REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCE



Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme du master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Science Biologique

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Activités biologiques des extraits de deux plantes médicinales de la région de Médéa

Présenté par :

BENSAADA YAHIA Sara

BOUKACHACHE Zoulikha

HEBBACHE Karima

Soutenu publiquement le 25/06/2023 Devant le jury compose de :

Président	DIF.S	MAA	Université de Médéa
Examinatrice	SAHARI.N	MCB	Université de Médéa
Encadrante	CHAOUATI.K	MAA	Université de Médéa
Co-Encadrante	HAMIDI .N	DOCTORANT	Université de Médéa

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciements

Avant toute chose nous remercions الله le tout puissant de nous avoir donné la volonté, la santé et le courage d'accomplir ce modeste travail.

Nous tenons vivement à remercier notre promotrice ***Mme CHAOUATI KARIMA*** *pour nous avoir consacré le temps nécessaire ã la réalisation de œ travail ainsi que pour sa gentillesse ; ses encouragement et ses précieux conseils.*

Et aussi notre co-promotrice ***Mme HAMIDI NADJIA*** *pour, sa patience, ses précieux conseils et son aide durant toute la période du travail.*

Nous tenons à remercier également :

Madame dif sabrina qui nous a fait le plaisir de présider ce jury, qu'il trouve ici notre profond respect.

Madame Sahari. N pour avoir bien voulu examiner ce travail et être membre de jury.

Nous tenons à remercier également : ***Monsieur Sofiane*** *le directeur de laboratoires et un grand merci aux ingénieurs de laboratoire:* ***Salma; Asmaa; Khawla; Rayen*** *aussi* ***Mme Lamia*** *et* ***Meriem*** *; et* ***MmeFaiza****.*

Nous remercions toutes ***l'équipede SAIDAL*** *qui nous ont accueillies chaleuresement surtout* ***Mme Soumia*** *et* ***Ibrahim M.Chaaben*** *; M. Bachir et* ***khaled*** *et aussi* ***Karim*** *; M.Douifi Raouf et* ***Zouambia Fouad*** *pour leur encouragement, leur assistance et leur disponibilité et leur conseils judicieux.*

Nous tenons à remercier également ***M.MAZIGHI Walid*** *pour son aide.*

Enfin, nous remercions également nos familles, nos amis et toutes les personnes qui nous ont soutenues de près ou de loin au cours de la réalisation de ce travail.

Merci

Dédicace

Nous dédions ce travail :

A tous ceux qui ont illuminé une des étincelles d'espoir et d'inspiration en nous

A tous ceux qui ont apporté leur brindille à cet édifice.

A tous ceux qui ont cru en nous.

Résumé :

Les plantes médicinales renferment une ou plusieurs molécules capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. Cette diversité de composés chimiques peut justifier leurs utilisations traditionnelles.

L'extraction est réalisée par macération, les extraits étant préparés à l'aide du solvant méthanol et de l'extrait aqueux. L'extraction des huiles essentielles se fait par la méthode d'hydro-distillation. Des tests de screening ont été réalisés sur les extraits, fournissant ainsi une idée générale sur le métabolisme secondaire des plantes et révélant la présence de certains groupes chimiques tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tanins, etc.

L'évaluation quantitative des composés photochimiques par la méthode de Folin-Ciocalteu a montré une faible quantité de polyphénols pour les deux plantes étudiées.

Le dosage des flavonoïdes par la méthode du trichlorure d'aluminium in vitro a été étudié en utilisant la réduction du radical libre DPPH. L'huile essentielle de C.caeruleus a montré une bonne activité antioxydante avec un IC50 de 0,0365 mg/ml, tandis que les feuilles de C.caeruleus ont montré une activité de 0,76 mg/ml. Les autres extraits ont montré une faible activité antioxydante. L'effet antibactérien des extraits a été évalué par la technique de diffusion sur gélose.

Les extraits de *B.incrassatum* et *C.caeruleus* ont montré une activité antimicrobienne contre certaines souches testées, avec une activité inhibitrice notable contre S.aureus et *B.subtilis*, avec une zone d'inhibition significative de 32,2 mm et 20,4 mm respectivement.

Notre étude phytochimique et biologique a démontré que ces plantes possèdent des potentialités antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires.

Mots clés : *B.incrassatum, C.caeruleus,* plantes médicinale, antioxydant, antimicrobienne**.**

Abstract:

Medicinal plants contain one or more molecules capable of preventing, relieving or curing diseases. This diversity of chemical compounds can justify their traditional uses.

The extraction is carried out by maceration, the extracts being prepared using the methanol solvent and the aqueous extract. The extraction of essential oils is done by the method of hydro-distillation. Screening tests were carried out on the extracts, thus providing a general idea on the secondary metabolism of the plants and revealing the presence of certain chemical groups such as polyphenols, flavonoids, alkaloids, tannins, etc.

Quantitative evaluation of photochemical compounds by the Folin-Ciocalteu method showed a low amount of polyphenols for the two plants studied.

The determination of flavonoids by the in vitro aluminum trichloride method has been studied using the reduction of the free radical DPPH. *C.caeruleus* essential oil showed good antioxidant activity with an IC50 of 0.0365 mg/ml, while *C.caeruleus* leaves showed an activity of 0.76 mg/ml.The other extracts showed weak antioxidant activity. The antibacterial effect of the extracts was evaluated by the agar diffusion technique.

Extracts of *B.incrassatum* and *C.caeruleus* showed antimicrobial activity against some strains tested, with notable inhibitory activity against *S.aureus* and *B.subtilis,* with a significant zone of inhibition of 32.2 mm and 20.4mm respectively.

Our phytochemical and biological study has demonstrated that these plants have antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory potential.

Keywords: *B.incrassatum, C.caeruleus*, medicinal plants, antioxidant, antimicrobial

ملخص :

تحتوي النباتات الطبية على جزيء واحد أو أكثر قادرة على الوقاية من الأمراض أو تخفيفها أو علاجها .هذا التنوع في المركبات الكيميائية يمكن أن يبرر استخداماتها التقليدية .

.يتم الاستخلاص عن طريق النقع ، ويتم تحضير المستخلصات باستخدام مذيب الميثانول والمستخلص المائي .يتم استخلاص الزيوت العطرية بطريقة التقطير المائي .تم إجراء اختبارات الفرز على المستخلصات ، مما قدم فكرة عامة عن التمثيل الغذائي الثانوي للنباتات وكشف عن وجود مجموعات كيميائية معينة مثل البوليفينول والفلافونويد والقلويدات والعفص ، إلخ .

أظهر التقييم الكمي للمركبات الكيميائية الضوئية بطريقة Folin-Ciocalteu وجود كمية منخفضة من البوليفينول للنباتين المدروسين .تمت دراسة تحديد مركبات الفلافونويد بواسطة طريقة ثلاثي كلوريد الألومنيوم في المختبر باستخدام تقليل الجذور الحرة .DPPH أظهر زيت *C.caeruleus* الأساسي نشاطًا جيدًا كمضاد للأكسدة مع تركيز IC50 قدره 0.0365 مجم / مل ، بينما أظهرت أوراق C.caeruleus نشاطًا جيدًا بمقدار 0.76 مجم / مل . أظهرت المستخلصات الأخرى نشاطًا ضعيفًا لمضادات الأكسدة .تم تقييم التأثير المضاد للبكتيريا للمستخلصات باستخدام تقنية نشر الآجار

.أظهرت مستخلصات بكتريا *B.incrassatum* و *C.caeruleus* نشاطًا مضادًا للميكروبات ضد بعض السلالات المختبرة ، مع نشاط مثبط ملحوظ ضد بكتريا *S.aureus* و *B.sub* أظهرت دراستنا الكيميائية النباتية والبيولوجية أن هذه النباتات لها إمكانات مضادة للأكسدة ومضادات الميكروبات ومضادة للالتهابات .

الكلمات المفتاحية : *B.incrassatum* ، *C.caeruleus* ، النباتات الطبية ، مضادات الأكسدة ، مضادات الميكروب

Liste des abréviations :

- *µg : Microgramme*
- *µl : Microlitre*
- *AlCl3 : Chlorure d'aluminium*
- *ATB : Antibiotique*
- *AUG % : pourcentage d'augmentation de l'œdème*
- *B.A : Bunium aqueux*
- *B.M : Bunium méthanolique*
- *B.T : Bunium tige*
- *C.A : Carthamus Aqueux*
- *C.M : Carthamus Méthanolique*
- *C.F : Carthamus feuille*
- *C.T : Carthamus tige*
- *°C : Degré Celsuis*
- *CMI : Concentration minimale inhibitrice*
- *DMSO : Dimethylsulfoxyd*
- *DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle*
- *FeCl3 : Chlorure de fer Ⅲ*
- *G : gramme*
- *H : Heure*
- *Hcl : Acide chlorhydrique*
- *I_2 :D'iode*
- *IC 50 : Concentration inhibitrice à 50%*
- *INH% : pourcentage d'inhibition de l'œdème*
- *KI : L'iodure de potassium*

- *MeOH : méthanol*
- *Mg : Milligramme*
- *MH : Mueller Hinton agar ou bouillon*
- *Min : Minutes*
- *ml : Millilitre*
- *Mm : Millimètre*
- *MS : Matière sèche*
- *Na_2CO_3 : Carbonate de Sodium ou Carbonate de Soude*
- *NaOH : Sodium hydroxide*
- *R : Rendement*
- *$\mu gEqAG/Mg$: Microgramme d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait*
- *μgEq Q /Mg : Microgramme d'équivalent quercetine par milligramme d'extrait*

Liste des figures :

Figure 1: *Talghouda (Bunium incrassatum) [site web]* 22

Figure 2: *Répartition géographique mondiale des Apiacées (**Bouderdara, 2013).*** 23

Figure 3: *Distribution de Bunium incrassatum (Talghouda) dans le nord-africain (algeria). [site web]* 23

Figure 4*: la plantes Carthamus caeruleus [site web]* 26

Figure 5: *Répartition de Carthamus caeruleus L. dans le monde **(Boumerfeg, 2014).*** 27

Figure 6: *Les alcaloïdes [site web]* 31

Figure 7: *Les terpénoïdes [site web]* 32

Figure 8: *l'acide cinnamique* 33

Figure 9: *l'acide benzoique* 33

Figure 10: *Les stilbènes [site web]* 33

Figure 11: *Structure des coumarines [site web]* 34

Figure12*: Les flavonoïdes [site web]* 35

Figure 13: *Les saponines [site web]* 35

Figure 14*:Les anthocyanes [site web]* 36

Figure 15: *les tanins [site web]* 37

Figure16*: principe schématisé de l'extraction par entrainement à la vapeur (EVE)* 39

Figure 17: *Extraction par Macération* 40

Figure18*:Principe de la technique d'hydro distillation (Distillation simple)* ***(Lucchesi, 2005).*** 41

Figure 19*: présentation des plantes étudiées Bunium incrassaturn et Carthamus caeruleus (originale)* 48

Figure 20: *Localisation des régions de récoltes Hannacha et El omaria (site web)* 51

Figure 21: *schéma illustrant la démarche expérimentale suivie dans cette étude* 53

Figure 22: *la matière végétale avant et après l'incinération (originale)* 56

Figure 23: *illustration des différentes étapes d'obtention des extraits phénoliques (originale)* 59

Figure 24: *Protocole de dosage des polyphénols totaux* 63

,Montage d'extraction par hydro distillation (Clevenger) et l'huile essentielle de Carthamus caeruleus (originale) 61

Figure 25: *Virage de couleur des extraits dans le dosage des polyphénols* 64

Figure 26: *Protocole de dosage des flavonoïdes totaux* 65

Figure 27: *Virage de couleur des extraits dans le dosage des flavonoïdes (originale)* *65*
Figure 28: *Réaction du piégeage du radical libre DPPH 2,2-diphényl-1-pycril-hydrazyl parun antioxydant* ***(Pisoschi, Cheregi et Danet, 2009)*** *66*
Figure 29*: Solution méthanolique de DPPH (Originale)* *67*
Figure 30: *les solutions préparer des extraits (Originale)* *67*
Figure 31*: protocole de l'activité anti oxydante des extraits* *68*
Figure32*: Virage de couleur des extraits dans l'activité antioxydant DPPH (originale)* *69*
Figure 33: *Préparation des extrais hydro-alcoolique, aqueux et des huile essentielle (Originale)* *70*
Figure 34*: Détermination de la concentration minimale inhibitrice en milieu liquide (Originale)* *73*
Figure 35*: les étapes de l'activité anti-inflammatoire (originale)* *75*
Figure 36: *Taux des compositions chimique de B.incrassatum et C.caeruleus* *78*
Figure 37*:Présentation du rendement des extraits méthanolique et aqueux de B.incrassatum et C.caeruleus.* *81*
Figure 38*:Présentation du rendement de l'huile essentielle de C.caeruleus.* *81*
Figure 39:*Teneurs en polyphénols totaux des extrais de B.incrassatum et C.caeruleus* *84*
Figure 40: *Teneur en Flavonoïdes des extrais de B.incrassatum et C.caeruleus* *86*
Figure 41*:Histogramme représentative des valeurs d'IC50 des extraits étudient.* *89*
Figure 42:*L'effet de l'huile essentielle et des l'extrait méthanolique de deux plantes étudiées sur les souches bactériennes.* *91*
Figure 43: *Variation de diamètre des zones d'inhibition de la croissance des souches bactériennes et fongiques vis-à-vis des extraits méthanoliques, aqueux et huile essentielle des deux plantes* *95*
Figure 44: *les résultats de la CMI obtenus à partir des tubes de dilution contenant l'extrait méthanolique de B.incrassatum (racines) pour la bactérie B.subtilis* *98*
Figure 45: *les résultats de la CMI obtenus à partir des tubes de dilution contenant l'extrait méthanolique de de C.caeruleus (Tige) pour a bactérie S.aureus* *98*
Figure 46: *Pourcentage d'inhibition d'épaisseur de la patte (INH%) des souris traitées par 200mg/Kg de l'extrait métanolique de Carthamus .caeruleus et Diclofénac.* *100*

Figure 47:*courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des composés phénoliques* _____ *117*

Figure 48: *courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des composés phénoliques* _____ *117*

Figure49: *Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique* _____ *118*

Figure50: *Les résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) de l'huile essentielle de C caeruleus* _____ *118*

Figure 51: *Les résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) d'extrait méthanolique de l'espèce B incrassatum (tige)* _____ *119*

Figure 52: *Les résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) d'extrait méthanolique de l'espèce C.caeruleus (tige)* _____ *119*

Figure 53: *Les résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) d'extrait méthanolique de l'espèce B.incrassatum (tige)* _____ *120*

Figure 54: *Les résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) d'extrait Aqueux de l'espèce B.incrassatum* _____ *120*

Figure 55: *Les résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) d'extrait aqueux de l'espèce C.caeruleus(Racine)* _____ *121*

Figure 56: *Les résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) d'extrait aqueux de l'espèce B.incrassatum (Racine)* _____ *121*

Figure 57: *Les résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) d'extrait* _____ *122*

Figure 58: *L'effet des extraits methanoliques et aqueux des deux plantes étudiées sur les souches bactériennes* _____ *123*

Figure 59:*L'effet des extraits methanoliques et aqueux des deux plantes étudiées sur les souches fongiques* _____ *123*

Liste des tableaux :

Tableau 1: *La classification de cette plante est comme suit* ***(Quezel et Santa,1963)*** *22*

Tableau 2: *Composition chimique de Bunium incrassatum (Huiles essentielles)* ***(El kolli et al., 2017)*** *24*

Tableau 3: *La classification de cette plante est connue suit :****(Saffidine, 2015).*** *26*

Tableau 4: *Tests phytochimiques des racines et feuilles de Carthamus caeruleus (* ***Allouache et Ghernoub, 2017)*** *27*

Tableau 5: *Propriétés biologiques des quelques poly phénols dans l'organisme* ***(François, 2010).*** *37*

Tableau 6: *les souches bactériennes utilisées 48*

Tableau 7: *les souches fongiques utilisées 49*

Tableau 8: *Les plantes sélectionnée, la date et la région de récolte 52*

Tableau9: *composition chimiue de B.incrassatum et C.caeruleus 77*

Tableau 10: *Screening phytochimiue des extraits des plantes étudiées 79*

Tableau 11: *Résultats de l'indice de réfraction des deux plantes 83*

Tableau 12*: L'IC50 de l'activité antioxydante (DPPH) des extraits 88*

Tableau 13*: diamètres des zones d'inhibition des souches bactériennes et fongiques vis-à-vis les antibiotiques. 91*

Tableau 14: *Les diamètres des zones d'inhibitions des extraits méthanoliques et aqueux et l'huile essentielle de B.incrassatum et de C.caeruleus mesurés en fonctions des différentes souches microbiennes testées. 93*

Tableau 15: *Présence de valeur de CMI pour l'extrait méthanolique de B.incrassatum (racines) et C.caeruleus (tige) 99*

Tableau 16*:Variation de volume moyen de l'œdème (patte Droite) 100*

LISTE DES ABRÉVIATIONS : 6

***INTRODUCTION*..... 15**

***CHAPITRE I : LES PLANTES MÉDICINALES*..... 19**

I.1.LA PHYTOTHÉRAPIE 20
I.1.1.Définition 20
I.1.2.Les différents types de la phytothérapie 20
I.**2.**PLANTES MÉDICINALES : 21
I.2.1.Définition : 21
I.3.L'ESPÈCE *BUNIUM INCRASSATUM : 21*
I.3.1.La famille des Apiaceae : 21
I.3.2.Nomenclature : 21
I.3.3. Description botanique : 22
I.3.4. Position systématique 22
I.3.5.Répartition géographique : 23
I.3.6 - Composition chimique : 24
I.3.7.Intérêts thérapeutiques : 24
I.4. LA PLANTE DE *CARTHAMUS CAERULEUS : 25*
I.4.1 .La famille des Asteracées : 25
I.4.2.Nomenclature : 25
I.4.3.Description botanique : 25
I.4.4.Position systématique : 26
I.4.5. Habitat et répartition géographique : 27
I.4.6.Composition phytochimique des racines et feuilles de Carthamus caeruleus : 27
I.4.7.Intérêt biologique: 28

***CHAPITRE II : LES MÉTABOLITES SECONDAIRE*..... 29**

II.1.DÉFINITION DES MÉTABOLITES SECONDAIRES : 30
II.2. CLASSIFICATION DES MÉTABOLITES SECONDAIRES : 30
II.2.1. Les alcaloïdes : 31
II.2.2.Les terpénoïdes (isoprénoïdes) : 31
II.2.3.Composés phénoliques : 32
II.2.3.1. Classification des composés phénoliques : 32
- Les acides phénoliques : 32
- Les stilbènes 33
- Les coumarines 34
- Les flavonoïdes : 34
- Saponines : 35
- Les anthocyanes : 35
- Tanins : 36

II.2.4. Les huiles essentielles : 38
II.2.5. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles (HE) : 38
II.2.5.1.Extraction par entraînement à la vapeur d'eau : 39
II.2.5.2. Macération : 39
II.2.5.3. Hydro-distillation : 40

II.2.5.4.L'extraction à froid :.....41
II.2.5.5.Extraction par des solvants :.....41
II.3.LES ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DES MÉTABOLITES SECONDAIRES :.....42
II.3.1.Activité antioxydant :.....42
II.3.2.Activité antimicrobienne :.....43
II.3.3.Activité anti-inflammatoire :.....44
CHAPITRE Ⅲ :MATÉRIELS & MÉTHODES.....46
INTRODUCTION.....47
Ⅲ.1.OBJECTIF D'ÉTUDE.....47
Ⅲ.2.MATÉRIELS :.....47
Ⅲ.2.1.Matériels biologiques :.....47
Ⅲ.2.2.Appareillages :.....49
III.2.3.Produit consommables :.....50
Ⅲ.2.4.Milieu de culture utilisé :.....50
Ⅲ.3.MÉTHODES :.....51
Ⅲ.3.1.Préparation des extraits :.....53
Ⅲ.3.2.Préparation du matériel végétal :.....54
Ⅲ.3.3.Détermination de la matière sèche :.....54
Ⅲ.3.4. Détermination de la matière minérale :.....55
Ⅲ.3.5.Cendres solubles et insolubles dans l'eau.....56
Ⅲ.3.6.Détermination de la matière organique :.....57
Ⅲ.4. Screening phytochimique :.....57
Ⅲ.4.1. Détection de composés phénoliques et de tanins.....57
Ⅲ.4.2. Détection de flavonoïdes :.....57
Ⅲ.4.3.Détection d'alcaloïdes :.....57
Ⅲ.4.4. Saponosides :.....58
Ⅲ.5. Méthodes d'extraction:.....59
Ⅲ.5.1. Extrait méthanolique :.....59
Ⅲ.5.3. Extraction des huiles essentielles par hydro-distillation :.....60
Ⅲ.5.4.Calcul du rendement :.....61
Ⅲ.5.5.Détermination des constantes physico chimiques :.....61
Ⅲ.6.Analyse quantitative :.....62
Ⅲ.6.1. Dosage des polyphénols totaux :.....62
Ⅲ.6.2. Dosage des flavonoïdes :.....64
Ⅲ.7.EVALUATION DES ACTIVITÉS BIOLOGIQUES :.....66
Ⅲ7.1.Activité antioxydante:.....66
Ⅲ.7.1.1.Piégeage du radical DPPH :.....66
Ⅲ.7.2.Activité antimicrobienne :.....69
Ⅲ.7.2.1.Principe de l'antibiogramme :.....69
Ⅲ.7.2.2.Préparation des milieux de culture :.....69
Ⅲ.7.2.3.Préparation de l'extrait :.....70

III.7.2.4.Activité antibactérienne : 70
III.7.2.5.Activité antifongique : 71
III.7.2.6.Détermination de la concentration minimale inhibitrice : 72
III.7.3.L'activité anti-inflammatoire : *73*
- *Principe :* *73*
- Mode opératoire : 73

CHAPITRE VI : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS **76**

VI.1.DÉTERMINATION DE LA COMPOSITION CHIMIQUE : 77
III.1.1.Détermination de matière sèche, minérale, organique, cendres solubles et insolubles : *77*
VI.1.2. Analyse qualitative de la composition chimique de deux plantes étudiées : *79*
VI.2.DÉTERMINATION DE RENDEMENT DES EXTRAITS DE DEUX PLANTES ÉTUDIENT : .. 80
VI.3.INDICE DE RÉFRACTION DES L'HUILE ESSENTIELLES : 82
VI.4.ANALYSE QUANTITATIF : 83
VI.4.1.Résultat de dosage des polyphénoles totaux : *83*
VI.3.2.Résultat des dosages des flavonoïdes totaux : *85*
VI.4.LES RÉSULTATS DES ACTIVITÉS BIOLOGIQUES : 87
VI.4.1.Activité antioxydant DPPH : *87*
VI.5.ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE : 90
VI.5.1.Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) : *97*
VI.6.L'ACTIVITÉ ANTI INFLAMMATOIRE : 99

CONCLUSION **102**

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE **104**

ANNEXES **116**

Introduction

Dans le temps anciens, l'homme comptait beaucoup sur les plantes et les herbes car elle était la première source de nourriture et de médecine, et cela grâce à sa relation directe avec la nature **(Hijjawi 2009).**

Depuis lors, l'homme est connu pour traiter avec des herbes, il a donc lié les plantes médicinales aux maladies qui les affligent **(Hijjawi 2009).**

La découverte des antibiotiques au début du XXe siècle a constitué une véritable révolution pour le traitement des maladies infectieuses d'origine bactérienne

Cependant, l'utilisation massive et parfois abusive des antibiotiques a modifié considérablement l'écologie microbienne et tend à faire augmenter le taux de bactéries résistantes **(Hijjawi 2009).**

Face à ce phénomène d'antibiorésistant, il apparait donc important d'orienter les recherches vers de nouvelles voies telles les extraits de plantes médicinales pour servir de base à l'obtention de nouveaux antibactériens **(Kouadio et *al*., 2013).**

C'est ce qui a conduit à la quantité de l'utilisation des plantes médicinales et des herbes, en raison de disponibilité de matériaux efficace et largement utilisés et il n'ya pas d'effets secondaires sur la santé humaine **(Magrab, 2020)**.

Les médicaments à base de plantes sont considérés comme peu toxiques et doux par rapport aux médicaments pharmaceutiques. Les industries pharmaceutiques sont de plus en plus intéressées par l'étude ethnobotanique des plantes. L'Afrique dispose d'une diversité importante de plantes médicinales **(Didier et al., 2011)**. En Algérie est reconnue par sa diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques dont la plupart existent à l'état spontané, ainsi que par l'utilisation populaire dans l'ensemble des terroirs du pays. Cependant, la flore algérienne avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15% d'endémiques, reste très peu explorée sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique **(Bouzid et al., 2017)**.

De nos jours, les vertus thérapeutiques des plantes présentent un regain d'intérêt grâce à l'amélioration des techniques extractives et aux progrès des méthodes d'analyses structurales pour la découverte de nouveaux principes actifs **(Mami et al,. 2020)**.

Les plantes constituent une source immense de molécules chimiques complexes (métabolites secondaires), largement exploités dans les industries cosmétologiques, agroalimentaires et pharmaceutiques. Parmi ces métabolites, on distingue les terpénoïdes, les alcaloïdes et les polyphénols. Ces derniers et principalement les flavonoïdes sont essentiellement connus pour leurs nombreuses activités biologiques, parmi lesquelles : leur actions antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses et antimicrobienne **(Mami et al,. 2020)**.

Dans le bassin méditerranéen, Carthamus caeruleus, appartenant à la famille des Astéracées, est une plante utilisée pour ses propriétés cicatrisantes. Ses racines aident à guérir les brûlures et à traiter les maladies de la peau. Elles sont également utilisées pour réduire l'inflammation des articulations et se sont révélées très efficaces contre des maladies telles que le syndrome du côlon irritable chez les patients atteints de cancer **(Mami et al,. 2020)**. De plus, l'espèce Bunium incrassatum est une plante médicinale d'importance économique croissante. Ses racines sont très nutritives et sont utilisées traditionnellement comme astringent et diurétique pour leurs vertus **(Boukezata, 2014)**.

Dans le cadre de notre étude, nous avons étudié les caractéristiques de deux plantes médicinales, *Carthamus caeruleus L* et *Bunium incrassatum*, par le biais d'extractions hydro alcooliques (aqueuses et méthanoliques) ainsi que l'extraction des huiles essentielles. De plus, nous avons effectué des tests sur les deux extraits :

- Criblage phytochimique pour la recherche et la révélation des principaux groupes chimiques existant dans la plante étudiée.
- Dosage de polyphénols et flavonoïdes.
- Activité antioxydant par DPPH.
- Activité antibactérienne.
- Activité anti-inflammatoire

Notre recherche, intitulée "L'activité biologique des extraits des deux plantes médicinales aux régions de Médéa", est divisée en deux parties distinctes :

La première partie est synthèse bibliographie contient deux chapitre, est un aperçu bibliographique sur l'étude ethnobotanique de l'espèce choisie et les métabolites secondaires et leurs méthodes d'extraction et les activités biologiques.

La deuxième partie est principalement dédiée à la description détaillée des méthodes expérimentales employées lors de la préparation des extraits végétaux, ainsi que des tests photochimiques(analyse qualitative et quantitative) et l'évaluation des activités biologiques (activité antioxydante, antimicrobienne et anti-inflammatoire).

Une chapitre qui résume les résultats des tests phytochimiques et biologiques ainsi que leur discutions.

Notre manuscrit est ponctué d'une conclusion générale, une liste des références bibliographiques.

