



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة الشهيد حمّة لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakdhar- EL OUED

كلية العلوم الطبيعية والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزينية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

THEME

**Contribution a l'étude phytochimique des
extraits de racines de *Carthamus caeruleus***

Présenté Par :

M^{me} : CHERIET Anfel

M^{elle} : HEZLA Naoual

Devant le jury composé de :

Présidente :	Dr. ALIA Zeid	M.C. A	Université d'El Oued
Examineur :	Dr. KHELEF Yahia	M.C. B	Université d'El Oued
Promoteur :	Dr. TLILI Mohammed Laid	M.C. B	Université d'El Oued

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions **Allah tout** puissant de nous avoir donné la force, le courage et endurance de surmonter tous les problèmes.

Merci, après Dieu Tout-Puissant, à ceux à qui je ne peux retourner la faveur qu'en remerciant le plus précieux de ceux qui existent, "**ma mère**" et "**mon père**"

Nos remerciements s'adressent en particulier à notre professeur et promoteur **Dr. TLILI Mohammed Laid** cheffe de département cellulaires et moléculaire à la faculté des Sciences de la nature et de la vie à l'université Echahid Hamma Lakhdar EL oued

Nous adressons également mes sincères remerciements à Aux professeurs respectés, Membres du comité de discussion président **ALIA Zeid** et examinateur **KHELEF Yahia**

Ensuite, Nous remercions le **Dr. ZEGHIB Khaoula** pour son aide et Sans oublier **SHANA Djihad** pour l'aide que vous nous avez apporté
Merci beaucoup Aussi aux informateurs du laboratoire pédagogique des Facultés des Sciences Exactes et de Technologie pour toutes les facilités et l'aide qu'ils nous ont fournies.

Nous n'oublions pas de remercier tous ceux qui nous ont aidés à mener à bien ce travail de près ou de loin.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

En hommage :

*À ma mère et mon père, tu m'as tant donné, parfois un mot suffisait
pour me donner du courage, de suivre ma voie, merci pour ta présence.*

Aux mes frères et mes sœurs, il n'y a pas d'exception

A mon compagnon de travail Anfel

Un grand Merci

A tous ceux qui m'ont aidé dans mes Carrière études.

Naoual

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

En premier lieu ceux que personne ne peut compenser

*les sacrifices qu'ils m'ont consentis pour mon
éducation et mon bien-être à mes parents qui se sont
sacrifiés pour prendre soin de moi tout au long de ma
vie et qui sont à l'origine de ma réussite, que dieu les
grades et les protèges.*

A mon mari qui m'a encouragé à réaliser mon rêve.

*Je dédie le fruit de cet effort à mes compagnons de
route et de cheminement (Djohaina et Naoual) qui an
été un soutien et une aide dans la réalisation de ce
travail.*

Anfel

Résumé :

Ce travail vise à évaluer l'activité biologique de la plante *Carthamus caeruleus* L., on utilise deux méthodes extractives, Le premier méthode est la macération et le deuxième par le chauffage pour obtenue une crème.

L'analyse quantitative des composés phénoliques a été faite par la détermination de quantité des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu, et des flavonoïdes en utilisant le trichlorure d'aluminium, en plus des tanins condensés par vanilline sulfurique catéchine et l'analyse qualitative par la technique HPLC. L'évaluation de l'activité antimicrobienne basé sur les disques et le pouvoir antioxydants par le test de DPPH et β -carotène dans les deux extraits.

Les résultats ont montré l'estimation quantitative des polyphénols totaux des racines qu'elles sont riches en polyphénols, qui atteint $78,706 \pm 2,1536$ mg EAG/g pour l'extrait crème et $53,186 \pm 3,11$ mg EAG/g pour les extraits hydroalcoolique, la concentration flavonoïdes atteint $11,52$ (mg EQ/g) pour l'extrait l'eau et $11,56$ (mg EQ/g) pour l'extrait de racine sèche et des tanins atteignait $6,586 \pm 0,0264$ (mg ECT/g). De l'extrait hydro éthanolique, était de $2,666 \pm 0,0373$ (mg ECT/g). Pour l'extrait de crème.

Le résultat de la chromatographie HPLC nous a permet d'identification certains composés phénoliques, il a montré la présence d'acide chlorogénique avec de $2,001$ μ g/ml dans l'extrait hydroalcoolique, alors que l'extrait aqueux était à $0,435$ μ g/ml en plus de l'acide gallique, elle s'élevait à $0,916$ μ g/ml dans l'extrait l'eau et à $0,864$ μ g/ml.

L'évaluation de l'activité antioxydant réalisé par d'inhibition le radicaux libres DPPH selon la concentration inhibitrice IC₅₀ de l'extrait l'eau était de $22,3 \pm 10,768$ par rapport de l'extrait hydro alcoolique estimée à $23,627 \pm 2,41$. Nous avons dépendons le test β -carotène, l'extrait de racines sèches 76% et crème 39,78%. Les résultats d'activité antimicrobienne a montré la présence d'activité chez certains types de bactéries et son absence chez les autres avec différents diamètres d'inhibition de 7 mm à 8,66 mm.

Mots-clés : *Carthamus caeruleus*, extrait crème, polyphénols, antioxydant et antibactérienne.

الملخص

يهدف هذا العمل الى تقييم الفعالية البيولوجية لنبات *Carthamus caeruleus. L* حيث اعتمدنا طريقتين لاستخلاص, الأولى طريقة النقع والثانية بواسطة التسخين ولدراسة فعالية النبة اتبعنا محورين, المحور الأول يخص التقدير الكمي الإجمالي لعديد الفينول الكلية بطريقة Folin-Ciocalteu والفلافونويدات بطريقة trichlorure d'aluminium بالإضافة العفص كما تطرقنا الى التقدير النوعي لعديد الفينول باستخدام جهاز كروماتوغرافيا السائلة عالية الضغط HPLC أما المحور الثاني يخص تقييم النشاطية ضد الميكروبية والمضادة للأكسدة لكل من المستخلصين.

أظهرت النتائج التقدير الكمي لعديد الفينول الكلية انها غنية بعديد الفينول حيث وصلت الى $2.1536 \pm 78.706 \text{ mg/ml}$ للمستخلص المائي و $3.11 \pm 53.186 \text{ mg/ml}$ للمستخلص الكحولي المائي اما بالنسبة الى فلافونويدات وصلت الى 11.52 mg/ml للمستخلص المائي اما المستخلص الكحولي المائي بلغت 11.56 mg/ml للمستخلص الكحولي المائي المكافئ لكرستين كما بلغ العفص $0.0264 \pm 6.586 \text{ mg/ml}$ عند مستخلص الجذور الجافة و $0.0373 \pm 2.666 \text{ mg/ml}$ لمستخلص المرهم.

ساهمة نتائج الكروماتوغرافيا HPLC على تحديد هوية بعض المركبات الفينول فلقد اظهرت وجود Acide chlorogénique بكمية $2.00 \mu\text{g/ml}$ عند المستخلص الكحولي المائي بينما المستخلص المائي. $0.435 \mu\text{g/ml}$ بالإضافة الى حمض الغاليك قدر $0.916 \mu\text{g/ml}$ في المستخلص المائي و 0.864 وغياب بعض أنواع المركبات Quercitrine وvanillin.

أمكن التقييم البيولوجي لنشاطية التأكسدية من وجود مضادات اكسدة متنوعة. نشاطية تثبيط كل من الجذور الحرة DPPH ووفقا التركيز المثبط IC_{50} حيث كان انخفاض التركيز المثبط عند المستخلص المائي 10.768 ± 22.3 مقارنة من المستخلص الكحولي المائي يقدر ب 2.41 ± 23.627 . واستعملنا اكسدة - β carotène و acide linoléique كانت النتائج مخالفة لنتائج تثبيط الجذور الحرة حيث كانت عند مستخلص الجذور الجافة % 76 والمرهم % 39.78 اما بالنسبة الى نتائج النشاطية ضد ميكروبية فلقد أظهرت وجود نشاطية عند بعض أنواع البكتريا وغيابها عند الاخر بأقطار تثبيطه مختلفة تراوحت ما بين 7م الى 8.66م.

الكلمات المفتاحية *carthamus caeruleus. L*, عديد الفينول, مضادات الاكسدة, مضادات البكتريا.

Liste des Figures

Liste des Figures

Figure 01 : Organes de <i>Carthamus caeruleus</i>	6
Figure 02 : Structure chimique de base des flavonoïdes.	11
Figure 03 : Structure chimique des acides hydroxy benzoïques et hydroxy cinnamiques	12
Figure 04 : Structure des tanins	13
Figure 05 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène	16
Figure 06 : Polyphénols dans quelle que source nitruriez	20
Figure 08 : les racine <i>carthamus caeruleus</i> . L	25
Figure 09 : (a) les racine <i>carthamus caeruleus</i> sans cortex, et (b) forme les crèmes.....	26
Figure 10 : représenté méthode de travail spectrophotomètre UV-visible.....	27
Figure 11 : représenté principe chromatographie de HPLC.....	29
Figure 12 : représenté le piègeage des radicaux libres de DPPH	31
Figure 13: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	34
Figure 14 : Concentration les polyphénoletotaux totaux dans les crème et l'extrait hydroéthanolique.....	35
Figure 15: Courbe d'étalonnage de la catéchine	36
Figure 16 : Résultats de taux des tanins condensés dans les crème et l'extrait hydro- éthanolique.	36
Figure 17 : Courbe d'éthalonage de quercitine	37
Figure 18 : Résultats de concentration des flavonoïdes dans le crème et l'extrait éthanolique	37
Figure 19 : chromatogramme d'extrait de crème.....	38
Figure 20 : chromatogramme d'extrait éthanolique	39
Figure 21 : chromatogramme de quelques espèce phénolique	39
Figure 22: pourcentage d'inhibition le radicaux libre DPPH par IC50.	42
Figure 23 : Test de blanchiment du β -carotène des extraits de racine de <i>Carthamus caeruleus</i>	43
Figure 24: la patiente de la brûlure traitée par le crème uniquement.	45
Figure 25 : la patiente de la brûlure traitée par le crème et autre traitement en parallèle.	45
Figure 26: les Localisation d'infecté après l'utilisation de crème.	46
Figure 27: représenté le cas final du zone brûlure après 20 de traitement	47

Liste des Tableaux

Liste des tableaux

Tableau 01 : Les noms de la plante <i>carthamus caeruleus</i> L.	7
Tableau 02: représenter l'espèce bactériennes étudiée	24
Tableau 03: les conditions expérimentales d'HPLC	29
Tableau 04 : expliquer la variation des phases mobile (A) et (B).....	30
Tableau 05 : les nombres de pics et le code de témoin et le temps de rétention selon le nom de l'espèce	40
Tableau 06 : Représente les composés phénoliques les plus importants séparés par HPLC des extraits hydro-éthanol et l'eau.....	41
Tableau 07 : Activité antimicrobienne des extraits éthanoliques et des extraits l'eau.....	44

Liste des abréviations

Liste des abréviations

ADN : désoxyribose nucléique

AlCl₃: Chlorure d'aluminium

BHT: Hydroxy toluène butyle

CAT: Catalase

CoQ: Coenzyme Q

DMSO: Diméthylesulfoxyde

DPPH : Le 2,2'-Diphényl-1-picrylhydrazyl

ERA : Espèces réactives de l'azote

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

EtOH : Ethanoïque

FeCl₂ : chlorure de fer

GPx : Glutathionne peroxydase

HCl : Acide hydrochlorique

HClO₃ : Chloric acide

HPLC : chromatographie en phase liquide à haute performance

IC₅₀ : concentration inhibitrice de 50% de la population cellulaire

LDL: Low Density lipoprotéines

MeOH: méthanol

MeOH: Methanol

Na₂CO₃: Carbonate de sodium

SOD : Super oxyde dismutases

Sommaire

Sommaire

Remercîments	
Dédicace.....	
Résumé :	
Liste des Figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Sommaire.....	
Introduction générale.....	1

Premiere partie : Etude bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la plante

I- Généralités sur la plante.....	6
I-1- Description botanique.....	6
I-2- Position systématique	7
I-3- Habitat et répartition géographique	7
I-4- Utilisations traditionnelles	8

Chapitr II : Polyphénols

I- Polyphénols.....	10
I-1- Flavonoïdes.....	10
I-1-1- Flavones et flavanols.....	11
I-1-2- Isoflavones	11
I-2- Acide phénolique.....	11
I-2-1- Phénols simples:	12
I-2-2- Acides phénols dérivés de l'acide benzoïque	12
I-3- Tanins	12
I-4- Lignines	13
II- Biosynthèse les polyphénols.....	13

Chapitre III : Stress oxydatifs

I- Stress oxydatifs	15
I-1-Origine les stress oxydatifs.....	15
I-2- Radicaux libres	15
I-3- Type de espèces réactives.....	15
I-3-1- Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	16
I-3-2- Espèces réactives de d'azote (ERA).....	16

Sommaire

I-4- Cibles de stress oxydatif	17
I-4-1-Acide désoxyribonucléique	17
I-4-2- Protéines	17
I-4-3- Lipoprotéines.....	17
I-5- Maladies liées avec stress oxydative	17
I-6- Causes de stress oxydant	18
II- Les antioxydants	18
II-1- Les antioxydants endogènes.....	18
II-1-1- Système défense enzymatique	18
II-1-2-Système défense non protéique.....	19
II-2- Antioxydants exogènes	19
II-2-1- Vitamine E	19
II-2-2- Vitamine C	20
II-2-3- Polyphénols.....	20

Deuxieme partie: Partie pratique

Chapitr I : Matériels et méthodes

I-Matériel.....	23
I-1- Matériel biologie.....	23
I-1-a- Matériel végétale	23
I-1-b- Souches microbiennes	24
I-2-Matériel non biologique.....	24
II- Méthode	25
II-1- Préparation des extraits	25
II-1-a- Extraction par macération	25
II-1-b- Extraction par chauffage	26
II- 2- Calcule les rendements de l'extrait hydroalcoolique.....	26
II-2- Analyses quantitatives.....	27
II-2-a- Dosage de polyphénols totaux	27
II-2-b- Dosage les tanins condensés	28
II-2-c- Dosage de flavonoïdes	28
II-3- Analyses qualitatives.....	28
II- 3- a-Mode opératoire de chromatographie d'HPLC	29
II -4- Évaluation activité biologique.....	30
II -4 -1- Activité antioxydant.....	30

Sommaire

II- 4-1-b - Test de blanchiment du β -carotène.....	31
II-4- 2- Activité antimicrobienne.....	32
II-2-c- Préparation des boîtes de Pétri pour l'antibiogramme	32
III- Evaluation d'activité cicatrisant.....	32
Chapitr II: Résultats et Discussion	
I-Rendement d'extrait	34
II- Analyse quantitative	34
II- 1- Dosage de polyphénols totaux	34
II-2- Dosage des tanins condensé	35
II-3- Dosage de flavonoïde	37
III-Analyse qualitative	38
IV- Activités biologiques	42
IV-1- Activité antioxydante.....	42
IV- 1 a- Activité antiradicalaire au DPPH.....	42
IV -1-b- Test de blanchiment du β -carotène.....	43
IV- 2- Activité antibactérienne	43
IV- 3- Evaluation d'activité cicatrisant	44
Conclusion.....	48
Références bibliographiques.....	51
Annexes.....	56

Introduction

Introduction

L'étude de la médecine traditionnelle et du traitement par les plantes est un particulièrement intéressante car peu de travaux de recherche ont concerné cet aspect, et plus particulièrement l'utilisation des espèces spontanées en médecine traditionnelle. Cette étude permet déterminer les effets thérapeutiques, en Algérie il y a un plusieurs espèces du plant constitue un véritable réservoir phylogénétique. (**Hamel et al., 2018**). Les plantes médicinales sont traditionnellement utilisées depuis très longtemps le temps de soigner des maladies courantes et plus graves. Leurs actions proviennent de leurs composés chimiques: métabolites primaires et secondaires, et sans aucun doute de la synergie entre les différents composés cadeau (**Reguieg, 2011**).

Tous les plants végétaux synthétisé les métabolique secondaires, c'est une matière organique pour interaction avec l'environnement. Parmi ces métabolique sont les flavonoïdes, les terpénoides polyphénols et alcaloïdes leur actions antioxydants, antiinflammatoires, anticancéreuses et antimicrobienne.

Les polyphénols sont substance chimique naturelle syénites par les plantes possédant un effet thérapeutique. Ils jouent un rôle très important, principalement dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et elles sont enter dans la fabrication des médicaments (**Tlili, 2016**).

Le métabolisme cellulaire produit à l'état physiologique une variété de radicaux libres dérivés de l'oxygène Dans certaines conditions pathologiques, ces ainsi que leurs dérivés sont produits de façon excessive Parmi l'anion superoxyde (O_2) joue un rôle clé dans l'inflammation en général, en particulier L'enzyme superoxyde dismutase (SOD) est impliqué dans la neutralisation de l' O_2 en le transformant en peroxyde (**Afonso et al., 2007**). Les antioxydants naturels, en relation avec leurs Propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, L'activité antioxydant d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Comme β -carotène, l'acide ascorbique le tocophérol ainsi que les composés phénoliques. (**Popovici et al., 2099**).

