaine latérale. Ils sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2-pyrone, Vogel en 1820 a fait le premier isolement des coumarines, alors que aujourd'hui il y'a près de 1000 composés sont isolés dans plus de 800 espèces de plantes et dans les microorganismes (Jutiviboonsuk et al., 2005).

II.3.4.4Les xanthones

Les xanthones constituent une famille de composés phénoliques généralement isolés dans les plantes supérieurs et dans les microorganismes répondant à une structure de base C6-C1-C6.

II.3.4.5Les stilbènes

Dérivent des acides hydroxycinnamiques et ont la structure C6-C2-C6, donc deux noyaux benzéniques reliés par un pont éthylène. Les stilbènes sont produits par les plantes en réponse à des attaques fongiques, bactériennes ou virales (Chira et al., 2008). Les lignines constituent une classe importante de produits naturels dans le règne végétal et seraient formées par polymérisation oxydative de monolignols qui sont les acides coumarique, conférique et sinapique (Jutiviboonsuk et al, 2005).

II.4 Les lipides[53]

II.4.1 Définition

Les lipides (du grec lipos, graisse) sont caractérisés par une propriété physique : la solubilité. Ce sont des composésà solubilité nulle ou faible dans l'eaumais par contre élevée dans les solvants organiques non polaires (méthanol, chloroforme, cyclohexane, etheréthylique, acétone..).

II.4.2 Les lipides vrais

II.4.2.1 Les acides gras

R-COOHdans le radical R est une chaîne aliphatique de type hydrocarburede longueur variable qui donne à la moléculeson caractère hydrophobe (gras).

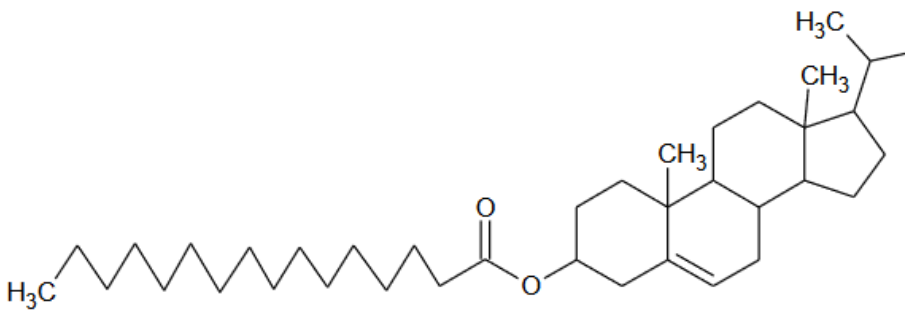
Tableau II.2: les differents acides gras.

Les acidesgrassaturés	CH3 –(CH2)n –COOH, une chaîne hydrocarbonée: plus ou moins longue, fortement apolaire, un groupement carboxyle polaire, Les plus abondants: 16C, 18C.
Les acidesgrasinsaturés	une ou plusieurs doubles liaisons confère des proprieties physique-chimiques particulières, ils sont mono ou polyinsaturés.
Les acidesgrasatypiques	nombre impair de carbones sont présents dans les graisses animales ou dans des lipides microbiens. Subi des substitutions, des cyclisations dans le mondevégétal, microbien ou animal.

II.4.2.2 Les lipides simples (homolipides)

Des corps ternaires (C, H, O), des esters d'acides gras que l'on classe en fonction de l'alcool:

Tableau III.3: les différents lipides simples.

Les acylglycérols	Le glycerol : par estérification avec des acides gras donner des mono esters (mono glycéride), des diester (di glycéride), et des triesters (triglycéride). le di ou triester sont identiques, on parlera de diacylglycérol ou triacylglycérol homogènes, dans le cas contraire de diacylglycérol ou triacylglycérol mixtes. les matières grasses sont des mélanges de nombreuses glycérides (homogènes et mixtes). Les glycéridesmixtesétant les plus abondants.
Les cérides	les principaux constituants des cires animales, végétales et bactériennes des mono esters d'acides gras et d'alcools aliphatiques à longue chaîne (alcools primaires, à nombre pair de carbones, saturés et non ramifies)
Les stérides	estérificationd‟un AG sur la fonction alcool en 3 du cholesterol  palmitate de cholestéryle

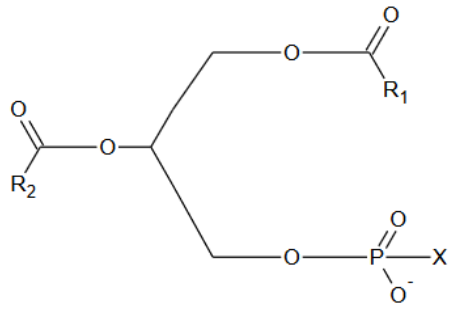
II.4.2.3 Les lipides complexes

Des groupes phosphate, sulfate ou glucidique.Ils sont classés par rapport à la molécule qui fixe les acides gras:

Soit le glycérol qui se distingue des acylglycérols par l'hétéro groupe.

Soit une base sphingoide (dialcool aminé) qui définit les sphingolipides.

Tableau II.4 les différents lipides complexes.

Les glycérophospholipides	construits à partir du squelette d'un mono ester du glycerol.  Glycérophospholipide
Les glycéroglycolipides	Les alcools des carbones C1 et C2 du glycérol sont estérifiés par des acides gras et l'alcool du carbone C3 à la différence des glycérolipides n'est pas estérifié, mais il est lié à un ose par une liaison glycosidique.
Les sphingolipides	Le squelette à partir duquel sont constitués ces lipides n'est pas le glycérol mais une diol amineà chaînelongue carbonée de type sphingoide.

II.4.3 Rôle biologique

Les lipides représentent environ 20 % du poids du corps.

Les membranes ont une structure lipidique.

Ils ont un rôle de précurseurs : stéroïdes, vitamines, prostaglandines.

Ils sont une réserve énergétique mobilisable : 1g lipides → 9 Kcal.

Chapitre III:

les activités

III.3 l'activité antioxydante

III.3.1 Radicaux libres et leurs dommages

L'oxygène est une molécule indispensable aux processus vitaux, à la respiration cellulaire et la vie en général. Cette molécule peut entrainer des dommages cellulaires importants par formation de dérivés oxygénés activés tel que les radicaux libres. Les radicaux libres sont des composés chimiquement instables porteurs d'électrons non appariés et qui réagissent avec d'autres molécules, les déstabilisant à leur tour, et induisent ainsi une réaction en chaîne. Ces composés chimiques sont dits oxydants responsables du phénomène d'oxydation des lipides, dénaturation des protéines, ils peuvent aussi causer des altérations au niveau de l'ADN, augmentant les possibilités de mutation. Le radical hydroxyle ($OH^{\cdot}$) et le radical super oxyde ($O2^{\cdot}$ -) sont les radicaux les plus réactifs.[54]

III.3.2 Le processus d'oxydation

L'oxydation est un processus biochimique par lequel le corps produit des radicaux libres responsables de réactions en chaine d'attaque et de destruction des molécules biologiques. Les mécanismes d'oxydation des composés insaturés sont souvent des réactions radicalaires avec l'oxygène moléculaire et se déroulent en 3 phases:

La phase de déclenchement: où se forme un radical libre. L'arrachement des protons est facilité par la chaleur, rayonnements ou catalyseurs.

La phase de propagation: où l'oxygène fixé donne un radical peroxyde qui réagit avec une autre molécule et conduit à un néo-radical libre et un hydro-peroxyde.

La phase de terminaison: où se recombinent différents radicaux formés.[55]

III.3.2.1 Le stress oxydant

Le stress oxydant représente l'incapacité pour l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces réactives d'oxygène (ERO), en raison de l'existence d'un déséquilibre entre la production de ces substances et la capacité de défense des antioxydants. Les ERO non détoxiquées par le système antioxydant attaquent et endommagent par oxydation les macromolécules contenues dans les cellules notamment les lipides, les protéines et l'AND.[56]



FIGURE III1. Facteurs intervenant dans le stress oxydatif

III.3.3 Pathologies du stress oxydant

Pathologies	Références
Ischémie- reperfusion	(Granger *et al.*, 1981 ; Granger, 1988 ; Talbott *et al.*, 1995 ; Lesgards *et al.*, 2002).
Diabète	(Paolisso *et al.*, 1993; Knoepfel *et al.*, 1994; Lesgards *et al.*, 2002).
Athérosclérose	(Steinberg, 1993; Berliner et Heinecke, 1996; Lesgards *et al.*, 2002).
Maladies intestinales inflammatoires	(Lesgards *et al.*, 2002).
Arthrite	(Mc Cord, 1974 ; Lesgards *et al.*, 2002).
Maladies neurodégénératives Maladie de Parkinson et d'Alzheimer	(Jenner et Olanow,1996 ; Giasson *et al., 2000 ;* Lesgards *et al.*, 2002 ; Zafrilla *et al.*, 2007).
Cancer	(Pincemail *et al.*, 1999 ; Ames et Shigenaga, 1996 ; Lesgards *et al.*, 2002).
Maladies du système immunitaire	(Lesgards *et al.*, 2002).
Allergies	(Picardo *et al.*, 1992; Schmidt *et al.*, 1990; Lesgards *et al.*, 2002).