Chapitre I : Les plantes médicinales

I.1.La phytothérapie

I.1.1.Définition

La phytothérapie provient du grec ; il est composé de deux mots : « phyto »signifient plantes et « thérapie »signifient traitement .L'association de deux mots signifient donc le traitement par les plantes **(BABA AISSA, 2000).**

Elle repose en partie sur une pratique traditionnelle fondée sur l'utilisation ancestrale et locale des plantes ; les plantes médicinales renferment de nombreux actifs (plus de 250) qui ont des activités thérapeutiques complémentaires ou synergiques .Ces actifs ont été étudiés et des produits chimiquement peuvent être incorporés nos jours dans de nombreux médicaments **(James, 1993)**

I.1.2.Les différents types de la phytothérapie

Il existe plusieurs types de phytothérapie :

- ✓ ***Herboristerie*** :C'est la méthode la plus ancienne qui consiste à utiliser la plante entière ou une partie fraiche ou séchée. La préparation se repose sur des méthodes simples (décoction ; macération) le plus souvent dans l'eau .Ces préparations existantes aussi sous formes plus modernes (gélule, poudre) **(strang ,2006).**

- ✓ ***Aromathérapie*** :L'utilisation médicinale des extraits aromatiques des plantes, ce terme provient du latin « aroma » signifie odeur et du grec « thérapeia » signifie traitement. Il s'agit donc de soigner par les huiles essentielles (**Bonnafous, 2013).**

- ✓ ***Homéopathie*** **:** ce terme vient du grec « homoios »qui veut dire similaire et « Pathos » qui veut dire maladie, donc se repose sur le principe de similitude. Traiter une personne seine à des symptômes semblables à ceux d'une personne affectée **(Anonyme, 2013).**

- ✓ ***Phytothérapie pharmaceutique*** **:** utilisation des produits d'origine végétale obtenue par extraction et qui sont diluées dans différents solvants ; ces extraits sont dosés puis transformés sous forme sirop, goutte, gélule **(strang ,2006).**

I.2.plantes médicinales :

I.2.1.Définition :

Les plantes médicinales sont toute plantes possèdent des propriétés agissant sur l'organisme humain ou animal de façon, bénéfique. Les plantes médicinales sont utilisées en médecine naturelle. Généralement; seule une partie de la plante est utilisée, que ce soit le bulbe; les racines; les feuilles; les graines; les fruits ou les fleurs, pour prévenir, soigner ou soulager divers maux **(Cavin, 1999).** Elle contient de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne **(Fouché et Hamabuché, 2000).**

I.3.L'espèce *Bunium incrassatum :*

I.3.1.La famille des Apiaceae :

La famille des apiaceae, anciennement appelées ombellifères (umlelliferae); est une famille des plantes Magnoliopsida (dicotylédones) **(Daroui ,Mokaddem,2012).**

C'est une famille très homogène facile à reconnaitre son inflorescence en ombelles composées. Mais les espèces de cette famille sont assez difficiles à différencier les unes des autres **(Deysson, 1979).**

Les plantes de la famille des Apiacées sont des végétaux herbacés, des arbres et des arbustes qui sont soit bisannuelles, annuelles ou vivaces ; il présente une tige cannelée et noueus **(Heywood, 1996).**

I.3.2.Nomenclature :

Bunium Incrassatum est une plante médicinale de la famille des ombellifères (Apiaceae), est largement distribuée dans l'est de l'Algérie et appelé communément "Talghouda". C'est une plante d'importance économique croissante. Les racines de cette plante sont très nutritives (**Boukezata, 2014).** Dupont

- Nom botanique *: Bunium incrassatum (Boiss) Batt. et Trab.*
- Nom vernaculaire *: Tanghouda / Talghouda.*
- synonymes : *Bunium bulbocastanum, Bunium pachypodum.*
- Famille botanique *: Apiacées*

I.3.3. Description botanique :

Plante vivace ; herbacée ayant des rayons des ombelles et des ombellules restant grêles, de 5 à 7 cm de large ; les fruits sont rétrécis au sommet à méricarpes contigus et sont 4 à 5 fois plus longs; les tiges sont grêles de 10 à 50 cm d'auteur et les feuilles sont bipennatiséquées, à segments linéaires ou linéaires lancéolés **(Quezel et Santa,1963**).





Figure 1: Talghouda (Bunium incrassatum) [site web]

I.3.4. Position systématique

Tableau 1: La classification de cette plante est comme suit **(Quezel et Santa,1963)**

Règne	**Plante**
Sous règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Dilleniida
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	Bunium
Espèce	*Bunium incrassatum*

I.3.5.Répartition géographique :

Les Apiacées comprennent environ 3000 espèces se répartissant dans toutes les régions tempérées mais surtout dans l'hémisphère Nord **(Dupont et Guignard,2007).Figure 2**



Figure 2: Répartition géographique mondiale des Apiacées (**Bouderdara, 2013).**

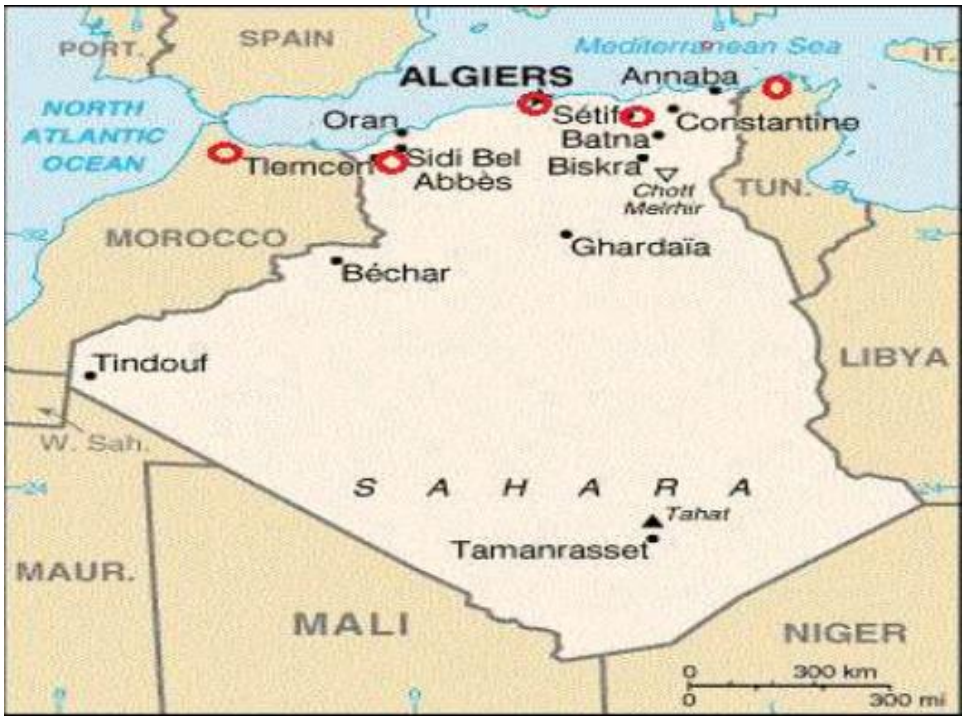


Figure 3: Distribution de Bunium incrassatum (Talghouda) dans le nord-africain (algeria). [site web]

I.3.6 - Composition chimique :

Une étude phytochimique sur la plante médicinale *B. incrassatum* a montré qu'elle comporte les composés suivants : saccharose, scopolétine, scoparone et β-sitostérol**(Boukezata, 2014).** D'après **(El kolli et al., 2017)**, qui ont réalisé une étude sur la composition chimique des huiles essentielles de la partie aérienne de Bunium incrassatum, 31 composés sont identifiés, dont les composants les plus abondants sont les terpènes et leurs dérivés, le l'acide palmétique, l'oxyde de caryophyllène, le β-eudesmol, le n-pentacosane, le 10-épi-α-muurolol, l'hedycaryol et le spathulénol **(tableau I).**

Tableau 2: Composition chimique de Bunium incrassatum (Huiles essentielles) **(El kolli et al., 2017)**

Composé	%	Composé	%
Thymol	0.65	Salvial-4(14)-en-1-one	2.4
Carvacrol	0.76	Carvone	0.71
***β*-élémène**	0.28	Humulène époxyde-1-api eudèsmol	1.85
(E)caryophyllène	2.62	10-api-*α*-muurolol	4.36
(E)-*β*-farnésène	0.25	*β*-eudèsmol	13.95
***α*-humulène**	0.31	Apiol	0.94
***γ*-muurolène**	0.67	*α*-bisabolol	2.11
d-germacrène	0.55	Apritone	2.98
***α*-muurilène**	0.27	Acide myristique	2.4
***β*-bisabolène**	0.48	6,10,14-Trimethylpentadecan-2-one	1.61
***β*-sesquiphellandrène**	0.65	Acide pentadécanoique	1.8
1-endo-bourbonanol	2.43	Acide palmétique	18.39
***β*-calacorène**	0.66	Acide linoléique	1.09
Hedycaryol	4.14	n-tricosane	1.35
Spathulénol	4.04	n-pentacosane	5.13
Oxyde de caryophyllène	17.36		

I.3.7.Intérêts thérapeutiques :

La plante est utilisée depuis longtemps dans l'alimentation et la médecine traditionnelle dans le monde entier en raison de ses racines très nutritives. Par ailleurs,

la poudre de la tubéreuse peut être utilisée comme anti-diarrhée hémorroïde, astringent ou anti-inflammatoire.

Ils servent aussi à traiter la bronchite et la toux selon les guérisseurs traditionnels, la plante est également utilisée pour la prise de poids, la production de lait chez certains animaux domestiques et pour la régulation des sécrétions glandulaire, en particulier la glande thyroïde **(Jassbi et al.,2005).**

I.4. La plante de *Carthamus caeruleus :*

I.4.1 .La famille des Asteracées :

La famille des Astéracées (anciennement appelée composées ou synanthérées) comprend de 1500 genres et prés de 26000 espèces, dont 750 espèces endémiques.

C'est une famille très importante dans le règne végétal. Elle est présente dans toutes les régions du monde, principalement dans les régions tempérées, à l'exception des pôles, ou elle contient sur notre territoire 408 espèces organisées en 109 genres **(Quezel et Santa ,1963 ;Barkely et al., 2006).**

Les plantes composées peuvent être annuelles, bisannuelles, ou vivaces. Il y a principalement des vivaces et à feuilles alternes. Pour la plupart, les Astéracées sont des plantes herbacées, mais elles sont aussi représentées sont par des arbres, des arbustes ou des vignes, et des certains sont aussi des succulentes **(Barkely et al ;2006)**.

I.4.2.Nomenclature :

Nom vernaculaire francais : Carduncelle bleue.

Nom vernaculaire bebère :Amresgous,Arviv n taga,Immerzezig.

Nom vernaculaire arabe :Musgousse ,Mortgousse,Emar gosgos.**(Bot et linn, 2009).**

I.4.3.Description botanique :

L'espèce Carthamus caeruleus qui fait l'objet de notre étude est connue également sous le nom de cardoncelle bleue appartient à la famille des astéracées (**Bowles, 2010).**C'est une herbe annuelle ou bisannuelle qui possède :

- ✓ Un rhizome qu'est composé de racine principale qui évolue horizontalement et des racines secondaires sortent de racine principale évoluent verticalement **(Freire, 2004).**

- ✓ Tige ascendante simple ou très peu rameuse, glabre, dressée et velue (haute de 20 à 60 cm) **(Mioulane, 2004)**.
- ✓ Les feuilles sont coriaces et luisantes, les supérieures sont fortement dentées et piquantes.
- ✓ L'inflorescence se présente sous forme d'un capitule dont les fleurs sont bleues, en capitules terminaux solitaires, Sa période de floraison s'étale de mai à juillet **(Mioulane, 2004).**
- ✓ Les fruits du Carthamus caeruleus sont des akènes **(Bowles et al., 2010).**



Figure 4: la plantes Carthamus caeruleus [site web]

I.4.4.Position systématique :

Tableau 3: La classification de cette plante est connue suit :**(Saffidine, 2015).**

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

I.4.5. Habitat et répartition géographique :

C'est une espèce rare qui pousse sur l'humus et les soles légers, en chemins entre tenir, graveurs sur bois, champ et jardine **(Pastrikos, 2018)**.Pour conséquent, cette espèce préfère les endroits ensoleillés du bassin méditerranéen. Elle est du sud-ouest de l'Asie mais aussi en Afrique du nord (Algérie, Maroc, Tunisie, Libye) avec l'Australie, l'Amérique du nord et l'Europe (Grèce, Italie, France, Portugal, Espagne) **(Mioulane, 2004)**,**(Boullard, 2001)**.

En Algérie, il répartit dans les zones côtières méditerranéennes (Tipaza, Annaba, Bejaia, sidi belabes et les hauts plateaux de Sétif**).** Cette espèce est également collectée à Bouira, tizi-ouzou, telemcen et boumerdes **(Benhamou et Fazouane, 2013).**



Figure 5: Répartition de Carthamus caeruleus L. dans le monde **(Boumerfeg, 2014).**

I.4.6.Composition phytochimique des racines et feuilles de *Carthamus caeruleus :*

Tableau 4: Tests phytochimiques des racines et feuilles de Carthamus caeruleus (**Allouache et Ghernoub, 2017)**

Substances	Racines	Feuilles
Polyphénols totaux	+	+++
Flavonoïdes	+	+++
Tanins condensés	+	++
Huiles essentielles	+++	++

(+) : faible présence de substance ; (++) : moyenne présence de substance ; (+++) : forte présence de substance

I.4.7.Intérêt biologique:

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

Chapitre II : Les métabolites secondaire

Les plantes ont une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes. Elles renferment une part importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. On distingue ainsi deux groupes de métabolites : les métabolites primaires et les métabolites secondaires **(Hartmann, 2007).**

- **Métabolites primaires :**

Métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ils sont classés en quatre grandes catégories : les glucides, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques **(Whetstone et *al*., 1997)**

II.1.Définition des métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais sont synthétisés à partir de métabolites primaires. Ils ont une répartition limitée au niveau des plantes et sont produits dans un organe ou tissu spécifique. Ils sont emmagasinés surtout dans les vacuoles. Ils jouent un rôle important dans la survie des plantes en fournissant une protection contre les animaux herbivores et contre les maladies, mais ne sont pas essentielles pour la croissance et le développement de base des plantes**(Nabors 2008 ; Raven, Evert et Eichhom 2014)** .Les trois classes principales de métabolites secondaires chez les plantes sont les alcaloïdes, les terpénoides et les substances phénoliques.

Métabolites secondaires jouent un rôle primordial dans les relations entre le végétal et son milieu : ils assurent, par exemple, une défense contre des compétiteurs, des herbivores ou des agents pathogènes, ou encore permettent d'attirer les pollinisateurs en déterminant la coloration des pétales des fleurs **(Journal officiel, 2013).**

II.2. Classification des métabolites secondaires :

La classification des métabolites secondaires est basée sur : la structure chimique, la composition, leur solubilité dans divers solvants ou leur voie de synthèse. Le système de classification principal comprend trois grandes classes :

- les alcaloïdes (Les composés azotés).
- les terpènes (isoprénoïdes).
- Les composés phénoliques (polyphénols).

Pour chaque classe nous trouvons des sous-classes avec une complexité dans la structure **(Justin et al., 2014).**

II.2.1. Les alcaloïdes :

Un alcaloïde est un composé organique naturel, hétérocyclique et comprend une base d'azote, plus ou moins basique, de structure moléculaire complexe et doué de propriétés pharmacologiques prononcées même à faible dose. La plupart des alcaloïdes sont très toxiques à fort dose **(Donatien, 2009).**

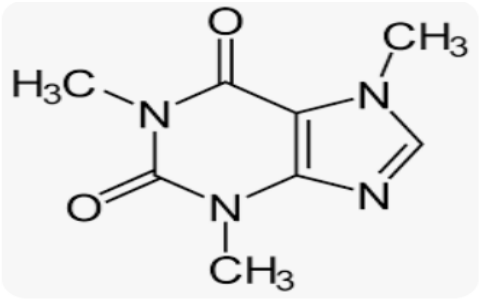


Figure 6: Les alcaloïdes [site web]

On distingue trois classes d'alcaloïdes.

- Alcaloïdes vrais, exemple : hyoscyamine.
- Pseudo-alcaloïdes, exemple : conine.
- Proto-alcaloïdes, sont des amines simples, exemple : cathionone **(Bruneton, 1999).**

II.2.2.Les terpénoïdes (isoprénoïdes) :

Les terpènes sont des molécules de faible poids moléculaire, volatiles, dérivés de l'isoprène (C_5H_8), et entrant dans la composition des huiles essentielles **(**Paduch et al**., 2007).**

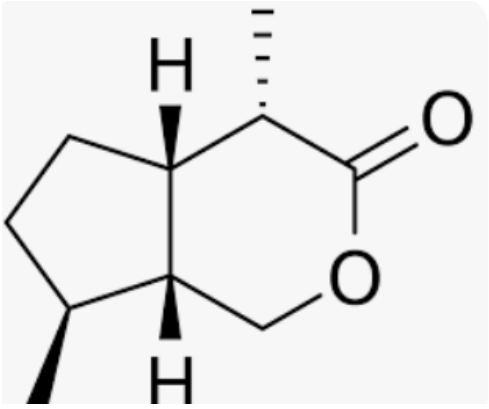


Figure 7: Les terpénoïdes [site web]

II.2.3.Composés phénoliques :

Le terme composé phénolique ou «polyphénols » comprend un large groupe de substances végétales avec plus de 8000 composés phénoliques actuellement.

Les composés phénoliques présentent une vaste classe de substance organique cyclique qui dérive du phénol C_6H_5OH. sont présents dans toutes les parties des végétaux et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, ils sont largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstrictrice, Anti-inflammatoire, inhibitrice enzymatique, antioxydants et antimicrobiens **(Djemai 2008 ; walton et Brow, 1999).**

II.2.3.1. Classification des composés phénoliques :

- **Les acides phénoliques :**

On distingue deux principales classes d'acide phénolique ; les dérivés de l'acide benzoïque (Figure 08) et les dérivés de l'acide cinnamique (Figure 09). La concentration de l'acide hydroxybenzoïque est généralement très faible chez les végétaux comestibles. Ces dérivés sont assez rares dans l'alimentation humaine par contre ceux d'acides hydroxycinnamiques sont très présents **(Belaïche, 1979).**

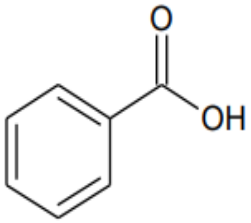


Figure 9: l'acide benzoique

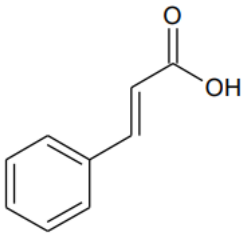


Figure 8: l'acide cinnamique

- **Les stilbènes**

Les stilbènes se trouvent en petites quantités dans l'alimentation humaine, parmi ces composés on trouve le resveratrol qui est un anticancéreux présent dans certaines plantes médicinales, l'exemple le trans-resveratrol **(Fleuriet et al., 2005).**

En santé humaine, l'étude des stilbènes touche de nombreux domaines, avec entre autre des propriétés anticancéreuses **(Sirerol et al., 2015).**

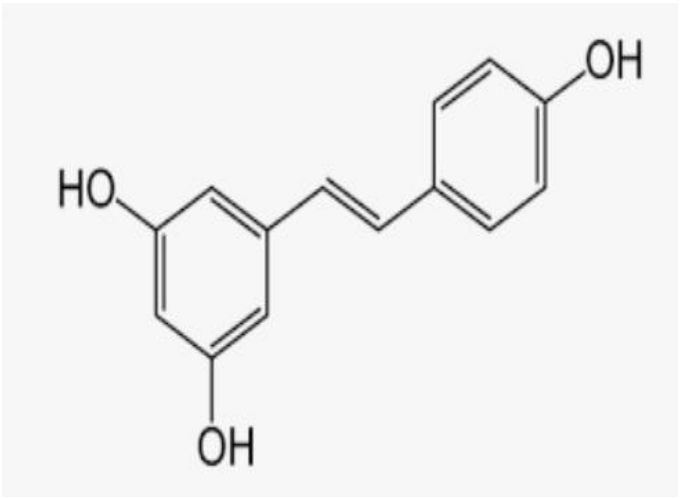


Figure 10: Les stilbènes [site web]

- **Les coumarines**

Sont des composés aromatiques naturels, elles sont bénéfiques en cas d'affection cutanée **(González et al., 2015).**

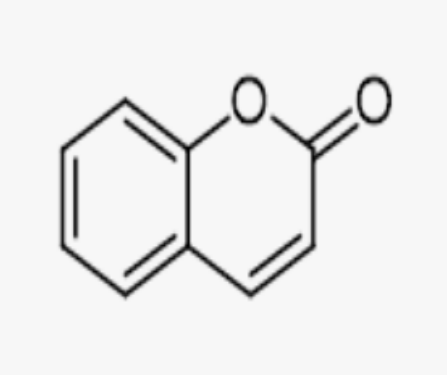


Figure 11: Structure des coumarines [site web]

- **Les flavonoïdes :**

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. On les trouve dissous dans la vacuole des cellules à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes **(Guignard, 1996)**. Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques. On distingue différents types de noyaux : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanes, flavan-3-ols, flavylium, chalcones, aurones, isoflavones, isoflavonols, isoflavanes, ptérocarpanes, coumaronochromones, 3-arylcoumarines, coumestanes, roténoïdes etc **(Stöckigt et al., 2002).**

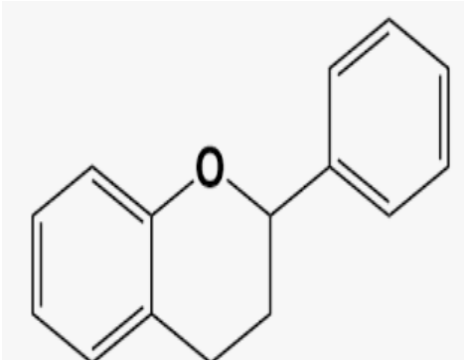


Figure12: Les flavonoïdes [site web]

- **Saponines :**

Les saponosides ou saponines sont un groupe de métabolites secondaires, abondamment trouvés dans certaines familles du règne végétal. Ils sont principalement produits par les plantes supérieures, mais aussi par des animaux marins inférieurs et quelques bactéries. Leur nom provient du latin Sapo signifiant "savon" en raison de leurs propriétés à former des solutions moussantes en présence d'eau. Ce sont des hétérosides de poids moléculaire élevé qui se composent d'une partie lipophile, l'aglycone (ou génine) et d'une partie hydrophile osidique. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires en leurs molécules explique leur comportement moussant en solution aqueuse **(Wallace, 2004).**

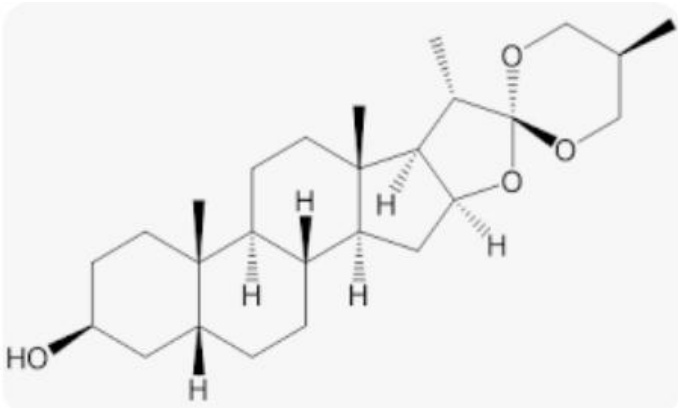


Figure 13: Les saponines [site web]

- **Les anthocyanes :**

Les anthocyanes (du grec anthos, fleur et Kuanos, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés **(Guignard, 1996).** Les

anthocyanines sont des flavonoïdes porteurs d'une charge sur l'oxygène de l'hétorocycles C. La structure de base des anthocyanines est caractérisée par un noyau "flavon" généralement glucosylé en position C3 **(Ribereau, 1968).** Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange **(Harbone, 1967 ; Brouillard, 1986).**

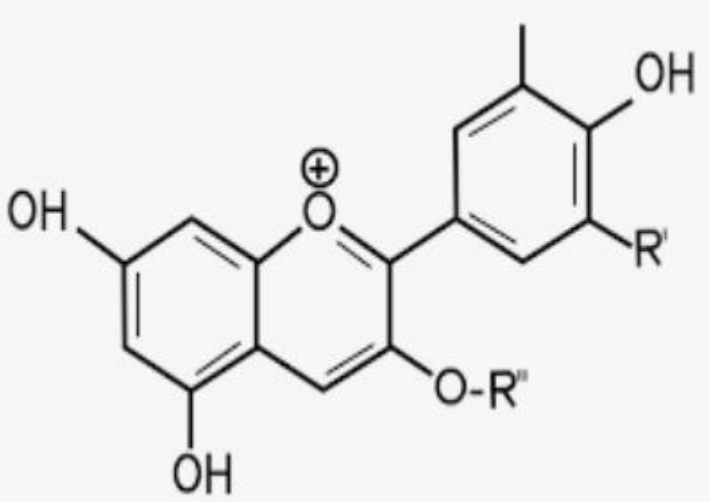


Figure 14:Les anthocyanes [site web]

- **Tanins :**

Les tanins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire. Les tanins sont des molécules fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux **(Alkurd et al., 2008).**

En général, ils sont divisés selon la structure chimique, le poids moléculaire, la solubilité dans l'eau en deux catégories : les tanins hydrolysables et les tanins condensés **(Bernays, 1989).**

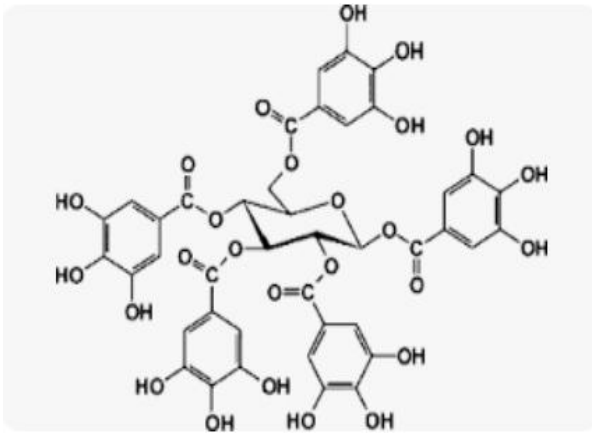


Figure 15: les tanins [site web]

Tableau 5: Propriétés biologiques des quelques poly phénols dans l'organisme **(François, 2010).**

Polyphénols	***Propriétés biologiques***
Acides phénols (cinnamiques et benzoïques)	*Antibactériennes, antiulcéreuses, antiparasitaires antifongiques, antioxydants*
Coumarines	*Protectrices vasculaires, anti-inflammatoires, antiparasitaires analgésiques et anti-œdémateuses*
Flavonoïdes	*Anti-tumorales, antiparasitaires, vasodilatoires, antibactériennes, anti carcinogènes, antiinflammatoires, analgésiques, hypotenseurs, antivirales, diurétiques, ostéogène, antioxydants, anti-atherogéniques, antithrombotique, antiallergique*
Saponines	*Anti-tumorale, anti-cancérigène,…*
Anthocyanes	*Protectrices capillaro-veineux, antioxydant*
Tannins galliques et catéchiques	*Antioxydants.*

II.2.4. Les huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont liquides, volatiles, transparentes, rarement colorées et solubles dans les lipides et les solvants organiques, de densité généralement inférieure à celle de l'eau. Ils peuvent être synthétisés par tous les organes d'une plante, à savoir les bourgeons, les fleurs, les feuilles, les tiges, les rameaux, les graines, les fruits, les racines, le bois ou l'écorce, et sont stockés dans les cellules sécrétoires, les cavités, les conduits, les cellules épidermiques ou les trichromates glandulaires **(Filomena et al., 2013).**

La plupart des composants des HES sont inclus dans deux groupes : les terpenoïdes et les phénylpropanoïdes mais ces derniers sont moins fréquents par rapport aux terpenoïdes.