Les plantes carthamus caerulus. L conune Mortgousse entre la population de sud d'Algerie et de Cardoncelle bleue en francais utilisé les racines de cette espèce sont très utilisées dans le traitement des brûlures dans la région de Boumerdes, Tizi-Ouzou et Sétif et Telemecen, sous forme de pommade Cette dernière est préparée à partir des racines préalablement lavées et épluchées, puis bouillies dans du lait ou de l'eau. Ces racines sont ensuite écrasées, réduites en pommade, appliquée sur les brûlures. (**Dahmani ,2019**).

Introduction

Dans ce contexte notre étude s'intéresse à l'évaluation d'activité antibactériennes et antioxydant d'extrait hydro éthanolique et d'extrait de crème de plant *Carthamus caeruleus* L. Notre étude a divisé en deux parties, la première partie est synthèse bibliographie contient trois chapitre sont :

- ✓ Le premier est une description botanique, l'habitant, utilisations traditionnelle et l'activité biologie de plante *Carthamus caeruleus*.
- ✓ Deuxième chapitre comprend généralité sur les polyphénols.
- ✓ Troisième chapitre généralité sur l'activité antioxydant.

La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail qui porte sur :

- ✓ Dosage des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés dans extrait de l'eau et extrait hydro éthanolique de plant
- ✓ Analyse des extraits par HPLC pour évaluer la quantité de quelque espèce polyphénols.
- ✓ Evaluation de l'activité antioxydants ont utilisé deux méthodes le radicaux libre DPPH et le test β -carotène.
- ✓ Evaluation de l'activité antibactérienne sur certain souche bactéries.

Dans le dernier chapitre, nous présenterons les résultats obtenus et leur discussion.

*Premiere partie : Etude
bibliographique*

***Chapitre I : Généralités sur
la plante***

I- Généralités sur la plante**I-1- Description botanique**

Est une herbe annuelle ou bisannuelle à tige ascendante simple ou très peu rameuse de 20 à 60cm, glabre, dressée et velue. Feuilles glabres, sont fortement nervées, à contour ovale ou lancéolé Les feuilles inférieures sont pétiolées, dentées tandis que les feuilles supérieures sont sessiles dentées-épineuses Le système racinaire est composé. D'une racine principale qui évolue horizontalement et des racines secondaires Les fleurs sont bleues violettes, en capitules gros de 3 cm de large sur 3-4 cm de long, solitaires au sommet de la tige et des rameaux, globuleux ou ovoïdes. Les corolles sont bleues tubuleuses que prolongent 5 dents à valeur de courts lobes sommitaux. La période de floraison s'étale du mois d'avril au mois de juillet (Figure 01) (Gacem, 2019).



(A)



(B)



(C)

Figure 01 : Organe de *Carthamus caeruleus*

(A) fleur (B) feuillie et tige (C) racine.

I-2- Position systématique

Le genre Carthame est composé de 15 espèces d'origine méditerranéenne orientale. La plupart sont diploïdes, Certaines espèces se sont propagées bien au-delà de la Méditerranée orientale en tant qu'herbes dans toutes les régions climatiques méditerranéennes du monde) (Vilatersana, 2004). Les Astéracées représentent la plus importante famille de la division des spermatophytes. Elle comprend près de 25 000 espèces connues, groupées en 1500 genres repartis en 17 tribus répandues à travers le monde (Saffidine, 2015).

Règne : Plantae

Embranchement : Spermaphytes

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Sous famille : Carduoideae

Genre : Carthamus

Espèce : *carthamus caeruleus*. L

Chaque pays et régions d'Algérie ils ont nom spéciale du plante le tableau (1) clarifier quelque langue.

Tableau 01 : Les noms de la plante *carthamus caeruleus* L. (Dehmani, 2019).

Langue	Nom
Arabe	Kherchouf azraq
Français	Cardoncelle bleue
Anglais	Blue thistle
La société d'Algérie	Musgousse, Mortgousse, Emar gosgos

I-3- Habitat et répartition géographique

Est une plante qualifiée de rudérale. Elle pousse sur les terres humifères et légères, dans les chemins, les coupes des bois, les champs et les jardins bien cette plante vivent au niveau toutes les type soles mais supporté la sole riche de matière organique Elle est rencontrée en Europe, en Afrique du Nord et du Sud, en Asie, ainsi qu'en Amérique du Nord et du Sud En Algérie, l'espèce a été récolté de Bouira, Tizi-Ouzou, Tlemcen, Sétif et de Boumerdes (Dehmani, 2019). Bien que *Carthamus caeruleus* soit présent dans plusieurs régions phytogéographiques de Grèce, il s'agit principalement d'une plante de l'ouest de la Méditerranée (Patrikos, 2018).

I-4- Utilisations traditionnelles

Dans certaines régions d'Algérie, à Tipaza, la médecine naturelle occupe encore une place de choix dans le traitement de nombreuses pathologies. Parmi ces remèdes naturels figurent les extraits des rhizomes de *Carthamus caeruleus. L* qui sont utilisés pour traiter les brûlures grâce à ses propriétés astringentes. Les extraits de plantes médicinales contiennent une variété de composés phénoliques qui sont attribués à diverses activités biologiques (activité antioxydante Les extraits aqueux des racines de *Carthamus caeruleus. L* présentent des propriétés cicatrisantes et des effets anti-inflammatoires. Ces résultats pourraient justifier l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle contre les maladies inflammatoires et antimicrobien (**Benmansour, 2020**).

Chapitr II : Polyphénols

I- Polyphénols

Sont des composés chimiques naturels synthétisés exclusivement par les plantes, avec des caractéristiques chimiques liées aux substances phénoliques avec des bioactives rapportées pour moduler le stress oxydatif et inflammatoire. Les polyphénols sont pratiquement omniprésents dans les plantes, étant généralement impliqués dans l'attraction des pollinisateurs, l'exécution des fonctions structurales, la défense contre les rayonnements ultraviolets et la protection des plantes contre l'invasion microbienne et les herbivores plus nombreux et les plus répandus du règne végétal. Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues, et parmi elles plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés bien que les polyphénols soient caractérisés chimiquement comme des composés ayant des caractéristiques structurales phénoliques, ce groupe de produits naturels est très diversifié et contient plusieurs sous-groupes de composés phénoliques. On peut Distinguer les différentes classes de polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure du squelette de base :

- ✓ Les flavonoïdes qui représentent la classe la plus abondante et la plus étudiée
- ✓ Les acides phénoliques (acides hydroxy benzoïques, acides hydroxy cinnamique) Les tanins et lignines
- ✓ Les coumarines et les stilbènes la plus rares

Ces molécules jouent un rôle majeur au niveau de la croissance des végétaux et dans la lutte contre des agents pathogènes et des infections (**Taso, 2010**).

I-1- Flavonoïdes

Les flavonoïdes lato sensu sont pigment quasiment universel des végétaux leur nom du latin favus désigne la couleur blond, jaune parce que toujours hydrosoluble (**Rouleaux, 2016**). Sont des composés polys phénoliques comprenant 15 atomes de carbone formant une structure C6-C3-C6, soit deux noyaux aromatiques reliés par un pont de 3 carbones. Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils ont des rôles variés dans les plantes en tant que métabolites secondaires, étant impliqués (**Chira et al., 2008**). Dans les processus de défense contre les UV, la pigmentation, la stimulation des nodules de fixation de l'azote et la résistance aux maladies par exemple (**Figure 02**) (**Chira et al., 2008**).

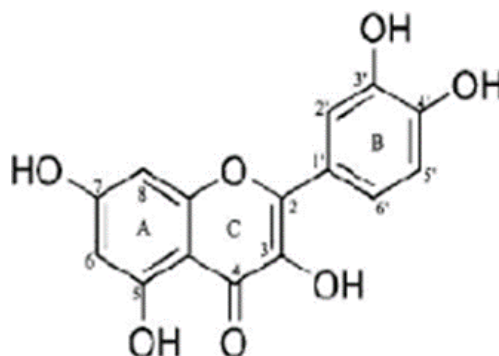


Figure 02 : Structure chimique de base des flavonoïdes (**Harborne, 2013**).

Les classes de flavonoïdes mentionnées ci-dessus la biosynthèse justifie la présence fréquente d'au moins trois hydroxyle phénolique en C-5, C-7 et C-4' de la génine la majorité classe de flavonoïdes sont :

I-1-1- Flavones et flavanols

C'est une molécule les plus nombreuse dans les groupes flavanols en 2015, environne 1100 structures flavones et 3400 de flavanols le cycle A est, dans près de 90 des cas substitués par deux hydroxyles les phénolique en C-5 et en C-7 ces hydroxyles peuvent être libre ou étherifié, l'un d'entre eux peut être engagé dans une liaison hétéro glycosidique (**Rouleaux 2016**)

I-1-2- Isoflavones

Les isoflavones sont une sous-classe des flavonoïdes mais, par comparaison avec d'autres flavonoïdes, ont une distribution très limitée dans le règne végétal. Les 3 glycosides d'isoflavones de soja sont gentisine, daidzine et glycine, et leurs aglycones respectifs sont la gentisine (4,5,7-trihydroxyisoflavone), la diazépine (4,7-dihydroxyisoflavone) et glycérine (7,4-dihydroxy-6-méthoxyisoflavone) (**Messina et al., 2006**).

I-2- Acide phénolique

Le terme d'acide phénol peut s'appliquer à tout composés organique possédant au moins une fonction carboxyle phénolique et hydroxyle phénolique la pratique courant en photochimique conduit à réserver l'emploi de cette dénomination aux seuls dérivés des acide benzoïque et cinnamique certains auteur sont cependant plus restrictifs, ils n'utilisé le terme acide phénol que pour les dérivées en C6-C1 et incluent les dérivées cinnamiques dans le groupe. Sont présente en quantité notable dans les fruit et légumes sont les piègeurs de radicaux ils jouent un rôle comme le flavonoïde et d'autre polyphénol (**Taso, 2010**). Les classes acide phénol sont :

I-2-1- Phénols simples:

Sont plutôt rares dans la nature comme catéchol portant le squelette flavan-3-ol ont appelé aussi les catéchine, gaiacol, phloroglucinol à expression d'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles.

I-2-2- Acides phénols dérivés de l'acide benzoïque

Les acide-phénol en C6-C1 dérivée, dérivée hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs aussi bien sous forme libre que salicylique, dont les plus répandus sont l'acide cinnamique, l'acide salicylique, l'acide gallique et l'acide vanillier (**Figure 03**) (**Chira, 2008**).

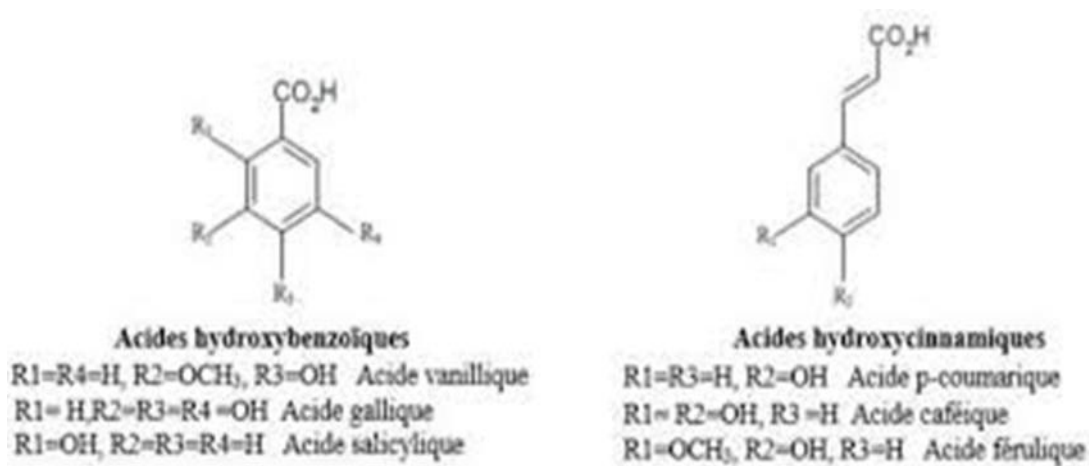


Figure 03 : Structure chimique des acides hydroxy benzoïques et hydroxy cinnamiques (**Chira et al., 2008**)

I-3- Tanins

Sont composition chimique constitué naturellement un groupe hétérogène de composés phénoliques avec diverses structures qui partagent leurs capacités à se lier et à précipiter les protéines. Les tanins sont divisés les groupe principale les tanins hydrolysables sont constitués d'un noyau de polyol (généralement du D-glucose), qui est estérifié avec des acides phénoliques et Les tanins condensés sont des flavonoïdes oligomères ou polymères constitués d'unités flavan-3-ol qui comprennent la catéchine (**Figure 04**) (**Huang et al., 2018**).

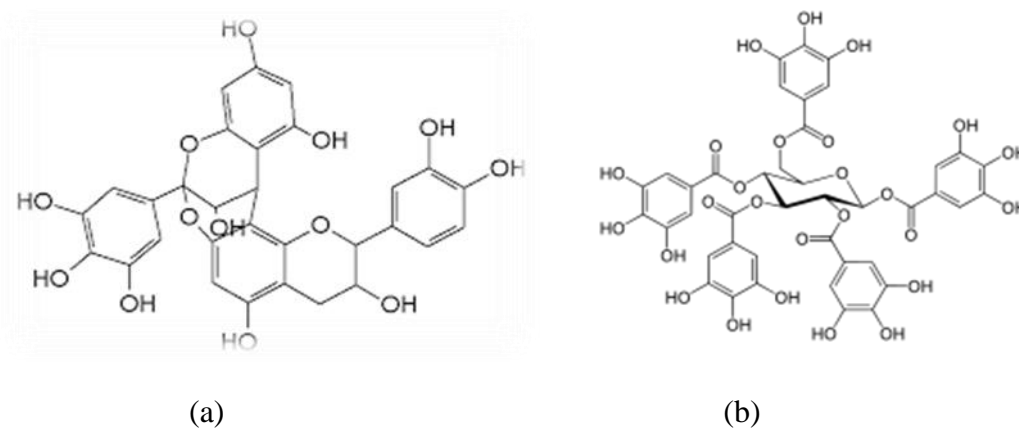


Figure 04 : Structure des tanins

(a) les tanins condensés (b) les tanins hydrolysables.

I-4- Lignines

Sont composés hétéropolymères aromatiques complexes, constituent deux unités de phényl propane qui rigidifient et fortifient parois cellulaires secondaires dans les tissus du xylème, créant une dense matrice qui lie les microfibrilles de cellulose et réticule autres composants du mur empêchant ainsi l'effondrement de vaisseaux conducteurs, apportant un soutien biomécanique à tiges, et permettant aux plantes d'adopter une habitude de croissance érigée dans les airs. Et entrent dans la composition de certaines graines, céréales, fruits et autres légumes, fortement plus concentrés dans les graines de lin (**El Gharras, 2009**).

II- Biosynthèse les polyphénols

Comme tous les composés phénoliques, les acides phénoliques tels que l'acide gallique et l'acide cinnamique sont considérés comme des métabolites de la voie du Shikimate. La biosynthèse des polyphénols complexes tels que les flavonoïdes est liée au métabolisme primaire via des intermédiaires dérivés des plastides et des mitochondries, chacun nécessitant une exportation vers le cytoplasme où ils sont incorporés dans des parties distinctes de la molécule. Lui-même un produit de la voie du Shikimate, alors que le cycle A de trois unités de malonyl-CoA, Ces trois unités malonyl-CoA sont ajoutées par des réactions de condensation de décarboxylation séquentielle, ce qui initie la biosynthèse des flavonoïdes. La phénylalanine ammoniac lyase (PAL) est une enzyme clé de la voie des phénylpropanoïdes qui catalyse la conversion de la phénylalanine en Cinnamate ce qui conduit ensuite aux structures C6-C3. L'intermédiaire final 4-coumaroyl-CoA et trois molécules de malonyl-CoA sont ensuite condensés pour donner la première structure flavonoïde (**Tsao, 2010**).

Chapitre III : Stress oxydatifs

I- Stress oxydatifs

Les stress oxydatifs sont un déséquilibre entre la production d'espèces radicalaires (ou réactives). Espèces réactives de l'oxygène (ERO) e Espèces réactives de l'azote (ERA), Les ERO ont longtemps été considérées comme des sous-produits toxiques du métabolisme normal de l'oxygène et impliquées dans de nombreuses pathologies., la production contrôlée de radicaux apparaît comme un mécanisme essentiel de la signalisation cellulaire qui participe au maintien de l'homéostasie de la cellule. Les effets des radicaux libres en biologie sont maintenant bien documentés. Les sources de radicaux et leurs mécanismes d'action sont souvent mal définis (**Merouane et al., 2014**).