Activer Win
Accédez aux pa
activer Windows

Tableau III.1: Quelques pathologies du stress oxydant.

III.3.4Les antioxydants

Les antioxydants sont des molécules qui peuvent réduire les radicaux libres [57]par leur transformation en molécules stables et non réactives[56]. Elles sont bénéfiques à la santé en neutralisant les dommages cellulaires causés par les espèces réactives de l'oxygène (radicaux libres).[58]

III.3.4.1 Les sources d'antioxydants

L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces répartis en deux types :

Les antioxydants enzymatiques : synthétisés dans l'organisme.

Les antioxydants non enzymatiques : sont des piégeurs de radicaux libres dont la plus part sont apportés par l'alimentation on cite les antioxydants du règne végétal.[59

Les antioxydants du règne vegetal:

- Les polyphénols.
- Flavonoïdes.
- Tannins: Les tanins sont définis comme des composés phénoliques hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000, ayant la propriété de précipiter la gélatine et d'autres protéines et de se colorer par les sels ferriques (Chung et al., 1998) . Sur le plan chimique, les tanins sont des polyphénols classés en deux catégories : les tanins hydrolysables et les tanins condensés, qui diffèrent par leur structure chimique et leur origine biogénétique (Schofield et al., 2001).

III.3.4.2 Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Plusieurs méthodes sont utilisées pour la détermination de la capacité anti-oxydante on cite: FRAP ,ORAC, TEAC or ABTS , DPPH+ …etc.[60]

Méthode de DPPH

Le composé chimique 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle (α, α-diphenylβpicrylhydrazyle) fût l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité anti-oxydante des composés phénoliques.[61]

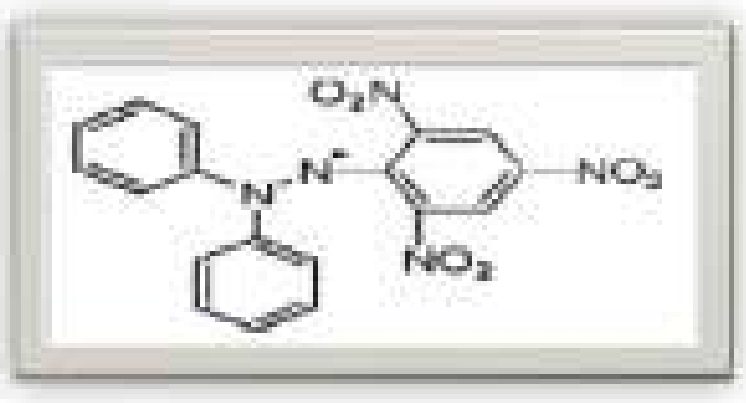


Figure III.2. Structure chimique du radical libre DPPH•.[61]

Principe:

La réduction du radical libre DPPH° par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance provoquée par les antioxydants. En présence des piégeurs de radicaux libres, le DPPH passe d'une coloration violette à une coloration jaune.[62]



Figure III.3. Réaction de test DPPH. [62]

Test de la réduction du fer (FRAP)

Principe:

Le test de FRAP est un essai simple, rapide et reproductible. La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe3+ complexe ferricyanide à la forme ferreux Fe2+. Par conséquent, Fe2+ peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleue dans le milieu réactionnel.[63]



Figure III.4. Schéma sur la réaction de test FRAP (FerricReducingAntioxidant power).[62]

III.4 les antimicrobies

III.4.1 Les infections microbiènnes

La capacité des microorganismes de créer une infection chez l'homme découle de plusieurs facteurs dont la nature du microbe et la réceptivité de l'hôte [64]. La sensibilité des malades peut être due à certainesconditionscomme l'âge et le poids, ainsi que lediabète ou laleucémie, la malnutrition, le stress et même le coma. Elle peut être aussi induiteà des traitements à base d'immunodépresseurs, de stéroïdesou de radiothérapie[65].La nature mais aussi la taille des cellules sont déterminantes pour les risques encourus lors d'une contamination. En règle générale, plus la particule est petite plus le risque est grand car les petites particules, telles les bactéries et les virus qui pénètrent jusqu'aux bronchioles et alvéoles, ne sont pas expulsés facilement lors de l'expiration.

III.4.2 Mécanismes d'action

Les mécanismes d'action des produits antimicrobiens autres que les antibiotiques restent encore généralement peu et mal connus. Les agents chimiques antimicrobiens se classent en deux catégories selon leur effet. Lepremier est létal, c'est à dire qu'il entraîne la mort de l'individu. On le nomme par lesuffixe –CIDE : virucide, bactéricide, fongicide, insecticide. Le second correspond àune inhibition de croissance en présence du produit actif. On le nomme avec le suffixe–STATIQUE : bactériostatique, fongistatique.

M.R.J. Salton en 1968 a décrit cinq étapes dans l'action des agents antimicrobiens[66]:

1-Adsorption sur la cellule suivie de la pénétration dans la paroi.

2-Réactions complexesavec la membrane cytoplasmiqueconduisant à sadésorganisation.

3- Echappement des composants de faible poids moléculaire du cytoplasme.

4- Dégradation des protéines et des acides nucléiques.

5- Lyse de la paroi causée par les enzymes autolytiques.

Le mécanisme d'action des antibiotiques est résumé dans le schéma suivant:

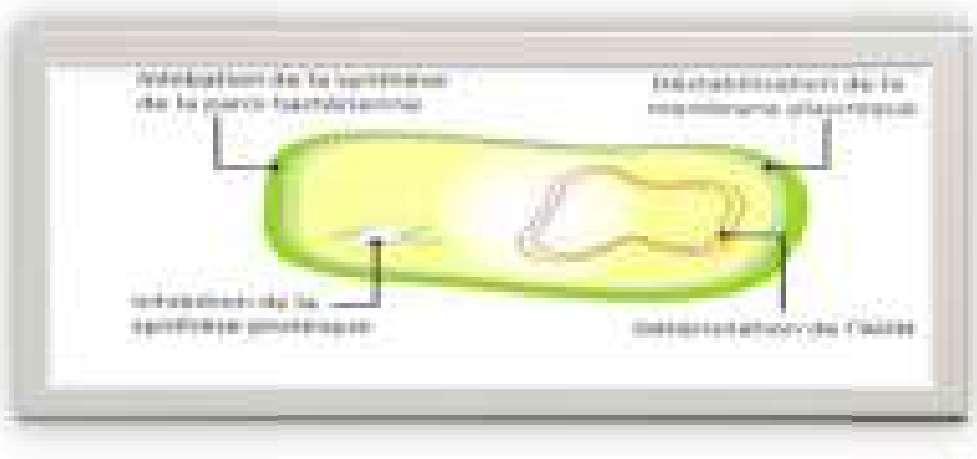


Figure III.5. Mécanismes d'action des antibiotiques[67].

III.4.3 Antibiotiques

Le terme « antibiotique » (issu des termes grecs «anti», signifiant « contre » et bios, « vie »), est toute substance d'origine naturelle produite par un microorganisme (habituellement une bactérie ou une moisissure) capable d'inhiber la croissance ou de détruire d'autres microorganismes.[67]

On les classed'ailleurs selon leur mécanisme de destruction de la cellule bactérienne :[68]

1. Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne.

2. Antibiotiques inhibant la synthèse de la membrane cytoplasmique.

3. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique.