Les huiles essentielles sont des composés complexes, ils peuvent contenir jusqu'à environ 100 composants **(Halldor, 2011).**

II.2.5. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles (HE) :

Il existe plusieurs méthodes pour extraire les huiles essentielles, les principales sont basées sur l'entrainement à la vapeur, l'expression, la solubilité et la volatilité. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter **(Smate Abdoul 2001).**

- ✓ La macération
- ✓ L'expression à froid
- ✓ L'extraction par solvants
- ✓ L'enfleurage
- ✓ L'hydro distillation
- ✓ L'extraction au dioxyde de carbone (CO2) et au CO2 supercritique
- ✓ La turbo distillation et la distillation à la vapeur **(Hanif et al., 2019).**

II.2.5.1.Extraction par entraînement à la vapeur d'eau :

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des HE (Figure 16) **(Pharmacopée Européenne, 2007).** Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse (HA) et une phase organique (HE). L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques, évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile. De plus, le parfum de l'HE obtenue est plus délicat et la distillation, régulière et plus rapide, fait que les notes de tête sont riches en esters **(Raaman, 2006).**

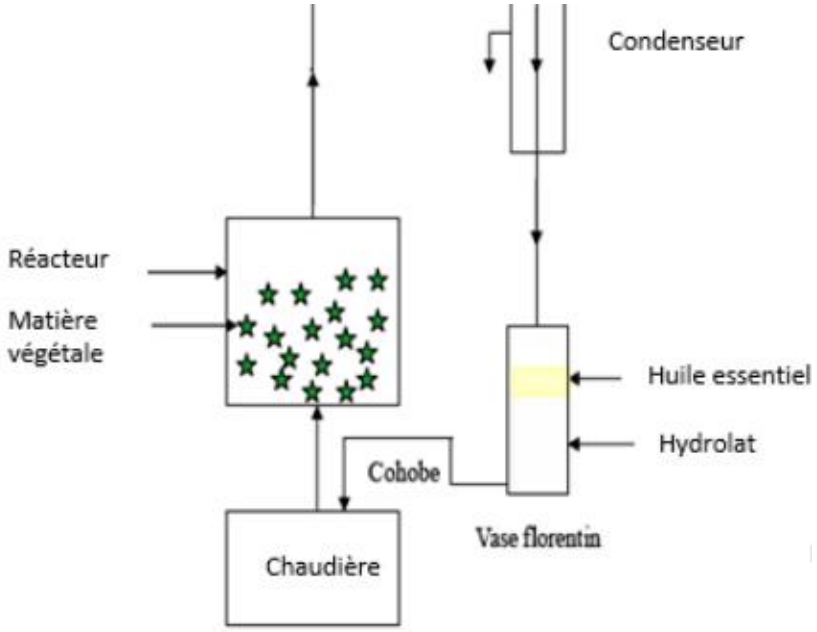


Figure16: principe schématisé de l'extraction par entrainement à la vapeur (EVE)

II.2.5.2. Macération :

La macération est une opération qui consiste à laisser tremper une certaine quantité de plantes sèches ou fraiche dans un liquide (eau , alcool, huile ou même du vin) pendant 12 à 18 heures pour les parties les plus délicates (fleures et feuilles) de 18 à 24 heures pour les parties dure, puis laisser à température ambiante .Avant de boire ,Il faut bien de filtrer. Cette méthodes est particuliérement indiquée pour les plantes riches en huiles essentielles et permet de ptofiter pleinement des vitamines et minéraux qu'elles contiennent (**Khetouta, 1987).**

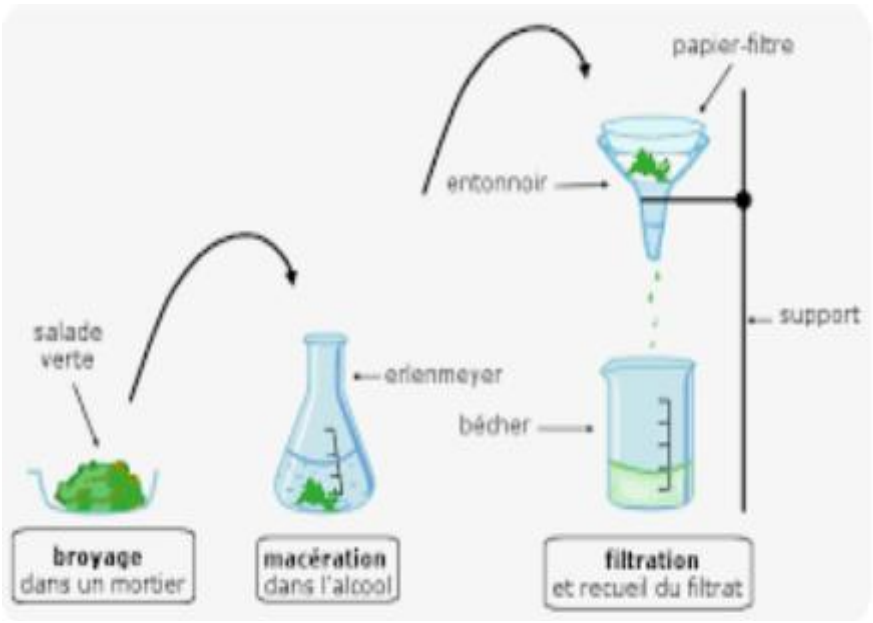


Figure 17: Extraction par Macération

II.2.5.3. Hydro-distillation :

Il s'agit de la méthode la plus simple et, de ce fait la plus anciennement utilisée. La matière végétale est immergée dans un alambic rempli d'eau, placé sur une source de chaleur, le tout est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et l'HE se sépare de l'hydrolysat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau, elle surnage au-dessus de l'hydrolysat (Figure).

En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques **(Lucchesi, 2005).**

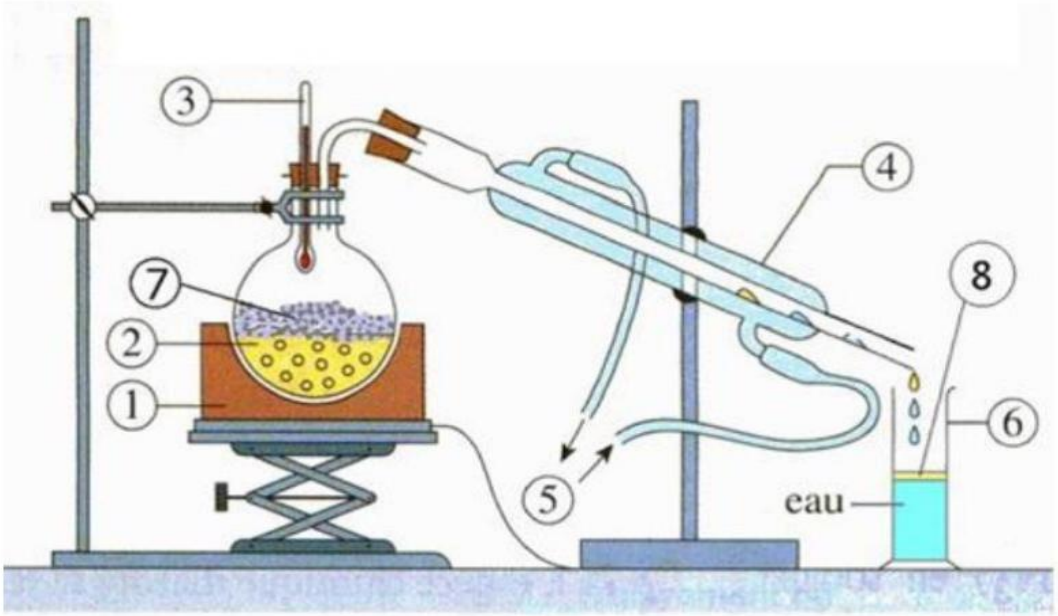


Figure18:Principe de la technique d'hydro distillation (Distillation simple) **(Lucchesi, 2005).**

Chauffe ballon	Entrée et sortie d'eau
Ballon	Erlenmeyer
Thermomètre	Matière à extraire l'essence
Réfrigérant	La couche d'huile essentielle

II.2.5.4.L'extraction à froid :

Elle constitue le plus simple des procédés, mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce des fruits comporte des proches sécrétrices d'essences. Ce procédé consiste à broyer ; à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les proches afin de libérer l'essence, le produit ainsi obtenu est appelé essence, car il n'a subi aucune modification chimique **(Roux, 2008).**

II.2.5.5.Extraction par des solvants :

Il s'agit d'extrait des plantes obtenu au moyen de solvants non aqueux (hexane et éther de pétrole), mais aussi de graisses, des huiles (absorption des composés volatils lipophiles par les corps gras). Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau.

Après distillation de l'alcool ; le produit obtenu est appelé «absolu», et sa composition se rapproche de celle d'une huile essentielle. L'extraction à l'aide de solvants organiques pose le problème de toxicité et de solvants résiduels **(Hernandez, 2005).**

II.3.les activités biologiques des métabolites secondaires :

II.3.1.Activité antioxydant :

Le stress oxydant se définit par un déséquilibre entre la production d'espèces radicalaires (ou réactives) de l'oxygène (ERO) et les capacités cellulaires antioxydantes. Les ERO ont longtemps été considérées comme des sous-produits toxiques du métabolisme normal de l'oxygène et impliquées dans de nombreuses pathologies. Cependant, depuis plusieurs années, la production contrôlée de radicaux apparaît comme un mécanisme essentiel de la signalisation cellulaire qui participe au maintien de l'homéostasie de la cellule **(Camille et Mireille, 2011)**.

Les résultats obtenus par **(el koli et al., 2017)**de l'activité antioxydante des extraits montré que l'extrait méthanolique possède un effet antiradicalaire contre le DPPH élevé. De nombreuses études sur l'activité antioxydante d'une grande variété de l'huile essentielle de B.incrassatum ont montré que cette activité est liée à la composition chimique. Cependant, la présence de certaines molécules (même minoritaires) telles que le carvacrol et le thymol (B.incrassatum en contient (1,41%) a été trouvée pour attribuer un haut degré de propriété antioxydante par synergie contre les radicaux libres **(Lu et al., 2001 ;Griffin et al.,1999)** et ils ont été trouvés comme de forts réducteurs de DPPH et inhibiteurs de la peroxydation lipidique.

Dans les travaux de **(Dahmani, 2018),** le teste de DPPH réalisé sur l'extraits de Carthamus caeruleus, a révélé que l'extrait méthanolique avait signalé un meilleur résultat comparativement aux résultats obtenus lors de traitement avec l'acide ascorbique. Un fort pouvoir antiradicalaire est noté pour l'extrait polyphénolique relativement élevée lié à la concentration de l'extrait. Ainsi que le test de DPPH est le plus fiable pour l'extraction polyphénolique. Par ailleurs, les travaux de **(Bellabes, 2018).** se sont focalisés sur les propriétés antioxydantes des huiles essentielles et des extraits d'hydrolat (obtenu par entrainement à la vapeur), par l'utilisation de trois méthodes différentes : l'activité de piégeage radicalaire (DPPH), L'auteur a utilisé une solution éthanolique et différentes concentrations des huiles essentielles et des extraits

d'hydrolat avec le BHT comme control positif et l'éthanol pur comme control négatif. Ce test a montré que les huiles essentielles ont la capacité de réduire le radical DPPH à 70% lorsqu'on les utilise à des concentrations faibles. Les extraits d'hydrolats présentent des activités de piégeage des radicaux les plus élevées IC 50 à (50.3%) avec des concentrations plus faibles et de valeur (2,6 mg/L)

II.3.2.Activité antimicrobienne :

Face au problème posé par les résistances des microorganismes aux antibiotiques classiques, il y a un besoin impérieux de renouvellement constant des principes actifs. Ces molécules recherchées doivent posséder diverses autres propriétés chimiques et utiliser de nouveaux mécanismes d'action contre ces microbes pathogènes Il est essentiel de procéder à l'évaluation des activités antimicrobiennes de ces plantes est nécessaire afin d'améliorer les prescriptions pour les tradipraticiens. Et aussi pour contribuer au développement des plantes médicinales, en mettant en avant leur potentiel thérapeutique dans la lutte contre les infections microbiennes **(Koffi et al., 2013).**

Lors de l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait hydro-méthanolique, hydro-éthanolique et les huiles essentielles de la partie racinaire de B.incrassatum à différents dilutions contre des souches bactériennes, (**GAGI et TOUBAL, 2018)** ont trouvé que l'effet de l'extrait hydro-éthanolique sur (P.aeruginosa, M.aureus,E.coli)est supérieur aux effets des antibiotiques (amoxicilline et pénicilline). Ces résultats indiquent que les extraits aqueux ; méthanolique et éthanolique de B.incrassatum ont eu des effets positifs sur toutes les souches.

Selon l'étude menée par (**Saffedine, 2015)** l'évaluation de la sensibilité des bactéries aux différentes fractions des extraits de racines et de feuilles de C.caeruleus a révélé des effets antibactériens significatifs et variables. Les fractions organiques (Ac1, Bu1) issues de l'extrait hydro-méthanolique, ainsi que les fractions (Ac2, Bu2) issues de l'extrait hydro-éthanolique et les fractions aqueuses ont montré une activité antibactérienne, avec des variations entre les bactéries Gram+ et Gram-. Les extraits de feuilles (AcF, AqF) ont présenté des effets différents de ceux des racines.

(Seffedine, 2015) a utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton agar pour évaluer la sensibilité des bactéries aux différentes fractions des extraits des racines et de feuilles de C.caeruleus (in vitro). Les diamètres des zones

d'inhibition autour des disques ont été mesurés en mm. Selon (**Biyiti et al., 2004)** un extrait est considéré comme actif s'il produit une zone d'inhibition supérieure ou égale à 10 mm. Le test a été réalisé sur 12 souches bactériennes, comprenant des bactéries Gram- et Gram+.

Staphylococcus aureus a montré une forte sensibilité aux fractions aqueuses Aq1 et AqF, avec un diamètre d'inhibition de 20 mm pour les deux fractions. En revanche, la fraction acétate d'éthyle Ac1 a montré une activité faible avec un diamètre d'inhibition de 7 mm pour l'extrait racinaire. Escherichia coli et Enterococcus faecalis ont présenté une activité modérée avec des diamètres d'inhibition de 10 mm et 11,5 mm respectivement pour la fraction Acl de l'extrait racinaire. La fraction acétate d'éthyle (AcF) a montré une activité très prononcée contre Escherichia coli avec un diamètre d'inhibition de 23 mm. Les fractions organiques (Ac1, Ac2, Bu1 et Bu2) des extraits racinaires ont montré des activités significatives similaires contre Acinetobacter baumanii et Bacillus cereus, avec des diamètres d'inhibition respectifs de 20 mm et 15 mm. La fraction aqueuse (AqF) a également montré une activité très prononcée contre Acinetobacter baumanii, avec un diamètre d'inhibition de 20 mm.

En revanche, aucune fraction d'extrait racinaire n'a montré d'efficacité contre Serratia marcescens, Salmonella typhimurium, Citrobacter freundii, Klebsiella pneumoniae, Listeria monocytogenes, Proteus mirabilis et Pseudomonas aeruginosa, à l'exception de la fraction AqF qui a montré un diamètre d'inhibition de 10 mm contre Pseudomonas aeruginosa.

II.3.3.Activité anti-inflammatoire :

La thérapeutique anti-inflammatoire repose généralement sur l'utilisation de médicaments synthétiques appelés anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), tels que les corticoïdes. Bien que largement utilisés, ces médicaments peuvent entraîner des effets secondaires graves, notamment une toxicité pour les reins et le système digestif **(Das, 2011).**

Selon une étude phytochimique sur les tubercules de la plante Bunium mauritanicum dont laquelle **Lebouazid et Meziani (2020)**.

Ont évalué l'activité anti-inflammatoire de cette dernière par la méthode de dénaturation des protéines. Notamment, Ils ont trouvé que le pourcentage d'activité anti-inflammatoire augmente avec l'augmentation des concentrations d'acide 2-acétique ou d'extraits méthanoliques des parties étudiées (feuilles). Il apparaît que l'activité anti-inflammatoire est fortement dépendante de la concentration de l'extrait, plus la concentration de l'extrait est élevée, plus le pourcentage d'activité est élevé. Ce qui montre que cette plante (Bunium mautinacum) de ce genre (Bunium) a un effet anti-inflammatoire positif et significatif sur plusieurs types d'inflammation.

Plusieurs recherches rapportent que les racines de C. caeruleus possèdent un effet anti-inflammatoire. L'activité anti-inflammatoire des extraits peut s'expliquer par la présence de composés polyphénoliques comme les tanins et les flavonoïdes **(Gonzalez et al., 2010).** En effet, les chercheurs ont démontré que l'extrait méthanolique de C.caeruleus est riche en flavonoïdes, ce qui explique leur efficacité contre l'œdème. De plus, de nombreuses études semblent indiquer que les polyphénols et les flavonoïdes sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, **(García et al., 2007)** d'autres flavonoïdes sont capables d'inhiber l'histamine(**Kim et al., 2014).**

L'expérience de **Ferhat et Belhadi (2016)**, a été réalisée sur l'extrait aqueux polyphénolique (obtenu par macération de la poudre des racines dans le méthanol) et la fraction flavonoique de C.caeruleus comparé à un produit de référence (l'indométacine). Ils ont procédé à la constitution de 4 lots de 6 souris pour chacun, dont le poids corporel est compris entre 19 et 29g. Le lot traité par l'extrait polyphénolique avait donné un résultat de 81.39 % contre 64.17% pour le lot traité par la fraction flavonoique et 57.22% pour le lot traité par l'indométacine (lot référence)

Chapitre Ⅲ:Matériels & Méthodes

Introduction

Notre travail a été effectué au niveau de laboratoire de biologie du département de science de nature et de vie à l'université de DR YAHIA FARES OUZRA à Médéa, et au l'entreprise de fabrication des produits pharmaceutiques SAIDAL (Médéa) dans la période de Février à Juin 2023.

Ⅲ.1.Objectif d'étude

Les objectifs de cette étude sont :

Préparations des extraits végétaux aqueux et méthanoliques de *Bunium incrassatum* et *Carthamus caeruleus.*

Etude photochimique des extraits des plantes.

Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de chaque plante selon la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion par disque

Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

Evaluation in vivo de l'activité anti-inflammatoire des extraits végétaux par la technique de d'œdème de la patte gauche de la sourie avec de le carragéenane.

Ⅲ.2.Matériels :

Ⅲ.2.1.Matériels biologiques :

- Pour cette recherche on a sélectionnée deux plantes médicinales :

Bunium incrassatum (Talghouda) *et Carthamus caeruleus* (Magheres ghars).





Bunium incrassatum | ***Carthamus caeruleus***

Figure 19: présentation des plantes étudiées Bunium incrassaturn et Carthamus caeruleus (originale)

- Nous avons choisi comme modèle expérimentale des sourie blanches pour tester l'activité anti-inflammatoire.

  L'étude de l'activité anti-inflammatoire a porté sur des souris provenant de l'animalerie de l'entreprise de fabrication des produits pharmaceutiques SAIDAL (Médéa).

- Les souches antimicrobiennes :

Tableau 6: les souches bactériennes utilisées

Souches	Gram	Code
Bacillus subtilis	Positive	ATCC 6633
Staphylococus aureus	Positive	ATCC 6538
Staphylococcus épidermidis	Positive	ATCC 12228

Escherichia coli	Négative	ATCC8739
Salmonella thyphimurium	Négative	ATCC 14028

Tableau 7: les souches fongiques utilisées

Souches	**Code**
Candida albicans	ATCC 10231
Saccharomyces cerevisiae	ATCC 9763

Ⅲ2.2.Appareillages :

Clevenger.
Autoclave pour stérilisation des matériels et les milieux de culture.
Disque vierge pour l'antibiogramme de 8mm.
Four.
Densitomètre.
Compteur des colonies automatique Scan 1200.
Agitateur magnétique (pour la préparation des milieux de culture et l'agitation des solutions).
Etuve pour l'incubation des micro-organismes et pour séchage de filtrat.
Spectrophotomètre UV-visible.
Pied à coulisse.
Ultrasons H-D.

III.2.3.Produit consommables :

Eau distillée	Méthanol (99.7%)	NaOH (1-10%)	D'iodure de potassium (KI)
Diiode (I_2)	Chlorure de Fer III ($FeCl_3$)	DPPH	Folin-ciocalteau
Acide ascorbique (Vitamine C).	Acide gallique	$AlCl_3$	Na_2CO_3

Ⅲ.2.4.Milieu de culture utilisé :

Le milieu de culture gélose Sabouraud.

Le milieu de culture Muller Hinton agar.

Le milieu de culture Muller Hinton bouillon.

Ⅲ.3.Méthodes :



Figure 20: Localisation des régions de récoltes Hannacha et El omaria (site web)

Tableau 8: Les plantes sélectionnée, la date et la région de récolte

Plante	**Partie utilisé**	**Région et date de récolte**	**Morphologie**
Bunium incrassatum	Tige et Racine	Médéa (Hannacha) Avril 2023	
Carthamus caeruleus	Feuille, tige et racine	Médéa (El omaria) Avril 2023	

Ⅲ3.1.Préparation des extraits :

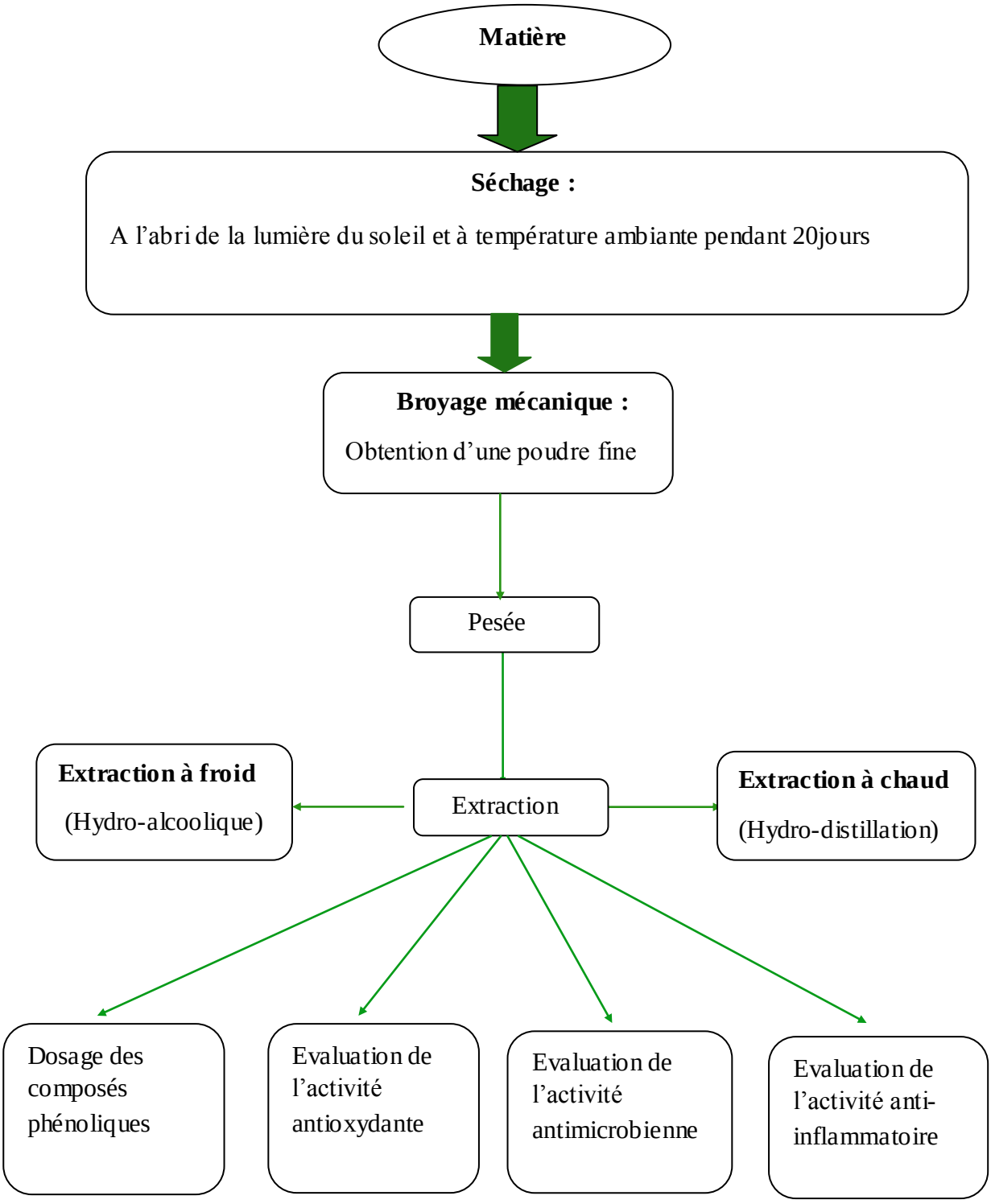


Figure 21: schéma illustrant la démarche expérimentale suivie dans cette étude

Ⅲ.3.2.Préparation du matériel végétal :

- ✓ **Séchage :** les deux plantes étudiées, sont rincée ensuite séchée à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant 20 jours.
- ✓ **Broyage :** les deux plantes ont été broyées à fin d'obtenir une poudre .



Séchage | **Broyage** | **Poudre végétale**

Ⅲ.3.3.Détermination de la matière sèche :

- **Principe :**La matière sèche s'agit d'un résidu sec résultant de la déshydratation (élimination de l'eau) d'un produit. Elle est déterminée par séchage à l'étuve de l'échantillon par l'application de la méthode décrite ci-après.
- **Protocole**

✓ Mettre une prise d'essai dans un creuset en porcelaine sèche et tarée (tare t), peser la masse (m) de cet échantillon.

✓ Renfermer l'échantillon dans l'étuve à 105°C, jusqu' à l'obtention d'une masse constante de celui-ci.

✓ Laisser l'échantillon se refroidir dans un dessiccateur et peser l'ensemble de masse (M_0).

✓ La teneur en MS est donnée par la relation suivante :

$$\%MS = \frac{100 \times (M_0 - mt)}{m}$$

Tel que :

-m : masse d`échantillon initiale.

-M_0 : masse de la matière sèche plus la tare.

-mt : la tare.

-MS% : pourcentage de la matière sèche **(Hanni et Gheraba, 2016).**

Ⅲ.3.4. Détermination de la matière minérale :

- **Principe**

Tous matériaux ne contiennent pas des matières organiques sont dites minérales. Donc, afin d'obtenir la matière minérale il faut éliminer la matière organique complètement de l'échantillon concerné et ça se fait par calcination de cet échantillon dans un four, en suivant le protocole ci-dessous.

- **Protocole**

✓ Faire entrer l'échantillon sec obtenu dans le four à 550°C pendant 6 heures. Mettre l'échantillon dans un dessiccateur pour se refroidir et peser l'ensemble de masse (Mм).

✓ Le pourcentage de la matière minérale correspond au rapport du poids entre la matière minérale (Mм) et la matière sèche (M_0) :

$$\%MM = \frac{100 \times (M_M - t)}{(M_0 - t)}$$

Tel que :

- Mм : masse de la matière minérale plus la tare.

-M_0 : masse de la matière sèche plus la tare.

-t : la tare.

-MM%: pourcentage de la matière minérale **(Hanni et Gheraba, 2016).**

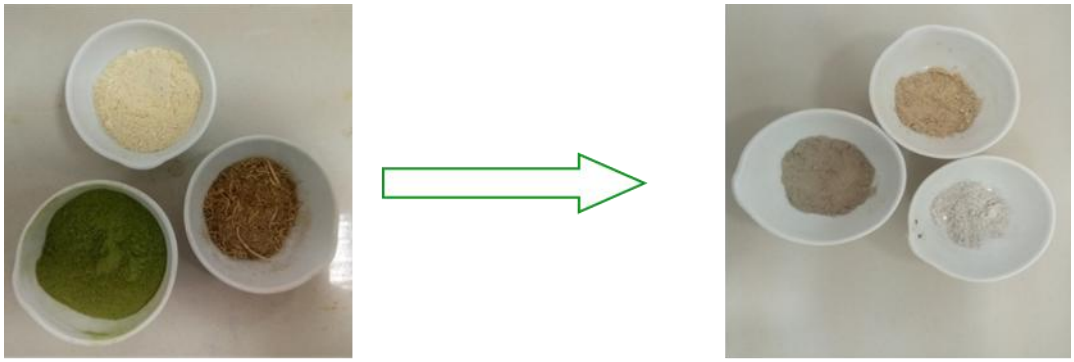


Figure 22: la matière végétale avant et après l'incinération (originale)

Ⅲ.3.5.Cendres solubles et insolubles dans l'eau

- **Principe :**

Les cendres sont des résidus de la combustion, de l'incinération de diverses matières organiques et minérales. Elles peuvent être utiles dans certains aliments, comme par exemple ; l'évaluation du contenu en fruits des confitures.

- **Protocole**

✓ Dissoudre la partie soluble des cendres totales dans un erlenmeyer contenant de l'eau chaude.

✓ Filtrer le contenu sur un papier filtre.

✓ Incinérer les résidus insolubles sur le papier filtre, afin de bruler le papier.

✓ Peser les cendres insolubles.

✓ Le pourcentage des cendres solubles est déterminé en utilisant la formule :

$$\%\text{Cendres soluble et insoluble} = \frac{\text{Mcendre} - \text{MMi}}{\text{Méchantillon}} \times 100$$

Tel que :

-MMi: masse des cendres insolubles.

Ⅲ.3.6.Détermination de la matière organique :

La matière organique correspond à la différence entre la matière sèche et la masse des cendres (matière minérale). Elle est déterminée par la formule suivante **(Hanni et Gheraba, 2016).**

$$\%MO = 100 - \%M_M$$

Tel que :

- %MO : pourcentage de la matière organique.

Ⅲ.4. Screening phytochimique :

La réalisation des tests phytochimiques est de détecter les différentes familles des métabolites secondaires existant dans les divers organes de la plante, par des réactions quantitatives, caractérisé par la formation d'une coloration correspondant à la réaction.