I-1-Origine les stress oxydatifs

La découverte d'espèces chimiques radicalaires présentes normalement dans l'organisme a bouleversé notre compréhension des mécanismes biologiques. Ces radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable ; mais la production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants. Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité comme les médiateurs tissulaires ou les résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. La rupture d'équilibre peut provenir d'une défaillance nutritionnelle ou de la carence en un ou plusieurs des antioxydants apportés par la nutrition comme les vitamines ou les oligo-éléments, présents en quantité limitée dans l'alimentation (**Favier, 2003**).

I-2- Radicaux libres

Sont des espèce chimique molécule, atomes ou des fragments de molécules qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche extrême. Ce sont capables d'existence indépendante, qui peuvent être formées par la perte ou le gain d'électrons à partir d'un composé non radical. Ils peuvent aussi apparaître au moment de la rupture symétrique d'une liaison covalente après laquelle chaque atome conserve un électron et devient un radical libre (**Tessier et al., 1995**).

I-3- Type de espèces réactives

Les organismes aérobies puisent leur énergie en oxydant de la matière organique comme via la chaîne de respiratoire. L'oxygène est indispensable comme substrat majeur, mais peut être également un réactif de l'oxygène le plus dangereux par rapport à l'autre espèce réactive, il y a deux types espèces réactive sont :

I-3-1- Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

La molécule de dioxygène est en réalité bi-radicalaire. Elle possède, en effet, deux électrons célibataires sur des orbitales différentes. Le dioxygène est susceptible de récupérer quatre électrons, mais ses capacités oxydantes sont limitées par une barrière cinétique importante. En présence de rayonnements, de métaux ou d'enzymes, il est capable de capter un électron pour donner.

Le radical superoxyde O_2^- . Qui est un radical modérément réactif ce radical est le substrat d'enzymes essentielles, les superoxyde dismutases (SOD), qui le transforment en eau oxygénée H_2O_2 . L'eau oxygénée peut avoir plusieurs destinées.

En présence de métaux, en particulier de fer Fe^{++} , elle est transformée en radical hydroxyle. OH^\bullet par la réaction de Fenton. Ce dernier est extrêmement réactif et va oxyder très rapidement les molécules voisines, formant parfois d'autres radicaux libres. L'eau oxygénée peut aussi subir des réactions de détoxication catalysées par la catalase (**Figure 05**) (**Barouki, 2006**).

I-3-2- Espèces réactives de d'azote (ERA)

Le monoxyde d'azote radicalaire ou NO^\bullet est un composé important ; il est notamment synthétisé par les cellules endothéliales via l'action de NO synthétases sur la L'arginine. C'est une molécule labile très diffusible, dont les effets régulateurs s'exercent sur la plupart des fonctions physiologiques de l'organisme (**HALENG et al., 2007**).

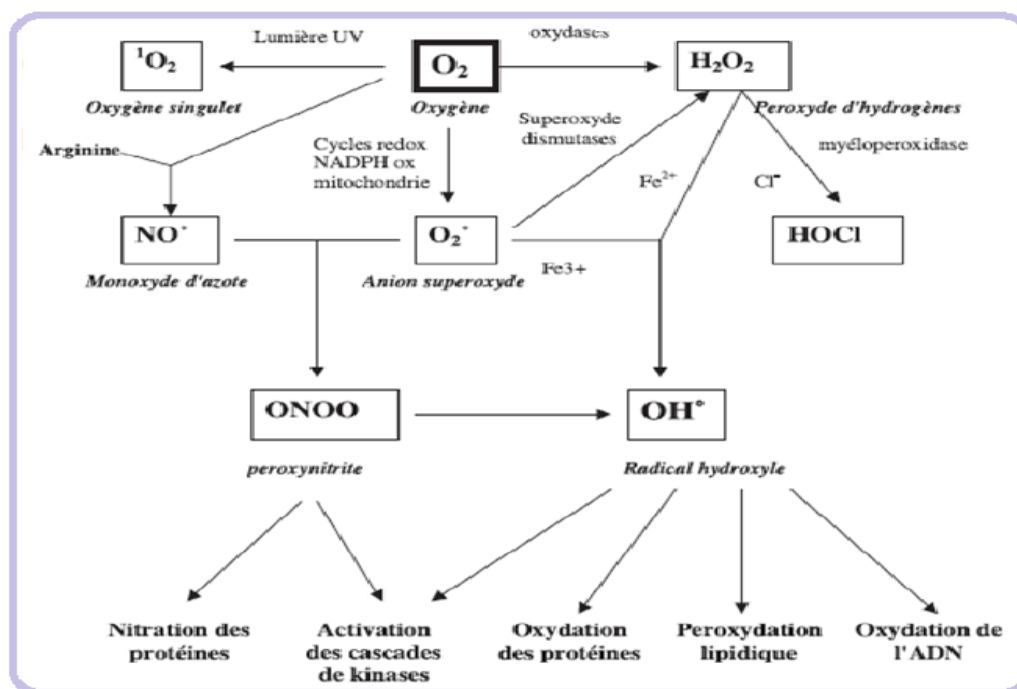


Figure 05 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène

(Alain, 2003).

I-4- Cibles de stress oxydatif

I-4-1-Acide désoxyribonucléique

L'ADN est une cible privilégiée pour les EOA. La guanine, par exemple, peut réagir avec $\bullet\text{OH}$ pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine) qui, au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine, entraînant des mutations au sein de l'ADN et conduisant à des altérations du message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer et le vieillissement. (Halende *et al.*, 2007).

I-4-2- Protéines

Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des EOA. Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes. La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (non- reconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique). Certaines protéines oxydées sont peu dégradées et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extracellulaire. (Halenget *et al.*, 2007).

I-4-3- Lipoprotéines

Le dommage oxydatif provoque des changements dans structure des lipoprotéines de faible densité ("Löw Density lipoprotéines" ou LDL) qui sont riches en acides gras polyinsaturés. La peroxydation induite dans les LDL par les EOA provoque in situ la formation d'aldéhydes qui peuvent à leur tour oxyder les LDL. Ces LDL modifiées sont reconnues par les macrophages au sein desquels elles s'accumulent en formant des cellules spumeuses (Pincemail *et al.*, 1999).

I-5- Maladies liées avec stresse oxydative

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydants et augmente la production mitochondriale de radicaux. Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires. Dans la genèse de la plaque d'athérome, l'homocystéine, voit son action liée en partie à la génération de radicaux libres au cours de son métabolisme (Favier, 2003).

I-6- Causes de stress oxydant

Sont soit d'origine nutritionnelle dans les cas de carences en vitamines et oligo-éléments, ou inversement de surcharges en facteurs peroxydant (fer, acides gras), soit d'origine accidentelle (inflammation, exposition à des xénobiotiques peroxydant., soit d'origine génétique. (Favier, 2003).

II- Les antioxydants

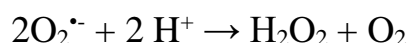
Le terme « antioxydant » fait référence à toute molécule capable de stabiliser ou de désactiver les radicaux libres avant qu'ils n'attaquent les cellules. Les humains ont développé des systèmes antioxydants très complexes (enzymatiques et non enzymatiques), qui fonctionnent en synergie et en combinaison les uns avec les autres pour protéger les cellules et les systèmes d'organes du corps contre les dommages des radicaux libres. Les antioxydants peuvent être endogènes ou obtenus de manière exogène, par exemple dans le cadre d'un régime alimentaire ou sous forme de compléments alimentaires. Certains composés alimentaires qui ne neutralisent pas les radicaux libres, mais améliorent l'activité endogène peuvent également être classés comme antioxydants (Faver, 2003).

II-1- Les antioxydants endogènes

II-1-1- Système défense enzymatique

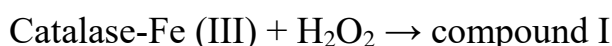
II-1-1-1- Super oxyde dismutases (SOD)

Sont un groupe d'enzymes clés fonctionnant comme la première ligne de défense antioxydant, Comme systèmes dans organismes intervient de la défense contre les radicaux libres, elle est assurée l'élimination de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène.



II-1-1-2- Catalase (CAT)

La catalase est une enzyme contenant de la porphyrine tétraédrique qui se trouve principalement dans les peroxysomes. Il catalyse la conversion de H_2O_2 en eau et en oxygène moléculaire en deux étapes



L'activité la plus élevée de cette enzyme dans le foie et les érythrocytes Certains rapports Indiquent que des facteurs tels que le stress et le facteur neurotrophique dérivé du cerveau sont impliqués dans la capacité antioxydant de nombreux antioxydants endogènes. (Halenget *et al.*, 2007).

II-1-1-3- Glutathionne peroxydase (GPx)

Cette enzyme peut exister sous deux formes : dépendante du sélénium et indépendante du sélénium, chacune avec des sous-unités différentes et des sites actifs différents. GPx catalyse la réduction de H₂O₂ ou de peroxyde organique (ROOH) Il existe quatre isoformes chez l'homme, cytosolique et mitochondriale (GPx1), cytosolique (GPx2), extracellulaire (GPx3) et le peroxyde de phospholipides (GPx4) [Le rein et le foie sont les organes les plus riches en GPx. On sait qu'il existe une compétition entre GPx et Cat pour le H₂O₂ comme substrat Il a été constaté que dans de nombreux autres organes et tissus, tels que le ganglion de la racine dorsale (GDR) (**Halenget et al., 2007**).

II-1-2-Système défense non protéique

II-1-2-1- Coenzyme Q

Est un dérivé de la Benz quinone localisé dans la chaîne respiratoire mitochondriale ainsi que dans d'autres membranes internes. La CoQ est directement impliquée dans la transduction d'énergie et la production d'adénosine triphosphate (ATP) aérobie car elle transporte des électrons dans la chaîne respiratoire et couple la chaîne respiratoire à la phosphorylation oxydative. Ce composé est considéré comme un antioxydant liposoluble de synthèse endogène, présent dans toutes les membranes. L'effet protecteur est étendu aux lipides, aux protéines et à l'ADN principalement en raison de sa localisation proche des événements cellulaires oxydatifs (**Aguilar et al., 2016**).

II-1-2-2- Ferritine

Est une protéine liant le fer. Qui consiste en sa forme cytosolique de deux sous-unités, appelées H et L. Vingt-quatre sous-unités de ferritine s'assemblent pour former la coquille d'Apo ferritine. Chaque molécule d'Apo ferritine séquestre des atomes de fer. La fonction principale de la ferritine est de limiter le Fe (II) disponible pour participer à la génération de radicaux libres d'oxygène (ROS). Il n'est pas surprenant que le stress oxydant active de multiples voies de régulation de la ferritine (**Alejandro, 2016**).

II-2- Antioxydants exogènes

II-2-1- Vitamine E

Est un groupe de huit molécules lipophiles antioxydants, dont quatre sont des tocophérols On le trouve principalement dans les légumes verts, les céréales, les noix et divers huiles végétales, ainsi que dans les œufs et le lait. Bien qu'il soit communément connu aujourd'hui pour ses propriétés antioxydants propriétés, le premier rôle biologique attribué à la vitamine E était sa nécessité pour la survie fœtale, est connue pour posséder de nombreuses propriétés

biologiques, y compris l'activité antioxydant. Contrairement à la vit-E, la vit-(**Farbstein et al., 2010**).

II-2-2- Vitamine C

Est un Contrairement à la vitamine E, molécule hydrophile et, elle est trouvée principalement dans les fluides corporels. Elle est abondante dans les fruits et légumes et ils servent de principale source d'apport alimentaire en vitamine C., elle est reconnue comme la molécule bioactive qui manquait dans l'alimentation des marins, responsable du scorbut La vitamine C est connue pour participer à de nombreux processus physiologiques et il a été proposé qu'elle ait un effet rôle bénéfique ou thérapeutique dans les réponses immunitaires, les maladies cardiovasculaires et le cancer (**Farbstein et al., 2010**).

II-2-3- Polyphénols

Les polyphénols sont le plus grand groupe de composés phytochimiques, et beaucoup d'entre eux ont été trouvés dans les aliments à base de plantes. Elle est puissants antioxydants qui complètent et renforcent les fonctions des vitamines et des enzymes antioxydantes en tant que défense contre le stress oxydatif causé par un excès d'espèces réactives de l'oxygène (**Figure 06**) (**Tsao, 2010**).

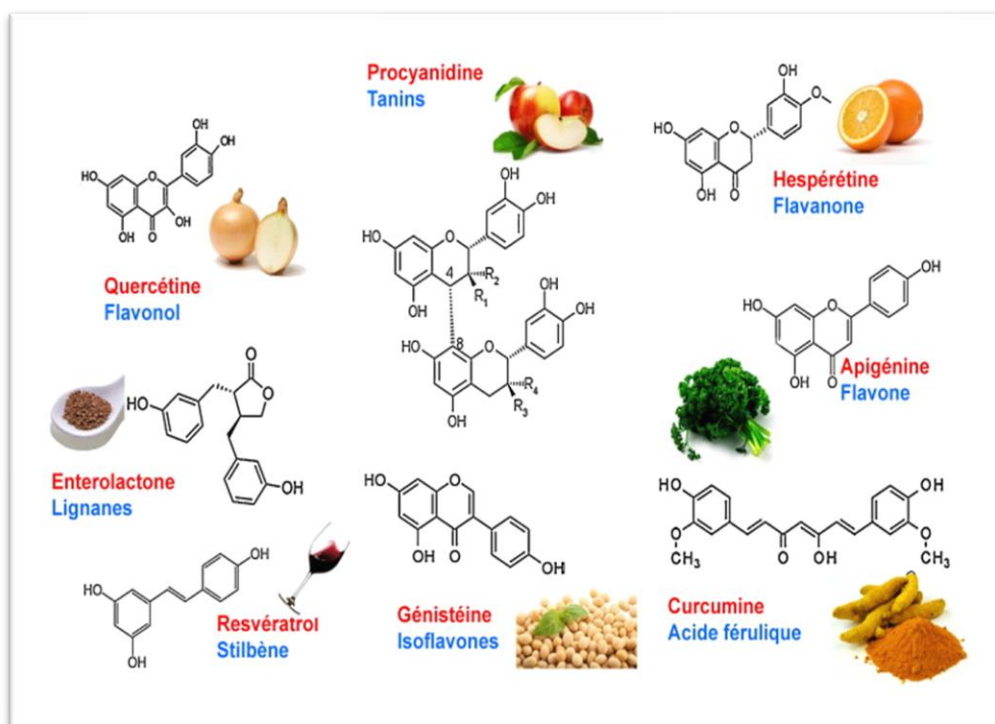


Figure 06 : Polyphénols dans quelle source nituriez (**Bennetau, 2014**).

Deuxieme partie

Partie pratique

***Chapitr I : Matériel et
méthodes***

Ce travail a pour objectif la caractérisation physico-chimique des extraits des racines de *Carthamus caeruleus* ont préparé l'extrait deux forme créma comme utilise entre la population traditionnel et extrait hydro alcoolique dans laboratoire l'évaluation de leurs effets biologiques. La première étape, réalisée à l'étude les deux extraits des polyphénols issus des racines de la plante et l'évaluation de leur effet antioxydant et antimicrobien à évaluer, cicatrisante et de notre plante médicinale. Ces parties sont élaborées au niveau du laboratoire de recherche de la Faculté sciences de la nature de la vie l'Université HMMA Lakhdar d'El oud.

I-Matériel

I-1- Matériel biologie

I-1-a- Matériel végétale

Une étude ethnobotanique des plantes médicinales a été réalisée en première instance auprès des herboristes établis et de guérisseurs connus de la région Chabet Elameur une façon 21Km de la wilaya Boumer dés est situé à 49.58 Km au nord de l'Algérie. Le plant a appelé *carthamus caeruleus* été authentifiée par le docteur Azedine Haddad le la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université Hama Lakhdar d'El oud, dans notre étude à portée les racines Ont été récoltés, décembre 2021 Ils sont ensuite, préparé échantillon une crème à partir les racines fraîches et séché les autres quantités de racine, nettoyés à l'eau et laissés sécher à l'obscurité pendant 45 jour Dans un endroit sec et aéré. Le matériel végétal, une fois séché sur papier pour séchage les racine est réduit en poudre dans un mixeur, puis stocké dans des bocaux en verre à l'abri de la lumière.

I-1-b- Souches microbiennes

On a utilisé dans notre étude 4 souches bactériennes pathogène de référence à savoir : *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* *Escherichia coli* *staphylococcus aureus*.

Tableau 02 : représenter l'espèce bactériennes étudiée (Saffidine, 2015).