4. Antibiotiques inhibiteurs du métabolisme des acides nucléiques et de lasynthèse de l'ADN.

5. Antibiotiques agissant par inhibition compétitive (exemple d'autresmécanismes).

III.4.4 Les composés phenoliques

Les phénols notamment les acides phénoliques, les quinones, les flavonoïdes, les tanins et les coumarines présentent un effet antimicrobien et servent de mécanisme de défense des plantes contre les micro-organismes pathogènes (Das1 et al., 2009). Leur toxicité relative pour les microorganismes est liée au site (s) et au nombre de groupes hydroxyles du composé phénolique, dont un hydroxylation accru entraine une toxicité importante.[69]

*** Les flavonoïdes**

*** Les tannins**

III.4.5 La résistance bactérienne

Plusieurs souches de grandes familles de bactéries pathogènes sontdevenues résistantes à un ou plusieurs antibiotiques. Parmi2 millions de personnes qui acquièrent des infections bactériennes aux hôpitaux américains chaque année, 70 % de cas impliquent maintenant des souchesqui sont résistantes à au moins un antibiotique.[70]

La résistance est un phénomène naturel qui survient lorsque les bactéries qui produisent des antimicrobiens tentent de se protéger contre ces mêmes antimicrobiens. On a démontré que la résistance bactérienne existait avant même qu'on commence à utiliser les19antimicrobiens en médecine humaine et que cette résistance « intrinsèque » reflète l'adaptation évolutive des bactéries aux toxines naturelles présentes dans l'environnement[71]. La résistance intrinsèque peutexister pour plusieurs raisons encitant:la cible antimicrobienne normale n'est pas présente dans la cellule bactérienne, n'est pas vulnérable à l'antimicrobien ou ne peut être atteinte par l'antimicrobien. La résistance intrinsèque peut aussi résulter de la présence d'enzymes dégradantes naturelles.[71]

Les familles de bactéries ont deux façons de bâtir artificiellementune résistance quand elles sont exposées à un antimicrobien. La première suppose un changement ou une mutation des gènes de la bacteria [72-74], alors que la seconde se manifeste quand les bactéries acquièrent les gènes de résistance présents dans d'autres bactéries[75, 76], ce qu'on qualifie aussi de résistance « extrinsèque ». Les gènes de résistance peuvent se transférer directement entre les membres d'une même espèce ou à partir d'une espèce différente. [73,74] ,[77]

Plusieurs mécanismes de résistance différents ont étédécrits dans les bactéries [78].Ces mécanismes sont l'inhibitionenzymatique, l'imperméabilité de la membrane, lespompes d'efflux,

l'altération du ribosome-cible, l'altérationde précurseurs-cibles de la paroi cellulaire, l'altérationdes enzymes-cibles, la surproduction d'enzymes-cibleset des auxotrophes qui contournent les étapes inhibées.[79]

Les bactéries résistantesauxmulti-droguesles plus importantes sur l'échelle globale incluent des bactéries à Gram-positif (Staphylococcus aureusrésistant au methicillin, enterococciresistantauvancomycin) et les bactéries à Gram-négatif (les membres d'enterobacteriaceae produisant plasmide -négocié prolongeantle spectre de β-lactamase (ESbL)) et d'autres tel que lePseudomonas aeruginosa, la tuberculose de Mycobacterium.[80, 81]

III.4.6 Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne

III.4.6.1 Méthode de diffusion sur discs

A partir de colonies de chaque souche, une suspension bactérienne est réalisée dans l'eau physiologique. La turbidité de cette suspension est ajustée à 0.5 Mc Farland. Un inoculum est alors obtenu, et ensemencé par inondation sur des boites de pétri contenant la gélose Meuller Hinton. Des disques stériles de papier filtre imprégnés de différents extraits sont ensuite délicatement déposés à la surface de la gélose. Les boites de pétri sont incubées à 37°C à l'étuve pendant 24 heure. L'activité antimicrobienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque.[82]

III.4.6.2 Méthode de diffusion en milieu solide

Avec un emporte - pièce des puits sont creusés dans la gélose de Mueller-Hinton coulée dans des boîtes de Pétri et ensemencées par un germe - test. Les diamètres d'inhibition sont mesurés autour des puits après une pré-incubation de 45 mn à température ambiante et une incubation à l'étuve à 37° C pendant 18 heures.[83]

III.4.6.3 Méthode de dilution en milieu liquide

Cette méthode consiste à distribuer dans une série de tubes à hémolyse l'inoculum bactérien contenant des concentrations croissantes de l'antibiotique étudié, sauf un tube qui servira de témoin positif. Une observation à l'œil nu est ensuite réalisée, après une incubation de 24 heures à 37°c. On dit que la culture est positive dans les tubes où le trouble est nettement visible. La CMI est indiquée par le tube qui contient la plus faible concentration d'antibiotique où aucune croissance n'est visible.[84, 85]

Partie expérimentale

Chapitre IV:

Partie expérimentale

Les expérimentations entreprises dans ce mémoire se sont déroulées au niveau DU Hall de Technologie (laboratoire de chimie)de l'université Yahia Feres de Médéa durant la période allant du mois de Février audébut du mois de Mars.

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel végétal

Dans cette étude, les échantillons du matériel végétal utilisé ont été récoltés au mois de février 2020 dans la region de Bordj Bounaama (de la wilaya de TISSEMSILT).



Figure IV.1. Localisation de la commune Bordj Bounaama dans la wilaya de TISSEMSILT.

Les organes de cette plante ont été récoltés au printemps, en Février 2020. Ils sont ensuite nettoyés à l'eau et laissés sécher à l'obscurité pendant 2 semaines, dans sec un endroit et aéré.

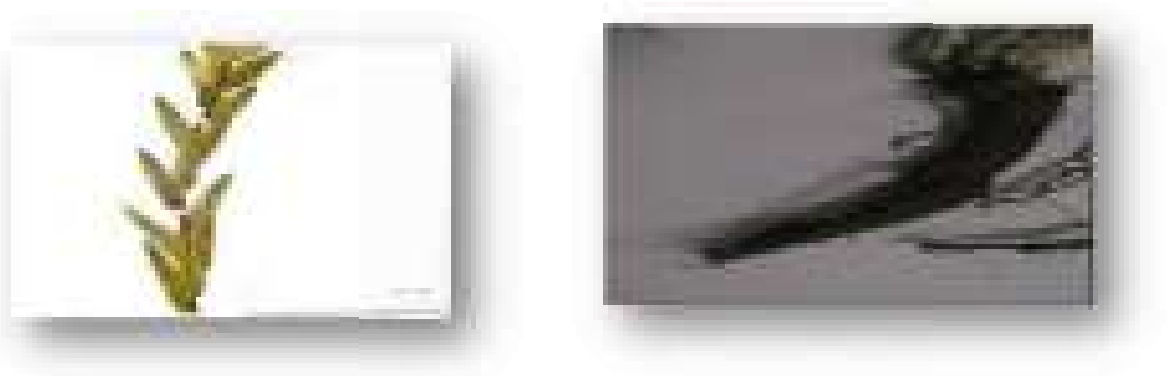


Figure IV.2: l'organe sèche des racines de Carthamus caeruleus.

Le matériel végétal, une fois séché est réduit en poudre dans un mixeur, puis stocké dans des bocaux en verre à l'abri de la lumière.

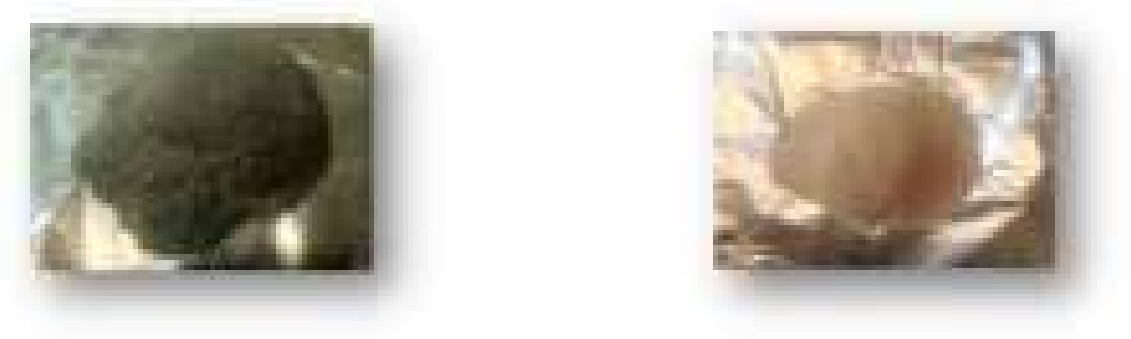


Figure IV.3: Poudre des raciness et feuilles de Carthamus caeruleus.