- ***Préparation d'infusé :***

L'infusé est préparé à partir de 5g de poudre (feuilles ou racines) dans 100 ml d'eau bouillant dans un erlenmeyer. Après 15 min, le contenu est filtré pour avoir 100 ml d'infusé à 5% **(Hanni et Gheraba, 2016).**

Ⅲ.4.1. Détection de composés phénoliques et de tanins

Quelques gouttes de chlorure de fer (III) ($FeCl_3$) ont été ajoutées à 2 ml de l'infusé préparé auparavant. L'apparition d'une coloration bleu-vert ou noir indique la présence de phénols et de tanins dans l'échantillon étudié **(Hanni et Gheraba, 2016).**

Ⅲ.4.2. Détection de flavonoïdes :

Dans un tube à essai contenant une quantité d'infusé, quelques gouttes de solution de l'hydroxyde de sodium (NaOH). La formation d'une coloration jaune intense, qui devient incolore après l'addition d'un acide dilué, révèle la présence de flavonoïdes **(Hanni et Gheraba, 2016).**

Ⅲ.4.3.Détection d'alcaloïdes :

- **Solution à analyser :**

1g de poudre (racines ou feuilles) est ajoutée à 100 ml de méthanol, agitée ensuite filtrée pour avoir 100 ml de solution à analyser **(Hanni et Gheraba, 2016).**

- **Protocole :**

La détection des alcaloïdes consiste à traiter la solution à analyser par une autre solution formée par 0.16 g d'iodure de potassium (KI) et 0.015 g de diiode (I_2) dans 10 ml d'eau. Une coloration rouge-brune indique que les alcaloïdes sont présents dans l'échantillon à tester.

Ⅲ4.4. Saponosides :

- **Solution à analyser :**

Elle est composée d' 1 g de poudre (racines ou feuilles) dans 100 ml d'eau bouillon. Après 15 min, la solution est filtrée pour donner un décocté de 1% **(Hanni et Gheraba, 2016).**

- **Protocole :**

✓ 1,2,…. ,10 ml du décocté à 1% ont été déversés successivement dans 10 tubes à essais.

✓ Le volume des 9 premiers tubes a été ajusté à 10 ml avec de l'eau distillée.

✓ Les tubes à essai sont agités dans le sens de la longueur pendant 15 secondes, puis laissés au repos pendant 15 min.

✓ La hauteur de la mousse dans chaque tube est mesurée.

Remarque : le tube à essai dans lequel la hauteur de la mousse est de 1cm indique la valeur de l'indice de mousse :

Indice de mousse = $\mathbf{1000/}\boldsymbol{N}$

N : numéro du tube dans lequel la hauteur de la mousse atteint 1cm **(Hanni et Gheraba, 2016).**

Ⅲ.5. Méthodes d'extraction:

Ⅲ.5.1. Extrait méthanolique :

Une quantité de 25g de poudre a été mise à macérer dans 250 ml de méthanol aqueux (80/20%) sous agitation magnétique pendant 24h à une température ambiante. La solution est ensuite filtrée sur un papier filtre, puis séchée à l'étuve à 40°C, les extraits obtenus sont ensuite broyés à l'aide d'un mortier puis conservé dans des boîtes stériles jusqu'à leur utilisation.

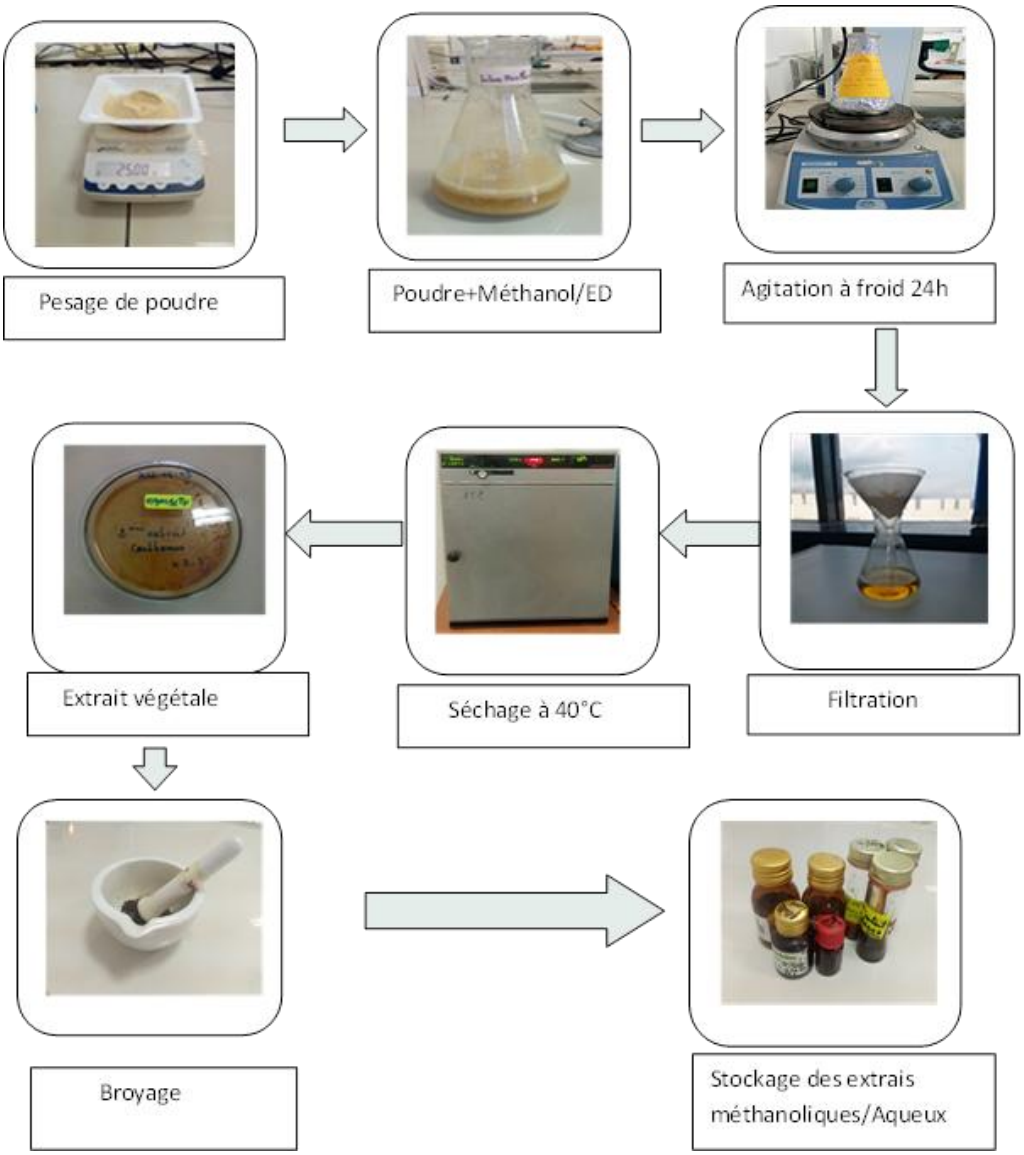


Figure 23: illustration des différentes étapes d'obtention des extraits phénoliques (originale)

Ⅲ.5.2. Extrait aqueux :

Une quantité de 10g de poudre a été mise à macérer dans 100 ml d'eau distillée sous agitation magnétique pendant 24h à la température ambiante. La solution est ensuite filtrée, puis séchée à l'étuve à 40°C, les extraits obtenus sont ensuite broyés à l'aide d'un mortier puis conservé dans des boites stériles jusqu'à leur utilisation.

Ⅲ.5.3. Extraction des huiles essentielles par hydro-distillation :

Les huiles essentielles sont des substances fragiles, rares et précieuses, obtenues avec des rendements très faibles, généralement de l'ordre de 1%. Parmi les différentes méthodes d'extraction des huiles essentielles, l'hydro-distillation est souvent citée **(El Haib, 2011).**

- **Principe :**

L'application de chaleur provoque la rupture des cellules végétales, libérant ainsi les molécules odorantes qu'elles renferment. Ces molécules aromatiques se mélangent avec la vapeur d'eau, formant un azéotrope. Les vapeurs sont ensuite refroidies dans un condenseur, permettant ainsi la séparation des huiles essentielles de l'eau en raison de leur différence de densité **(El Haib, 2011).**

- **Protocole**

✓ 60g de poudre de racines de Carthamus caeruleus est Immergée dans un ballon contenant 600ml d'eau distillée.

✓ Le ballon est placé sur une source de chaleur.

✓ Le tout est porté à ébullition pendant 4 heures.

✓ Les vapeurs chargées d'huile ; en traversant un réfrigérant se condensent et se distingue de l'hydrolat (eau aromatique) par sa différence de densité et de couleur. On la sépare de celui-ci par décantation. On a récupérée et conservée dans des flacons de couleur brune, hermétiquement fermés et stockés dans un endroit frais (4°C) à l'abri de la lumière.





Figure 24 : Montage d'extraction par hydro distillation (Clevenger) et l'huile essentielle de Carthamus caeruleus (originale)

Ⅲ.5.4.Calcul du rendement :

Le rendement est le rapport entre le poids de l'extrait sec et le poids de la plante à traiter. Le rendement, exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$\%R = \frac{m}{M} \times 100$$

Tels que :

R: le rendement en %.

m: la masse après séchage.

M: la masse de la plante initiale

Ⅲ.5.5.Détermination des constantes physico chimiques :

- **Indice de réfraction :**

La mesure de l'indice de réfraction des huiles essentielles a été effectuée à l'aide d'un réfractomètre par lecture directe **(Kaskoos, 2014).**

- **Mode opératoire :**

✓ Après avoir fait nettoyer le réfractomètre 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.

Ⅲ.6.Analyse quantitative :

Ⅲ.6.1. Dosage des polyphénols totaux :

- **Principe :**

Le principe de dosage des phénols totaux repose sur les capacités réductrices des complexes ioniques polymériques formés à partir des acides phosphomolybdiques et phosphotungstiques (réactif de Folin-Ciocalteu) par les composés phénoliques [90]. Il en résulte la formation d'un complexe bleu qui accompagne l'oxydation des composés phénoliques et qui est stabilisé par l'addition de carbonate de sodium($NaCO_3$).

Le dosage des phénols totaux est effectué par la comparaison de l'absorbance observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue **(Singleton et Rossi, 1965).**

- **Mode opératoire**

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par **(Singleton et Ross, 1965)**. Avec quelque modification.

Dans un tube à essai on met 0.2ml de chaque extrait convenablement dilué est ajouté à 1ml du réactif de Folin-ciocalteux (1/9 dilué dans l'eau distillée) après 5 min 0.8ml d'une solution de carbonate de sodium (7.5 %) sont ajoutés, après 1heures

d'incubation à température ambiante, l'absorbance est lue à 760 nm par un spectrophotomètre UV.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations. La concentration des polyphénols est calculée à partir de la droite d'étalonnage établie avec l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait).

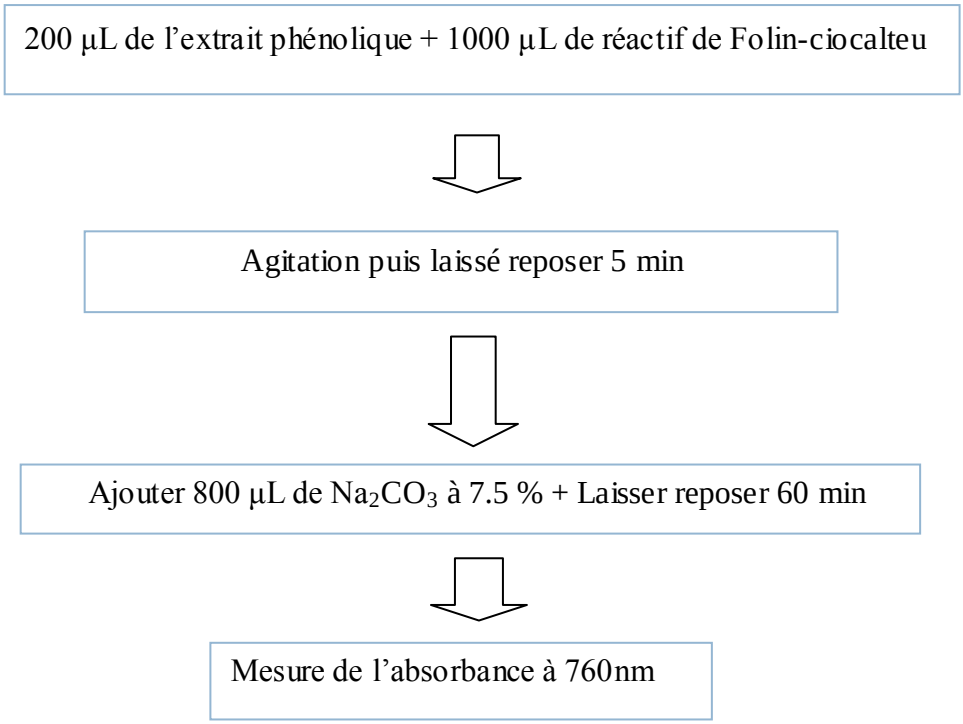


Figure 24: Protocole de dosage des polyphénols totaux

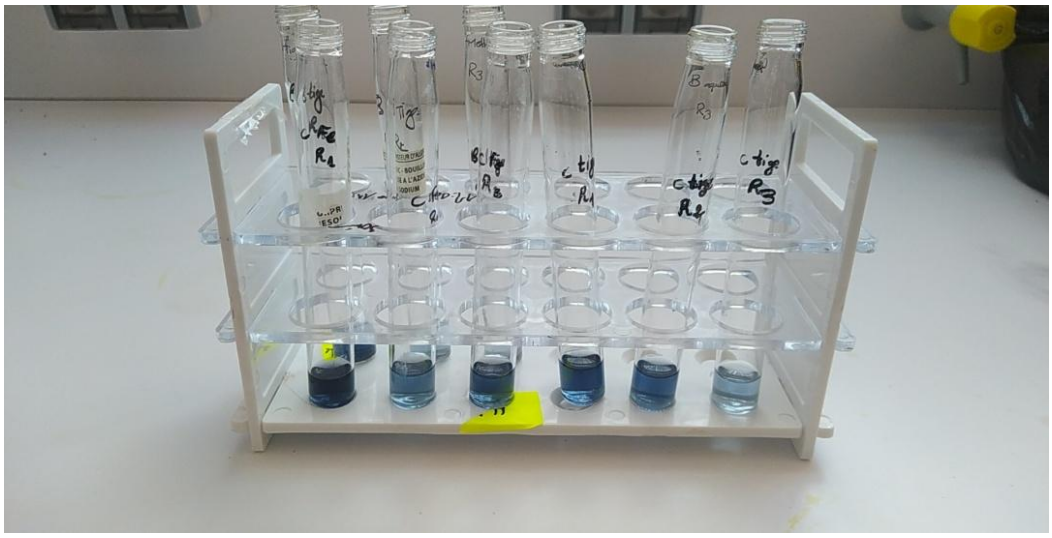


Figure 25: Virage de couleur des extraits dans le dosage des polyphénols

Ⅲ.6.2. Dosage des flavonoïdes :

- **Principe :**

La quantification du contenu flavonoïdes des différents organes de la plante est estimée par la méthode du trichlorured'aluminium (AlCl3) **(Hanni et Gheraba, 2016)**. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par ce réactif (AlCl3), elle entraîne la formation d'un complexe brunâtre qui absorbe à 510 nm. La comparaison de l'absorbance observée à celle obtenue par un étalon la quercétine de concentration connue permet d'évaluer la teneur totale en flavonoïdes.

- **Mode opératoire**

Le protocole utilisé est celui décrit par **Ayoola.G. et Odugbemi T. O,** dans des tubes à essai, un volume de 1mL de AlCl3 (2%) est rajouté à 1ml de l'extrait de la plante (solution méthanolique /aqueux), incuber 30 minutes à une température ambiante. On observe un changement de couleur en jaune dont l'intensité dépend à la teneur en flavonoïdes. La concentration sera déterminée en fonction de l'absorbance mesurée à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre et contre un blanc qui ne contient que le milieu réactionnel (sans l'échantillon).

Les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en mg d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS) ; en se référant à une courbe d'étalonnage préalablement préparée avec la quercétine.

1000 µL de l'extrait phénolique +1000 µL d'AlCl3 (2%) préparé à l'instant

↓

Agitation (passer au vortex) puis laissé reposer 10 min

↓

Mesure de l'absorbance à 430nm

Figure 26: Protocole de dosage des flavonoïdes totaux

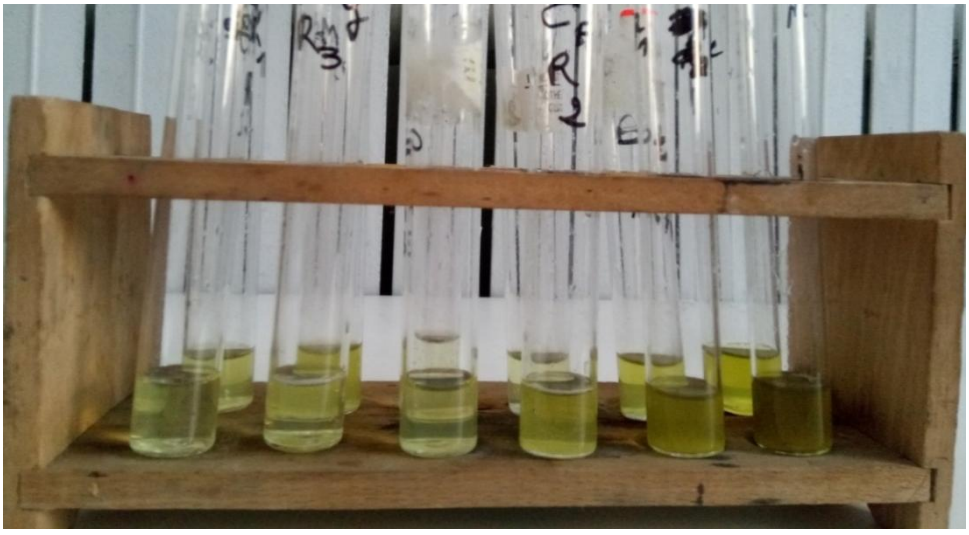


Figure 27: Virage de couleur des extraits dans le dosage des flavonoïdes (originale)

Ⅲ.7.Evaluation des activités biologiques :

Ⅲ7.1.Activité antioxydante:

Ⅲ.7.1.1.Piégeage du radical DPPH :

- **Principe :**

Le test DPPH a été largement utilisé pour évaluer l'efficacité de piégeage des radicaux libres de diverses substances antioxydantes **(Knežević et *al*,.2011).** Cette

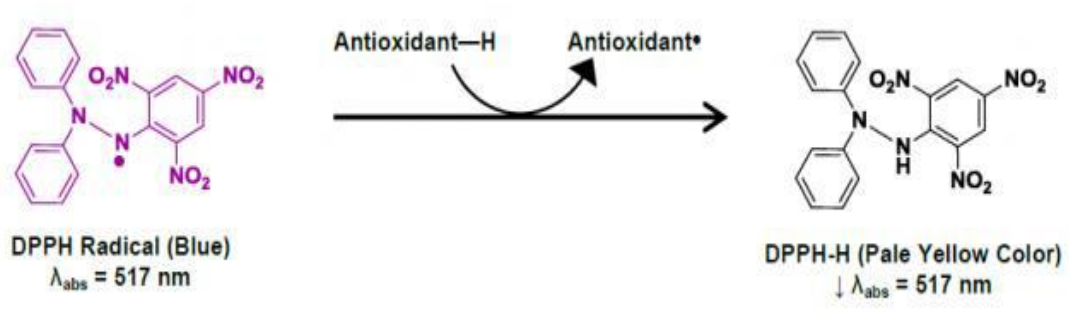


Figure 28: Réaction du piégeage du radical libre DPPH 2,2-diphényl-1-pycril-hydrazyl parun antioxydant **(Pisoschi, Cheregi et Danet, 2009)**

méthode est basée sur la capacité des antioxydants à réduire le radical libre 2,2-diphényl-1-pycril-hydrazyl, soit par un mécanisme de libération d'un atome d'hydrogène du groupement hydroxyle, soit par libération d'un électron. Le radical a un maximum d'absorption mesurable par spectrophotométrie à 517 nm et sa neutralisation par un antioxydant peut-être facilement suivie par spectrophotométrie UV/vis **(Afonso et *al*,.2016).**

- **Mode opératoire :**

  - **Préparation de DPPH :**

La détermination de l'activité antiradicalaire par le test de DPPH a été effectuée en utilisant la méthode décrite par **(Guillouty, 2016)** légèrement modifiée. Une solution méthanolique de $DPPH^{\cdot}$ a été préparée en dissolvant 4 mg de ce produit dans 100 ml de méthanol.



Figure 29: Solution méthanolique de DPPH (Originale)

- ***Préparation des extraits :***

Les extraits méthanoliques et aqueux ont été dissous dans une solution de méthanol/ d'eau distillée.

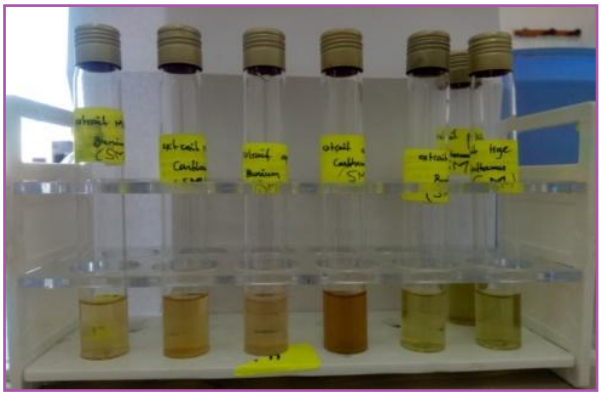


Figure 30: les solutions préparer des extraits (Originale)

- **Mode opératoire :**

Un volume de 0.1ml de ch acune des solutions méthanoliques des extraits testées (HE, racines, feuilles et tiges) à différentes concentrations a été ajouté à 3.9 ml de la solution méthanolique du DPPH fraichement préparée. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à température ambiante la lecture des absorbances a été effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

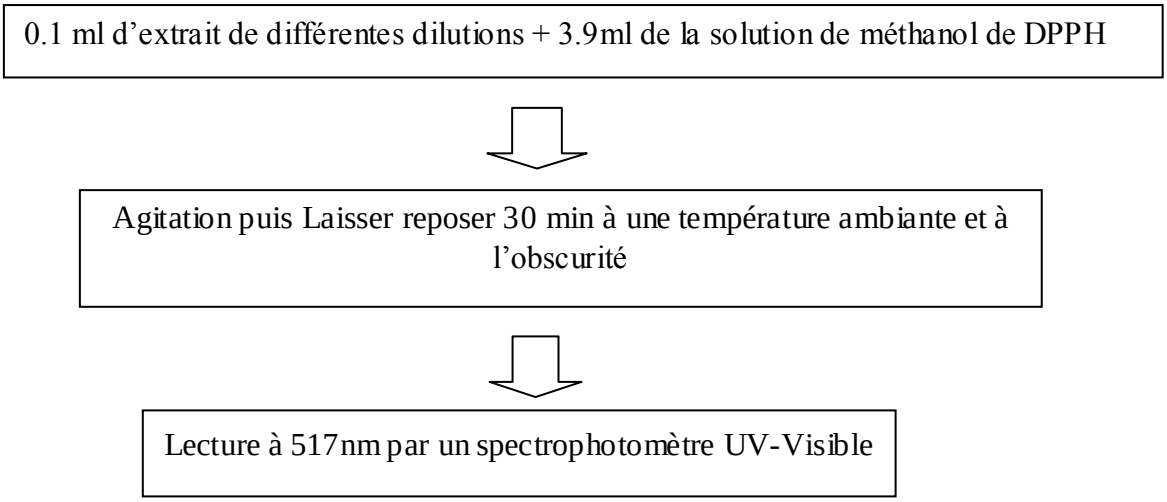


Figure 31: protocole de l'activité anti oxydante des extraits

Le pourcentage de l'activité antioxydante (**AA%)**est donnée par la formule suivante :

$$\mathbf{AA\%} = \frac{AbsSC - AbsEssai}{AbsSC} \times \mathbf{100}$$

Tel que :

- **AA :** l'activité antioxydant.
- **Abs :** absorbance à longueur d'onde de 517nm **(Benhaoua, 2016).**

- **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 **(Saffidine , 2015).**



Figure32: Virage de couleur des extraits dans l'activité antioxydant DPPH (originale)

Ⅲ7.2.Activité antimicrobienne :

L'étude de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la méthode de diffusion sur disque (antibiogramme) pour tester la résistance et la sensibilité des souches aux extraits après on a déterminé les valeurs de CMI sur milieu liquide.

Ⅲ7.2.1.Principe de l'antibiogramme :

La réalisation d'un antibiogramme consiste à la recherche de la sensibilité d'une bactérie envers un nombre donné d'antibiotiques. Parmi les multiples méthodes appliquées, celle dite de diffusion en milieu gélosé qui s'avère la plus utilisée pour la réalisation d'un antibiogramme. Cela consiste à placer un disque de papier imprégné d'antibiotique sur la gélose inoculée au préalable. L'antibiotique diffuse dans le milieu en provoquant un gradient de concentration décroissant autour du disque **(Carson, Rilley et Bosque, 2002).**

Ⅲ7.2.2.Préparation des milieux de culture :

Les bactéries ont été ensemencées sur des milieux de culture à base de gélose Mueller Hinton, tandis que les levures ont été cultivées sur des milieux de culture à base de gélose Sabouraud.

Ⅲ7.2.3.Préparation de l'extrait :

Les extraits hydro-alcooliques, aqueux et les huiles essentielles ont été solubilisés dans le DMSO. Les tests antimicrobiens ont été réalisés en utilisant quatre concentrations différentes : Sm, D_1 ,D_2,D_3.

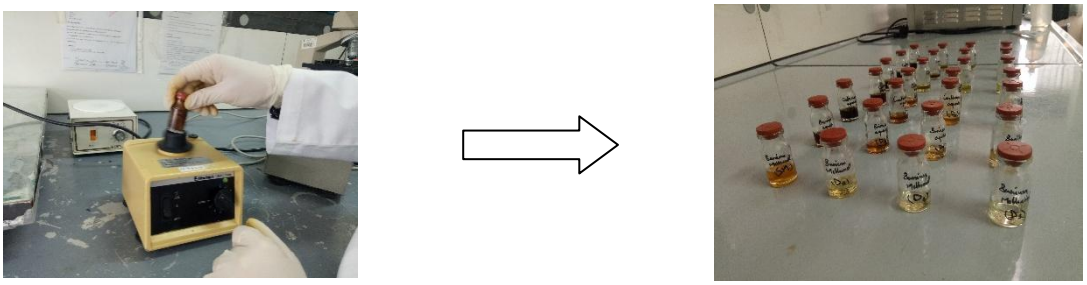


Figure 33: Préparation des extrais hydro-alcoolique, aqueux et des huile essentielle (Originale)

Ⅲ7.2.4.Activité antibactérienne :

- **Préparation de l'inoculum :**

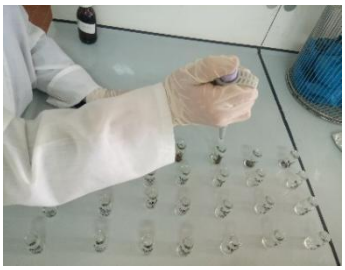
A l'aide d'une anse de platine 3 à 5 colonies bien isolées de chaque souche bactérienne sont raclées. L'anse est déchargée dans des tubes contenant de l'eau physiologique stérile à 0.9%, le contenu des tubes est mélangé pour obtenir une suspension bactérienne bien homogénéisée avec une opacité équivalente de 0.5 Mc Farland. Ce qui est traduit par une absorbance comprise entre 0.08 et 0.1 à 625 nm.

- **Mise en test :**

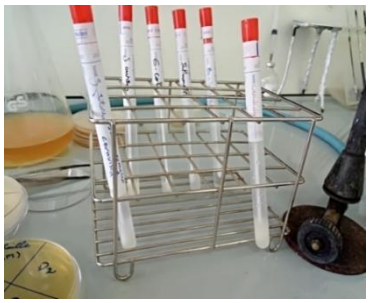
Un écouvillon est imprégné dans les tubes de suspension, puis essoré en pressant contre les parois internes du tube, l'ensemencement est fait en stries serrés de haut en bas pour avoir une tapie qui couvre toute la surface de la boite de pétrie.

Dans des conditions aseptiques, des disques de 9 mm de diamètre sont préalablement imbibés dans chaque concentration de l'extrait (hydro-alcoolique, aqueux et de l'huile essentielle) dissous dans le DMSO et sont placés à l'aide d'une pince sur les boites de pétri, à raison de 4 disques pour chaque boite. Le DMSO utilisé comme étant un témoin négatif et l'antibiotique de référence amoxicillin a été utilisé comme témoins positifs. Les boites de pétri sont par la suite incubées à 37°C pendant 24 h. Les

diamètres des zones d'inhibition formées au tour des disques sont mesurés et enregistrés à l'aide de pied à coulisse digital. L'expérience a été effectuée trois répétitions.