Bactérie	Espèce	Référence	Caractéristique
Bactéries Bacille Gram-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC /27853	Bacille aérobie, souvent responsable d'infection nosocomiales (germe ubiquitaire). C'est l'une des bactéries les plus difficiles à traiter cliniquement
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC/ 25922	Bacille aéro-anaérobie, immobile, fait partie de la flore intestinale et peut être responsable d'infections urinaires et respiratoires
	<i>Escherichia coli</i>	ATTCC/25922	Bacille aérobie que l'on trouve couramment dans le tube digestif de l'être humain et des animaux à sang chaud.
Bactéries Cocci Gram+	<i>Staphylococcus aureus.</i>	ATCC/13886	Ubiquitaire, commensal de l'homme et se révèle être pathogène opportuniste Infection nosocomiale.

I-2-Matériel non biologique

Tous les réactifs sont de qualité analytique et proviennent de plusieurs firmes : folin ciocalteu Carbonate de sodium, d'acide hydrochlorique, quercétine, catéchine, AlCl₃, Le 2,2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), β carotène Carbonate de sodium, Eau saturation d'oxygéné, Tween-80, Acide linoléique. Matériel microbiologique

II- Méthodes

II-1- Préparation des extraits

Nous suivons deux méthodes extraction macération pour l'extrait hydro éthanolique par (Diouf et *al.*, 2009) et extraction par le chauffage comme préparé traditionnellement.

II-1-a- Extraction par macération

La macération est méthode extractive la plus vieux de l'autre méthode permet solubilité les matières solides au liquide ont utilisé cette opération des étapes suivent :

- Mesuré 10 g de poudre des racines *carthamus caeruleus*. La provenant de chacune des quatre sites de récolte est mise à macérer dans 80 ml d'éthanol (96%) avec 20ml l'eau distillé dans un erlenmeyer en verre de 200 ml.
- Fermé part d'un papier d'aluminium, Les erlenmeyers ont aussi été entièrement recouverts de papier d'aluminium pour éviter la dégradation de molécules photosensibles. Après 24 heures.
- Les mélanges ont été séparés par filtration ont utilisé papier filtrer pour séparer.
- Les extraits ont par la suite été évaporés à sec à l'aide l'évaporateur à une température d'environ 45°C. Une pesée à ce stade permet un calcul du rendement en extraits.



Figure 08 : Racine *Carthamus caeruleus*

II-1-b- Extraction par chauffage

Cette méthode extraction traditionnelle permettent obtenir de crème comme pommade la préparation de crème sont :

- Mesuré 90 g de racine *carthamus caeruleus*. Fraiche ensuite, élimine les cortex de la racine par Lame.
- Nettoyage les racines puis mettre dans l'eau pour éviter l'oxydation.
- Couper de petite morceaux et ajouté 45 ml Léau distillé nous mettons les mélanges sur feu 3 min avant les ébullitions enlever, puis mixer les mélanges par mixeur électroménager,
- Les mélanges ont filtré par compresse, conserver les créma dans réfrigérateur pendent 24 heures avant l'utilisation.



(a)



(b)

Figure 09 : (a) les racine *carthamus caeruleus* sans cortex, et (b) forme les crèmes.

II- 2- Calcule les rendements de l'extrait hydroalcoolique

Le rendement désigne la masse de l'extrait après évaporation pour détermination les rendements de plante utilisé les méthode (Falleh et al., 2008). Calcule selon formules suivent

$$R \% = (PEB/PMV) \times 100$$

R : est le rendement en %.

PEB : Poids de l'Extrait Brut (g).

PMV : Poids de matière végétale (g).

II-2- Analyses quantitatives

La spectrophotométrie UV-Visible est l'une des plus utilisées technique employée en analyse pharmaceutique. Il s'agit de mesurer la quantité de rayonnement ultraviolet ou visible absorbée par une substance en solution. Instrument qui mesure le rapport, ou fonction de rapport, de l'intensité de deux faisceaux de lumière dans la région U.V-Visible est appelée Spectrophotomètre Ultraviolet-Visible. Dans l'analyse qualitative, les composés organiques peuvent être identifiés par l'utilisation du spectrophotomètre, elle est utilisée pour déterminer la quantité de espèces moléculaires absorbant le rayonnement. Spectrophotométrie technique est simple, rapide, moyennement spécifique et applicable petites quantités de composés. Lorsque la longueur de son champ est confinée entre 400 -800 nm Spectrophotométrie quantitative est la loi de Beer-Lambert (**Figure 10**) (**Behera et al., 2012**).

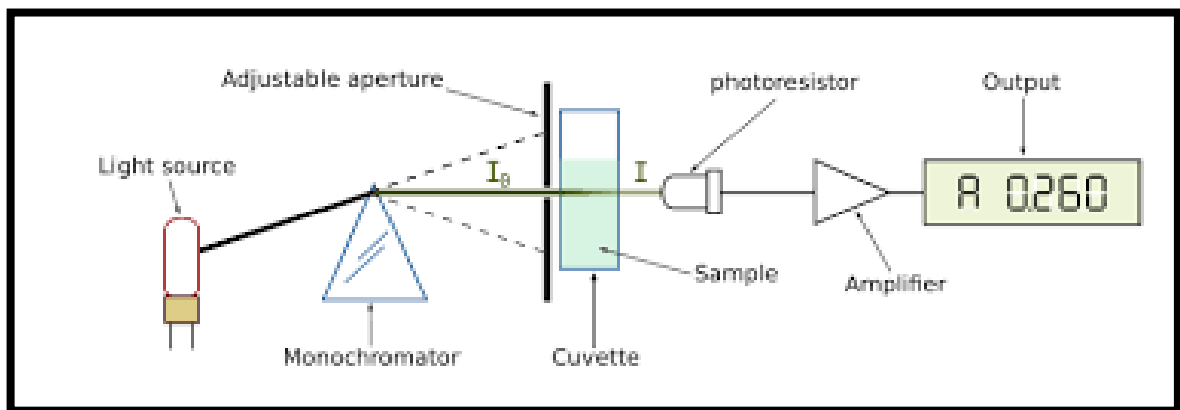


Figure 10 : représenté méthode de travail spectrophotomètre UV-visible (**Hamdi, 2012**).

II-2-a- Dosage de polyphénols totaux

Les polyphénols sont estimés par la méthode de Folin Ciocalteu (**Wong et al., 2006**). Ce dosage repose sur le réactif de Folin Ciocalteu qui est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés (**Boizot et Charpentier, 2006**).

200 μ L de chaque extrait sont ajoutés à 1 ml du réactif de Folin Ciocalteu dilué 10 fois, après 10 min, 0.8ml d'une solution de carbonate de sodium (75g/L) sont ajoutés. L'absorbance est mesurée à 765 nm après 1 heure d'incubation. Dans l'obscurité Les concentrations des polyphénols sont déduites à partir des gammes d'étalonnage établies avec l'acide gallique (0.01-0.025-0.05-0.075-0.1mg/ml) et sont exprimées en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g).

II-2-b- Dosage les tanins condensés

Condensés Le dosage des tanins condensés dans les extraits de *carthamus caeruleus* est effectué selon la méthode de **Schofield *et al.*, (2001)**. Le principe de ce dosage est basé sur la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le carbone 6 du cycle A de la catéchine pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe la lumière à 500 nm.

A 200 µL de chaque échantillon ou standard, on ajoute 1.5 ml d'une solution de quercétine (4% dans l'éthanol), et 0.75 ml d'acide hydrochlorique concentré. Le mélange est incubé durant 15 min et l'absorbance est lue à 500 nm. Les concentrations des tanins condensés sont déduites à partir des gammes d'étalonnage établies avec la catéchine (0.01-0.1 mg/ml), et sont exprimées en milligramme d'équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg ECT/g).

II-2-c- Dosage de flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (**Bahorun *et al.*, 1996**) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits de *carthamus caeruleus*. 1 ml de chaque échantillon et du standard avec les dilutions convenables sont ajoutés à 1 ml d'AlCl₃ (2% dans l'éthanol). Après 10 min d'incubation, l'absorbance est lue à 430 nm. Les teneurs en flavonoïdes sont déduites à partir des gammes d'étalonnage établies avec la quercétine (0.1-0.1mg/ml), et sont exprimées en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg ER/g)

II-3- Analyses qualitatives

Les deux extraits issus étudiées, ayant révélé des activités biologiques font l'objet d'une étude chimique en utilisant des techniques de purification, d'isolement, et d'identification structurale de principes actifs. Les techniques chromatographiques sont à la Base de la séparation et la purification des principes actifs des extraits ayant une activité biologique initialement détectée.

La chromatographie d'élution est la méthode souvent utilisée à des fins analytiques même si elle est également appliquée à la chromatographie préparative. Le mélange d'échantillons est introduit dans la colonne sous la forme d'une zone étroite, généralement via une vanne d'injection. Ensuite, la zone est transportée à travers la colonne par la phase mobile se déplaçant à une vitesse sélectionnée. Les analyses sont en équilibre continu entre la phase mobile et la phase stationnaire et après un certain temps, ils sont séparés les uns des autres (**Figure 11**) (**Nollet et Toldra, 2013**).

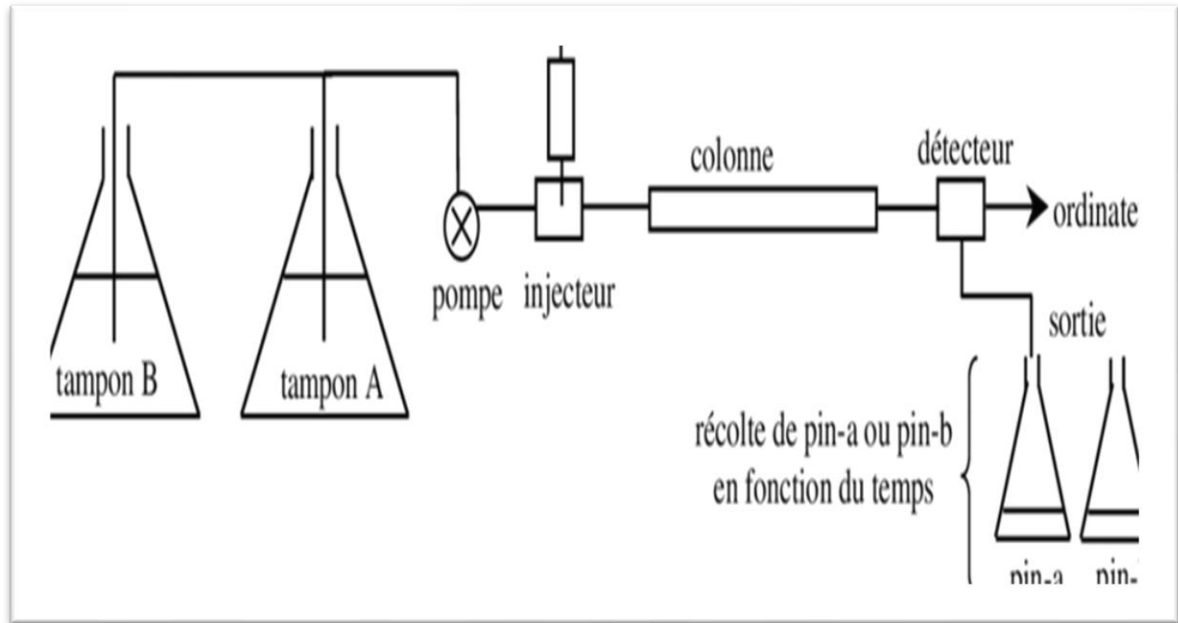


Figure 11 : représenté principe chromatographie de HPLC (Bottier, 2006).

II- 3- a- Mode opératoire de chromatographie d'HPLC

La séparation de notre extrait par chromatographie (SHIMADZU SPD-10A) pour l'estimation certain matière phénoliques elle est attachement deux pompe (A) et (B) de type (LC20AL) pour transférer la phase mobile sous pression par (LC solution). Le type de colon de la séparation sont (VD-ODS-C18) (250mm ×405mm ,5µm) la réactive mono couleur UV - visible type SPD-20A, les presseuses de séparation au niveau du laboratoire de Valorisation et technologie des Ressources Sahariennes (VTRS), Université Hamma Lakhdar d'EL Oued dans la condition dans le **Tableau 03 et 04**.

Tableau 03 : Conditions expérimentales d'HPLC

Factures	Condition
Système	RP-HPLC
Colone	(25 cm ×46nm) C18 20
Volume injection	20µl
Langueur d'onde	268nm
Le temps	50 min
La température	25C°
Concentration' de échantillonne	10mg/ml
La phase mobile	(A) : (acétonitrile)
	(B) H2O (0.2 acide acétique)

Tableau 04 : Variation les phase mobile (A)et (B).

Temp (min)	Percentage (A)	Percentage (B)
0 :01	10	90
0 :02	10	90
6 :00	14	86
16 :00	17	83
23 :00	19	81
28 :00	23	77
30 :00	10	90
50 :00	10	90

II -4- Évaluation activité biologique

II -4 -1- Activité antioxydant

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydant *In vitro* des différents extraits issus de plante étudiée est réalisée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH, le test de blanchiment de β -carotène.

II-4-1-a- Activité anti-radicalaire au DPPH

Est considéré comme un radical libre relativement stable. Le principe de cette méthode est Basé sur la mesure du piégeage des radicaux libres de DPPH (1,1-Diphényle-2-picrylHydroxyle de couleur violette). En présence de molécules dites antioxydants, le DPPH est Transformé en sa forme réduite (diphényle picryl-hydrazine : de couleur jaune), ce qui Conduit à une diminution d'absorbance (**Mansouri *et al.*, 2005**). La décoloration du DPPH est directement proportionnelle à la capacité des molécules bioactives à le réduire. La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 4 mg de ce produit dans 100 ml d'éthanol. Mètrrent la solution dans le réfrigérateur pendant 30 min (**Sanchez-Moreno, 2002**).

50 μ l de chaque solution éthanoïque des extraits à différentes concentrations sont ajoutés à 1,95 ml de solution DPPH. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la lecture de L'absorbance est faite contre un blanc à 517 nm. Le contrôle positif est représenté par un Antioxydant standard estimée Les résultats de l'activité anti-radicalaire.

Où l'inhibition des radicaux libres sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) estimée Selon l'équation ci-dessous :

$$I\% \text{ d'inhibition} = [(Abs \text{ contrôle} - Abs \text{ test}) / Abs \text{ contrôle}] \times 100$$

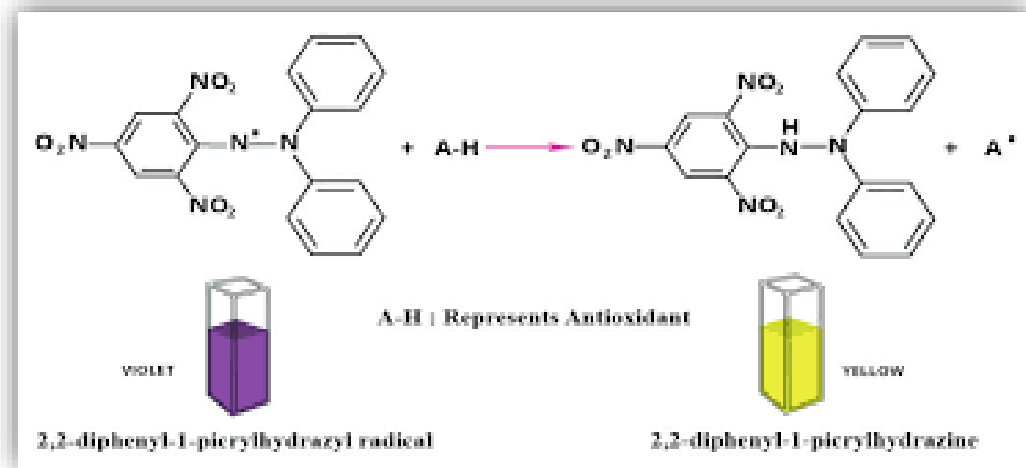


Figure 12 : représenté le piégeage des radicaux libres de DPPH (Alim, 2020).

II- 4-1-b - Test de blanchiment du β -carotène

Le test de blanchiment du β -carotène permet d'évaluer l'activité antioxydant des extraits de plantes, qui consiste à suivre la cinétique de décoloration du β -carotène par les produits d'oxydation de l'acide linoléique en présence d'un antioxydant. Le protocole est réalisé suivant la méthode de (Tepe et al. 2006). Une émulsion de β -carotène/acide linoléique est d'abord préparée dans un ballon en mélangeant 0,5 mg de β -carotène dans 1 ml de chloroforme, 25 μ l d'acide linoléique et 200 mg de Tween 80.

Le Chloroforme est complètement évaporé au rota vapeur. 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène pendant 30 minutes, sont ensuite ajoutés à cette émulsion qui est agitée vigoureusement. 350 μ l d'extraits ou d'antioxydant de référence (BHT) solubilisés dans du méthanol (2 mg/ml), sont additionnés à 2,5 ml de l'émulsion précédente. L'absorbance est lue à 490 nm pendant heures à différents intervalles de temps déférent et 48 heures. L'activité antioxydant relative (AAR %) est calculée selon la formule :

$$AAR \% = (Abs \text{ test} / Abs \text{ contrôle}) \times 100$$

- **AAR %** : Pourcentage de l'activité antioxydant relative.
- **Abs Contrôle** : Absorbance du contrôle positif (BHT).
- **Abs test** : Absorbance de l'extrait.