I.1.2. Matériel non biologique

• Réactifs chimiques

Tous les produits chimiques utilisés dans cette étude sont de qualités analytiques et ils sont les suivants: méthanol a 95%, éthanol, eau distillée, l'acétate d'éthyle, butanol, éther de petrol.

• Equipements et matériel du laboratoire

Les principaux équipements et matériaux du laboratoire utilisés dans ce travail sont listés ci-dessous:

• Rota vapeur.

• Ballons pour le rota-vapeur.

• L'étuves.

• Réfrigérateur.

• Balance de précision.

• Broyeur.

• Agitateur.

• Soxhlet.

• Source de chaleur : plaque chauffante.

• Papier filtre.

• Papier aluminium.

• Verrerie et autres petits matériels: flacons, pots en plastique, béchers, fioles, erlenmeyers, éprouvettes entonnoirs en verre, bouteilles propres, spatule en inox, bain marie thermometer, l'ampoule à d'écanter.

I.2. Préparation de l'extrait des racines et des feuilles

L'extraction a été réalisée par macération à:

1/ À Chaud:

- 5 g de la poudre ont été extraits avec 50 ml d'un mélange hydro-alcoolique (méthanol pur eau) (éthanol 95°-eau) (7:3; v/v), et placés sous agitation mécanique à 80°C pendant 30 min. Le mélange est laissé ensuite à macérer durant 24 heures au réfrigérateur puis filtré sur papier filtre. La macération est renouvelée deux fois sur le résidu récupéré avec renouvellement du solvant et par la suite les 03 extrait sont réunis (l'extrait hydro-alcoolique brut).



Figure IV.4: l'extrait hydroalcoolique (méthanolique,éthanolique).

- A la fin de l'extraction,L'extrait hydro-alcoolique ont été concentrés à sec sous pression réduite 40°C à l'étuve. Après concentration,ces extraits sont peséS pour déterminer son rendement.
- Ajouté l'eau distillée bouillante (2 ml) sur Le résidu sec de couleur marron qui solubilise proportionnellement les flavonoïdes.Les extraits réalisés sont ensuite stockés et décanter

dans le refrigérateur, à l'abri de la lumière pendant 24h.Puiséliminer les substances non soluble (impuretés), par filtration sur papier filtre.

- Les solutions aqueuses ainsi obtenue, sont soumise à une extraction liquide- liquide avec:

Dessolvantsorganiquessuivants:

- Une extraction à l'éther de pétrole (2x50ml) qui permet d'entraîner les graisses ainsi que la chlorophylle.
- L'acétate d'éthyle (10ml) puis le butanol (10ml). Cette extraction est réalisée pendant 20 minutes et l'opération est répétée trois fois.les 03 phase organique sont reunies et évaporer à sec sous pression réduite à 45°. La phase aqueuse est également concentrée. Afinpesées les trios fraction et reprise dans un volume minimal de 02 ml de méthanol et conservée à 4°C.

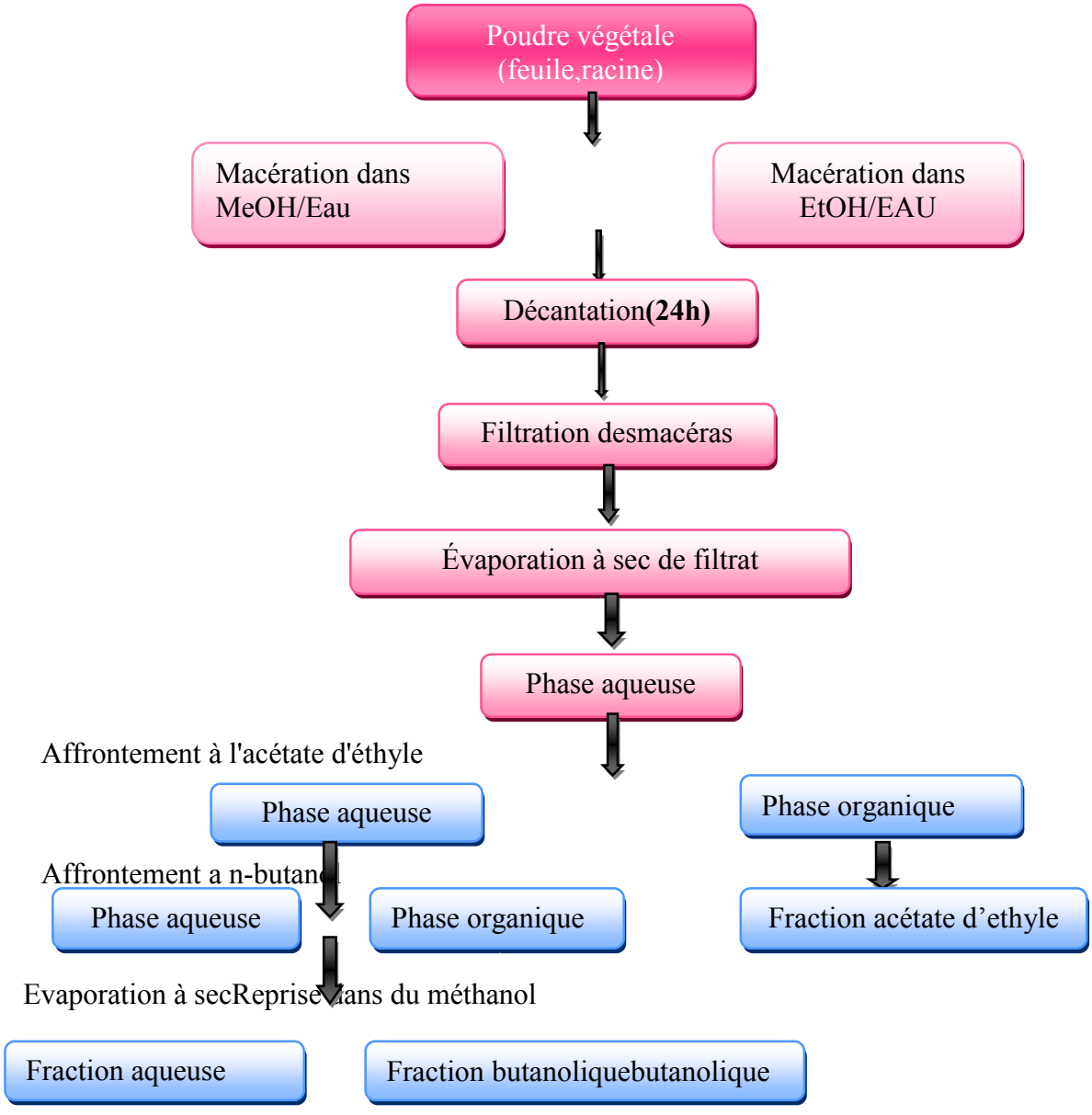


Figure IV.5. Schéma d'extraction des racines de carthamus caeruleus.

2/ À Froid:le mème protocole precedent à temperatureambiante, pour comparer le rendement et la composition des extraits.

I.3. Extraction des lipides par soxhlet:l'extraction de la matiéregrasse à l'aide d'un solvant organique dans un montage de type soxhlet. [86]

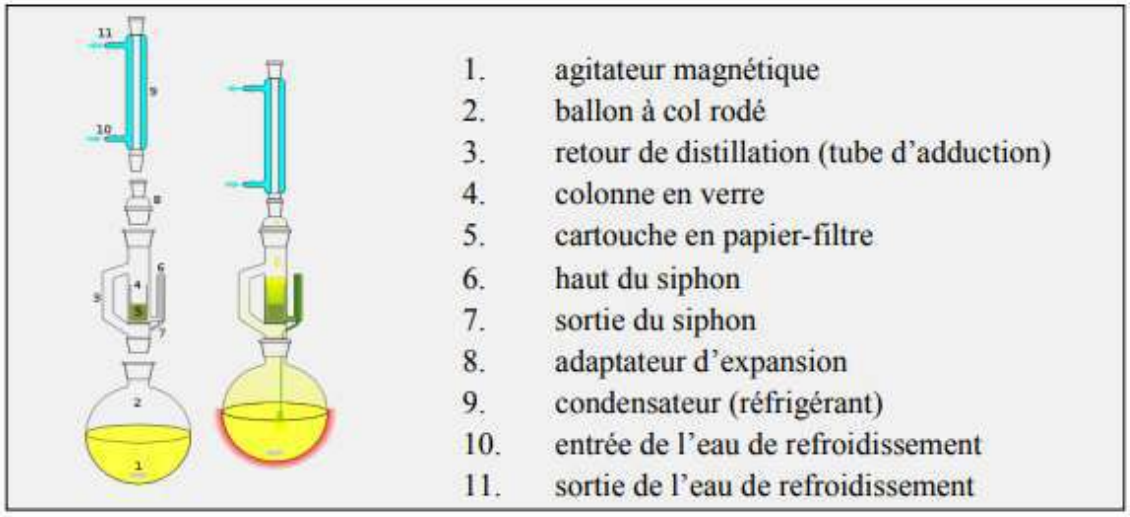


Figure IV.6: Montage d'un extracteur de soxhlet.