Préparation de l'extrait



Préparation des



Ensemencement des boites



Distribution des disques imbibés

Ⅲ7.2.5.Activité antifongique :

L'activité antifongique des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé cité par Sacchetti et ses collaborateurs **(Sacchetti et *al.*, 2005)**. Une ou plusieurs colonies de chaque culture des levures après leur réactivation sont prélevées et transférées dans des tubes contenant de l'eau physiologique afin d'avoir des suspensions de 10^5 spores/ml pour les levures **(Yazdani et *al.*, 2012).** Un prélèvement à partir de cet inoculum sert à ensemencer de nouvelles boites de Pétri contenant le milieu gélose

Sabouraud par la technique d'écouvillonnage. Des disques whatman stériles de 9 mm de diamètre sont imprégnés dans les différentes concentrations des différents extraits de chaque partie des plantes étudiés (aqueuse, hydro-alcoolique et de l'huile essentielle) dissous dans le DMSO, puis ils seront placés sur les boites pétri. Les différentes souches ont été incubées 48 h à 37 °C, Le Chlorotétracycline et le DMSO ont été utilisés comme contrôles positif et négatif respectivement. L'activité antifongique des différents extraits a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition.

Ⅲ.7.2.6.Détermination de la concentration minimale inhibitrice :

Cette technique consiste à inoculer, par un inoculum standardisé, une gamme de concentration décroissante en extraits. Après incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration en extrait capable d'inhiber la croissance bactérienne

- **Technique de macro-dilution en milieu liquide :**

- **Préparation des extraits :**

Les extraits hydro-alcoolique et aqueux des deux plantes et l'huile essentielle de *Carthamus caeruleus* ont été dissous dans le DMSO.

- ***Mode opératoire :***

500 µL de l'extrait à tester sont placés dans un tube stérile contenant 4,5 mL de milieu MHB. Une dilution en cascade est effectuée dans du milieu MHB.13 µL d'un inoculum bactérien, de densité équivalente au standard 0,5 de Mac Farland, sont déposés dans chacun des tubes de la gamme, lesquels sont ensuite placés à 37°C, pendant 24 heures. Un témoin de la croissance bactérienne, pour lequel 13 µL de l'inoculum standardisé ont été déposés dans du milieu MHB, est également réalisé **(Guinoiseau, 2010).**

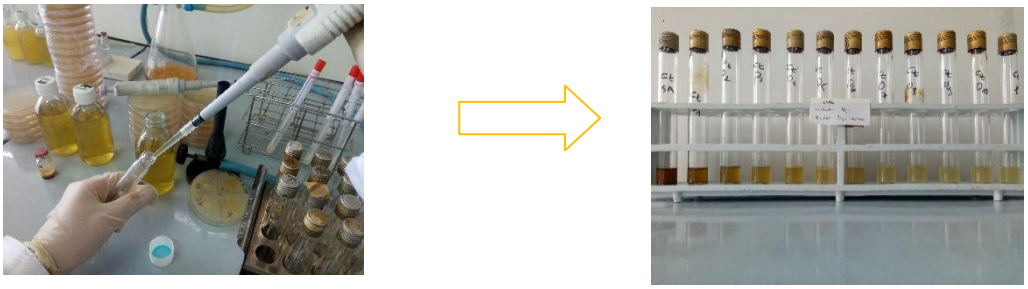


Figure 34: Détermination de la concentration minimale inhibitrice en milieu liquide (Originale)

Ⅲ.7.3.L'activité anti-inflammatoire :

- **Principe :**

L'injection de carragéenane sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure des rats entraîne l'apparition d'un œdème. L'intensité de cet œdème est évaluée grâce à l'augmentation du volume de la patte (par rapport au volume initial). L'inflammation causée sera diminuée en présence de l'extrait ayant une activité anti-inflammatoire **(Winter et *al.*, 1992) .**

- **Mode opératoire :**

L'œdèmede la patte induit par le carraghénane chez les souris a été évaluée selon la méthode **d'Elion Itou et ses collaborateurs (2014).** Dans cette étude, des groupes de 3souris (18-20g) sont formés. Au moment de l'expérimentation, peser les souris, les repartir en deux lots homogènes et déterminer les volumes des pattes au temps To. Les souries constituant le groupe tests sont traités par voie intrapéritonéal de l'extrait.

hydméthanolique de *B.incrassatum* et *C.caeruleus* aux dose de 500mg/ kg. 30min après, l'injection de 0.2 mL de la λ-carraghénane à 1% a été effectuée par voie sous-cutanée au niveau de l'aponévrose de la patte postérieure droitedes souries. Les souries du groupe contrôle positif sont traités avec 2 mL de Diclofénac par voie intrapéritonéal 30min avant l'injection intrapéritonéale de la carraghénane. Les souries du groupe contrôle négatif sont traités avec 2 mL de NaCl 0.9% par voie intrapéritonéal 30min avant l'injection de la carraghénane. L'effet anti-inflammatoire a été évalué en mesurant l'épisseur de l'œdème de la patte ayant reçu la carraghénane 1 % à 30min, 1h, 1h30min à l'aide d'un pied à coulisse. Le pourcentage d'augmentation (% AUG) de l'œdème est calculé pour chaque groupe. Il est donné par la formule suivante :

$$\% \mathbf{AUG} = \frac{Dn - D\ 0 * 100}{D\ 0}$$

Dn : diamètre de la patte la n^{ième} heure après l'injection de la carragéenane.

D0 : diamètre de la patte avant l'injection de la carragéenane.

Le pourcentage d'inhibition (%INH) de l'œdème est calculé pour chaque groupe traité par rapport au lot témoin. Il est obtenu par la formule suivante :

$$\% \mathbf{INH} = \frac{\% AUGtémoin \quad - \% AUGtrait\ é * 100}{\% AUGtémoin}$$

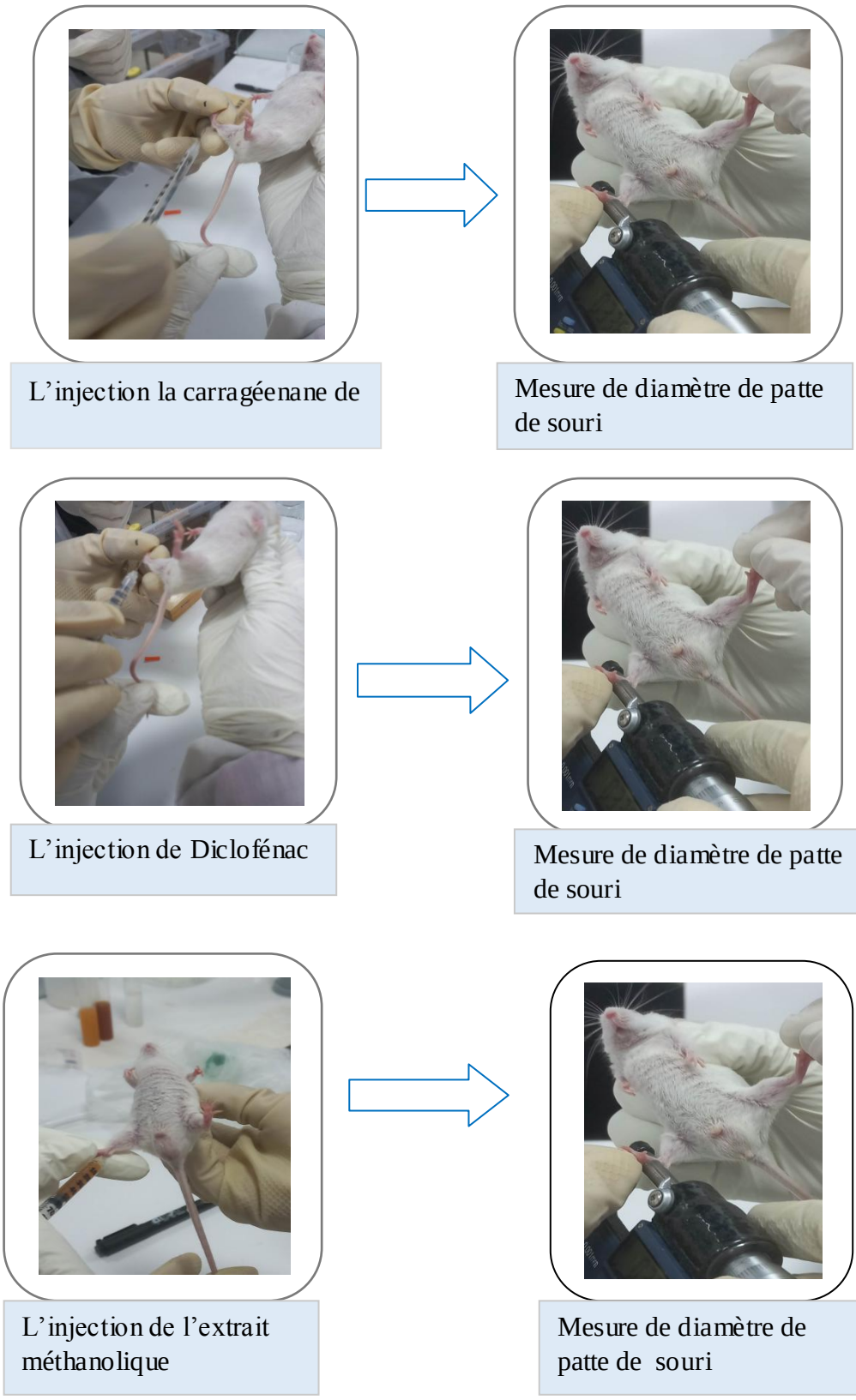


Figure 35: les étapes de l'activité anti-inflammatoire (originale)

Chapitre VI: Résultats et discussions

Ⅵ.1.Détermination de la composition chimique :

III.1.1.Détermination de matière sèche, minérale, organique, cendres solubles et insolubles :

Les expérimentations menées sur *B.incrassatum* et *C.caeruleus* pour évaluer leur composition en matière sèche, minérale, organique, ainsi que leurs cendres solubles et insolubles ont abouti à des résultats qui sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau9:composition chimiue de *B.incrassatum* et *C.caeruleus*

Composition chimique	Echantillons		Résultat
Matière sèche	*Carthamus caeruleus*	Racine	92.33%
		Feuille	93.9%
	Bunium incrassatum	Racine	92.5%
Matière minérale	*Carthamus caeruleus*	Racine	3.1%
		Feuille	4.63%
	Bunium incrassatum	Racine	8%
Cendre soluble et insoluble	*Carthamus caeruleus*	Racine	1.80%
		Feuille	2.16 %
	Bunium incrassatum	Racine	7%
Matière organique	*Carthamus caeruleus*	Racine	96.9%
		Feuille	95.37%
	Bunium incrassatum	Racine	91.2%

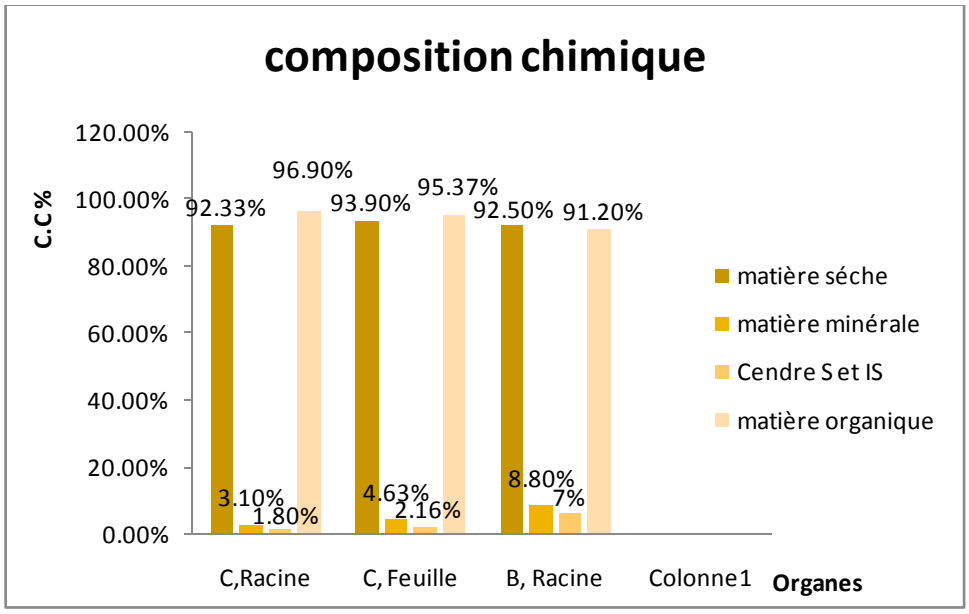


Figure 36: Taux des compositions chimique de B.incrassatum et C.caeruleus

D'après les résultats présentés dans **le tableau 9** Et **la figure 37**, la plante *B.incrassatum* présente une teneur en matière sèche de 92,5% dans ses racines, tandis que pour la plante *C.caeruleus*, les feuilles affichent un taux de matière sèche de 93,9% et les racines un taux de 92,33%.

En ce qui concerne la teneur en matière minérale, les racines de *B.incrassatum* contiennent 8% de matière minérale, les racines de *C.caeruleus* 3,1% ,4.63% pour les feuilles.

En outre, les résultats du test de la cendre soluble et insoluble, les racines de *B.incrassatum* présentent une valeur de 7%, les racines de *C.caeruleus* ont une valeur de 1.80% et les feuilles ont une valeur de 2.16%.

En ce qui concerne la matière organique, les racines de *B.incrassatum* ont une teneur de 91,2%, tandis que les racines de *C.caeruleus* ont une teneur de 96,9% et les feuilles de *C. caeruleus* une teneur de 95,37%.

Ces résultats permettent de quantifier les proportions de matière minérale et organique présentes dans les différentes parties des plantes étudiées. Ils fournissent des

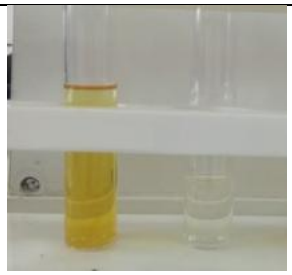
informations utiles pour comprendre la composition chimique et les caractéristiques des extraits de ces plantes médicinales.

VI.1.2. Analyse qualitative de la composition chimique de deux plantes étudiées :

Le criblage phytochimique nous a permis de caractériser différents groupes chimiques présents dans les plantes, tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les saponines, les alcaloïdes, etc.

Les tests de détection des groupes chimiques responsables des effets thérapeutiques basés sur l'apparition des couleurs spécifiques pour chaque groupe ont fournis les résultats représentés dans **le tableau10 :**

Tableau 10: Screening phytochimiue des extraits des plantes étudiées

Plante	*B.incrassatum*	*C.caeruleus*		
	Racine	Racine	Feuille	
Polyphénols et tanins	+	+	+	
Flavonoïde	+	+	+	
Alcaloïde	–	–	+	

Saponoside	−	−	+++	

Test positive (+), Test négative (−).

Les tests phytochimiques des racines séchées de *B.incrassatum* ont montrés une richesse en polyphénols et tanins. Par contre les dérivés : Alcaloïdes et les saponosides ont été testés négativement.

En ce qui concerne les feuilles de *C.caeruleus,* ils se sont révélé que les feuilles de la plante sont caractérisées par une forte proportion des alcaloïdes, polyphénols et tanins, flavonoïdes, saponosides. Pour les racines de *C.caeruleus,* soulemment les polyphénols et tanins testés positivementpar contre les alcaloides et sapnosidesontété testés négativement.

VI.2.Détermination de rendement des extraits de deux plantes étudient :

L'estimation quantitative de rendement en pourcentage des extraits et des huiles essentielles dans les différentes parties de *B.incrassatum* et *C.caeruleus,* est résumée dans l'histogrammes suivant **(Figure 38 et Figure 39)** :

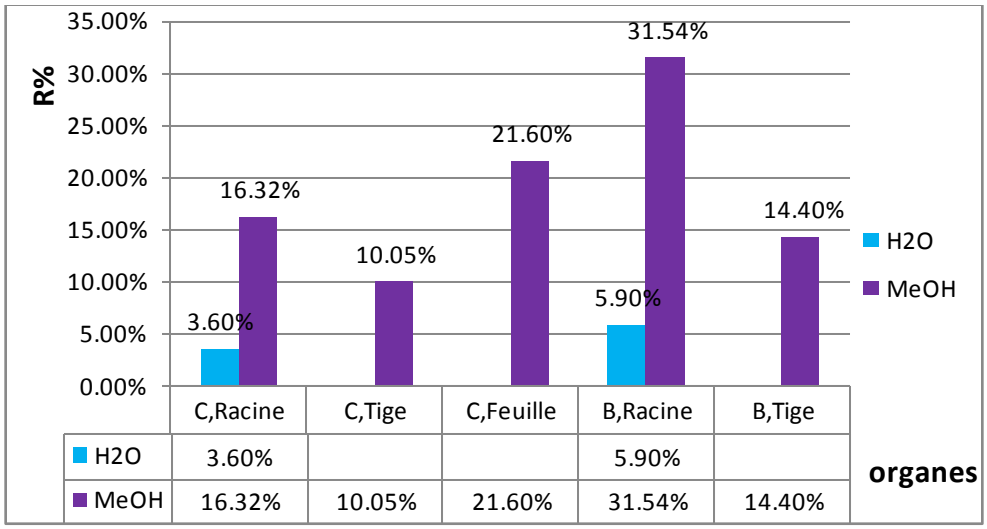


Figure 37:Présentation du rendement des extraits méthanolique et aqueux de B.incrassatum et C.caeruleus.

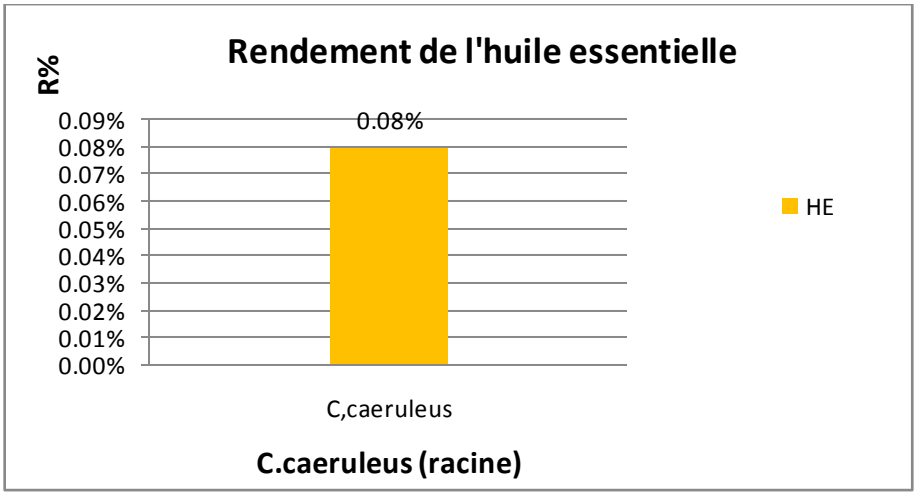


Figure 38¨Présentation du rendement de l'huile essentielle de C.caeruleus.

Les résultats de l'étude ont mis en évidence que des rendements variés pour les extraits hydro-méthanolique et aqueux des plantes étudiées. Les racines de *C.caeruleus* ont présenté le rendement le plus élevé, avec un extrait hydro-méthanolique affichant un taux de 16,32 %, tandis que l'extrait aqueux avait un rendement de 3,6 %. Les tiges de *Carthamus caeruleus* ont montré un rendement de 10,05 % pour l'extrait hydro-méthanolique, tandis que les feuilles présentaient un rendement plus élevé de 21,6 %.

Par ailleurs, les racines de *B.incrassatum* ont également affiché un rendement élevé, avec un extrait hydro- méthanolique atteignant 31,54 %, tandis que l'extrait aqueux avait une valeur de 5,9 %. Les tiges de *B.incrassatum* ont montré un rendement de 14,4%.

Les résultats de l'étude de **Souri et al. (2008)** sur la plante *Bunium persicum* ont révélé un rendement de macération par méthanol de 6,24 %. De même, l'étude de **Karouche et *al*., (2022)** a montré que l'extraction méthanolique des feuilles de *B. mauritanicum* avait un rendement de 3,1 % , nos propres résultats ont indiqué que l'extraction méthanolique des racines de *B. incrassatum* présentait un rendement élevé de 31,54 %, tandis que celui des tiges était de 14,4 %.

En ce qui concerne les résultats de **Saffidine (2015),** qui ont révélé un rendement de 16,2 % et de 15,20 % pour les extraits hydro-méthanoliques de *C.caeruleus*, ces chiffres sont très similaires à nos propres résultats, où le rendement des extraits hydro-alcooliques des racines s'est élevé à 16,32 %.

Concernant les racines de *C.caeruleus* ont fourni un rendement en l'huile essentielle d'environ 0,08 %, ceux taux est légèrement supérieur à celui trouvé par les travaux de **Ramdani et Zaouani (2022)** est de 1,36%. Il est aussi proche à celui obtenu par **Belkhiri Farida (2009)** qui est d'environ (0.0290-0.0043%).

Cette différence entre les résultats de rendement des extraits d'une même plante est influencée par plusieurs facteurs. En effet, le rendement d'extraction peut varier en fonction de divers paramètres tels que l'espèce végétale étudiée, l'organe utilisé pour l'extraction, les conditions de séchage, la richesse en métabolites spécifiques à chaque espèce, ainsi que le choix du solvant, sa polarité et la solubilité des composés phénoliques dans les solvants d'extraction **(Daoudi et *al*., 2015).**

De plus, la région et la période de récolte peuvent également influencer le rendement **(Keskes et *al*., 2014).**

Ⅵ.3.Indice de réfraction des l'huile essentielles :

L'indice de réfraction donne une estimation sur le rayon lumineux, **le tableau 11** représente les résultats obtenus :

Tableau 11: Résultats de l'indice de réfraction des deux plantes

Echantillon	Indice de réfraction
Bunium incrassatum	-
Carthamus caeruleus	1.3325

Notre résultat concernant l'indice de réfraction de *C.caeruleus* (1.3325) est similaire à celui obtenu dans la recherche de **Ramdani Zaouani, (2022)** qui était de 1.3752.

D'après la norme **AFNOR., 2005** précise les huiles essentielles ont un indice de réfraction compris entre 1,495 et 1,513 (1,495 huiles haute qualité et 1.513 pour une huile de basse qualité). Plus d'information, l'indice de réfraction diminue avec l'augmentation de la température.

Ⅵ.4.Analyse quantitatif :

Ⅵ.4.1.Résultat de dosage des polyphénoles totaux :

On a déterminé la teneur en polyphénols à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, tracé en utilisant l'acide gallique comme standard **figure 40, (voir l'annex).**

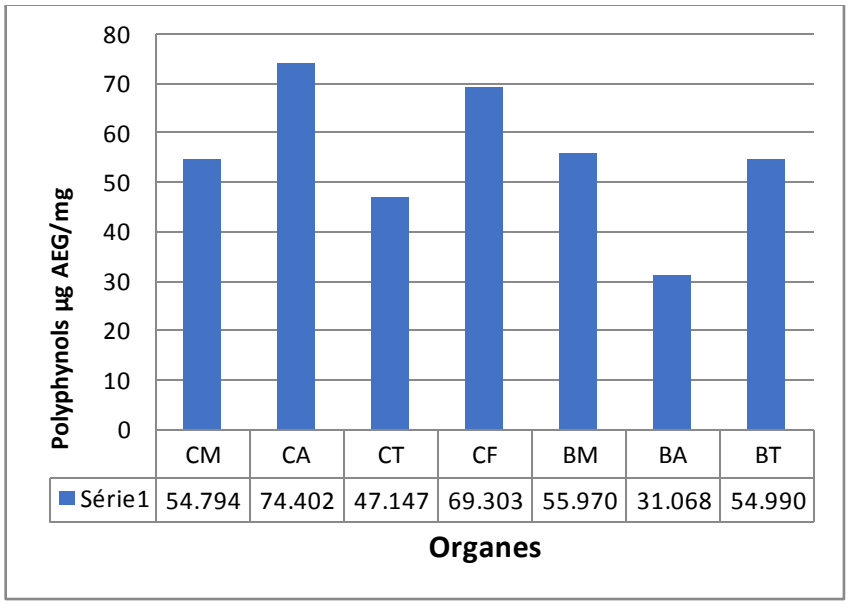


Figure 39: Teneurs en polyphénols totaux des extrais de *B.incrassatum* et *C.caeruleus*

D'après les résultats obtenus, il est remarqué que tous les extraits méthanoliques et aqueux des plantes étudiées sont pauvres en polyphénols, mais avec des quantités différentes. Les figures précédentes montrent que l'extrait méthanolique des feuilles de C.caeruleus présente la teneur la plus élevée en polyphénols, avec 74,4 et 69,30 µg EAG/mg respectivement, tandis que l'extrait méthanolique des tiges présente une teneur plus faible, avec une quantité de 47,14 µg EAG/mg. De plus, la quantité de polyphénols dans l'extrait méthanolique des racines de C.caeruleus est de l'ordre de 54,79 µg EAG/mgd'extrait.

D'autre parte, les extraits méthanoliques des racines et des tiges de *B.incrassatum* avec une teneur de 55,97 et 54,99 µg EAG/mg respectivement, tandis que l'extrait aqueux présente une quantité de 31,06 µg EAG/mg d'extrait.

D'après les résultats de l'étude menée par (**Karouche et *al*., 2020),** les teneurs en polyphénols des tubercules de *B. mauritanicum* étaient significativement plus élevées que nos propres résultats. En effet, ils ont observé des teneurs de l'ordre de 89,442 µg EAG/mg pour l'extrait méthanolique des tubercules. Cependant, en ce qui concerne l'extrait aqueux, nos résultats étaient similaires aux leurs, avec une valeur d'environ 22,365 µg EAG/mg.

Concernant les teneurs en polyphénols de *C.caeruleus*, les résultats obtenu à partir la recherche de **Saffidine Karima (2015)** montré que taux des polyphénols obtenu au niveau des fractions (Ac1, Bu1) issues de l'extrait hydro-méthanolique à des valeurs 99.94 et 60 µg EAG/g respectivement sont supérieur de nos résultats.D'autre part, les résultats de la recherche de **Belkhiri Farida (2009)** sur les extraits aqueux des racines de *C.caeruleus* ont montré une teneur en polyphénols de 37,23 µg AEG/g d'extrait, ce qui est inférieur à nos résultats.

Cette différence dans les teneurs trouve probablement son explication dans la méthode d'extraction ainsi que les conditions environnementales, climatiques, période de collecte, les facteurs génétiques et les conditions expérimentales **(Atmani et *al*., 2009).** Il a été prouvé que les teneurs en phénols totaux sont élevées lorsque le milieu de vie de la plante n'est pas adéquat, dans ce cas la plante favorise la synthèse des métabolites secondaires afin de s'adapter et de survivre **(Apak et *al*., 2007).** En effet, la distribution des métabolites secondaires peut fluctuer entre les différents organes de la plante **(Falleh et *al*., 2008) ; (Ksouri et *al*., 2008).**

Ⅵ.3.2.Résultat des dosages des flavonoïdes totaux :

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé par la méthode colorimétrique. La quercétine est considérée comme un standard qui a permis de tracer une courbe d'étalonnage linéaire de quercetine dont laquelle on a déterminé la teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique, aqeux (**Figure 48 : Voir l'annex)**

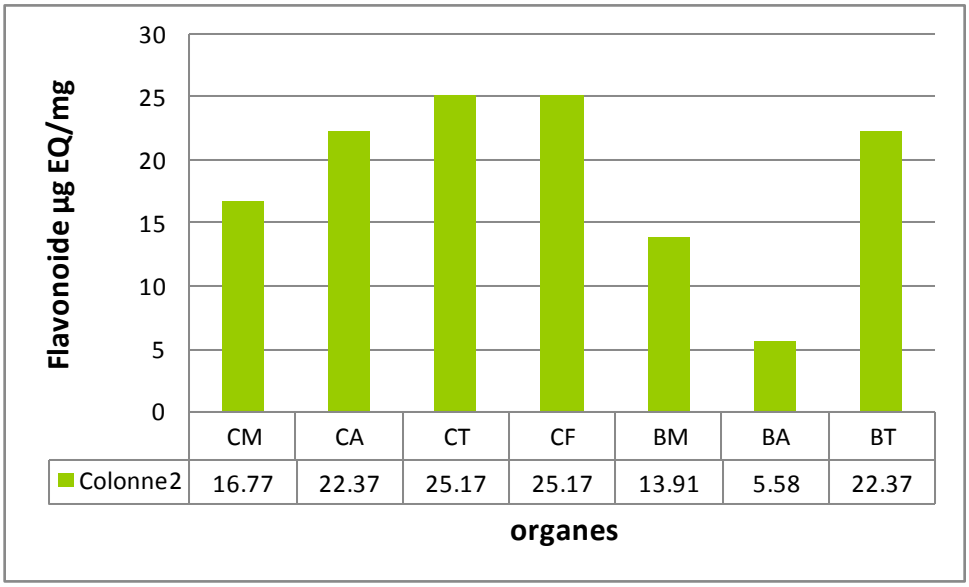


Figure 40: Teneur en Flavonoïdes des extrais de *B.incrassatum et C.caeruleus*

La quantification des flavonoïdes à l'aide de la méthode du trichlorure d'aluminium révèle des résultats significatifs pour les extraits méthanoliques et aqueux des racines, des feuilles et des tiges.