II-4-2- Activité antimicrobienne

La détection de la sensibilité des bactéries aux extraits est faite par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Ces deux méthodes permettent de déterminer l'activité inhibitrice de nos extraits sur la croissance des agents bactériens.

II-4-2-a- Revivification des souches microbiennes

Est réalisée par la méthode de stries. Ces derniers sont alors revivifiés à partir des tubes de conservation sur gélose nutritive pour les bactéries et. Les cultures Sont incubées à l'étuve à 37°C pendant 24h pour les bactéries.

II-4-2-b- Repiquage des souches microbiennes

Les bactéries étudiées sont repiquées dans un milieu nutritif par la méthode des stries puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

II-2-c- Préparation des boîtes de Pétri pour l'antibiogramme

Couler dans des boîtes de Pétri la gélose de Muller-Hinton en surfusion à 45°C, à raison de 4 mm d'épaisseur pour permettre une bonne diffusion de l'extrait et laisser refroidir.

II-4-2-d - Préparation des disques

Le principe de cette méthode est d'utiliser des disques de papier Whatman n°3 de 6 mm de diamètre. Les disques stériles ont été imprégnés avec l'extraits deux concentration défèrent 10 mg/ml et 20mg/ml brut les deux extraits de composés à raison de 2µl par disque plus les disque antibiotique amoxyclav AMC comme contrôle positive et disque contient DMSO contrôle négative, puis déposés stérilement à l'aide d'une pince au côté de la boîte de Pétri préalablement ensemencée. Les boîtes ont été incubées 24 heures dans l'étuve à 37 °C.

III- Evaluation d'activité cicatrisant

Le volontaire est une jeune fille de 26 ans qui a subi diverses brûlures dues à l'inflammation d'une fuite de gaz sur son visage, ses mains et son bras le 11 avril 2022, et après quatre jours de blessure, elle a commencé un traitement en utilisant la crème deux fois par journée Pendant une période de plus d'une journée.

Chapitr II

Résultats et Discussion

I-Rendement d'extrait

L'extrait hydro-éthanolique, préparé à partir des racines de *Carthamus caeruleus* L. sèche présent un poids de l'ordre de 0.809 mg avec un pourcentage de rendement de 8.095%, cette valeur est inférieure de résultat de qui est publié le rendement est d'ordre de 15.2%, par même méthode de macération et même partie végétal.

Le temps de récolté du plant peut être justifié ces différents de résultats obtenir à autre. Localisation de plant peut affect sur le rendement en modifiant la composant de sol et les conditions climatique. La méthode et les conditions l'extraction comme la température élevée qui a utilisé dans la macération ou les solvants (Saffidine, 2015).

II- Analyse quantitative

II- 1- Dosage de polyphénols totaux

La détermination de quantité de polyphénol totaux de deux extraits de racine *Carthamuse caerulus* a été effectué selon la méthode (Wong *et al.*, 2006) ont appelé aussi réaction de Folin-Ciocalteu. Cette réaction exprimé d'une courbe d'étalonnage avec l'acide gallique comme étalon (Figure 13), la courbe étalonnage permet calculer la concentration des polyphénols des extraits par utilisation d'équation de courbe de la régression linéaire. Résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait) (Figure 13).

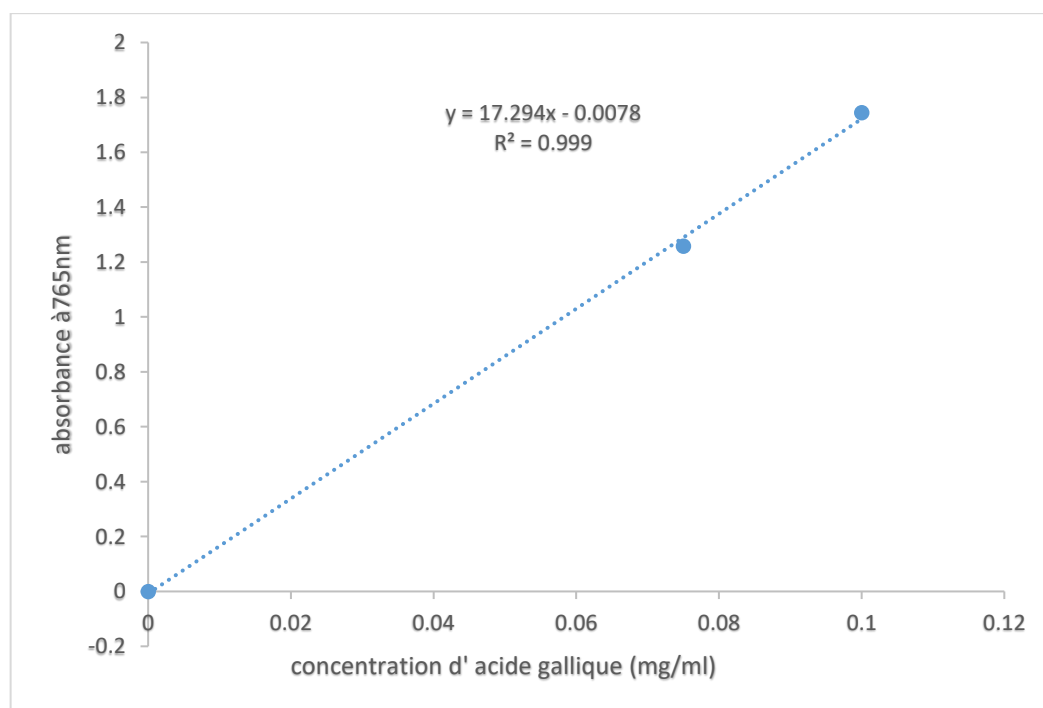


Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

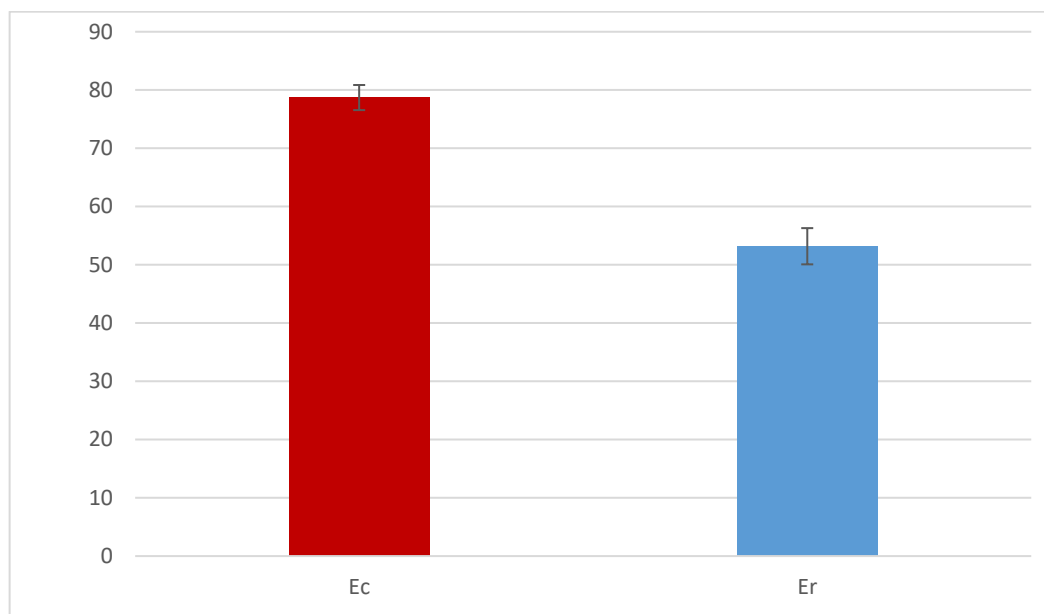


Figure 14 : Concentration les polyphénol totaux dans les crème et l'extrait hydroéthanolique.

Ec: extrait de crème

Er: extrait de racine séché

On observe que les taux de polyphénole totaux de l'extrait l'eau élevée 78.706 ± 2.153 par rapport aux taux de polyphénole de l'extrait hydroéthanolique 53.186 ± 2.123 . La teneur en polyphénols totaux obtenue plus (**Dahmani, 2019**).

Cette résultat indique de plante riche de la polyphénole totaux mais dans l'extrait de crème la concentration augmentée et diminue dans l'extrait de racine séchée parce que les composés chimiques principaux de polyphénol sont le carbone qui est demi-vie il commence à diminuer avec le temps.

II-2- Dosage des tanins condensés

La réaction entre valanine et catéchine assure la détection de la concentration des tanins en utilisant la méthode de (**Schofield et al., 2001**). Cette réaction permet la représentation de la courbe d'étalonnage (**Figure 15**). Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de la catéchine par gramme d'extrait (mg EC/g).

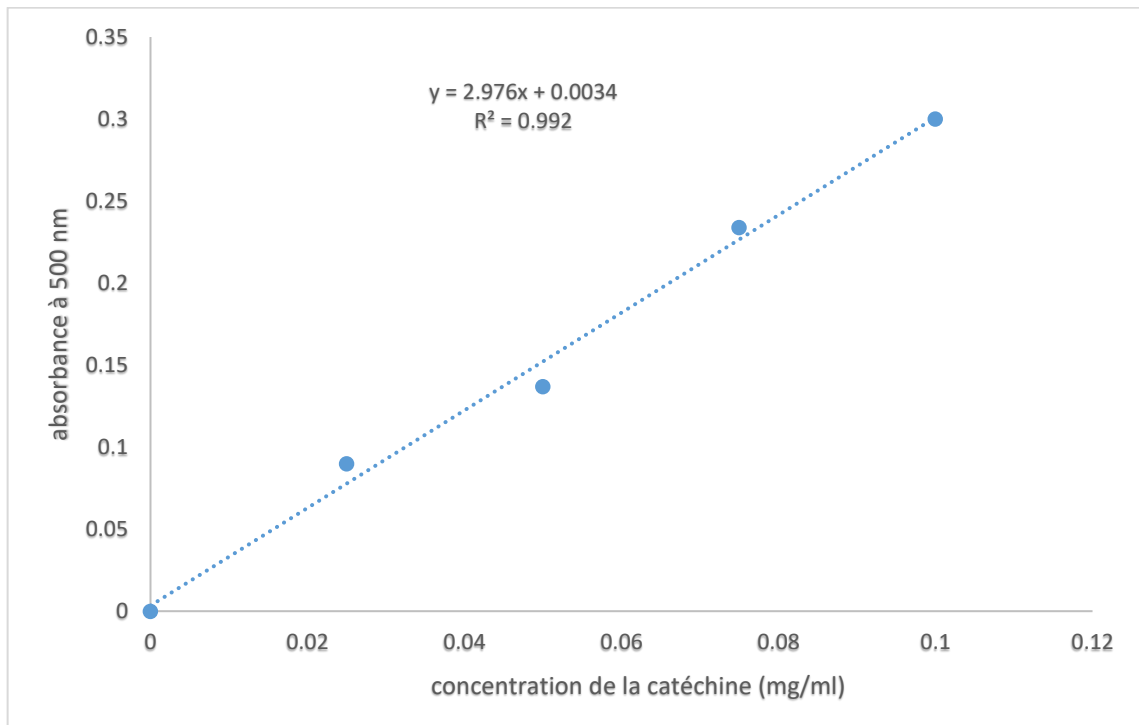


Figure 15 : Courbe d'étalonnage de la catéchine

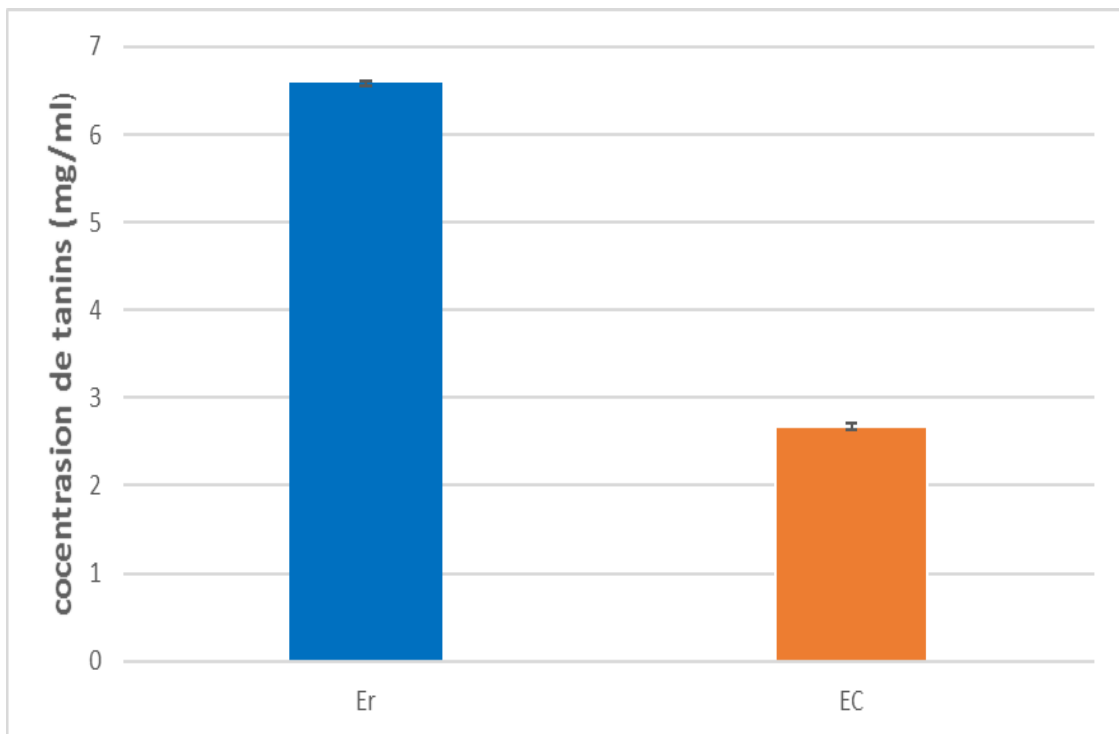


Figure 16 : Résultats de taux des tanins condensés dans les crème et l'extrait hydro-éthanolique.

Er : extrait de crème

Ec : extrait de racine séché

La concentration des tanins de deux extraits est inférieure de concentration de polyphénol totaux, mais on observe la teneur de tanins de l'extrait hydro-éthanolique de racine est de 6.586 ± 0.0264 mg EC/g, supérieur de résultats de l'extrait de crème ($2.666 \% \pm 0.0373$ mg EC/g).

II-3- Dosage de flavonoïde

La concentrations des flavonoïdes des différents extraits sont déduites à partir de la gamme d'étalonnage dans les même condition opératoire au l'extrait établie avec la quercétine par méthode du trichlorure d'aluminium (**Bahorun *et al.*, 1996**) et sont exprimées en milligramme équivalents de quercétine par milligramme d'extrait (mg EQ/mg d'extrait) (**Figure 17 et 18**).