- **En appliquant le protocole suivant:** Introduire dans un siphon une cartouche de papier épais et poreux dans laquelle sont mis 60g de poudre végétale(racine) , 600ml d'hexane dans le ballon puis porter à l'ébullition à 80° et condensé avec le condenseur ; lorsque le contacte entre le solvant et le produit atteint un certain niveau il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute.puis la separation du solvant de l'extrait est faite à l'aide d'un évaporateur rotatif.
- Enfin la matière grasse présente dans le résidu sous forme d'un extrait huileux.

1.4. Rendement de l'extrait

Par la formule suivante:

$$R\ (\%) = (M\ ext/M\ éch) \times 100 \quad \textbf{(IV.1)}$$

R est le rendement en %.

M ext est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg.

M éch est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

Tableau IV.1.les rendements des extraits de feuille et de racines

L'extrait	Figure	Le rendement
Les raciness		A chaut: hydro-méthanolique: 24.3% hydro- éthanolique: 23.5% a froid:
Les feuilles	Non réalisé	

I.5. Détermination des constantes physico chimiques

La densité

C'est une grandeur physique qui correspond au rapport entre la masse d'un certain volume de cette substance à 20°C à la masse d'un volume égal d'eau à la même température. On la mesure à l'aide d'une balance analytique. Elle permet le contrôle de la pureté de l'huile extraite. Sa mesure a été effectuée à l'aide d'un bécher sec et propre.

$$\mathbf{d} = \frac{\boldsymbol{\rho}\mathbf{huile}}{\boldsymbol{\rho}\mathbf{eau}} \quad \textbf{(IV.2)}$$

Avec:

- $\boldsymbol{\rho}\mathbf{eau} = \frac{m_e}{V_e}$ et $\boldsymbol{\rho}\mathbf{huile} = \frac{m}{V}$ **(IV.3)**
- **me :** Masse de l'eau; **Ve :** Volume d'eau ; $\boldsymbol{\rho}$**eau :** Masse volumique de l'eau
- **mh:** Masse de l'huile; **Vh**: Volume d'huile ; $\boldsymbol{\rho}$**huile :** Masse volumique de l'huile.**[87].**

Indice d'acide

Les acides gras libres sont des produits de dégradation, constituants majoritaires de l'huile [86]. Plus cet indice est élevé, plus le taux d'acides libres est important qui contribue à lui donner une forte stabilité face à l'oxydation.

L'indice d'acide est la masse de potasse, exprimée en mg, nécessaire pour neutraliser l'acidité libre contenue dans un gramme de corps gras.

- **En appliquant le protocole suivant:** une masse de 0.4g d'HE a été introduite dans un Erlenmeyer avec 40 ml d'éthanol (96%), 40 ml de cyclohexane et2 gouttes de phénolphtaléine ont été successivement verses,la solution a été agitée avec un agitateur magnétique jusqu'à dissolution, Ensuite, elle a été dosée avec une solution de potassealcoolique à 0.01 M jusqu'à l'apparition d'une coloration rose persistante.

Le calcul de la valeur de l'indice d'acide est comme suit:

$$\mathbf{I_A = (m_b / m_h)} \quad \textbf{(IV.4)}$$

avec: $\mathbf{m_b = CVME_q}$

Tel que :

- **mh :** masse de l'huile ; **mb :** masse du potasse ; **C :** concentration du KOH ;
- **V :** volume de KOH au point équivalent ; **M :** masse molaire du KOH.[87]

Indice de saponification

Il correspond à la masse de potasse en mg nécessaire pour neutraliser les acides gras libres et pour saponifier les acides gras combinés dans un gramme de corps gras.[87]

- **En appliquant le protocole suivant:** corps gras étant insolubles dans l'eau alors il faut les dissoudre dans un solvant organique approprié (200 mg d'HE et 20 ml d'un solvant composé par 10 ml d'éthanol et 10 ml de cyclohexane, puis Agiter) par la suite 10 ml de cette solution a été introduite avec 25ml de potasse alcoolique de concentration (0.5 M).aprés le bécher a été mis dans au bain marie bouillantpendant 45 à 60 minutes. 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine ont été ajoutées au bécher puis doser la solution par l'acide chlorhydrique à une concentration de 0.025 M en agitant jusqu'à ladisparition de la coloration de la phénolphtaléine.

- Effectuer dans les memes conditions un essai à blanc.[87]

$$I_{□} = \frac{(VT - VE) \times CHCl \times MKOH}{mh} \text{(IV.5)}$$

Tel que:

- **VT**: volume à blanc **; VE :** volume de l'échantillon **; CHCl :** concentration d' HCl.
- **MKOH:** masse molaire du KOH ; **mh :** masse de l'huile.

Indice d'estérification

IL correspond à la quantité en mg de KOH nécessaire pour saponifier 1g d'huile dépourvue d'acide gras. Il est calculé par la formule suivante:[87]

$$I_E = IS - I_A \quad \text{(IV.6)}$$

Avec :

- **IE:** indice d'estérification; **IS:** indice de saponification; **IA:** indice d'acide.

Indice de refraction

La mesure de l'indice de réfraction des huiles essentielles a été effectuée à l'aide d'un réfractomètrepar lecture directe.

- En appliquant le protocole suivant:premièrementnettoyer le refractomètre et le diriger vers la lumière, 2 ou 3 gouttes d'huile essentielle ont été placées au milieu du prisme. En regardant dans l'oculaire, le réglage a été ajusté en tournant les boutons de réglage de l'indice de réfraction pour amener les zones sombres et éclairées au centre du réticule. Et enfin la valeur de l'indice de réfraction a été prise par lecture directe.

I.6. Analyse quantitatives

I.6.1. Dosage des polyphénols totaux

Par la méthode de Folin-Ciocalteu les polyphénols ont été déterminés spectrophotométriquement.

- **Le principe:** la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait**[88]** en utilisant le réactif de FolinCiocalteu qui est un acide de couleur jaune, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et

d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). IL est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène.enfunction la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux la coloration produite, dont l'absorption maximum à 765 nmà l'aide d'un spectrophotomètre à UV visible à double faisceaux de type (Cintra 303) qui base sur l'élimination de l'absorbance du blanc et donner directement la densité optique de l'échantillon.[89]

- **La méthode:**on met dans un tube à essai 200 µl d'extrait avec les dilutions convenables et 1 ml du réactif de Folin (10 fois dilué) tournent autour d'un axe instantané(vortex) pendant 4 min puis ajouter 800 µl de la solution de Na¤Co¤ à 7.5% laisser 30min anfin Mesure l'Abs à l'aide d'un spectrophotomètre à 765nm.

  Les analyses quantitatives des phénols totaux, ont été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant l'acide gallique comme standard.

I.7. Les activités biologiquesdes extraits des racines et feuilles Carthamus caeruleus L

I.7.1 L'activité anitoxydante

Méthode de réduction du radical libre DPPH

La technique du DPPH est une technique spectophotométriepour évalué l'activité anti radicalaire des extraits, qui est un test simple et rapide.

Le principe: de cette méthode est basé sur la mesure du piégeage des radicaux libres de DPPH (1,1-Diphényle-2-picrylhydrazyl de couleur violette) qui absorbe la lumière à 517nm, l'absorbance diminue et la couleur disparue progressivement en fonction avec la réduction de DPPH par ces antioxydants.

Protocol:

- **Préparation de la solution de DPPH:** en mettant 3mg de DPPH dans 100 ml d'éthanol.
- **Préparation de solution à tester à différentes concentration:**Un volume de 50µl de chacune des solutions éthanoliques des extraits testées (racines, feuilles) à différentes concentrations aété ajouté à 1,95 ml de la solution éthanolique du DPPH.pour le témoin négatif, en mélangeant 50 µl d'éthanol avec 1,95 ml d'une solution éthanolique de DPPH.