Les résultats obtenus lors de cette étude indiquent que la teneur en polyphénols totaux dans les extraits méthanoliques des tiges et des racines de *B.incrassatum* est respectivement 22,37 et 13,91 µg EQ/mg d'extrait, tandis que pour l'extrait aqueux, elle est de 5,58 µg EQ/mg d'extrait. En effet, la concentration la plus élevée est observée dans la fraction méthanolique des tiges et des racines par rapport à l'extrait aqueux.

D'autre part, les extraits méthanoliques des feuilles et des tiges de *C.caeruleus* présentent des concentrations élevées en flavonoïdes, atteignant respectivement 25,17 et 25,17 µg EQ/mg d'extrait. Cependant, l'extrait méthanolique des racines affiche une teneur en flavonoïdes de 16,77 µg EQ/mg d'extrait. L'extrait aqueux de *C.caeruleus*, quant à lui, présente une concentration élevée de flavonoïdes, avec une teneur de 22,37 µg EQ/mg.

Une étude représenté par **Chizzola et al., (2014)** ont travaillé sur la plante *Bunium persicum* la fraction méthanolique contient une teneur en flavonoide 6.4 ± 4.3 mg EQ/g d'extrait.

(Karouche et al., 2020), qui ont travaillé sur les tubercules de B.mauritanicum, ont montré que l'extrait méthanolique et aqueux contiennent des concentrations faibles de

flavonoïdes, soit 4,031 ± 0,141 µg EQ/mg et 0,832 ± 0,158 µg EQ/mg d'extrait respectivement.

D'après la recherche de Saffidine Karima (2015) sur les extraits hydro-méthanoliques de C.caeruleus, la teneur en flavonoïdes des fractions Ac1 et Bu1 était faible, avec des valeurs de 8,71 ± 0,16 µg EQ/mg et 3,94 ± 0,10 µg EQ/mg d'extrait respectivement. Les fractions aqueuses Aq1 et Aq2 présentaient des teneurs encore plus faibles, soit 1,71 ± 0,03 µg EQ/mg et 1,36 ± 0,09 µg EQ/mg d'extrait respectivement.

Cette différence dans les teneurs s'explique probablement par la méthode d'extraction utilisée, ainsi que par les conditions environnementales, climatiques, la période de collecte, les facteurs génétiques et les conditions expérimentales (Atmani, 2009).

Ⅵ.4.Les résultats des activités biologiques :

Ⅵ.4.1.Activité antioxydant DPPH :

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits, étudiée à l'aide du test de DPPH, sont exprimés en termes de pourcentage d'inhibition et de concentration inhibitrice 50 (IC50). Ces résultats sont représentés graphiquement dans la **Figure 49(voir l'annexe).**

On remarque que l'activité antioxydante des extraits méthanolique et aqueux de *B. incrassatum* et *C. caeruleus*, ainsi que de l'huile essentielle de *C. caeruleus*, ainsi que de l'acide ascorbique, est fortement dépendante de leurs concentrations. Plus l'extrait est concentré, plus le pourcentage d'inhibition est élevé.

D'après ces résultats, on constate que la valeur de la concentration moyenne d'inhibition à 50% (IC50) de l'huile essentielle de *C.caeruleus* est la plus faible, avec une IC50 de l'ordre de 0.0365 mg/ml, correspondant à la capacité antiradicalaire la plus importante.

De plus, l'extrait de feuilles et de tiges de *C. caeruleus* montre une IC50 légèrement supérieure à celle de l'huile essentielle, de l'ordre de 0.7636 et 1.8738 mg/ml respectivement, correspondant à une capacité antioxydante modérée vis-à-vis du DPPH.

En ce qui concerne les extraits méthanoliques des tiges et des racines de *B.incrassatum*, ainsi que les racines de l'extrait aqueux de *C.caeruleus*, on obtient des valeurs d'IC50 de

l'ordre de 4.8956, 10.9997 et 11.9067 mg/ml respectivement, correspondant à une activité antiradicalaire plus ou moins faible par rapport aux autres extraits.

Enfin, l'activité antioxydante la plus faible a été exprimée par les extraits méthanoliques et aqueux des racines de *B.incrassatum* et *C.caeruleus*, avec une IC50 de 22.6797 mg/ml et 23.4811 mg/ml.

Ces résultats soulignent donc l'importance de l'huile essentielle de *C.caeruleus* en tant qu'agent antiradicalaire puissant, tandis que les extraits méthanoliques et aqueux des tiges et des racines des deux plantes présentent des capacités réductrices relativement faibles.

L'activité antioxydante des extraits méthanoliques, aqueux et d'huile essentielle est évaluée en termes de leur capacité à réduire de 50% les radicaux libres (DPPH). L'IC50 est utilisé pour mesurer cette efficacité. Une valeur d'IC50 plus basse indique une activité antioxydante plus élevée. En d'autres termes, plus la concentration nécessaire pour neutraliser la moitié des radicaux libres DPPH est faible, plus le pouvoir antioxydant du composé est considéré comme fort.

L'ensemble des résultats de l'activité antioxydante exprimée en IC50 sont représenté dans le **tableau 12** et le **Figure 53** ci dissous :

Tableau 12: L'IC50 de l'activité antioxydante (DPPH) des extraits

L'espèce	**IC50**
Huile essentielle de *C.caeruleus*	0.0365 mg/ml
C.caeruleus méthanolique (feuille)	0.7636 mg/ml
C.caeruleus méthanolique (tige)	1.8738 mg/ml
B.incrassatum méthanolique (tige)	4.8956 mg/ml
B.incrassatum aqueux (racine)	10.9997 mg/ml
C.caeruleus aqueux (racine)	11.9067 mg/ml

B.incrassatum méthanolique (racine)	22.6797mg/ml
C.caeruleus méthanolique (racine)	23.4811 mg/ml

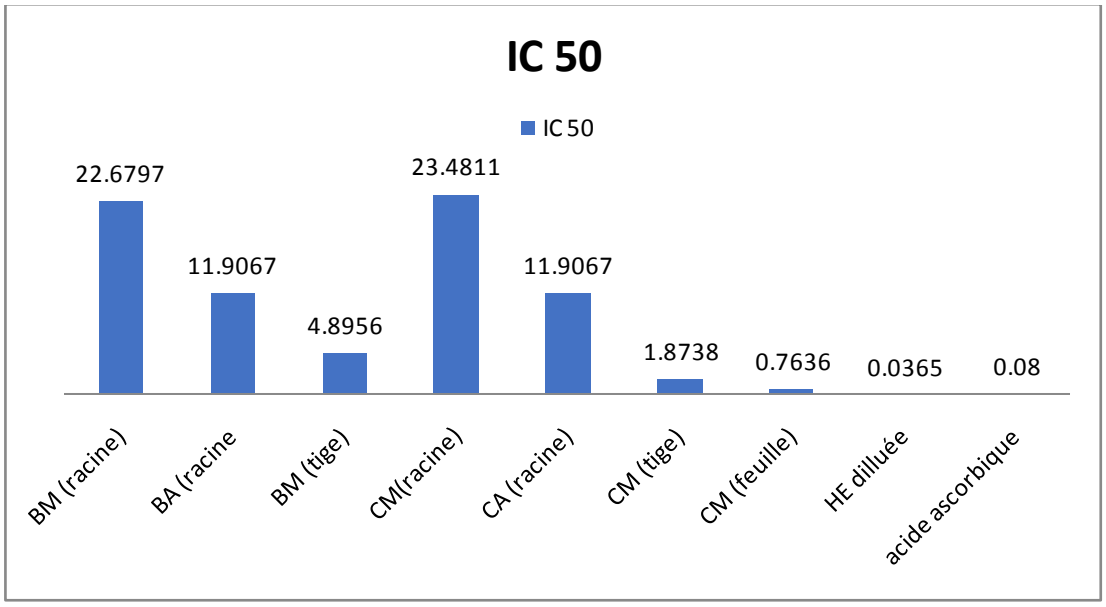


Figure 41:Histogramme représentative des valeurs d'IC50 des extraits étudient.

D'après une étude réalisée en **2017 par El Kolliet ses collaborateurs,** l'extrait méthanolique préparé à partir de la partie aérienne *de B.incrassatum* a démontré une IC50 de 55,77 µg/ml dans le test au DPPH. De plus, l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de la plante *B.alpinum* a été évaluée avec une IC50 de 21,85 ± 1,32 µg/mL.

L'étude de **(karouche et *al.*, 2022)** déduire que L'extrait aqueux des tubercules représente l'extrait le plus actif avec une EC50 de l'ordre de 0.018mg/ml puis l'extrait méthanolique avec 0.048 mg/ml. Ce pouvoir réducteur reste supérieur à celui du standard (l'acide ascorbique) avec EC50 de 0.009 mg/ml. Les valeurs d'EC50 obtenus dans ce test montrent que les extraits aqueux et méthanolique des tubercules de *B. mauritanicum* possèdent de faibles capacités réductrices, par la comparaison avec notre résultat, les extrait méthanolique et aqueux des racines de *B.incrassatum* afiiché une activité antiradicalaire très faible. ceci est dû à la faible teneur en flavonoïdes dans les tubercules étudiés. Cette catégorie de composés bioactifs sont signalés dans plusieurs

recherches comme les meilleurs antioxydants. Les acides phénoliques et les diterpènes phénoliques peuvent être aussi impliqués dans cette activité **(Prosper et *al*., 2007).**

Selon **Ben abbas et *al*., (2018),** l'extrait aqueux de *B.incrassatum* n'a montré aucune activité anti radicalaire même pour la plus grande concentration utilisée (21 mg/ml), les extrait méthanolique donné une faible capacité antioxydante avec un IC50 de l'ordre de 21,18 mg/ml, notre épreuve montre que les valeurs de IC50 obtenue chez *B.incrassatum* est proche à celles obtenue dans les études menées par **Ben abbas et *al*.,(2018).**

D'autre parte, l'étude de**CHERIET Anfel (2022)** montré que Les extrait de *C.caeruleus* présentent une activité antioxydant moins important, IC50 de 22.3± 1.768 mg/ml pour l'extrait de l'eau.

Toutefois, **Arroudj et Zitoune (2017)** ont montré que les extraits hydro-alcoolique (238,413±14.17µg/ml) et aqueux (219,9±3.53µg/ml) des rhizomes de *C.caeruleus* présentaient une activité antiradicalaire très faible par rapport à celle de l'acide ascorbique. Ces résultats suggèrent que les extraits de poudre des rhizomes de *C.caeruleus L* ne sont pas de puissants antioxydants.

En générale, le potentiel réducteur des extraits végétaux est dû à la présence de molécules capables de donner des électrons qui peuvent réagir avec les radicaux libres et les convertir en produits stables, parmi lesquelles les polyphénols **(Fereira et *al*., 2007).**

Ⅵ.5.Activité antimicrobienne :

L'effet antibactérien des extraits de *B.incrassatum* et de *C.caeruleus* est évalué dans cette étude par la technique de diffusion sur disques. Le DMSO a été testé comme solvant (T-), et les résultats ont montré qu'il est approprié et ne présente aucun effet sur la croissance normale des souches microbiennes, amoxicilline et le Nystatine ont été utilisés comme (T+).

Les résultats obtenus de l'effet antimicrobien en des extraits méthanoliques, aqueux et l'huile essentielle sont représentés dans le**s tableaux 13 et 14 et les Figures 42et 43**

Tableau 13: diamètres des zones d'inhibition des souches bactériennes et fongiques vis-à-vis les antibiotiques.

Souche / ATB	Les diamètres d'inhibition (mm)						
	E.coli	B.subtilis	S. tiphi	S.aureus	S.epidermidis	Candida albican	S.cerevisea
Amoxiciline	32.1mm	39.7mm	40.5mm	43.1mm	34.5mm		
Nystatine						42.2mm	46.7mm
DMSO	-	-	-	-	-	-	-

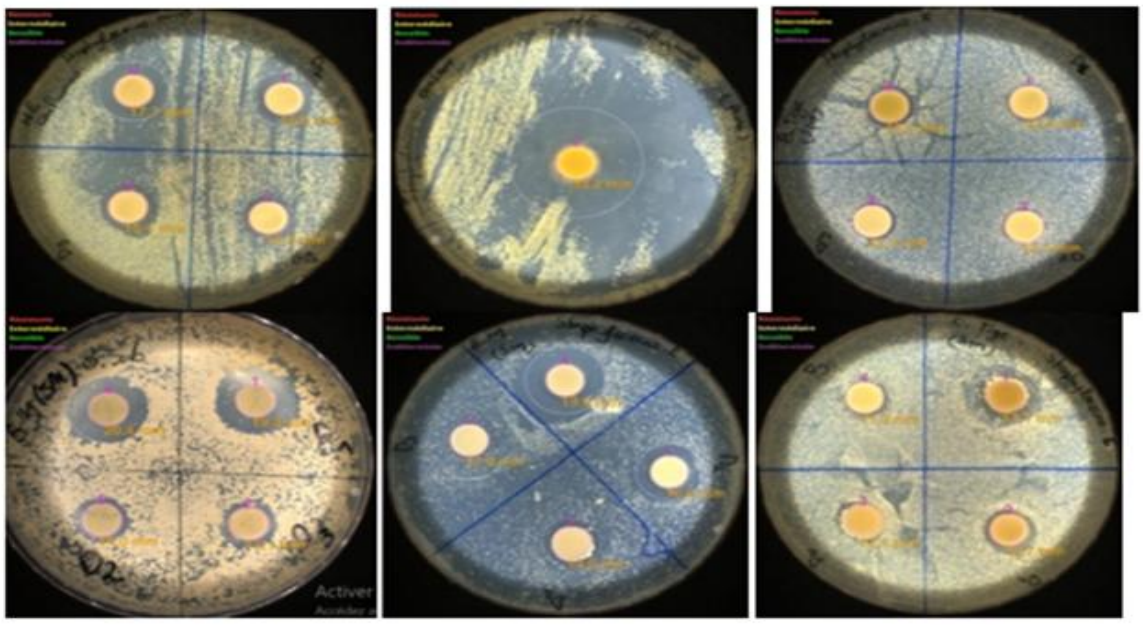


Figure 42:L'effet de l'huile essentielle et des l'extrait méthanolique de deux plantes étudiées sur les souches bactériennes.

A partir des résultats obtenus, l'extrait méthanolique des racines de *B. incrassatum* a présenté un effet inhibiteur important uniquement sur la croissance des bactéries (*B.subtilis, S.epidermidis, S.aureus*), avec des zones d'inhibition allant de 11,5 à 20,4 mm. Par contre, l'extrait aqueux des racines de *B.incrassatum* a également inhibé la

croissance des souches bactériennes *B.subtilis, S.epidermidis* et *S.aureus*, mais avec des zones d'inhibition plus faibles que celles de l'extrait méthanolique, variant de 12,4 à 15,3 mm.

Les deux extraits, méthanolique et aqueux, n'ont montré aucun effet inhibiteur sur les souches bactériennes *E.coli* et *S.typhi*. De plus, l'extrait des tiges de *B.incrassatum* a inhibé la croissance des souches bactériennes *B.subtilis* et *S.epidermidis*, avec des zones d'inhibition entre 11,3 et 13,1 mm, mais n'a montré aucun effet inhibiteur sur les souches *E. coli, S. typhi* et *S. aureus*.

Par contre les extraits, méthanolique et aqueux, n'ont montré aucun effet inhibiteur sur les souches fongiques (*C.albicans, S.cerevisiae*), confirmant ainsi l'absence d'activité antifongique des extraits méthanolique et aqueux des tiges et des racines de *B.incrassatum*.

Les extraits méthanoliques des racines de *C.caeruleus* ont révélé une activité inhibitrice sur les souches de *S.aureus* et *S.épidermidis*, avec des diamètres d'inhibition compris entre 11 et 14,2 mm. Cependant, aucun effet inhibiteur n'a été observé sur les autres souches bactériennes et fongiques testées. En revanche, l'extrait aqueux des racines de *C.caeruleus* a montré un effet inhibiteur sur une seule souche bactérienne, *B.subtilis*, avec des diamètres d'inhibition de 12,2 à 13,3 mm.

Les extraits méthanoliques des tiges de *C.caeruleus* ont induit un effet inhibiteur important sur les souches de bactéries (*B.subtilis, S.aureus, S.épidermidis*) avec des diamètres d'inhibition allant de 11,1 à 17,5 mm. Cependant, aucun effet inhibiteur n'a été observé sur les autres souches bactériennes et fongiques testées.

L'extrait des feuilles de *C.caeruleus* a inhibé la croissance des deux souches bactériennes (*S.tiphi, S.épidermidis*) avec des diamètres d'inhibition de 11,7 à 17,7 mm, mais aucun effet n'a été observé sur les autres souches bactériennes et fongiques.

En ce qui concerne l'huile essentielle diluée de *C.caeruleus*, elle a montré le meilleur effet inhibiteur sur les souches de *S.aureus* et *S.épidermidis* par rapport aux autres parties de la plante, avec des diamètres d'inhibition compris entre 14,2 et 23,3 mm. Elle a également eu un effet sur les bactéries, mais aucun effet inhibiteur n'a été observé sur les autres souches bactériennes et fongiques testées.

Concernent l'huile essentielle pure de *C.caeruleus* a montré un fort effet inhibiteur sur la bactérie *S.aureus*, avec un diamètre d'inhibition de 33,2 mm. Cependant, aucun effet n'a été observé sur les autres bactéries et les souches fongiques testées.

Tableau 14: Les diamètres des zones d'inhibitions des extraits méthanoliques et aqueux et l'huile essentielle de B.incrassatum et de C.caeruleus mesurés en fonctions des différentes souches microbiennes testées.

Les extraits		**Zone d'inhibition en mm**						
		Les bactéries					**Les chompignons**	
		E.coli	B.subtilis	S.tiphi	S.aureus	S.épidermidis	C.albicans	S.cerevisea
BM (R)	**SM**	-	20.4mm	-	12.3mm	20mm	-	-
	D1	-	19.3mm	-	12mm	17mm	-	-
	D2	-	14mm	-	11.7mm	16.6mm	-	-
	D3	-	13.1mm	-	11.5mm	13.2mm	-	-
BA (R)	**SM**	-	12.4mm	-	12.2mm	15.3mm	-	-
	D1	-	-	-	12.2mm	14.5 mm	-	-
	D2	-	-	-	12.7mm	14.2mm	-	-
	D3	-	-	-	11.7mm	13.1mm	-	-

BM (T)	**SM**	-	11.3mm	-	-	13.1mm	-	-
	D1	-	-	-	-	12.3mm	-	-
	D2	-	-	-	-	12.1mm	-	-
	D3	-	-	-	-	12.1mm	-	-
CM (R)	**SM**	-	-	-	11mm	14.2mm	-	-
	D1	-	-	-	-	12.7mm	-	-
	D2	-	-	-	-	-	-	-
	D3	-	-	-	-	-	-	-
CA (R)	**SM**	-	13.2mm	-	-	-	-	-
	D1	-	12.2mm	-	-	-	-	-
	D2	-	-	-	-	-	-	-
	D3	-	-	-	-	-	-	-
CM (T)	**SM**	-	11.1mm	-	11.8mm	17.5mm	-	-
	D1	-	10mm	-	11.9mm	13.1mm	-	-
	D2	-	-	-	11.5mm	11.5mm	-	-
	D3	-	-	-	11.3mm	13.3mm	-	-
CM (F)	**SM**	-	-	13.1mm	-	17.1mm	-	-
	D1	-	-	12.5mm	-	12.7mm	-	-

	D2	-	-	11.9mm	-	12.1mm	-	-
	D3	-	-	11.7mm	-	11.9mm	-	-
HE	**SM**	-	-	-	17.7mm	23.3mm	-	-
	D1	-	-	-	16mm	22.7mm	-	-
	D2	-	-	-	14.2mm	21.2mm	-	-
	D3	-	-	-	15.1mm	18.9mm	-	-
HE PURE		-	-	-	33.2mm	-	-	-

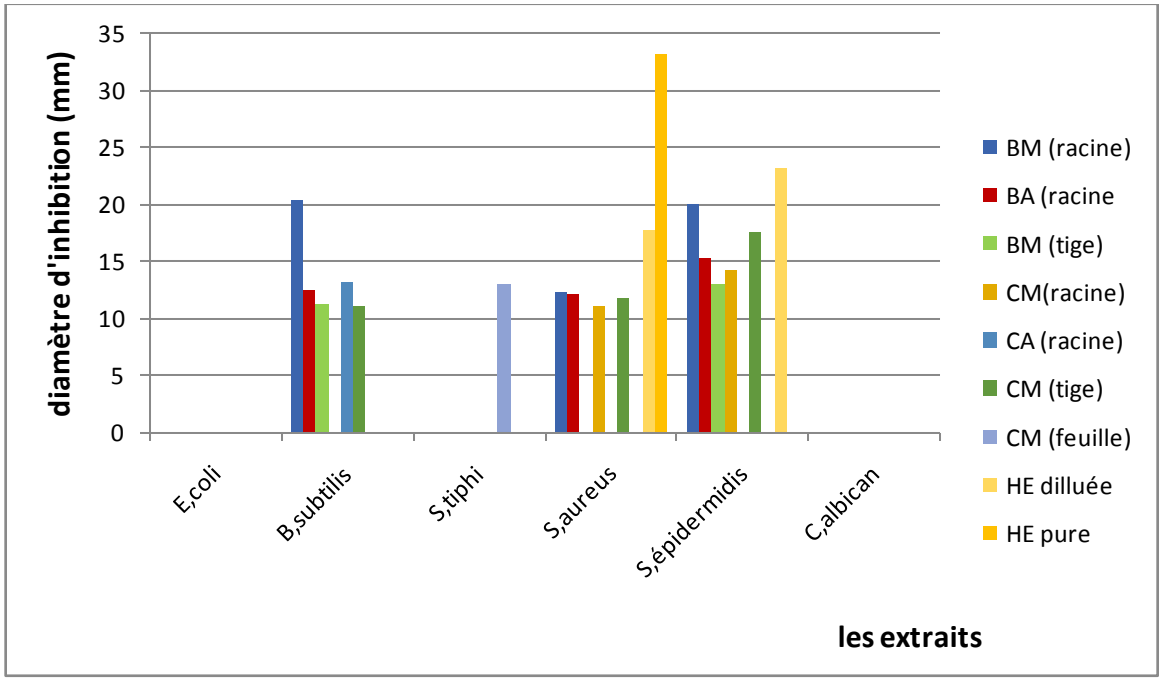


Figure 43: Variation de diamètre des zones d'inhibition de la croissance des souches bactériennes et fongiques vis-à-vis des extraits méthanoliques, aqueux et huile essentielle des deux plantes

Les résultats obtenus a partir la recherche de **(karouche et al., 2020)** montrent que les deux extraits méthanolique et aqueux de tubercule de *B.mauritanicum* ont réagi positivement sur la souches *Staphylococcus aureus* à Gram positifs pour zones d'inhibition de diamètres qui varient entre 10-12mm pour l'extrait méthanolique et 7-15

pour l'extrait aqueux,. Par contre, la souche *Escherichia Coli* se révèle résistante pour toutes les concentrations des deux extraits étudiés,

L'activité antibactérienne des extraits de plantes est due, à la présence de ce type de composés chimiques actifs dans leur composition. On peut dire que le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe, peut être expliqué par le mécanisme de toxicité vis-à-vis des microorganismes qui se fait soit par des interactions non spécifiques telles que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires ou les enzymes, la chélation des ions métalliques, l'inhibition du métabolisme bactérien et la séquestration de substances nécessaires à la croissance des bactéries **(karou et al., 2005).**

Par ailleurs, L'étude de **Gagi et Toubal (2018)** a révélé un effet inhibiteur significatif des extraits hydro-méthanoliques des racines de *B.incrassatum* sur les souches *S.aureus* (21 mm) et *E.coli* (18,33 mm).Cependant, nos propres résultats ont indiqué que les extraits méthanoliques ont eu un effet inhibiteur moins important sur la souche bactérienne *S.aureus* et n'ont présenté aucun effet sur *E.coli.*

D'après les résultats de **Belkhiri Farida (2009)** sur les huiles essentielles de *C.caeruleus* montré un effet inhibiteur moins important sur les souches bactérienne *B.aureus, Ecoli, S.tiphi* avec des zones d'inhibition ne dépassent pas 10mm, nos propres résultats ont montré que l'huile essentielle de C.caeruleus n'a présenté aucun effet inhibiteur sur ces trois souches, mais a démontré un effet inhibiteur significatif sur la souche *S.epidermidis*, avec une zone d'inhibition de 33,2 mm. La différence entre ces résultats et ceux de notre recherche peut être expliqué par la variation des concentrations en principes actifs différents dû aux méthodes d'extraction utilisée dans ces études.

Des travaux antérieurs confirment que les Gram+ sont plus sensibles à l'action antimicrobienne de l'HE que les Gram-. En fait, les Gram- possèdent une résistance intrinsèque aux agents biocides, qui est en relation avec la nature de leur paroi bactérienne **(Boukhatem et *al.*, 2014).** La résistance importante des bactéries Gram(-) pour nos extraits pourrait probablement être attribuée à leurs membranes extérieures qui entourent la paroi de la cellule et qui limitent la diffusion des composés hydrophobes de

couverture. Par contre, pour les bactéries Gram(+), l'absence de cette barrière permet le contact direct des constituants des composés phénoliques isolés avec les phospholipides bicouches de la membrane cellulaire **(BEN ABDALLAHA. R et *al*., 2019).**

D'après l'étude menée par **Saffedine et *al*., (2013),** le test de sensibilité des bactéries aux différentes fractions des extraits de racines et de feuilles de *Carthamus caeruleus*, a permis de montrer, de manière générale, des effets antibactériens significatifs et variables avec les fractions organiques (Ac1, Bu1) issues de l'extrait hydro-méthanolique, (Ac2, Bu2) issues de l'extrait aqueuses et ce, vis-à-vis des bactéries Gram+ que Gram-. Cette étude souligne que les extraits des feuilles (AcF, AqF) ne montrent pas le même effet que les racines.

L'activité antibactérienne des extraits de plantes est due, à la présence de ce type de composés chimiques actifs dans leur composition. On peut dire que le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe, peut être expliqué par le mécanisme de toxicité vis-à-vis des microorganismes qui se fait soit par des interactions non spécifiques telles que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires ou les enzymes, la chélation des ions métalliques, l'inhibition du métabolisme bactérien et la séquestration de substances nécessaires à la croissance des bactéries **(karou et *al*., 2005).**

Ⅵ.5.1.Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :

D'après les tests de l'activité antimicrobienne sur 7 souches, les résultats obtenus à l'aide des dilutions (Sm, D1, D2, D3) ont confirmé que les extraits méthanoliques de *B.incrassatum* (racine) et *C.caeruleus* (feuille) sont les plus efficaces vis-à-vis de *S.aureu , B.subtilis* qui ont montré une sensibilité élevée. Afin de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) vis-à-vis de ces souches, nous avons utilisé la méthode de macro-dilution en milieu liquide sur 10 tubes de dilution les résultas sont représenter dans **les Figure 45, 46** et le **Tableau15 :**



Figure 44: les résultats de la CMI obtenus à partir des tubes de dilution contenant l'extrait méthanolique de B.incrassatum (racines) pour la bactérie B.subtilis



Figure 45: les résultats de la CMI obtenus à partir des tubes de dilution contenant l'extrait méthanolique de de C.caeruleus (Tige) pour a bactérie S.aureus

Tableau 15: Présence de valeur de CMI pour l'extrait méthanolique de B.incrassatum (racines) et C.caeruleus (tige)

Les dilutions		**$10^{(-1)}$**	**$10^{(-2)}$**	**$10^{(-3)}$**	**$10^{(-4)}$**	**$10^{(-5)}$**	**$10^{(-6)}$**	**$10^{(-7)}$**	**$10^{(-8)}$**	**$10^{(-9)}$**	**$10^{(-10)}$**
souche	**Extraits**										
B.subtilis	**BM**	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+
S.aureus	**CT**	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+

Le tube de dilution (10^{-4}) contenant l'extrait méthanolique des racines de *B.incrassatum* a été identifié comme le premier tube sans croissance bactérienne visible, ce qui indique qu'il atteint la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour la souche bactérienne *B.subtilis.*

De même, le tube de dilution (10^{-2}) contenant l'extrait des feuilles de *C.caeruleus* a montré la CMI pour la souche *S.aureus*, car il était le premier tube sans croissance bactérienne visible. Cela suggère que les concentrations d'extraits dans ces tubes sont suffisamment élevées pour inhiber la croissance bactérienne correspondante

VI.6.L'activité anti inflammatoire :

Les résultats de notre étude sur l'activité anti-inflammatoire de l'extrait ont été évalués en utilisant le pourcentage d'inhibition de l'œdème (%INH) et le pourcentage d'augmentation de l'œdème (%AUG) comme mesures. Le tableau ci-dessous illustrent les résultats obtenus pour chaque échantillon testé:

Tableau 16:Variation de volume moyen de l'œdème (patte Droite)

Groupes de traitement	Variation de volume moyen de l'œdème (patte Droite) induit par la carraghénane (ml)				
	T0	T30min	T1h	T2h	T3h
Témoin carraghénane	2±0.06	1.48±0.04	1±0.09	0.45±0.06	0.24±0.06
Lot 2 (déclofenac)	1.18±0.08	0.76±0.05	0.47±0.06	0.18±0.08	0.05±0.03
Lot 3 (EE-C.caeruleusM)	1 ±0,02	0,7±0,05	0, 37±0,03	0,2±0,02	0 ,025±0 ,02
Lot 4 (EF-B.incrarassatum M)	1 ,90±0,05	1,5±0,03	1,1±0,06	0,44±0,06	0,25±0,03

D'après nos résultats en remarque que l'injection de la carraghénane provoque une augmentation du volume de l'œdème chez les quatre groupes de souris pour atteindre l'œdème maximale au bout de quatre heures.