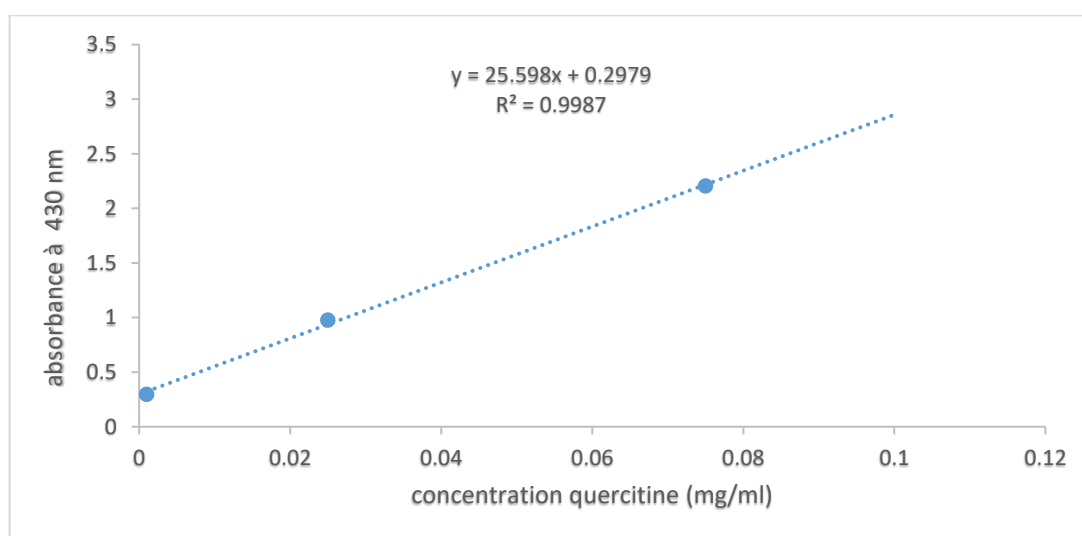


Figure 17 : Courbe d'étalonnage de quercétine

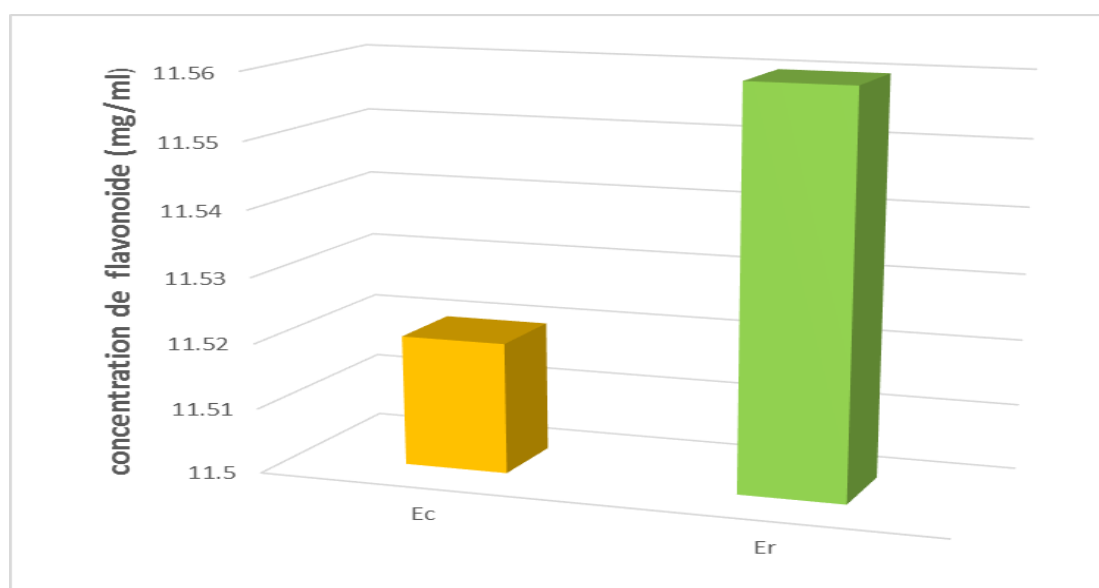


Figure 18 : Résultats de concentration des flavonoïdes dans le crème et l'extrait éthanolique

Ec : extrait de crème

Er : extrait de racine séché

Les résultats de dosage de flavonoïde montrent que les deux extraits possèdent une quantité moins importante et similaire en flavonoïdes 11.56 d'extrait éthanolique et 11.52 de l'extrait l'eau.

L'explication de ce résultat dépend les caractéristiques de la solubilité du solvant en le soluté, comme les flavonoïdes et les tanins sont faible solubilité dans l'eau qui justifiez diminution les teneurs dans extrait de l'eau.

La concentration de tanins et flavonoïde augmenté en l'extrait éthanolique par ce que l'éthanol avoir polarité forte.

La concentration du tanin les deux extraits diminue para port concentration polyphénol totaux mais on observe la teneur de tanin de l'extrait de racine $6.586 \% \pm 0.0264$ plus à l'extrait de crème $2.666 \% \pm 0.0373$.

L'explication de ce résultat dépend les caractéristiques de la solubilité du solvant en le soluté comme les flavonoïdes et les tanins sont faible solubilité dans l'eau qui justifiez diminution les teneurs dans extrait de l'eau.

La concentration de tanin et flavonoïde augmenté en l'extrait éthanolique par ce que l'éthanol avoir polarité forte Pra port l'eau c'était les défèrent enter les résultats.

III-Analyse qualitative

La chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) est une technique analyse séparative et identifié les compositions chimiques complexe de matière séparée par deux phase mobile et stationnaire, les résultats de chromatogramme de l'extrait de crème et d'extrait éthanolique sont présenté dans la **figure 19 et 20**, respectivement.

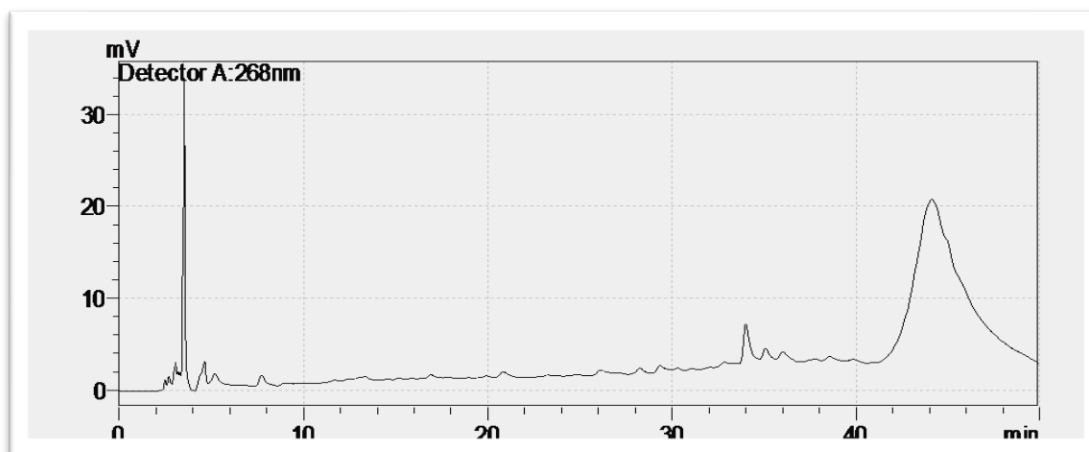


Figure 19 : chromatogramme d'extrait de crème.

D'après ces résultats ont noté la présence de quelques pics importants : en la minute 7 le pic claire et longue jusqu'à 40mv, en temps 34 minute présente un pic court et faible et il y a un autre pic large en 45 min.

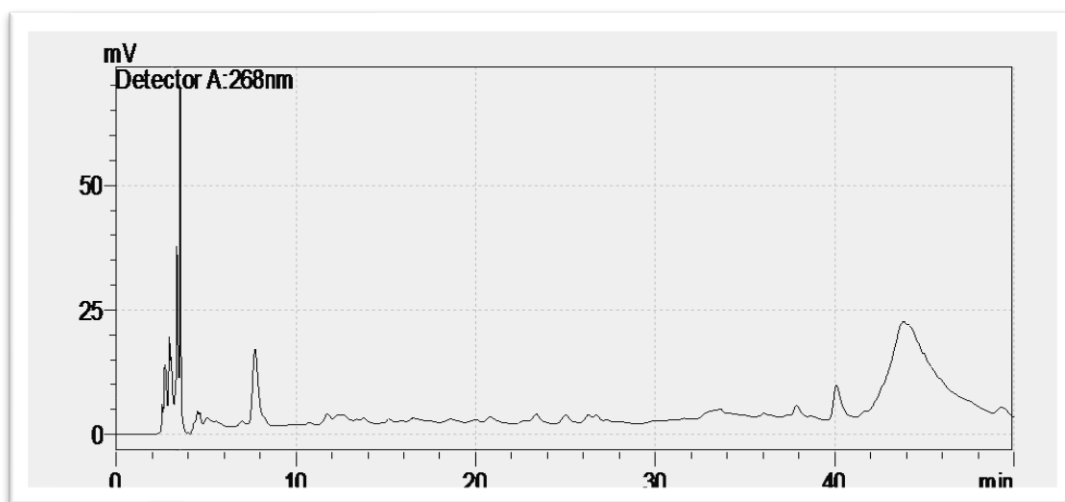


Figure 20 : chromatogramme d'extrait hydro éthanolique

Le chromatogramme de l'extrait de racine sèche semblable de chromatogramme de crème sauf la présence d'un pic court en 9 min.

Pour analyse de quantité de polyphénols par l'HPLC nous avons comparé les temps de chaque pic avec le temps rester de composés standard, ce chromatogramme représenté quelque composition phénolique para port temps de rester (**Figure 21 et Tableau 05**).

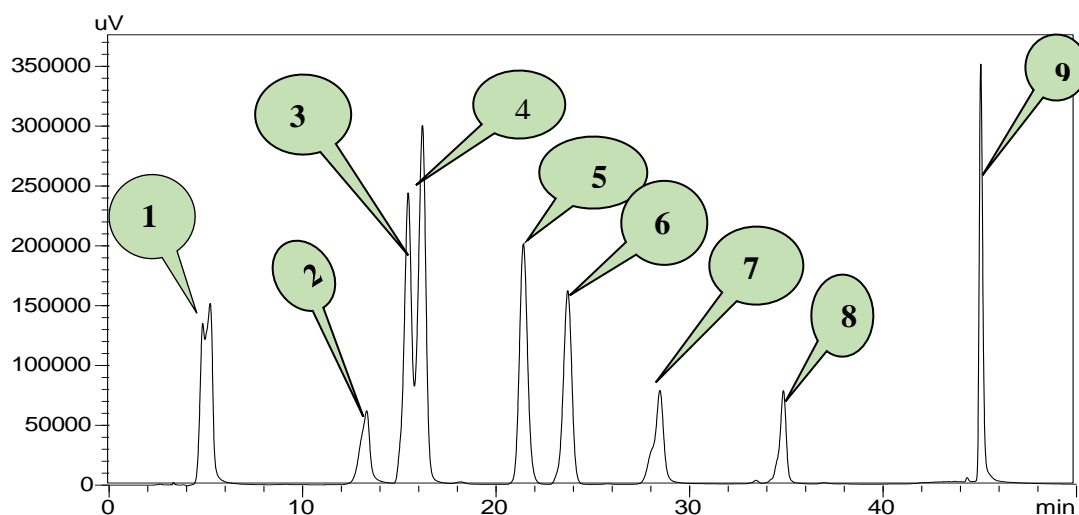


Figure 21 : chromatogramme de quelques espèces phénoliques

Tableau 05 : les nombre de pic et le code de témoin et temp de rester selon le nom d'espèce

Le nombre	Le temp de rester	Le code	Le nom d'espèce
1	5 :29	GA	Acide gallique
2	13.392	CLA	Acide chlorogénique
3	15 :531	VA	Acide vanilique
4	16 :277	CA	Acide caféique
5	21 :46	VN	Vanilline
6	23 :817	P-CO	Acide p coumarine
7	28 :37	RU	Rutine
8	34 :788	NR	Naringin
9	45 :07	QR	Quercitrine

Les composés phénoliques les plus importants séparés par HPLC d'extrait hydro éthanol et d'eau sont présentes dans le Tableau 06.

Tableau 06 : Représente les composés phénoliques les plus importants séparés par HPLC les extrait hydro éthanol et l'eau.

Les composés phénoliques	Temps de rester de référence (min)	Temps rester extrait l'eau (mln)	Quantités Phénolique d'extrait l'eau µg/mg	Temps rester l'extrait éthanolique (min)	Quantité phénolique de l'extrait éthanolique µg/ml
Acide gallique	5.29	5.201	0.916	5.53	0.864
Acide chlorogénique	13.392	13.335	0.435	13.37	2.001
Acide vanilique	15.531	15.897	0.017	15.895	0.703
Acide caféique	16.277	16.90	0.115	16.540	1.415
Vanilline	21.46	Aucune temps	0	Aucune temps	0
Acide p coumarine	23.817	23.260	0.070	23.363	3.204
Rutine	28.37	28.233	0.856	28.075	0.785
Naringin	34.788	Aucune temps	0	34.467	0.247
Quercitrine	45.047	Aucune temps	0	44.958	Aucune temps

En comparant le temps rester de référence et le temps de rester des composés phénoliques permet déterminer la quantité phénolique dans nos extraits analysés, les résultats montrent :

- La quantité de chlorogénique, et d'acide p coumarine sont élever par rapport les autres espèces chimiques,
- Une quantité d'acide p coumarine considéré en l'extrait hydro éthanolique plus quantité a l'extrait l'eau
- La quantité de chlorogénique, d'acide p coumarine et acide gallique sont élever par rapport les autres espèces chimiques.
- Absence à la Vanilline et Quercitrine dans les plantes *carthamus caeruleus*, quelques espèces phénoliques de faible polarité dans l'eau explique ses absences dans extrait du crème.

IV- Activités biologiques

IV-1- Activité antioxydante

Dans notre étude l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits a été faite par deux méthodes : test de radicaux libre DPPH et test β carotène.

IV- 1 a- Activité antiradicalaire au DPPH

La détermination l'activité antiradicalaire au DPPH selon IC₅₀, il est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH (Molyneux, 2004). Les valeurs faibles de l'IC₅₀ indiquent une forte activité antioxydante. Pour chaque extrait ou standard (acide ascorbique), nous avons calculé IC₅₀ à partir des gammes d'étalonnages (Figure 22).

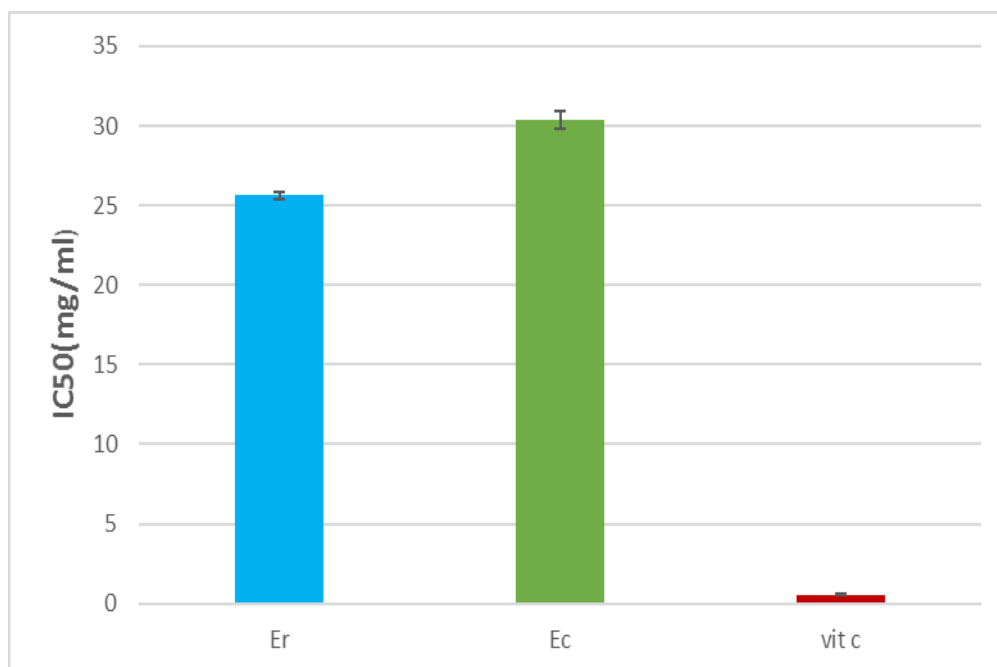


Figure 22 : pourcentage d'inhibition le radicaux libre DPPH par IC₅₀.

Er : extrait de racine sèche.

Ec : extrait de crémai

A partir du résultat représenté au niveaux histogramme signaler aux la concentration d'inhibition 50% de radicaux libre DPPH selon les calculer IC₅₀.

Ces résultats montrent que, l'IC₅₀ de l'acide ascorbique est le plus bas de 0.541 ± 0.552 mg/ml, avec un pouvoir antioxydant très important. Les extrait de plant présentent une activité antioxydant moins important, IC₅₀ de 22.3 ± 1.768 mg/ml et de 25.627 ± 2.41 mg/ml pour l'extrait de l'eau et l'extrait d'éthanolique, respectivement.

IV -1-b- Test de blanchiment du β -carotène

Teste β carotène sont réaction oxydation de l'acide linoléique qui a produit une espèce radicalaire Indiqué la présent l'activité antioxydant de l'extrait ont utilisé référence standard comme les antioxydants (BHT) (**Figure 23**).

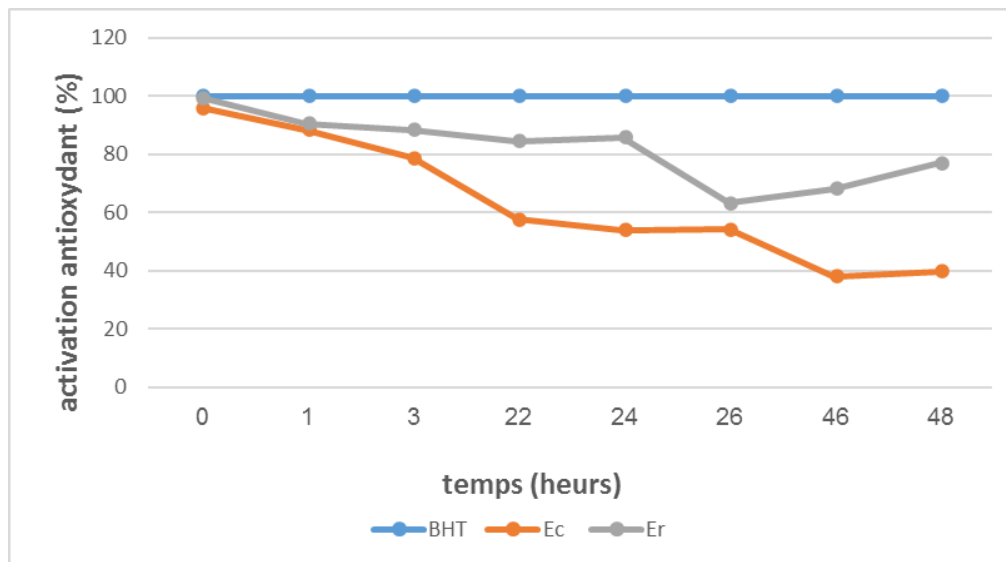


Figure 23 : Test de blanchiment du β -carotène des extraits de racine de *Carthamus caeruleus*

Ec : extrait de crème

Er : extrait de racine séché

Le BHT donne un ordre stable de pourcentage 100% comme contrôle positive mais on remarque la chute graduelle de l'ordre d'inhibition de l'oxydation couplée à l'acide linoléique et du β -carotène par les deux extraits. Par heure 26 retour monter les pourcentages d'inhibition de l'extrait hydro éthanolique de racine carthamus caeruleus. L jusqu'à 76%.