Après incubation àl'obscurité pendant 30 min et à température ambiante la lecture des absorbances a été effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Le pourcentage de l'activité antioxydante (**AA%):**

$$\mathbf{AA\%} = \frac{\boldsymbol{AbsSC - AbsEssai}}{\boldsymbol{AbsSC}} \times \mathbf{100(IV.7)}$$

Tel que:

- **AA:**l'activitéantioxydant.
- **Abs:** absorbance à longueur d'onde de 517nm. [87]

Calcul des IC50:

Pour chaque extrait ou standard de référence, une courbe de régression linéaire (y = ax+b) est établie afin de calculer l'IC50 qui permettra la caractérisation du pouvoir antioxydant des extraits.L'IC50 étant la concentration de l'extrait ou du standard qui permet la réduction de 50% de DPPH.Une faible valeur de l'IC50 indique une forte activité antioxydant.[90]

I.7.2 Activité antibacteriennes

L'activité antibactérienne a été évaluée par la méthode des disques de diffusion sur différentes souches bactériennes.le but l'étude qualitative de l'effet antimicrobien des organs de la plante, et comparaison entre son effet antibactérien et celui des autres antibiotiques fournis par l'entreprise de fabrication des produits pharmaceutiques SAIDAL(Médéa), la solution injectable de l'antibiotique Gentamine (GENT) et Amoxicilline(AMOXY).

Principe:des disques absorbants stériles émergés dans l'échantillon à tester, sont distribuer dans des boites pétries contenant un milieu de culture mélange une quantité degermes, Après l'incubation pendant 16 à 24 heures, la lecture des résultats est faite par mesure des diamètres des zones d'inhibition obtenus pour chaque souche.

Protocole:

- **Les souches du test:** Les souches utilisées dans le test de l'activité antibactérienne sont représenté dans le tableau suivant :

Tableau IV.2. Les souches utilisées dans le test de l'activité antibactérienne.

Souche	**Code**	**Genre**	**Coloration de gram**	**Milieu de culture**
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 9027	Bactérie	-	CAB
Candidasalbicans	ATCC 10231	Levure		SAB
Eschirichia coli	ATCC 8739	Bactérie	-	SA
Bacillus subtilis	ATCC 6633	Bactérie	+	SA
Salmonella typhimuium	ATCC 14028	Bactérie	-	SA
Staphylococcus epidermidis	ATCC 12228	Bactérie	+	SA
Staphylococcus aureus	ATCC 6538	Bactérie	+	SA
Saccharomyces cerevisaie	ATCC 9763	levure		SAB

- **Préparation des milieux de culture:**

  Introduitre dans 1 L d'eau distillée 40 g de poudre de la gélose puis posé sur une source de chaleur jusqu'à bouillir. Par suite la solution a été coulée dans des flacons stériles, puis ces derniers ont été déposés dans un stérilisateur pendant 1 heure et demi.

- **Application du test:**
  - Dans des boites de pétri tout près d'une flame couler 1 ml de la suspension bacteria.Ajouter une quantité de gélose nutritive (11ml) puis agiter jusqu'à que le mélange devient homogène. les disques (quatre disques par boite), imprégnés d'extrait végétal, sur la Laisser les boites entrouvertes devant la flamme jusqu'à complète solidification et s'assurer que la surface de la gélose est bien séchée puis déposer à l'aide d'une pince stérile surface de la gélose et placer les boites à l'étuve, à la température

optimale de croissance du germe à étudier (35°C) pendent 16 à 24 h par la suite les boites doivent être placées couvercle en bas.

- Après l'incubationl, la lecture des résultats est faite par mesure des diamètres des zones d'inhibition (la zone clair autour du disque) obtenus pour chaque souche EN (MM).plus le diamètre de la zone est grand plus la souche est résistante à reproduction de bactéries.

- **Détermination de la concentration minimale d'Inhibition (CMI)**
  - La CMI d'un extrait vis-à-vis d'une souche donnée correspond à la plus petite des concentrations ne montrant aucune croissance visible de germe.
  - Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et les Concentrations MinimalesBactéricides (CMB) sont déterminées en utilisant la technique de micro-dilution avec le bouillon Muller Hinton (NCCLS, 2000). Les CMI des extraits des deux plantes étudiées, sont déterminées selon le protocole suivant :
  - Une gamme de concentrations est préparée avec des dilutions (de gradient 2) à partir de chaque extrait. 25 µl des dilutions sont distribués dans les puits 1 à 10 de la microplaque. Les puits 11 et 12 représentent respectivement le témoin de culture des bactéries et le témoin de stérilité du milieu de culture MH.
  - L'inoculum bactérien est préparé dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à partir de cultures pures de 24 heures. La densité de la suspension, mesure effectuée sur densitomètre, est ajustée à 0.5 Mac Farland (10^8CFU/ml). Les cupules de la microplaque sont inoculées avec de 5 µl de la suspension bactérienne (diluée au 1/10ème), à l'exception de la12ème colonne sert de témoin négatif.
  - 70 µl de milieu Muller Hinton sont répartis dans les 96 puits de la microplaque. Lesinoculum sont de 5.10^5UFC/ml. Les plaques sont incubées ensuite à 37 °C pendant 24 heures.
  -

    Après incubation, une éventuelle croissance est révélée par la présence d'un trouble au fond de la cupule. La CMI est définie comme la concentration minimale d'extrait pour laquelle on n'observe pas de croissance visible à l'oeil nu.

I.8 CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE(CLHP)

D'une manière générale la CLHP, qui fait intervenir une phase stationnaire solide constituée de particules fines et une phase mobile liquide, demeure la technique le plus souvent utilisée

car elle présente de nombreux avantages tels que sa simplicité de mise en œuvre, sa reproductibilité, une gamme étendue de phases stationnaires commercialement disponibles permettant de moduler les interactions avec le soluté, et ses diverses possibilités de couplages avec d'autres techniques chromatographiques et/ou des systèmes de détection.

Une étude chromatographique analytique par HPLC a été réalisée sur les extraits

en utilisant une colonne éluée par un système (eau / l'acide formique/ acétonitrile) à diverses proportions.

Débit 0.6ml min-1 et la température de la colonne était de 35°C. le volume d'injection était de 10ul.

Pour l'analyse des échantillons, les éxtraits bruts séchés ont été dissous dans leu méthanol à la température de la chambre. Les échantillons ont été filtrés en passant àtravers un PTFE (0.45 um) par un injecteur pour éliminer les particules.

Conclusion

Conclusion

La flore algérienne jouie d'une biodiversité considérable, elle possède de nombreuses plantes aromatiques et médicinales riches en métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques.

Les plantes médicinales constituent une importante composante de la médecine traditionnelle largement utilisées depuis des milliers d'années à travers le monde; plusieurs plantes sont utilisées seules ou en association avec d'autres plantes pour le traitement divers maladies.

A coté des substances médicamenteuses, les différentes plantes médicinales sont à l'origine de synthèse de molécules bioactives, capables d'exercer un effet équivalent à celui des médicaments et ce grâce à la nature chimique de ces constituants majoritaires.

De nombreux chercheurs ont été intéressés par les composés biologiquement actifs isolés des extraits de plantes. Cette matière végétale contient un grand nombre de métabolites secondaires, qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie, en alimentation, en cosmétologie et en dermopharmacie, ces composés sont réparties en trois classe, les polyphénoles, les alcaloïdes et les terpenoïdes, sont actuellement utilisés comme des médicaments ou des suppléments alimentaires pour guérir ou prévenir diverses maladies.

- Orienter les recherches scientifiques vers la réalisation des études approfondies et complémentaires des activités antioxydante, antibactérienne, anti-inflammatoire, à base de métabolites secondaires végétaux.

En perspectives, des études à l'échelle moléculaire sont nécessaires pour déterminer, d'une part les composés des racines de carthamus carueulus(notamment ce qui concerne l'identification et la purification des composés phénoliques) qui peuvent être responsables de tels effets et d'autre part, le mécanisme absolu par lequel ces composés accomplissent leurs effets antioxydants.

Notre choix pour cette espèce est justifié par l'abondance de cette espèce dans la région de Boumerdes, Bouira et Tizi-Ouzou, Tissemsilt et leur usage comme plante cicatrisante en médicine traditionnelle par les populations locales.