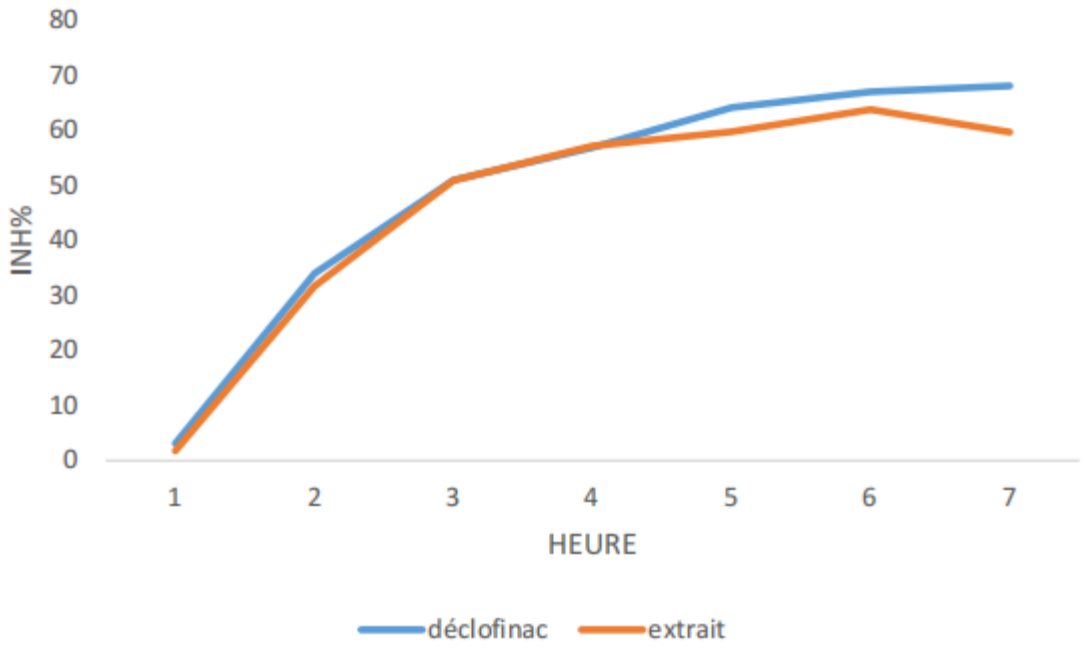


Figure 46: Pourcentage d'inhibition d'épaisseur de la patte (INH%) des souris traitées par 200mg/Kg de l'extrait métanolique de Carthamus .caeruleus et Diclofénac.

Les pourcentages d'inhibition respectifs aux temp 1éme heure, étant de (17%). Cette activité augmente progressivement jusqu'à la sixième heure (80%) pour la dose200 mg /kg.

Par ailleurs, la figure (INH) montre que le groupe témoin traité par l'eau physiologique a marqué une augmentation dans le volume de patte des souris durant toute l'expérience. Par contre le groupe traité par l'extrait méthanolique de racine de *C.caeruleus* eu une diminution progressive d'œdème de patte des souris à partir de 2ème heure jusqu'à la fin de l'expérimentation .Mais le groupe traité par l'extrait méthanolique de racine B.incrassatum il n'a eu aucun déclin.

D'aprés**Duarte et al., 2016**L'activité anti-inflammatoire de *Carthamus caeruleus* à été observée après la 4 ème heure d'expérimentation. Sachant que, la troisième heure après administration de la carragénine représente son effet maximal.

En effet, L'œdème est provoqué par la carragénine dans la patte de la souris comporte trois phases distinctes: La première phase qui fait intervenir l'histamine et la 5-hydroxytryptamine qui favorisent la vasodilatation, la transsudation plasmatique et l'oedème; la deuxième phase qui fait appel aux kinines comme médiateurs augmentent la perméabilité vasculaire et la troisième phase dont le médiateur est supposé être la Prostaglandine **Attal et Bouhassira, 2000**. Cette dernière étape est sensible aux antagonistes de synthèse des prostaglandines et aux anti-inflammatoires naturels ou de synthèses telles que les glucocorticoïdes**Rokia et *al*., 2006**.

L'extrait méthanolique de *Carthamus caeruleus* est riche en flavonoïdes, **Baghiani et *al*., 2010** ce qui explique leur efficacité contre l'œdème. Les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires qui leurs permet de modulés le fonctionnement du système immunitaire**Chen et al., 2017**. Ils sont susceptibles de diminuer la libération d'histamine des basophiles et des mastocytes **Mesa et al., 2017.**

Conclusion

En conclusion, l'étude de l'activité biologique des extrait de *Bunium incrassatum* et *Carthamus caeruleus* dans la région de Médéa a révélé des résultats prometteur dans les domaines de l'activité antimicrobienne, antioxydant et anti-inflammatoire.

L'analyse phytochimique a montré que les extraits de *B.incrassatum* et *C.caeruleus* possédant les teneurs faibles en polyphénoles et en flavonoïdes.

L'activité antioxydante par la méthode de DPPH a révélé que l'huile essentielle de *C.caeruleus* possède une activité antiradicalaire très forte par rapport les autre extrait étudiée.

D'autre part, les extraits de deux plante ont montré une activité antibactérienne considérable vis-à-vis les souches bactériennes testées, ils n'ont également montré aucune activité antifongique.

Par ailleurs, l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique des racines de *C.caeruleus* marquer un effet anti-inflammatoire proche au déclofinac par rapport l'extrait méthanolique des racines de *B.incrassatum*.

Pour compléter ce travail nous envisageons de :

- ✓ Faire une étude biochimique sur ces plantes.
- ✓ Il serait intéressant d'étendre l'étude de l'activité antimicrobienne à d'autres souches bactériennes et fongique qui causent des maladies pour les êtres humains.
- ✓ Mettre en évidence l'activité antioxydant avec d'autre méthode et d'évaluer l'activité insecticide.
- ✓ Développer des médicaments anti-radicalaires à base de plantes, doués d'une activité antioxydant.

Ces perspectives de recherche permettront d'approfondir nos connaissances sur les propriétés thérapeutiques de ces plantes médicinales et d'explorer davantage leur potentiel dans le développement de nouveaux traitements naturels.

Références bibliographique

- ***د.غسان حجاوي(2009).*** *علم العقاقير والنباتات الطبية، دار الثقافة للنشر، عمان، الأردن.*
- ***مجراب حمزة,(2020).****النباتات الطبية والعطرية و طرقاستخدامها في التداوي , مذكرة التخرج للحصول على شهادة الماستر, جامعة الاخوة منتوري قسنطينة.*

(Cavin, 1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. 2ème édition. Lavoisier Technique & Documentation. Paris, 278-279 pp.

(Yazdani et al., 2012). Yazdani D., ZainalAbidin M.A., Tan Y.H., Kamaruzaman S. and Jaganath I.B. (2012). Screening of phytochemical from ethnomedicinal plants in Malaysia for use against toxigenic Aspergillusflavus.Journal of Medicinal Plants Research. 6(42), 5464-5468.

(Hanni et Gheraba, 2016). Hanni Marroua . , Gheraba radhia ,(2016).valorisation et comparaison de l'activité thérapeutique et phytochimique de deux plantes médicinales :teucriumpolium et phlomis crinita .mémoire de fin d'étude de master ,université dr yahia fares de médéa ,médéa.

WALLACE R.J., 2004- Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. Proceedings of nutrition society. Vol. (63) : 621–629.

A.F.N.O.R., 2000. Association française de Normalisation Norme Française : les huiles essentielles, monographie relatives aux huiles essentielles, Ed. Afnor, Paris, 663 p.

Afonso, C.A.M., Candeias, N.R., Simao, D.P., Trindade, A.F., Coelho, J.A.S., Tan, B & Franzen, R. (2016). Comprehensive organic chemistry experiments for the laboratory classroom. Cambridge, United Kingdom: Royal Society of Chemistry

Alkurd A., Hamed T. R., Al-Sayyed H., (2008). Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan. Jordan Journal of Agricultural Sciences 4: 265 - 274.

Allouache .S ; Ghernoub.B (Etude des composés phénoliques et terpénique d'une plante médicinale traditionnelle)21 juin 2017

Anonyme. (2013). Encyclopédie des plantes médicinales.2éme édition

Apak R, Güçlü K, Demirata B, Özyürek M, Çelik SE, Burcu Bektaşoğlu, B, Berker K I, Özyurt D. Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. Molecules,2007, (12), 1496-1547.

APG III (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plantes : APG III. Bot. J. Linn. Soc. ; 161 : 105-121.

Aroudj L et Zitoune.C (2017) : Evaluation des activités biologiques plante médicinale locale Carthamus caeruleus. L, Université A. MIRA – Bejaia

Atmani D. Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. S. Karouche et al. J Fundam Appl Sci. 2020, 12(2), 916-930 929 Food Chem, 2009, (112), 303–309.

Attal, N., Bouhassira, D., (2000). Séance thématique Nouvelles approches pharmacologiques de la douleur, Annales pharmaceutiques françaises. Masson, pp. 121-134.

Ayoola.G. A., Ipav.S. S., Solidiya.M.O., Adepoju-Bello.A. A., Coker.H. A. B. etOdugbemi T. O.(2008). Phytochemical screening and free radical scavenging activities ofthefruits and leaves ofAllanblackia floribundaoliv (Guttiferae).International journal ofhealthresearch.,1(2) : 81-93

BABA AISSA F., 2000. Les planes médicinales en Algérie Edit. Bouchéne et AD. Diwan, Alger, p 368. Bellakhdar J., 1997. La pharmacopée traditionnelle marocaine: Médecine arabe ancienne et savoir faire. ISBN 2-910728-03-X. Ibis Press

Baghiani, A., Boumerfeg, S., Belkhiri, F., Khennouf, S., Charef, N., Harzallah, D., Arrar, L., AbdelWahhab, M.A.,(2010). Antioxidant and radical scavenging properties of Carthamus caeruleus L extracts grow wild in Algeria flora. Comunicata Scientiae 1, 128.

Barkely T M., Brouillet L., Strother JL. 2006. « Flora of North America – Asteraceae ». Oxford University Press, New York. 19

Belaïche P, (1979). Traité de Phytothérapie et d‟Aromathérapie. Tome I. l‟Aromathérapie. Ed. Maloine S.A. Paris.

Belkhiri Farida (2009) : activité antimicrobienne et antioxydante des extraits de Tamus comminis.L et C.caeruleus.L , Université de Stif

Bellabes, (2018). Recherche de nouveaux principes actifs présents dans cinq plantes de la famille des astéracées

BEN ABBAS S, DJOUDI Z (2018): Etude de l'activité antioxydante des extraits aqueux et organiques des tubercules de Bunium incrassatum, Univ. Bordj Bou Arreridj.

Benhamou, A., Fazouane, F. (2013). Ethnobotanical study, phytochemical characterization and healing effect of Carthamus caeruleus L. rhizomes.Food technology Laboratory, University of Boumerdes, Algeria. Int. J. Med. Arom. Plants, 2249-4340, 3 (1): 61-68

BENHAOUA Siham., (2016), Activité antioxydant et analyse chimique des acides gras et des insaponifiables de Carthamus caeruleus. Mémoire master en chimie, Tlemsen.

Bernays, E. A.,CooperDriver, G.,Bilgener, M. (1989). Herbivores and Plant Tannins. Advances in Ecological Research, vol. 19 : 263- 302.https://doi.org/10.1016/S0065-2504(08)60160-9 .

Biyiti, L. F., Meko'o, D. J. L., Tamzc, V., & Amvam Zollo, P. H. (2004). Research of the antibacterial activity of four Cameroonian medicinal plants. Pharmacopoeia and African Traditional Medicine, 13, 11-20.

Bonnafous, C. (2013). Traité scientifique : Aromathérapie, aromatologie.

Bouderdara N. (2013). Séparation et détermination de structures des métabolites secondaires de Cachrys libanotis L. Thèse de Doctorat. Université Mentouri, Constantine, 210p.

Boukezata A. (2014). La Composition chimique et l'activité antibactérienne d'une plante Algérienne (Bunium Incrassatum). Mémoire de Master. Université Ferhat Abbas, Sétif, 59p.

Boukezata A. (2014). La Composition chimique et l'activité antibactérienne d'une plante Algérienne (Bunium Incrassatum). Mémoire de Master. Université Ferhat Abbas, Sétif, 59p.[

Boukezata A. (2014). La Composition chimique et l'activité antibactérienne d'une plante Algérienne (Bunium Incrassatum). Mémoire de Master. Université Ferhat Abbas, Sétif, 59p.

El kolli H ., laouer H & el kolli M., 2017 : chemical composition and biological activities of the essential oils and the methanolic extracts of bunium incrassatum and bunium alpinum from algeria. Journal of the Chilean Chemical Society 62, 3335-3341

Boullard, B. (2001). Plantes médicinales du monde (réalité et croyances).

Boumerfeg S, (2014). Antioxidative properties of Tamus communis L and juga iva L. extracts. These de Doctorat. Université Abbes Frerhat Setif.

Bouzid, A., Chadli, R., & Bouzid, K. (2017). Étude ethnobotanique de la plante médicinale Arbutus unedo L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale. *Phytothérapie*, *15*(6), 373-378.

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

Brouillard R, (1986). The flavonoids Advances. Research science: 525-538 p.26 Harbone J B, Grayer R J, 1988. The flavonoids, Advances. Research science: 1-20 p.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. 3eme édition médicinales internationales. Tec et Doc. Lavoisier. (Paris) p :1240.

Camille M,Mireille S, (2011) :Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant.médecine/sciences,(27) 405–412.

Carson C.F., Rilley T.V.And Bosque F. (2002). Antimicrobial activity of the major components of essential oil of Malaleucaalternifolia.Journal of Applied Bacteriology. 78(3), 264-269.

Chen, X.-M., Tait, A.R., Kitts, D.D.,(2017). Flavonoid composition of orange peel and its association with antioxidant and anti-inflammatory activities. Food chemistry 218, 15-21.

CHERIET Anfel (2022) : Contribution a l'étude phytochimique des extraits de racines de Carthamus caeruleus, Université d'El Oued.

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

Dahmani, (2018) :Extraction par solvant assistée par ultrasons des saponines à partir des rhizomes de Carduncelle bleue «Carthamus caeruleus L ».

Daroui-Mokaddem, H. (2012). Etude phytochimique et biologique des espèces Eucalyptus globulus (Myrtaceae), Smyrnium olusatrum (Apiaceae), Asteriscus maritimus ET Chrysanthemum trifurcatum (Asterarceae). Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba, 193p.

Deysson G. (1979). Organisation et classification des plantes vasculaires, cours de botanique générale quatrième série, tome II, Paris, 529 p.

Diane E. Griffin, Jennifer L. Nargi, Rajiv R. Ratany (1999): p53-Independent Inhibition of Proliferation and p21Waf1/Cip1 -Modulated Induction of Cell Death by the Antioxidants N-acetylcysteine and Vitamin E. Department of Molecular Microbiology and Immunology, (1), 544 - 556

Didier, D. S., Emmanuel, M. M., Alfred, N., France, K. M., & Lagarde, B. J. (2011). Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala, Cameroun. *Journal of Applied Biosciences*, *37*(9), 2496-2507

Djemai Z(2008). Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de Zizyphus lotus L , mémoire magister , Université –El Hadj Lakhder –Batna.

Donatien, K. (2009). Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes - extraction, identification d'alcaloïdes - caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydant. Thèse de doctorat. Université Bamako.

Duarte, D.B., Vasko, M.R., Fehrenbacher, J.C.,(2016). Models of inflammation: carrageenan air pouch. Current protocols in pharmacology 72, 5.6. 1-5.6. 9.

Dupont F. et Guignard J.L. (2007). Systématique moléculaire, Abrégé de botanique, 14e édition, Masson, Issy-les-moulineaux, 285 p.

E. Guinoiseau. Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action. Sciences du Vivant [q-bio]. Université de Corse, 2010. Français. fftel-00595051

El Haib A., 2011. Valorisation De Terpenes Naturels Issus De Plantes Marocaines Par Transformations Catalytiques .

El kolli H , laouer H , el kolli M.(2017) : chemical composition and biological activities of the essential oils and the methanolic extracts of bunium incrassatum and bunium alpinum from algeria. Journal of the Chilean Chemical Society, 62,3335-3341

Eri, R. D., Adams, R. J., Tran, T. V., Tong, H., Das, I., Roche, D. K., ... & McGuckin, M. A. (2011). An intestinal epithelial defect conferring ER stress results in inflammation involving both innate and adaptive immunity. Mucosal immunology, *4*(3), 354-364.

Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M, Abdelly C. Phenolic composition of Cynara cardunculus L. organs and their biological activities. Comptes Rendus Biologies, 2008, 331, (5), 331- 372.

Fereira, V, J Barbosa, J Silva, S Vendeiroa, A Mota, F Silva, MJ Monteiroa, T Hogga, BP Gibbs, et P Teixeira. 2007: « Chemical and microbiological characterisation of "Salpicao de Vinhas" and "Chourica de Vinhas": Traditional dry sausages produced in the North of Portugal ». Food Microbiol 24: 618- 23.

Ferhat, Adel; Belhadi, Madani, (2016).Evaluation de l'activité cicatrisante et de l'effet anti-inflammatoire de Carthamus caeruleus L.

Filomena, N., Florinda, F., Laura, D. M., Raffaele, C. and Vincenzo, D. F. (2013). Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. Pharmaceuticals, 6 : 1451-1474. Doi:10.3390/ph6121451.

Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix J.J., 2005. Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes pp 121-216.

Fouché,J.Maquet ,A et Hambuchés, K . 2000. les plantes médicinales, de la plante au médicament, Observation du Monde des plantes Sart-Tilman

François, N. M. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydant et étude de leurs propriétés biologiques.Thèse de Doctorat. Université Paul Verlaine-Metz.

Freire Fierro, A., (2004). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition Clinique et Métabolisme.

GAGI, S TOUBAL (2018) : Contribution à l'étude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une plante médicinale endémique Talghouda: Bunium incrassatum

García-Mediavilla, V., Crespo, I., Collado, P. S., Esteller, A., Sánchez-Campos, S., Tuñón, M. J., & González-Gallego, J. (2007). The anti-inflammatory flavones quercetin and kaempferol cause inhibition of inducible nitric oxide synthase, cyclooxygenase-2 and reactive C-protein, and down-regulation of the nuclear factor kappaB pathway in Chang Liver cells. European journal of pharmacology, *557*(2-3), 221-229.

González N., Ribeiro D., Fernandes E., Nogueira D.R., Conde E., Moure A., Vinardell M.P., Mitjans M. and Domínguez H. (2013). Potential use of Cytisusscoparius extracts in topical applications for skin protection against oxidative damage. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 125, 83-89.

Gonzalez-Gallego, J., Garcia-Mediavilla, M.V., Sanchez-Campos, S. & Tunon, M.J., 2010-Fruit polyphenols, immunity and inflammation. British Journal of Nutrition, 104, 15-27

Guignard J.L., 1996. Abrégé de biochimie végétale, Ed. Masson, Paris, 160 p.

Guignard J.L., 1996. Abrégé de biochimie végétale, Ed. Masson, Paris, 160 p.

Guillouty A., 2016. Plantes médicinales et antioxydants

Halldor, T. (2011). Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents.Edition. John Wiley & Sons, Ltd, p : 205.

Hanif, M.A., Nisar, S., Khan, G.S., Mushtaq, Z., Zubair, M. (2019). Essential Oils. In: Malik, S. Essential OilResearch, pp : 3-17. **https://doi.org/10.1007/978-3-030-16546-8_1**

Harbone J B, 1967. Comparative biochimitry of the flavonoides.Academic press.New York, 1-130 p.

Hartmann T., 2007. From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. Photochemistry 68: 2831 - 2846.

Hernandez –Ochoa (2005),LR ; «Substitution de solvants et matière actives de synthèse par combiné "Solvant /Actif "D'origine végétale » ;Thése de Doctorat , Institut National Polytechniques de Toulouse.

Heywood V. H., 1996 : Les plantes à fleurs 306 Familles de la flore mondiale 335.

Institut Européen des substances Végétales, 2015.paris-James T., 1993. White, the national cyclopaedia of American Biography, vol 21, University of Michigan

Jassbi A.R., Mehrdad M., Soleimani M., Mirzaeian M. & Sonboli A., 2005 : Chemical Composition of the essential oils of Bunium elegans and Bunium caroides. Chemistry of Natural Compounds 41, 415–417

Journal officiel du 15/09/2013

Justin, N. K., Edmond, S., Ally, R. M. and Xin, H. (2014). Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2 : 377-392.

KAROUCHE S.1 , BENBOTT A.1 , HENOUDA S.2 (2022) : CONTENU PHENOLIQUE ET ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DES FEUILLES DE L'ÉSPÈCE Bunium mauritanicum, Revue des BioRessource.V(12), 13-22.

Khetouta ML.,1987. Comment se soigner par les plantes médicinales , Marocaines et internationales ;Tanger ,311p.

Kim J., Lee K.W. and Lee H.J. (2014). Polyphenols suppress and modulate inflammation: possible roles in health and disease. In Watson R.S., Preedy V.R. and Zibadi S. Polyphenols in human health and disease.First edition, Elsevier: Amsterdam. 393-408.

Knežević, S.V., Blažković, B., Štefan, M.B., Alegro, A., Kőszeg, T & Petrik, J. (2011). Antioxidant activities and polyphenolic contents of three selected Micromeria species from Croatia.Molecules, 16(2), 14454-1470.

Koffi Apeti Gbogbo, Amégninou Agban, Yawo Agbelessessi Woegan , Eyana Kpemissi Amana, Patrick Yao Hoeko, Komlan Batawila, Kossi Koumaglo, Koffi Akpagana (2013).EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DE MOMORDICA CHARANTIA (CUCURBITACEAE), PSIDIUM GUAJAVA (MYRTACEAE) ET PTELEOPSIS SUBEROSA (COMBRETACEAE). European Scientific Journal, (9), 411-421

Kouadio, F. K., Guessennd, N. K., Karamoko, O., Bahi, C., Adama, C., & Dosso, M. (2013). Action antibactérienne de l'extrait éthanolique 70% de Clerodendrum splendens (G. Don)(Verbenacae) sur des souches bactériennes isolées de selles chez des

enfants diarrhéiques. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 7(3), 1332-1337

Ksouri R, Megdiche W, Falleh H, Trabelsi N, Boulaaba M, Smaoui A, Abdelly C. Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. C. R. Biol, 2008, 331, 865- 873.

Lebouazid R, Meziani R.(2020) . Etude des activités antioxydante et antiinflammatoire de l'espèce Bunium mauritanicum, Mémoire Présenté pour l'Obtention du Diplôme de MASTER en Biologie,UNIVERSITE LARBI BEN MHIDI OUM EL BOUAGH

Lu Y, and L, Foo Y.(2001),"Antioxidant Activities of Polyphenols from Sage (Salvia officinalis)," Food Chemistry, Vol. 75, No. 2, 2001, pp. 197-202

Lucchesi ;ME ,(2005)«Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles».Thése de Doctorat en Sciences , discipline :chimie, Université de la Réunion,143p .

Mami, I. R., Belabbes, R., Amine Dib, M. E., Tabti, B., Costa, J., & Muselli, A. (2020). Biological activities of Carlina oxide isolated from the roots of Carthamus caeruleus. *The Natural Products Journal*, *10*(2), 145-152.

Mioulane, P. (2004). Encyclopédie universelle des15000 plantes et fleurs de Jardin.•Larousse, Paris,France. 1080 p.

Nabors M. (2008). Biologie végétale: structures, fonctionnement, écologie et biotechnologies. Pearson (ed.). France. P. 152-153.

Paduch, R., Kandefer-Szerszeń, M., Trytek, M. (2007). Terpenes: substances useful in human healthcare. Arch. Immunol. Ther. Exp. 55, 315 **https://doi.org/10.1007/s00005-007-0039-1**.

Pastrikos, G. (2018). CARTHAMUS CAERULEUS L. (CARDUEAE, ASTERACEAE), A NEW RECORD FOR RODOS ISLAND, GREECE.

Pharmacopée Européenne. (2007). Direction de la Qualité du Médicament & Soins de Santé du Conseil de l'Europe (DEQM), Strasbourg, France.

Pisoschi, A.M., Cheregi, M.C & Danet, A.F. (2009). Total Antioxidant Capacity of Some Commercial Fruit Juices: Electrochemical and Spectrophotometrical Approaches. Molecules, 14(1), 480-493.

Prosper-Cabral N B, Gabriel A A, Julius E O, Jeanne Y N. Phytochemical studies and antioxidant properties of four medicinal plants used in Cameroon. Afr. J. Trad. CAM, 2007, 4, S.

Quezel, P., & Santa, S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales* (No. 581.965 Q8).

Raad A Kaskoos. (2014). Physico-chemical Parameters, Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Seeds of Peganum harmala Collected from Iraq, 4(28), 20-24.

Raaman, N. (2006). Phytochemical techniques. New India Publishing, New Delhi, Inde

Ramdani,L et Zaouani, S (2022) : Evaluation des activités biologiques des extraits des plantes médicinales locales : Inula viscosa L et Carthamus caeruleus L, Université A. M. OULHADJ – Bouira.

Raven P.H., Evert R.F., Eichhorn S.E. (2014). Biologie végétale. De Boeck (ed.). Bruxelles. P. 30 ,33.

Ribereau G P, 1968. Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris, 254 p.

Roux,D.,2008 «Conseil en aromathérapie».2éme édition ;Pro officina,187p.

Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scaglianti M., Manfredini S., Radice M. and Bruni R. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods.Food Chemistry. 91(4), 621-632

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.

Saffidine, K. (2015). Etude analytique et biologiquedes flavonoïdes extraits de Carthamus caeruleus L. et de Plantago major L.Pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences. Université Ferhat Abbas –Sétif

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents.American journal of Enology and Viticulture, 16(3), 144-158.

Sirerol, J. A., Rodríguez, M. L., Mena, S., Asensi, M. A., Estrela, J. M., & Ortega, A. L. (2015). Role of natural stilbenes in the prevention of cancer.Oxidative Medicine and Cellular Longevity.

Smate Abdoul D.(2001).Composition chimique d'huiles essentielles extraites de plante aromatique de la zone soudanienne du burkina faso :valorisation,thèse de doctorat, université de ouagadougou, Burkina Faso .

Soin de nature , pharmacie française spécialisée dans les produits de soin naturels , inscrite à l'ordre des pharmaciens sous le numéro 00123792/A

Stöckigt J., Sheludko Y.,Unger M.,Gerasimenko I., Warzecha H., Stöckigt D., 2002. Highperformance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoreticelectrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. Journal of chromatography A 967: 85-113.

Strang, C. (2006). Larousse médical : Ed Larousse (26p).