On comparaison entre les résultats d'activité antioxydant dans notre étude les extrait de crème possédant une activité anti radicalaire de DPPH mais présence un un activité d'extrait hydro éthanolique le teste β -carotène, cette résultat signification les plante riche les antioxydant défirente.

IV- 2- Activité antibactérienne

Les études l'activité antimicrobienne assuré détection les résistances de bactérie pour déterminer substance inhibée la développement les microorganismes pour cela dans notre étude utilisent 4 souches bactérie référencié *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

On a utilisé le milieu de culture solide par gélose Mueller-Hinton qui porte sur la surface les souche bactérie après l'activation, les zones inhibition permettent calculer le diamètre, on utilise l'antibiotique Amoxyclav comme référence, et le DMSO comme contrôle négative (Tableau 07).

Tableau 07 : Activité antimicrobienne des extraits éthanoliques et des extraits l'eau.

Souche bactérie	Dose (mg/ml)	Extrait l'eau (m m)	Extrait éthanolique (mm)	Amoxyclav (Contrôle positive) (cm)	DMSO Contrôle Négative (mm)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20	6±0	7.333±1.111	17.66±0.488	0
	10	6±0	6.66±0.888		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20	6±0	6±0	20±0	0
	10	6±0	6±0		
<i>Escherichia coli</i>	20	6±0	8.66±0.888	20±0	0
	10	6±0	7±0.666		
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	6.333±0.444	6±0	18.33±0.222	0
	10	6±0	6±0		

On a remarqué absence les zones inhibitrices dans toutes disques de l'extrait de l'eau chez les souches bactéries sauf *Staphylococcus aureus* présence un peut activité un zon inhibition 6.333±0.444 Les antibiotiques avoir activité antibactérienne très élevé 20±0 par port les deux extraits. On observe aussi les extraits hydro éthanoliques donnent un bon résultat comme exemple sur *Escherichia coli* 8.66±0.888 mm et il y à résultat nul chez *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*.

On a remarqué absence les zones inhibitrices dans toutes disques de l'extrait de l'eau chez les souches bactéries, cependant la présence un peu d'activité sur *Staphylococcus aureus* indiqué il y a un effet antibactérien de le crème et absence chez les autres, peut-être l'augmentation de concentration des bactéries dans les milieux provoqué résistance les souche bactérie, et la méthode d'extraction de crème par l'eau permet délier la composition effective.

IV- 3- Evaluation d'activité cicatrisant

L'utilisation de crème seulement au niveau Localisation brûlure de la passion au niveau le brin et doigt Le photo (18) représenté la blessure. Après 4 jour.

Avent utilisé le traitement



Figure 24 : la patiente de la brûlure traitée par le crème uniquement (Hezla ,2022).

Apré 7 jours de la traitement l'infecté utlisé le crème ausi aniveux le visage mai il y a un autre traitement tradisionelle, mais finalement ulise seulement le crème pendant 20 jour.

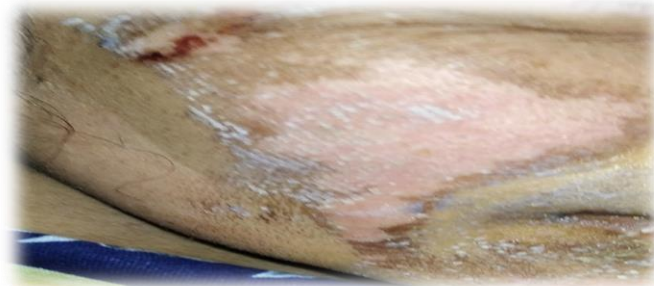


Figure 25 : la patiente de la brûlure traitée par le crème et autre traitement en parallèle (Hezla,2022).

Apré utlisé le traitement

On noté apré 5jour de utilisation de traitement il est un chengment au niveaux le zone infectié;on plus abcence la contamnation et sechent de l'incision.

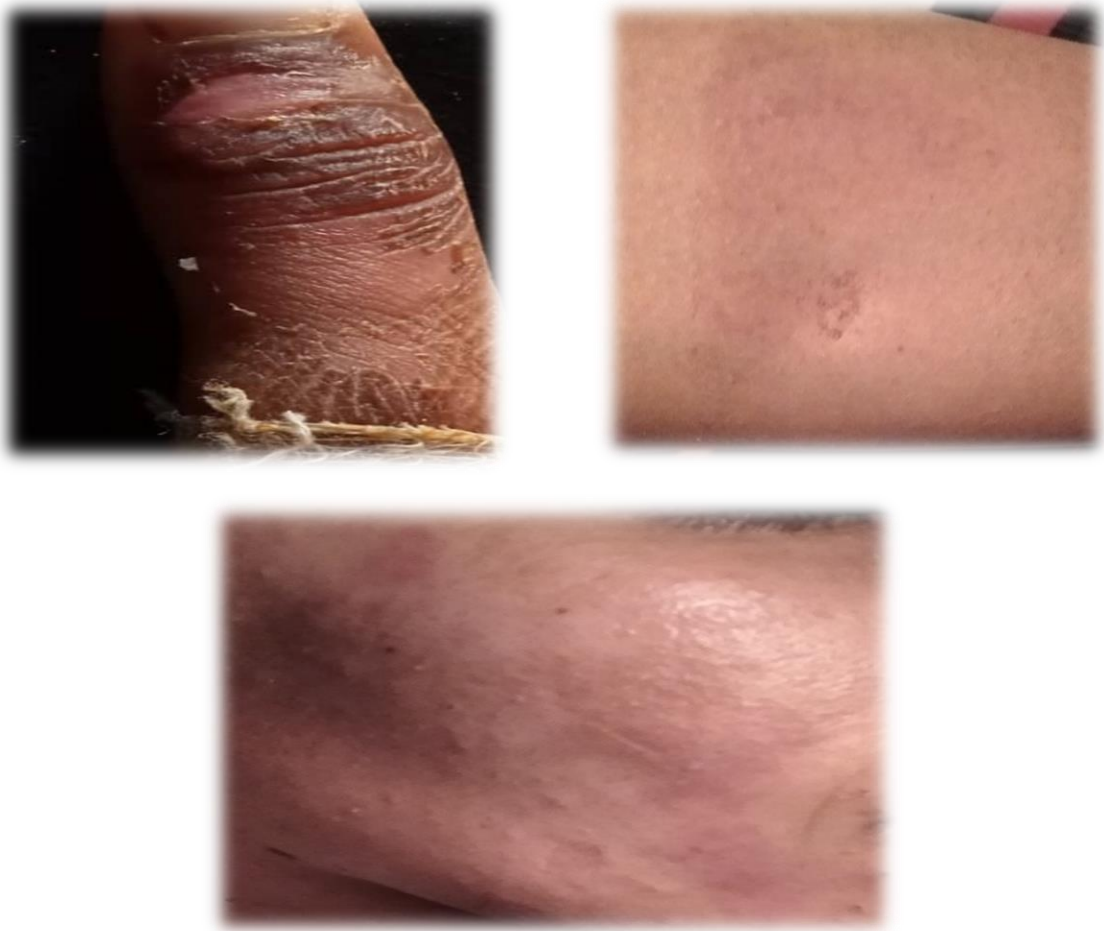


Figure 26 : les Localisation d'infecté après l'utilisation de crème (CHeriet,2022).

Après 20jour

On noté un bonne résultat de finale de treatment , dimintion quelque zone de brulure et elle est disparition dans auter zone. Ces résultats confirment la bioactivité de racine de *carthamus ceaurulus .L*

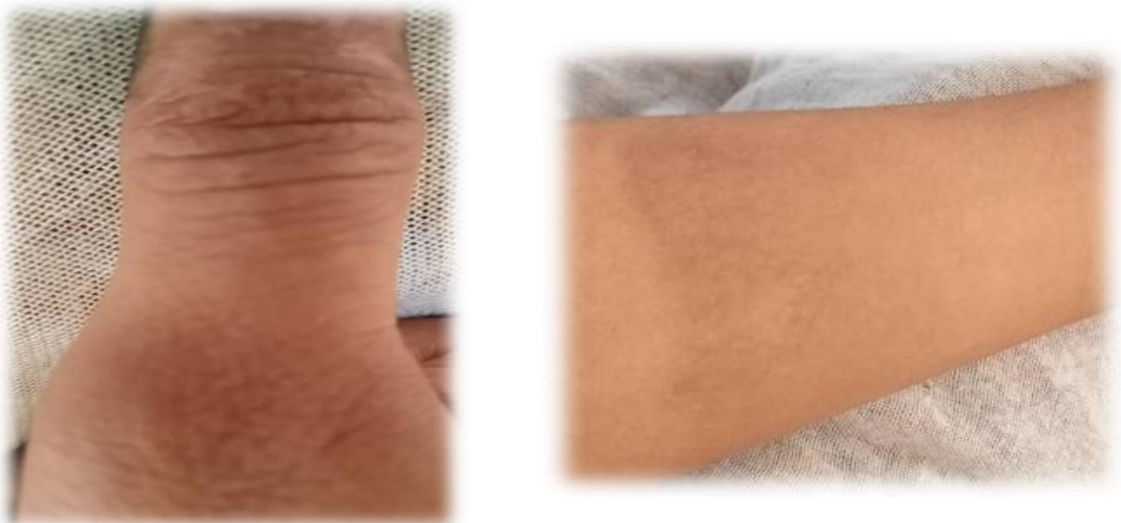




Figure 27 : représenté le cas final du zone brûlure après 20 de traitement (**CHeriet,2022**).

Il n'est pas plus facile conversion patiente de la brûlure sur traitement inconnus dans notre société surtout le zone l'infecté sensible comme le visage ou le mai, finalement nous pourrions confiance du patient a l'utilise le crème uniquement au niveaux doigt et visage pour suivons les efficacités de crème sans entrer un autre traitement.

Conclusion

Les maladies les plus dangereuses qui infectent l'humain de la vie sont les microorganismes pathogènes et les radicaux, qui sont intéressants à rechercher pour trouver les solutions de ces maladies par la découverte d'antioxydants et d'agents antimicrobiens naturels à partir de principes actifs des plantes médicinales.

Nous avons choisi la plante *Carthmus caeruleus* L., cette plante utilisée dans le traitement traditionnel de brûlure, qui est récoltée de la région Chabet Elameur de la wilaya Boumerdes. On a préparé les extraits à partir de deux méthodes extractives : la première a pesé 45 g de racine fraîche mélangée avec l'eau avec le cheveau comme connu chez la société berbère, et la seconde on utilise 10 g de racine séchée pendant 45 jours extractive par la macération hydroalcoolique dans le laboratoire de la faculté.

Analysons quantitativement les composés phénoliques dans les extraits, pour le dosage de polyphénols totaux, 78.706mg/ml \pm 2.1563 en crème et 53.186mg/ml \pm 3.11 en l'extrait éthanolique, les tanins condensés en l'extrait de racine sont d'ordre de 6.586mg/ml \pm 0.0264 mais dans l'extrait de crème sont de 2.666mg/ml \pm 0.0373, cependant le dosage de flavonoïdes montre que la crème et l'extrait hydroalcooliques des racines possèdent une quantité d'ordre de 11.52mg/ml et 11.56mg/ml respectivement.

Analysons qualitativement par les techniques d'analyse de HPLC quelques espèces chimiques phénoliques, l'acide chlorogénique 2 μ g/ml de l'extrait hydro éthanolique 0.45 μ g/ml de l'extrait de crème en présence aussi l'acide gallique 0.916 μ g de l'extrait de l'eau mais l'extrait de hydro éthanolique sont 0.864 μ g/ml. Absence de certains composés phénoliques dans les deux extraits comme Quercitrine et vanilline.

Évaluation de l'activité biologique son activité antioxydante et antibactérienne Nous suivons deux tests pour déterminer l'activité antioxydante le premier par inhibition des radicaux libres DPPH les IC₅₀ d'acide ascorbique sont 0.541 \pm 0.552mg/ml, l'extrait de l'eau 22.3 \pm 1.768 mg/ml et l'extrait d'hydro éthanolique 25.627 \pm 2.41mg/ml. Les deuxièmes sont test de blanchiment du β -carotène basé sur l'oxydation des acides linoléiques, l'activité contrôle positif BHT portant 100%, l'extrait de l'eau 39.75% et l'extrait hydroalcoolique 76.79%.

Les souches bactériennes utilisées dans notre étude pour évaluer l'activité antibactériennes sont *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. La zone d'inhibition de l'extrait de racine séchée est de 8.66 \pm 0.888 mm et 6.66 \pm 0.888 sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* mais absence sur *Staphylococcus aureus*.

Evaluation l'activité biologique *In vitro* constitue un point de départ essentiel facilité des études *In vivo* sur modèle animal, choisi différent type de extractions permet obtenir différent résultats, le recherche dans le domaine de médecine traditionnelle est riche en traitements issus d'expérimentations.

Références bibliographiques

- **Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007).** Radicaux Libres Dérivés De L'oxygène Et Superoxydes Dismutases : Rôle Dans Les Maladies Rhumatismales. *Revue Du Rhumatisme*, 74(7), 636-643.
- **Aguilar, T. A. F., Navarro, B. C. H., & Perez, J. A. M. (2016).** Endogenous Antioxidants: A Review Of Their Role In Oxidative Stress. A Master Regulator Of Oxidative Stress-The Transcription Factor Nrf2, 3-20.
- **Bahorun T., Gressier B., Troitin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Barouki, R. (2006).** Stress Oxydant Et Vieillissement. *Médecine/Sciences*, 22(3), 266-272.
- **Benmansour, N., Said, R. M., El Hanbal, F., Cherif, H., & Akssira, M. (2020).** Study Of The Anti-Inflammatory And Healing Properties Of The Rhizomes Of *Carthamus Caeruleus L. (Asteraceae)* Harvested In The Region Of Tipaza. *Medical Technologies Journal*, 4(1), 525-526.
- **Boizot N. Et Charpentier J.P., (2006).** Méthode Rapide D'évaluation Du Contenu En Composés Phénoliques Des Organes D'un Arbre Forestier. *Méthodes Et Outils Pour D'observation Et L'évaluation Des Milieux Forestiers, Prairiaux Et Aquatiques, Le Cahier Des Techniques De L'inra*, Pp : 79-82.
- **Bottier, C. (2006).** Caractérisation Des Puroindolines, Des Galactolipides Du Blé Et De Leurs Interactions : Mesures Physiques Aux Interfaces (Doctoral Dissertation, Université Rennes 1).
- **Boulaaba M. Et Abdelly C., (2008).** Phenolic Composition Of *Cynara Cardunculus L.* Organs, And Their Biological Activities, *C. R. Biologies*. 331 : 372-379.
- **Bourgeois, E., & Losser, M. R. (2012).** Brûlures Graves. Disponible Sur Internet [Http://Www. Sfm. Org/Urgences/Urgences2012/Donnees/Som_Conf/Conf24. Htm](http://www.sfm.ufr.ac.ma/urgences/urgences2012/donnees/som_conf/conf24.htm) (Consulté Le 25/06/19).
- **Chen, S. C., & Chung, K. T. (2000).** Mutagenicity And Antimutagenicity Studies Of Tannic Acid And Its Related Compounds. *Food And Chemical Toxicology*, 38(1), 1-5.
- **Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., & Teissède, P. L. (2008).** Les Polyphénols Du Raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75-82.
- **Dahmani M.,2019.** Evaluation De L'activité Biologique Des Polyphénols De *Carthamus Caeruleus L (Asteraceae)* Université De M'hamed Bougera-Boumerdes
- **Diouf P.N., Stevanovic T. Et Boutin Y., (2009).** The Effect Of Extraction Process On Polyphenol Content, Triterpene Composition And Bioactivity Of Yellow Birch (*Betula Alleghaniensis Britton*) Extracts. *Industrial Crops And Products*. 30 : 297-303.