Dans cette étude l'extrait méthanolique de Carthamus caeruleus L a été obtenu par macération méthanolique et l'extrait éthanolique a été obtenu par macerationéthanolique. En effet notre

plante à montrer une forte concentration en composés phénoliques 5g avec un rendement de 24.3% et 23.5%.

Références bibliographique :

[01] Ouyessad, M., 2008. Contribution à l'étude des plantes médicinales en Kabylie (région d'Ait Ouabane). Université Mouloud Mammeri de TiziOuzou. 82p

[02] OMS. (2003). Medecine traditionnelle.

[03] Oh, Y., Kang, O., Kim, S., Mun, S., Park, C., Kim, Y., Kim, Y., Lee, Y., Han, S., Keum, J., 2012. Antiinflammatory effect of sinomenine by inhibition of pro-inflammatory mediators in PMA plus A23187- stimulated HMC-1 Cells. Eur Rev Med PharmacolSci 16, 1184-1191.

[04] Carleton, B.C., Smith, M.A., 2006. Drug safety: Side effects and mistakes or adverse reactions and deadly errors, British Columbia Medical Journal 48, 329.

[05] Bowles, V.G., Mayerhofer, R., Davis, C., Good, A.G., Hall, J.C., 2010. A phylogenetic investigation of Carthamus combining sequence and microsatellite data. Plant systematics and evolution 287, 85-97.

[06] Meratate, F., 2016. Determination structurale et evaluation biologique des substances naturelles bioactives. Université de m'sila.

[07] Saffidine, K., 2018. Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de carthamus caeruleus L. et de plantago major L.

[08] Freire Fierro, A., 2004. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition Clinique et Métabolisme.

[09] Crete, 1965 Précis de botanique-Systématique des angiospermes. Paris, Masson, 1965, tome 2, 182-18.

[10] Jeffrey, 2007. Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires.

[11] Guignard, J.-L., 1994. Botany. Paris (France), Masson, 1994.

[12] Group, A.P., 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. Botanical Journal of the Linnean Society 161, 105-121.

[13] Boullard, 2001Physiologievégétale. De BoeckSupérieur

[14] Benhamou A., Fazouane F., 2013. technologie alimentaire université m'hmed BOUGARA

[15] Baghiani.et al., 2010. Les composés phénoliques des végétaux

[16] Boumerfeg S, (2014). Antioxidative properties of Tamuscommunis L and jugaiva L. extracts. These de Doctorat. Université Abbes FrerhatSetif.

[17] Baghiani, A., Boumerfeg, S., Belkhiri F., Khennouf S., Charef N., Harzallah, D., Arrar, L., &Mosaad A.-W. (2009). Antioxidant and radical scavenging properties of Carthamus caeruleus L. extracts grow wild in Algeria flora. Comunicata Scientiae revista. 1(2) : 128-136

[18] Hartmann, T. (2007). From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. Phytochemistry. p68, 2831–2846.

[19] Waksmundzka-Hajnos, M., Sherma, J., 2010. High performance liquid chromatography in phytochemical analysis. CRC press.

[20] Dai, J., Mumper, R.J., 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules 15, 7313-7352.

[21] Bruneton, J., 1993. Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. Technique et Documentation Lavoisier

[22] Zhong, S., Sandhu, A., Edirisinghe, I., Freeman, B.B., 2017. Characterization of Wild Blueberry Polyphenols Bioavailability and Kinetic Profile over 24-hour Period in Human Subjects. The FASEB Journal 31, 148.145-148.145.

[23] Almeida, A.F., Borge, G.I.A., Piskula, M., Tudose, A., Tudoreanu, L., Valentová, K., Williamson, G., Santos, C.N., 2018. Bioavailability of Quercetin in Humans with a Focus on Interindividual Variation. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 17, 714-731.

[24] Dangles, O., Dufour, C., Tonnelé, C., Trouillas, P., 2017. The Physical Chemistry of Polyphenols: Insights into the Activity of Polyphenols in Humans at the Molecular Level. Recent Advances in Polyphenol Research, 1-35.

[25] Goszcz, K., Duthie, G.G., Stewart, D., Leslie, S.J., Megson, I.L., 2017. Bioactive polyphenols and cardiovascular disease: chemical antagonists, pharmacological agents or xenobiotics that drive an adaptive response? British Journal of Pharmacology 174, 1209-1225.

[26] D Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., Masella, R., 2007. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. Annali-IstitutoSuperiore di Sanita 43, 348.

[27] Passon, M., Bühlmeier, J., Zimmermann, B.F., Stratmann, A., Latz, S., Stehle, P., Galensa, R., 2018.

[28] Bohn, T., 2014. Dietary factors affecting polyphenol bioavailability. Nutrition reviews 72, 429-452

[29] Scalbert, A., Morand, C., Manach, C., Rémésy, C., 2002. Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. Biomedicine & Pharmacotherapy 56, 276-282.

[30] Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L., 2005. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. Critical reviews in food science and nutrition 45, 287-306.

[31] Miralles-Cuevas, S., Oller, I., Agüera, A., Llorca, M., Pérez, J.S., Malato, S., 2017. Combination of nanofiltration and ozonation for the remediation of real municipal wastewater effluents: acute and chronic toxicity assessment. Journal of hazardous materials 323, 442-451

[32] Lorke, D., 1983. A new approach to practical acute toxicity testing. Archives of toxicology 54, 275- 287

[33] Cimanga, K., Lubiba, N., Makila Bool-Miting, F., Tona, L., Kambu, K., Vlietinck, A., Pieters, L., 2018a. Biological activities of arredouljaune, a phytomedicine based ethanol extract from fresh roots of Pentadiplandrabrazzeanabaill.(Pentadiplandaceae) used as an antidiarrhoeal drug in KisanganiDemocratic Republic of Congo. European journal of biomedical and pharmaceutical sciences 5, 130- 139.

[34] Ali, M.R., Rahman, M.A., Wu, Y., Han, T., Peng, X., Mackey, M.A., Wang, D., Shin, H.J., Chen, Z.G., Xiao, H., 2017. Efficacy, long-term toxicity, and mechanistic studies of gold nanorodsphotothermal therapy of cancer in xenograft mice. Proceedings of the National Academy of Sciences, 201619302.

[35] Deng, J., Qu, Y., Liu, T., Jing, B., Zhang, X., Chen, Z., Luo, Y., Zhao, W., Lu, Y., Lin, B., 2018. Recent organ-on-a-chip advances toward drug toxicity testing. Microphysiological Systems 2.

[36] Bruneton, J., 1999. Toxic plants dangerous to humans and animals. Intercept Limited

[37] Bruneton, J., 1993. Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. Technique et Documentation Lavoisier.

[38] Dacosta, E. (2003).Lesphytonutrimentsbioactifs.YvesDacosta (Ed). Paris, 317 p.

[39] Harborne, J.B., Williams, C. A., 2000. Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry. 55: 481–504.

[40] Hahlbrock, K., 1981. Flavonoids. In: “The biochemistry of plants”. Academic Press, Inc (London). 7 (Chap 14): 425– 455

[41] Markham, K.R., 1982. Techniques of flavonoid identification. Academic Press (London) Chap 1 et 2: 1–113

[42] Havsteen, B. H., 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. PharmacolTher. 96: 67– 202.

[43] Hendrich, B. A., 2006. Flavonoid-membrane interactions: possible consequences for biological effects of some polyphenolic compounds. ActaPharmacologicaSinica. 27(1): 27– 40.

[44] Gamet, Payrastre L., Manenti S., Gratacap MP., Tulliez J., Chap H., Payrastre B., 1999. Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-kinase. General Pharmacology. 32. 279–286.

[45] Waridel, P., 2003. Investigation phytochimique des plantes aquatiques Potamogetonpectinatus L., P. lucens L., P. perfoliatus L. et P. crispus L. (Potamogetonaceae). Thèse de doctorat présentée à la Faculté des Sciences de l’Université de Lausanne. FACULTE DES SCIENCES

[46] Halliwell, B., 2007. Dietary polyphenols: Good, bad, or indifferent for your health?. Cardiovascular Research.73:341–347.

[47] Cermak, R., Follmer, U., Wolffram, S., 1998. Dietary flavonol quercetin induces chloride secretion in rat colon. Am J Physiol. 275: G1166–G1172.