Swain T, Hillis WE (1959).The phenolics constituants of Prunus domestica -I- the quantitative analysis of phenolics constituents. J Sci Food Agric 10: 63–81

walton N.J.et Brown D.E.;1999;Chemical from Plants :Perspectives on plantsecondary products: ed: world scientific ;p:1-14

Whetstone R.D., Atkinson T.A., Spaulding D.D. (1997). Berberidaceae Jussieu. In Flora of NorthAmerica Editorial Committee (Eds.) Flora of North America of Mexico, Magnoliophyta : Manoliideae and Hamamelideae, New York and Oxford. On-line version, 3.

Winter C.A., RisleyE.A.andNuss G.W. (1962). Carrageenin-induced oedema in hind paws of rats as an assay for antiinflammatory drugs. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. 111, 544-547.

Annexes

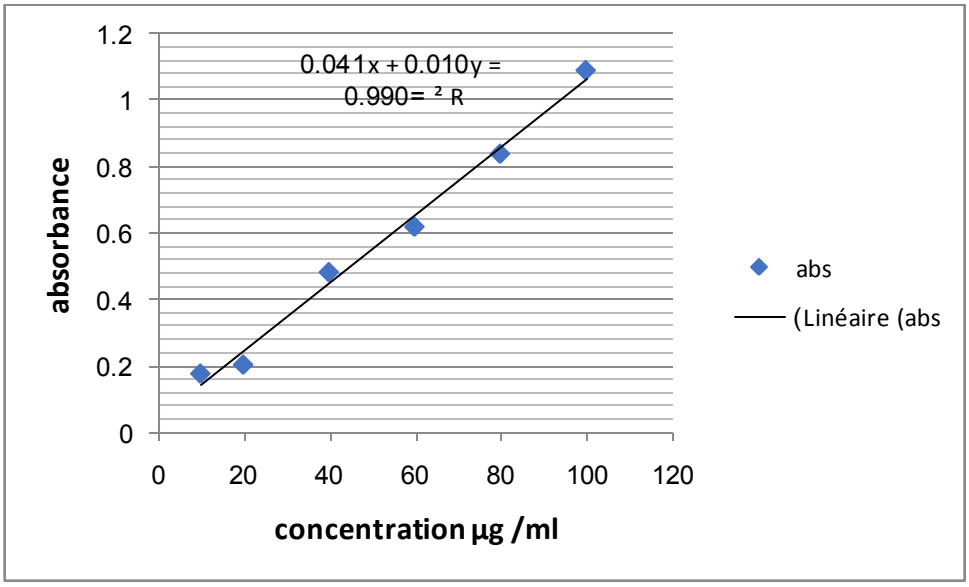


Figure 47:courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des composés phénoliques

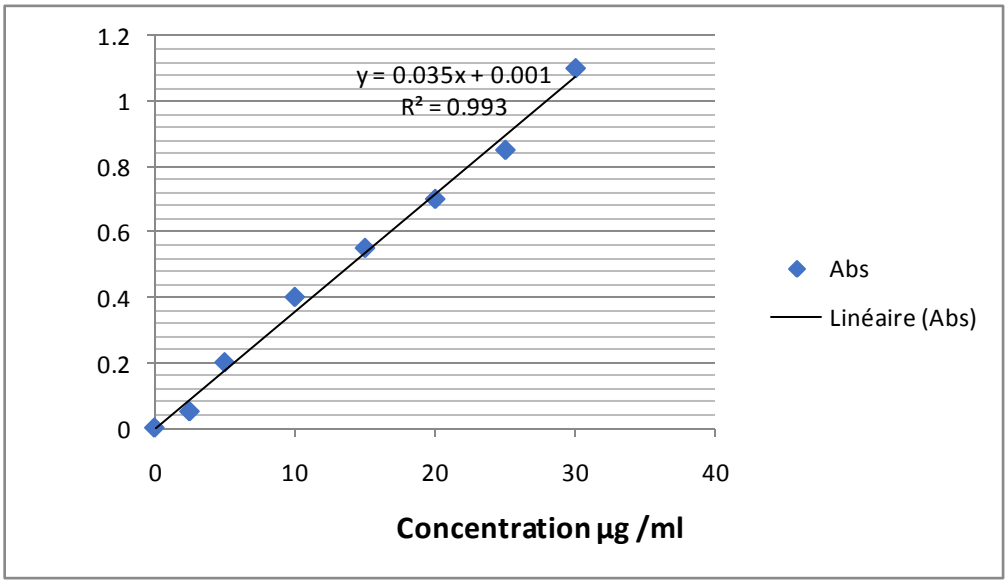


Figure 48: courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des composés phénoliques

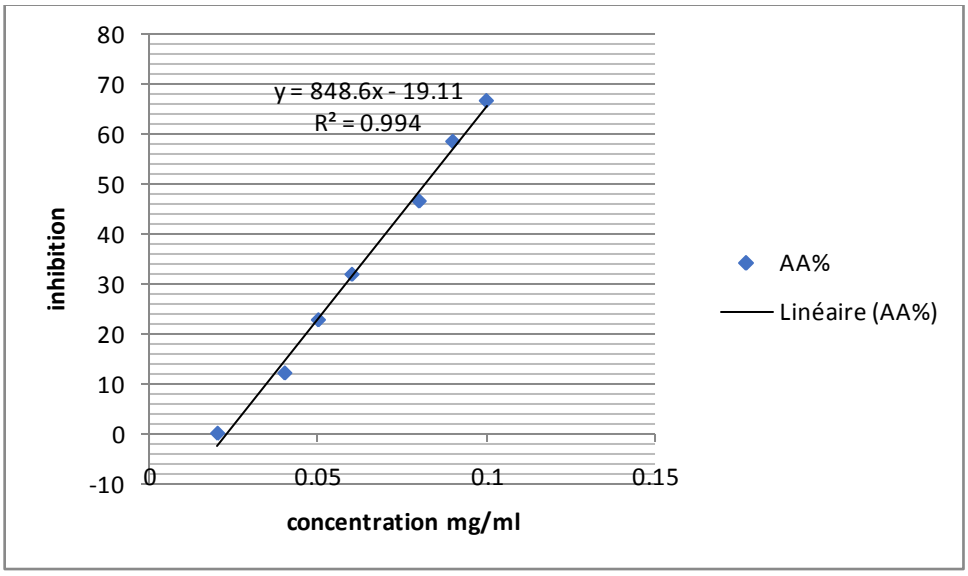


Figure49: Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

Les résultats d'activité antiradicalaire de l'extrait testé sont présentés dans les figures :

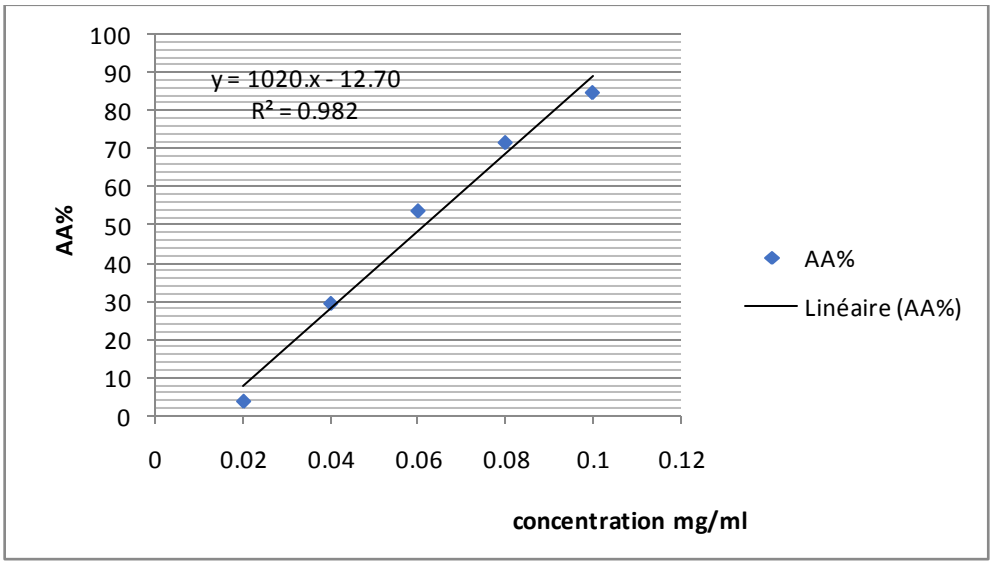


Figure50: Les résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) de l'huile essentielle de C caeruleus

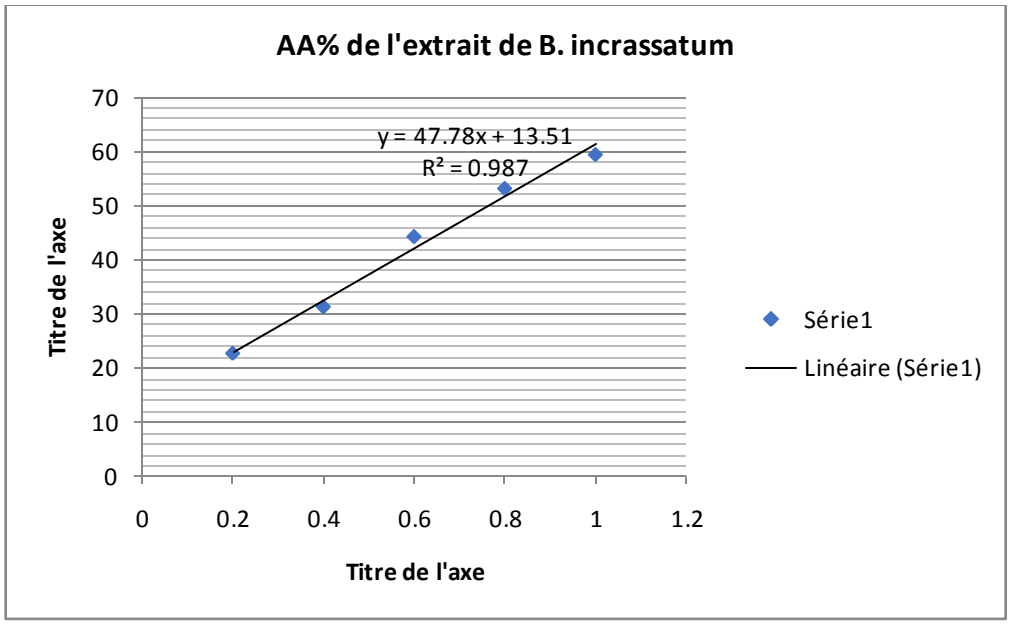


Figure 51: Les résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) d'extrait méthanolique de l'espèce B incrassatum (tige)

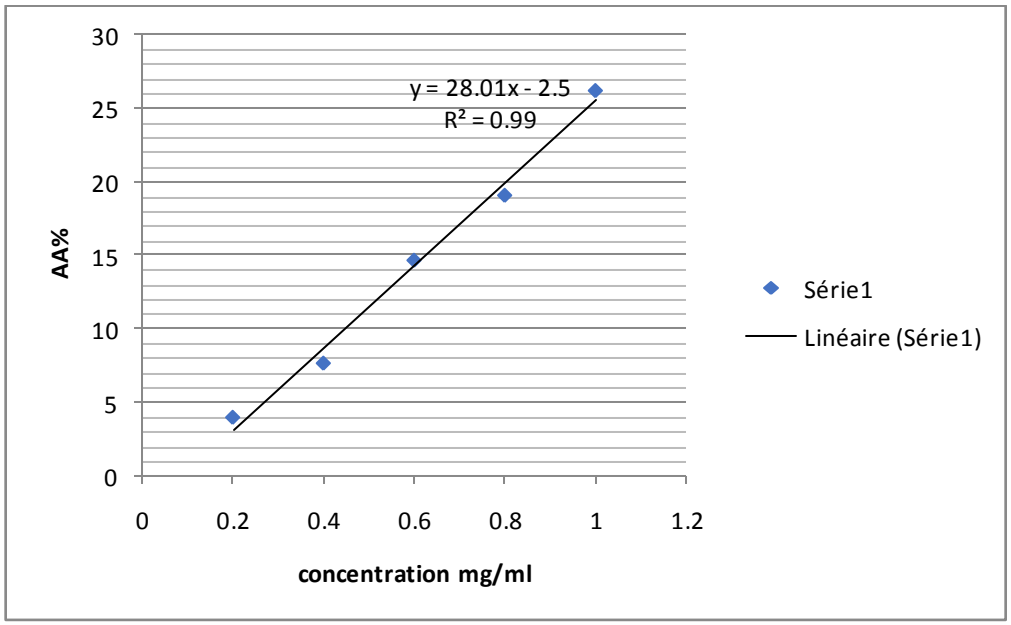


Figure52: Les résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) d'extrait méthanolique de l'espèce C.caeruleus (tige)

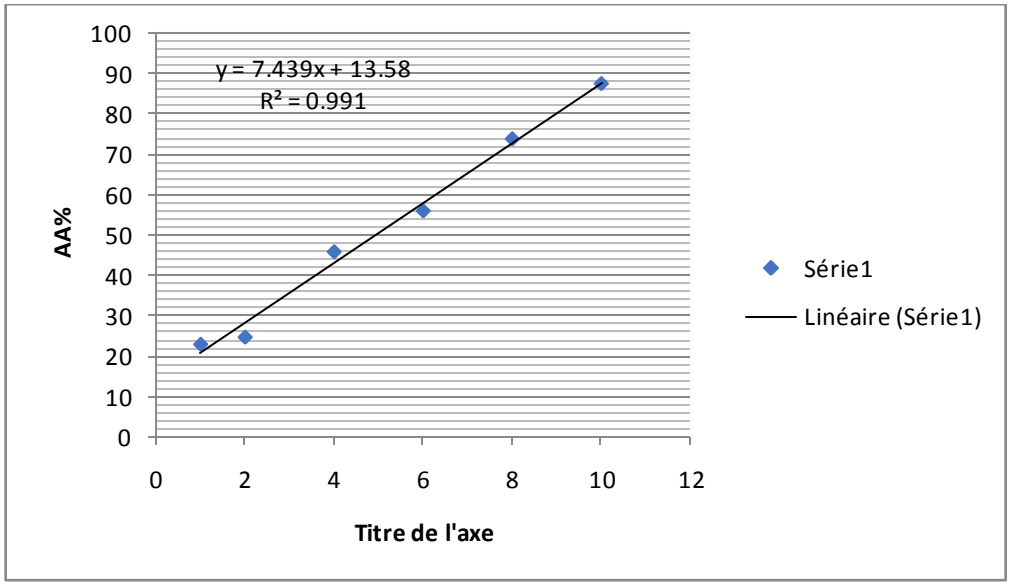


Figure 53: Les résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) d'extrait méthanolique de l'espèce B.incrassatum (tige)

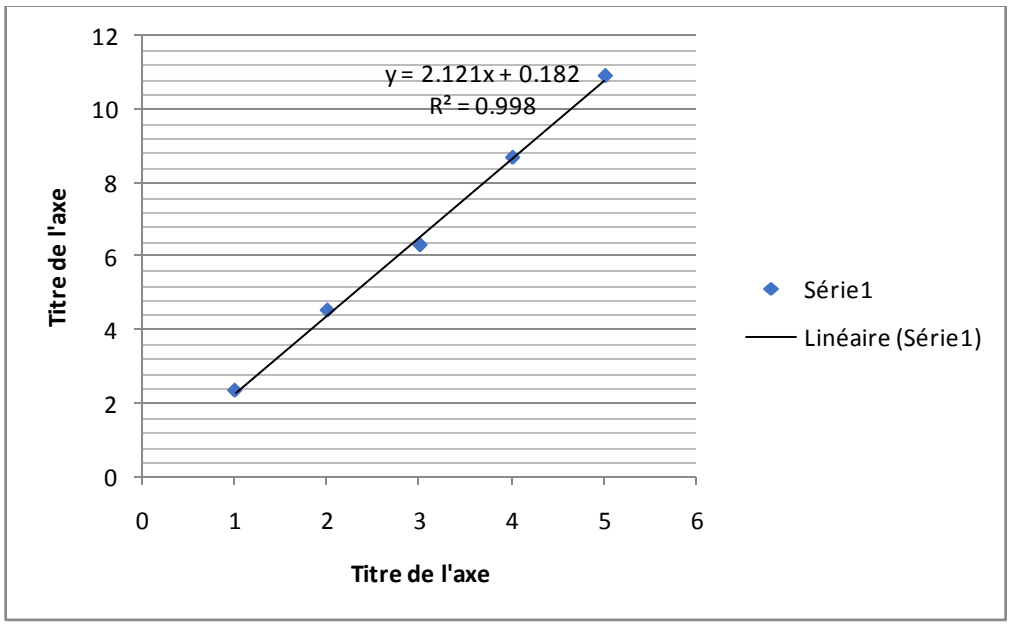


Figure 54: Les résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) d'extrait Aqueux de l'espèce B.incrassatum

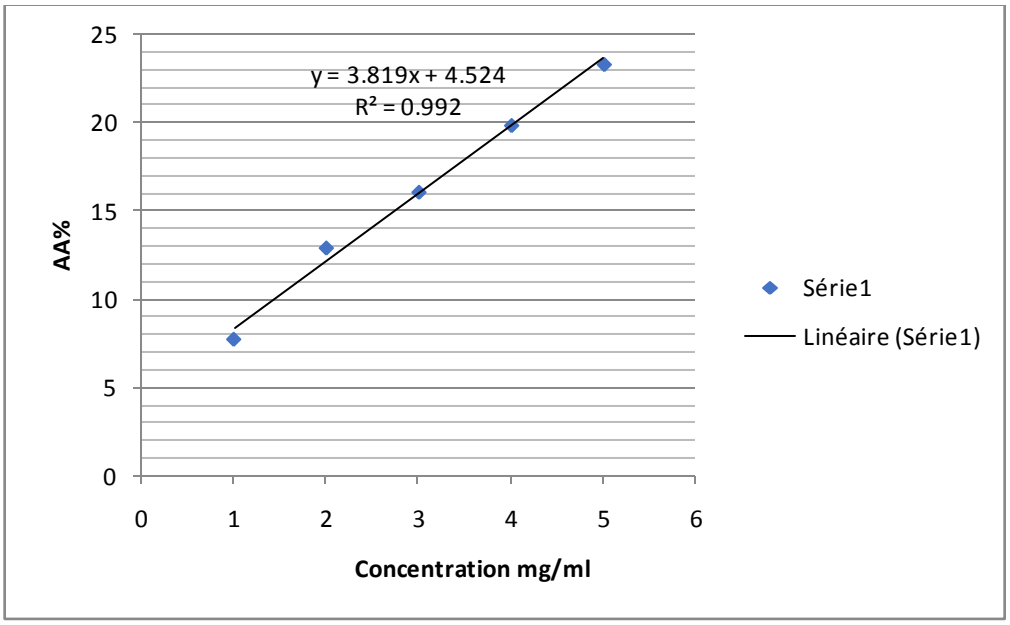


Figure 55: Les résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) d'extrait aqueux de l'espèce C.caeruleus(Racine)

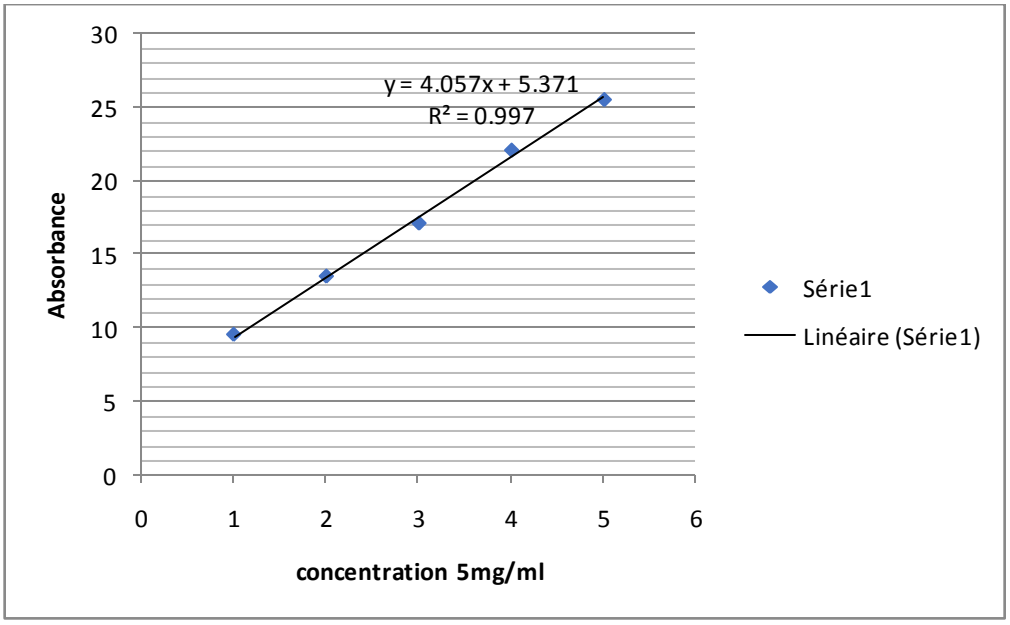


Figure 56: Les résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) d'extrait aqueux de l'espèce B.incrassatum (Racine)

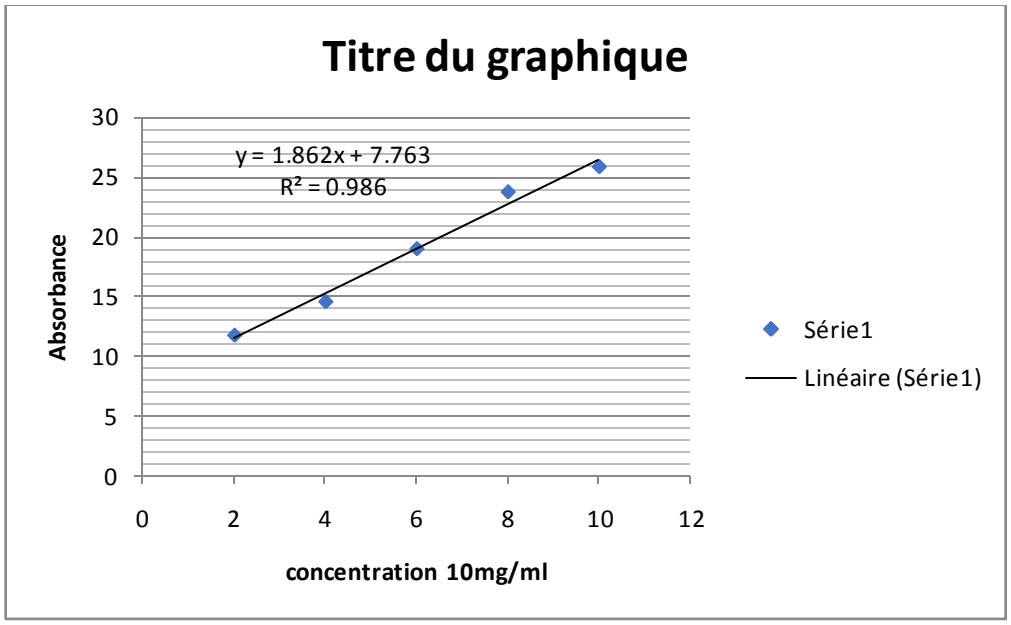
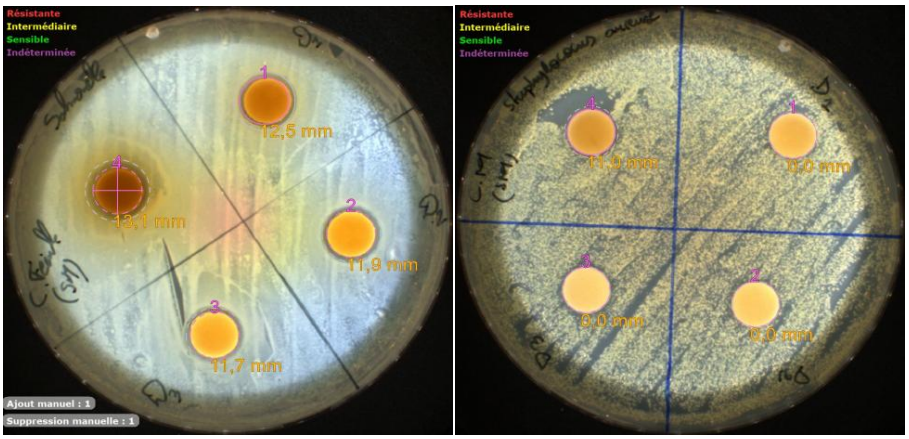


Figure 57: Les résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) d'extrait



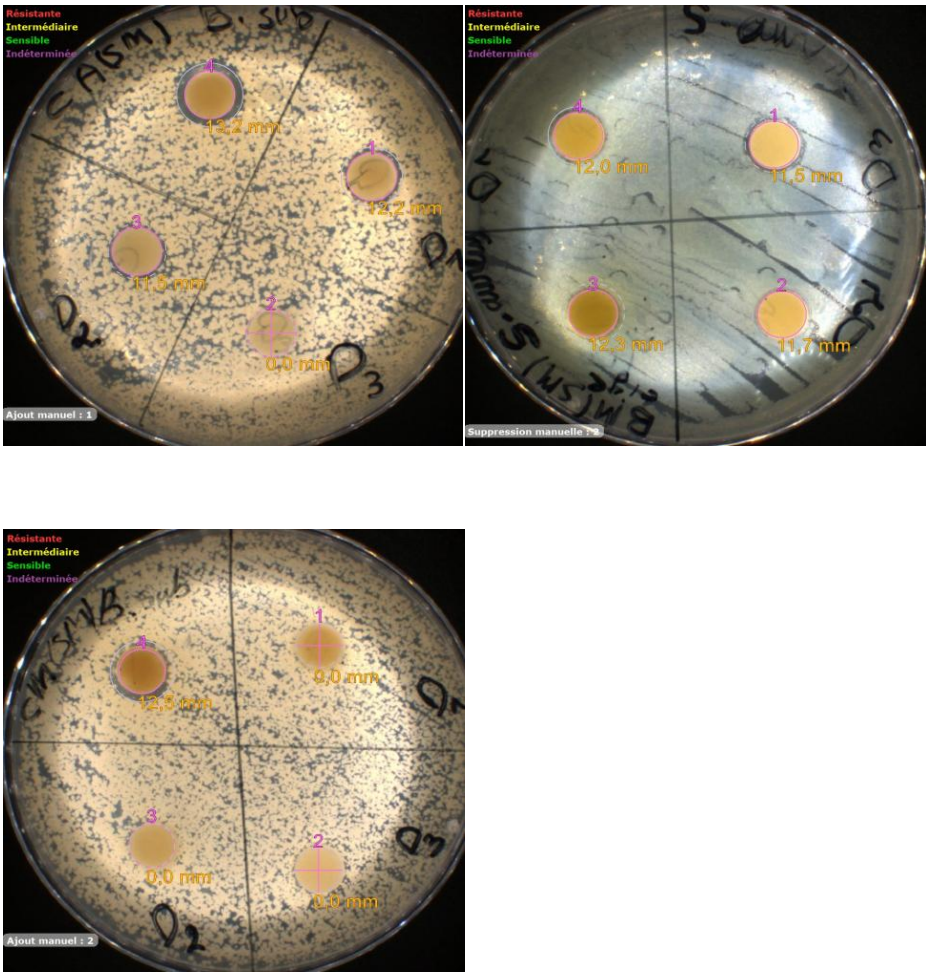


Figure 58: L'effet des extraits methanoliques et aqueux des deux plantes étudiées sur les souches bactériennes

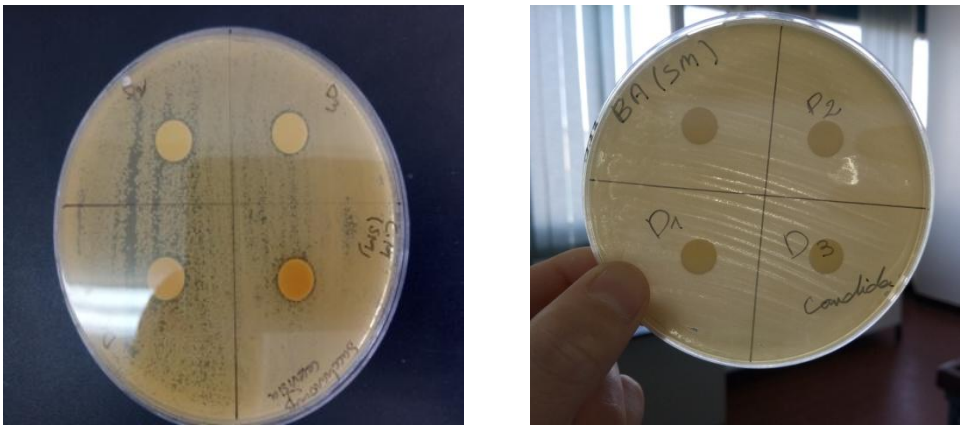


Figure 59:L'effet des extraits methanoliques et aqueux des deux plantes étudiées sur les souches fongiques