[48] Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C., 2000. The effect of flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer. Pharmacol Rev; 52 (4): 651– 674.

[49] Mandel, S., Amit, T., Reznichenko, L., Weinreb, O., Youdim, M.B., 2006. Green tea catechins as brain-permeable, natural iron chelators–antioxidants for the treatment of neurodegenerative disorders. MolNutr Food Res. 50: 229–34.

[50] Zini, A., Del, R. D., Stewart, A.J., Mandrioli, J., Merelli, E., Sola, P., 2006. Do flavan-3- ols from green tea reach the human brain? NutrNeurosci. 9: 57– 61.

[51] Middleton E., Kandaswami C., TheoharidesTC., 1992. Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell function. BiochemPharmacol. 43: 1167–1179.

[52] Morris, M.E., Zhang, S., 2006. Flavonoid–drug interactions: effects of flavonoids on ABC transporters. Life Sci; 78:2116–2130.

[53] Sites.univ-provence.fr/wabim/d_agora/…/lipids.pdf.

[54] Goudable,J. et Favier,A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. 11:115- 200.

[55] Marc,F., Davin,A., Deglene-Benbrahim,L ., Ferrand,C., Baccaunaud,M. et Fritsch,P. (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. Medecine/sciences, 20 (4): 458-463.

[56] Koechlin-Ramonatxo,C. (2006).Oxygène, stress oxydant et supplémentations antioxydante ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. Nutrition clinique et métabolisme, 20:167-177.

[57] Thomas,A. (2010). Prise d'antioxydants et d'autres thérapies complémentaires par les patients sous chimiothérapie antitumorale : étude prospective.

[58] Benbrook,M. (2005). Accroitre la teneur antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. Ed.Theorganic center: 6-8.

[59] Koechlin-Ramonatxo,C. (2006).Oxygène, stress oxydant et supplémentations antioxydante ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. Nutrition clinique et métabolisme, 20:167-177.

[60] Georgieva,S., Boyadzhiev,L. et Angelov,G. (2010). Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydant. Revue de génie industriel, (5):124-132.

[61] Popovici,C., Saykova,I. et Tylkowski,B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de Génie Industriel, (4) :8.

[62] Prior,R.L., Wu,X. et Schaich,K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal of Agricultural and Food Chemistry,53: 4290-4302.

[63] Bougandoura.N. etBendimerad.N. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux etméthanolique de Saturejacalaminthassp. Nepeta (L.) Briq. Nature & Technologie, 09 : 14-19.

[64] Haxhe, J. J., Zumofen, M. (1999). Notions d'hygiène hospitalière. Faculté de Médecine. Université Catholique de Louvain.

[65] Borrel, T. (2000). Les infections nosocomiales, cours Maladie. L'homme et son environnement. Université Lumière Lyon II.

[66] Fleurette, J., Freney, J. (1995). Antiseptie et désinfection.

[67] Chevalier, P. (2012). L'usage des substances antimicrobiennes en production animale : position des experts et des gouvernements. Revue des connaissances scientifiques, 60 : 1-60.

[68] Pibiri, M. C. (2006). Assainissement Microbiologique de l'Air et des Systèmes de Ventilation au Moyen d'Huiles Essentielles, Thèse pour l'obtention du grade de docteur ès sciences. Lausanne, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL).

[69] Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clinical microbioloy reviews, 12 (4): 564-570.

[70] Tim Cushnie, T. P., Lamb, J. A. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. International Journal of Antimicrobial Agents. 26:343–356

[71] Mehrotra, M., Dougherty, J., Poppe, C. (2003). La résistance aux antimicrobiens : De quo s'agit-il?. Recherche sur les politiques de santé (Canada).6: 6–10.

[72] Hooper, D.C. (2000). Mechanisms of action and resistance of older and newer fluoroquinolones, Clinical Infectious Disease. 31 (Suppl 2). S24–S28.

[73] Wang, M., Tran, J.H., Jacoby, G.A., Zhang, Y., Wang, F.,Hooper, D.C. (2003). Plasmid mediated quinoloneresistance in clinical isolates of E. coli from Shanghai,China. Antimicrob. Agents Chemother. 47: 2242–2248.

[74] Cheung, T.K., Chu, Y.W., Chu, M.Y., Ma, C.H., Yung, R.W.,Kam, K.M., 2005. Plasmid-mediated resistance tociprofloxacin and cefotaxime in clinical isolates ofSalmonellaenterica serotype Enteritidis in Hong Kong.J. Antimicrob. Chemother. 56:586–589.

[75] Liebert, C.A.,R.M. Hall.,Summers, A.O.(2000).TransposonTn21, flagship of the floating genome, Microbiology andMolecular Biology Reviews, 63. 507–522.

[76] Steinmoen, H., Knutsen, E.,Håvarstein, L.S.(2002).Inductionof natural competence in Streptococcus pneumoniaetriggers lysis and DNA release from a subfraction of thecell population, Proceedings of the National Academy ofSciences, 99.7681–7686.

[77] Hopkins, K.L., Davies, R.H., Threlfall, E.J. (2005).Mechanisms of quinolone resistance in Escherichia coliand Salmonella: recent developments. Int. J. Antimicrob.Agents 25(5), 358–373.

[78] Opal, S.M., Mayer, K. H., Medeiros, A. A. (2000). Mechanisms of bacterial antibiotic resistance. 5e éd. New York: 2213–2243.

[79] Allen, U., Dobson, R. S., Embree, J., Langley, J., Moore, D., Pekeles, G., Samson, L. É., Harsany, R., MacDonald, N., Halperin, S., Naus, M., Pickering, L., (2006). Les produits antimicrobiens à domicile : Le problème de l'antibiorésistance. Paediatr Child Health. 11 (3): 177–182.

[80] Medeiros, A. A. (1997). Evolution and dissemination of blactamases accelerated by generations of b-lactam antibiotics. Clin. Infect. Dis. 24(1): S19–S45.

[81] Sajduda, A., Dziadek, J., Dela, A., Zalewska-Schonthaler,N., Zwalska, Z., Fadden, J.M.C.(1998). DNA fingerprinting as an indicator of active transmission of multidrug-resistant Tuberculosis in Poland. Int. J.Infect.Dis. 3:12 –17.

[82] Bolou,G.E.K., Attioua,B., N'Guessan,A.C., Coulibaly,Y.A., N'Guessan,J.D. et Djaman,A.J. (2011). Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de Terminaliaglaucescensplanch. Sur Salmonella typhi et Salmonella typhimurium. Bultin de la Société Royale des Sciences de Liège, 80 :772-790.

[83] Biyiti, I.F., Meko'o, D.l., Tamzc, V. et AmvamZollo, P.H. (2004). Recherche de l'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales camerounaises. Pharmacologie et médecine traditionnelle africaine. 10:11-20.

[84] Ganière,J.P., Mangion,C. Et Péridy,M. (2004). Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices et Bactéricides de la cefquinome, la marbofloxacine, la tylosine et la spiramycine en solution dans du lait vis-à-vis de bactéries isolées de mammites bovines. Revue Mé,.8(9) :411-416.

[85] Kamagate,A., Kone,D., Coulibaly, N.T., Brou,E. et Sixou,M. (2001). Etude comparative de differentesmethodes d'evaluation de la sensibilite aux antibiotiques des bacteriesanaerobies strictes de la flore sous-gingivale. Odonto-stomatologie tropicale, 4 (95) : 9-12.

[86] Frederic, F., Maryline, Abert., Anne-Sylvie, F., Patrick, C., Xavier, P & Farid, C. (2013). Les agro-solvants pour l'extraction des huiles végétales issues de graines oléagineuses. Journal of Oilseeds and fats crops and lipids. 20(5) :502.

[87] BENHAOUA Siham., 2015/2016., Activité antioxydant et analyse chimique des acides gras et des insaponifiables de Carthamus caeruleus. Mémoire master en chimie, Tlemsen.

[88] Ali-RACHED Fahima., 2017/2018., Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. 87, articles, 2018, p. 13 -21 13 Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne ScabiosaAtropurpureasub. Maritima L

[89] https://www.memoireonline.com/07/08/1340/m_dosage-biochimique-composes-phenoliques-datte-miel-sud-algerie22.html>

[90] Saffidine K., 2015., Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de Carthamus caeruleus L. et de Plantago major L., Thèse de Doctorat en Sciences Filière: Biologie Spécialité: microbiologie.