Références bibliographiques

- **El Gharras, H. (2009).** Polyphenols: Food Sources, Properties And Applications—A Review. *International Journal Of Food Science & Technology*, 44(12), 2512-2518.
- **Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Farbstein, D., Kozak-Blickstein, A., & Levy, A. P. (2010).** Antioxidant Vitamins And Their Use In Preventing Cardiovascular Disease. *Molecules*, 15(11), 8098-8110.
- **Favier, A. (2003).** Le Stress Oxydant. *L'actualité Chimique*, 108(10), 863-832.
- **Gacem. W (2019).** Analyse Des Paramètres Morphologiques Et Des Caractéristiques Biochimiques Du Cartham Bleu *Carthamus Caeruleus L.* » Issu De La Région De La Mitidja
- **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007).** Le Stress Oxydant. *Revue Médicale De Liège*, 62(10), 628-38.
- **Hamdi A., (2012).** Etude Phytochimique Et Activité Biologique De La Plante *Limoniastrum Guyonianaum*. *Physico-Chimie Moléculaire*. Université Kasdi Merbah Ouargla
- **Hamel, T., Sadou, S., Seridi, R., Boukhdir, S., & Boulemtafes, A. (2018).** Pratique Traditionnelle D'utilisation Des Plantes Médicinales Dans La Population De La Péninsule De L'edough (Nord-Est Algérien). *Ethnopharmacologia*, 59, 65-70.
- **Harborne, J. B., & Mabry, T. J. (2013).** The flavonoids: advances in research.
- **Huang, Q., Liu, X., Zhao, G., Hu, T., & Wang, Y. (2018).** Potential And Challenges Of Tannins As An Alternative To In-Feed Antibiotics For Farm Animal Production. *Animal Nutrition*, 4(2), 137-150.
- **Koechlin-Ramonatxo, C. (2006).** Oxygène, Stress Oxydant Et Supplémentations Antioxydantes Ou Un Aspect Différent De La Nutrition Dans Les Maladies Respiratoires. *Nutrition Clinique Et Métabolisme*, 20(4), 165-177.
- **Koechlin-Ramonatxo, C. (2006).** Oxygène, Stress Oxydant Et Supplémentations Antioxydantes Ou Un Aspect Différent De La Nutrition Dans Les Maladies Respiratoires. *Nutrition Clinique Et Métabolisme*, 20(4), 165-177.
- **La Verdet, B., Girard, D., & D'esmoulières, A. (2018).** Physiologie De La Peau, Réparation Cutanée Et Réaction Stromale. *Actualités Pharmaceutiques*, 57(581), 20-23.
- **Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E. Et Kefalas P., (2005).** Phenolic Profile And Antioxidant Activity Of The Algerian Ripe Date Palm Fruit (*Phoenix Dactylifera*); *Food Chemistry*. 89 : 411-420.

Références bibliographiques

- **Merouane, A., Noui, A., Ali, K. N. B., & Saadi, A. (2014).** Activité Antioxydante Des Composés Phénoliques D'huile D'olive Extraite Par Méthode Traditionnelle. *International Journal Of Biological And Chemical Sciences*, 8(4), 1865-1870.
- **Messina, M., Kucuk, O., & Lampe, J. W. (2006).** An Overview Of The Health Effects Of Isoflavones With An Emphasis On Prostate Cancer Risk And Prostate-Specific Antigen Levels. *Journal Of Aoac International*, 89(4), 1121-1134.
- **Nollet L.M.L. Et Toldra F., (2013)**-Food Analysis By Hplc, Third Edition, Crc Press. Taylor & Francis Group, London. 1063p.
- **Parnassiana Archives 6: 11-13 (2018).** *Carthamus Caeruleus* (Cardueae, Asteraceae), A New Record For Rodos Island, Greece - Scientific Figure On Researchgate. Available From https://www.researchgate.net/figure/A-Flowering-Head-Of-Carthamus-Caeruleus-Close-To-Apolakkia-Rodos-3-V-2015_Fig1_323125563 [Accessed 7 Jun, 2022]
- **Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., & Defraigne, J. O. (1999).** Méthodes D'évaluation Du Stress Oxydatif Chez L'homme : Importance En Matière De Prévention. *Cancérologie*, 95, 1-4.
- **Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2009).** Evaluation De L'activité Antioxydant Des Composés Phénoliques Par La Réactivité Avec Le Radical Libre Dpph. *Revue De Génie Industriel*, 4(8).
- **Reguieg, L. (2011).** Using Medicinal Plants In Algeria. *Am J Food Nutr*, 1(3), 126-127.
- **Rimbach, G., Minihane, A. M., Majewicz, J., Fischer, A., Pallauf, J., Virgli, F., & Weinberg, P. D. (2002).** Regulation Of Cell Signalling By Vitamin E. *Proceedings Of The Nutrition Society*, 61(4), 415-425.
- **Rouleaux. F (2016).** Pharmacognosie Photochimie Plante Médicinale. Livre P454-457. Edusci 5°. Lavoisier. Paris.
- **Saffidine.K, (2015).** Etude Analytique Et Biologique Des Flavonoïdes Extraits De *Carthamus Caeruleus* L. Et De *Plantago Major* L. Université Ferhat Abbas Sétif
- **Sanchez-Moreno C. (2002).** Methods Used To Evaluate The Free Radical Scavenging Activity In Foods And Biological Systems; *International Journal Of Food Science And Technology*. 8 : 121-137.
- **Schofield P., Mbugua D.M. Et Pell A.N., (2001).** Analyses Of Condensed Tannins. *Anim. Feed Sci. Technol.* 91: 21-40.
- **Schofield, P., Mbugua, D. M., & Pell, A. N. (2001).** Analysis Of Condensed Tannins: A Review. *Animal Feed Science And Technology*, 91(1-2), 21-40. Saxena, S., Gautam,

Références bibliographiques

- S., & **Sharma, A. (2010)**. Physical, Biochemical And Antioxidant Properties Of Some Indian Honeys. *Food Chemistry*, 118(2), 391-397.
- **Tepe B., Sokmen M., Akpulat H.A And Sokmen A. (2006)**. Screening Of The Antioxidant Potentials Of Six Salvia Species From Turkey. *Food Chemistry*, 95 : 200–204.
 - **Tessier, F., & Marconnet, P. (1995)**. Radicaux Libres, Systèmes Antioxydants Et Exercice. *Science & Sports*, 10(1), 1-13.
 - **Tlili M.L., (2016)**. Contribution A La Caractérisation Physico-Chimique Et Biologique Des Extraits De Pergularia Tomentosa Issue De Quatre Sites Sahariens Différents (Sahara Septentrional). Université Kasdi Merbah Ouargla.
 - **Tsao, R. (2010)**. Chemistry And Biochemistry Of Dietary Polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231-1246.
 - **Vasseur J., Cazin M., Cazin J. C. Et Pinkas M., (1996)**. Oxygen Species Scavenging Activity Of Phenolic Extracts From Hawthorn Fresh Plant Organs And Pharmaceutical Preparations. *Journal Of Arzneimittel-Forschung*. 46 : 1086-1089.
 - **Wong C.C., Li H.B., Cheng K.W. Et Chen F., (2006)**. A Systematic Survey Of Antioxidant Activity Of 30 Chinese Medicinal Plants Using The Ferric Reducing Antioxidant Power Assay. *Food Chem.* 97 : 705-711.

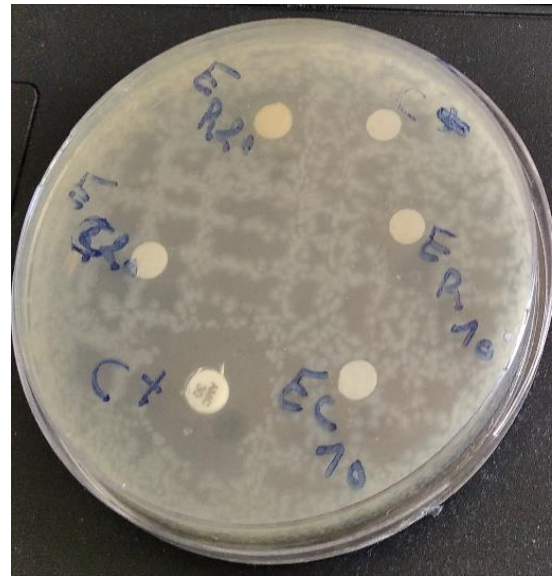
Annexes

Annexes

Annexe 1: Les résultat de l'actité antibacterine



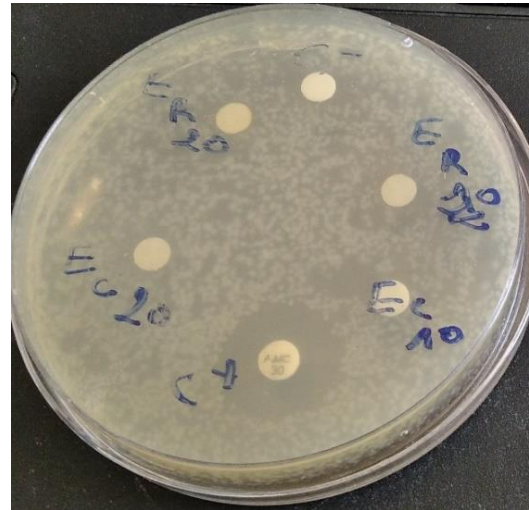
Escherichia coli



Pseudomonas aeruginosa



Klebsiella pneumoniae



Staphylococcus aureus

Annexes

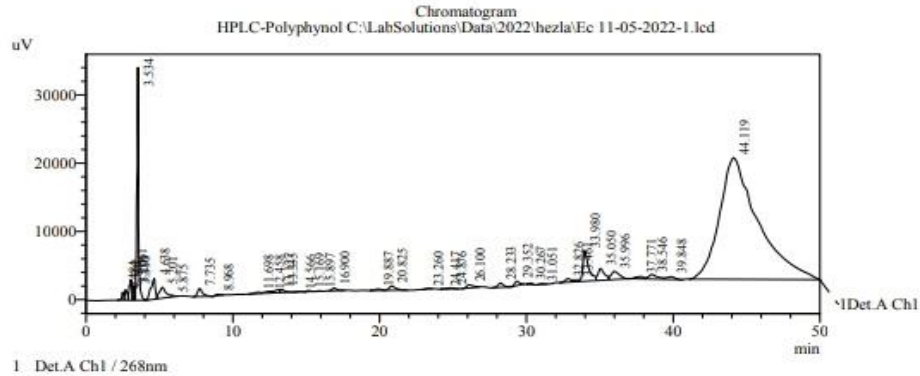
Annexe 2 : Les résultat d'HPLC de l'extrait de crème



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
 République Algérienne Démocratique et Populaire
 وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
 Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
 جامعة الشهيد حمه لخضر السوادي
 Université Echahid Hamma Lakhdar d'EL Oued
 مخبر الموارد الصحراوية ترقينها وتكنولوجياها
 Laboratoire de Valorisation et Technologie des Ressources Sahariennes



Sample Information
 Acquired by : Admin
 Sample Name : HPLC-PolypI
 Sample ID : HPLC-PolypI
 Vial# :
 Injection Volume : 20 uL
 Data Filename : Ec 11-05-202
 Method Filename : Noumia21.m
 Batch Filename :
 Report Filename : dis0.lcr
 Date Acquired : 11-05-2022 9
 Data Processed : 11-05-2022 10



1 Det.A Ch1 / 268nm

PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.484	10447	1169	0.250	1.408
2	2.702	17921	1550	0.428	1.866
3	3.061	35432	3070	0.846	3.698
4	3.201	12644	2082	0.302	2.508
5	3.310	10138	1942	0.242	2.340
6	3.534	250554	34134	5.984	41.115
7	4.638	63184	3044	1.509	3.666
8	5.201	50128	1598	1.197	1.924
9	5.875	2412	223	0.058	0.268
10	7.735	28692	1189	0.685	1.432
11	8.968	4101	194	0.098	0.233
12	11.698	5984	222	0.143	0.267
13	12.458	8484	268	0.203	0.323
14	13.127	11737	433	0.280	0.522
15	13.335	9440	445	0.225	0.536
16	14.566	1554	73	0.037	0.088
17	15.169	2514	151	0.060	0.182

Annexes

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
18	12.340	74613	3111	0.986	1.076
19	12.614	102998	2955	1.361	1.022
20	13.376	43372	2104	0.573	0.728
21	13.771	90758	2276	1.199	0.787
22	14.758	25946	1226	0.343	0.424
23	15.182	71961	1984	0.951	0.686
24	15.895	45753	1624	0.604	0.562
25	16.540	118999	2077	1.572	0.718
26	17.413	54458	1453	0.719	0.502
27	18.610	109421	1692	1.446	0.585
28	20.027	70040	1428	0.925	0.494
29	20.823	113320	1958	1.497	0.677
30	22.764	37460	1055	0.495	0.365
31	23.363	90189	2311	1.191	0.799
32	25.001	78021	1986	1.031	0.687
33	26.262	52244	1865	0.690	0.645
34	26.702	49004	1856	0.647	0.642
35	27.291	21039	897	0.278	0.310
36	28.075	15219	379	0.201	0.131
37	29.915	9128	311	0.121	0.108
38	31.132	14362	267	0.190	0.092
39	31.605	9318	340	0.123	0.118
40	32.108	2759	140	0.036	0.048
41	33.339	66791	1523	0.882	0.527
42	33.604	42839	1692	0.566	0.585
43	34.058	13901	738	0.184	0.255
44	34.467	4799	380	0.063	0.131
45	36.030	15892	656	0.210	0.227
46	36.383	4651	337	0.061	0.116
47	37.354	9145	515	0.121	0.178
48	37.861	73453	2539	0.970	0.878
49	38.650	17920	546	0.237	0.189
50	40.081	231368	6990	3.057	2.417
51	41.674	38106	1657	0.503	0.573
52	43.835	2231492	19606	29.479	6.779
53	44.958	1241360	13114	16.399	4.535
54	49.321	84571	1986	1.117	0.687
Total		7569645	289211	100.000	100.000

Annexes

Les résultat de l'extrait de racine séché

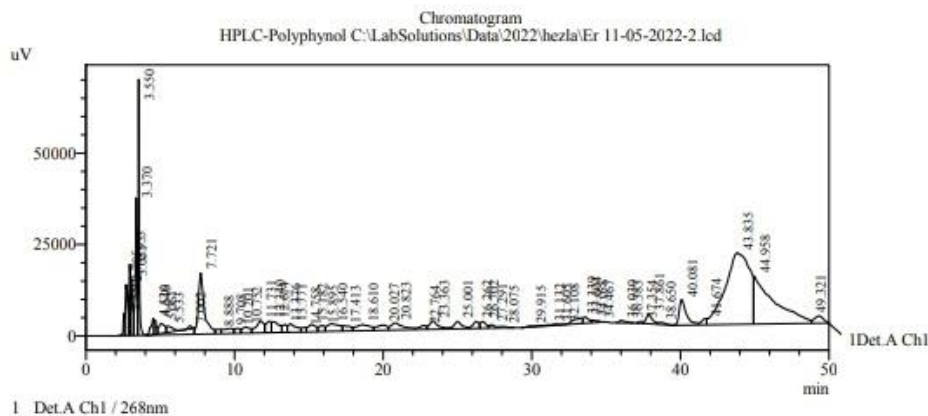


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
 République Algérienne Démocratique et Populaire
 وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
 Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
 جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي
 Université Echahid Hamma Lakhdar d'EL Oued
 مخبر الموارد الصحراوية ترقيتها وتكنولوجياها
 Laboratoire de Valorisation et Technologie des Ressources Sahariennes



Sample Information

Acquired by : Admin
 Sample Name : HPLC-Polypf
 Sample ID : HPLC-Polypf
 Vial# :
 Injection Volume : 20 uL
 Data Filename : Er 11-05-202
 Method Filename : Noumia21 mc
 Batch Filename :
 Report Filename : dis0.lcr
 Date Acquired : 11-05-2022 1
 Data Processed : 11-05-2022 1



PeakTable

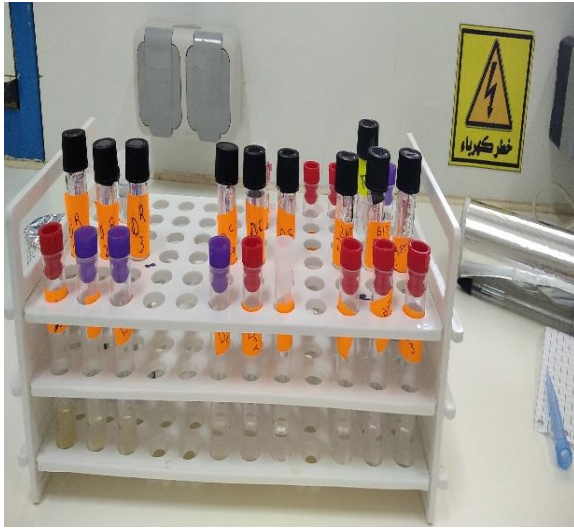
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.550	35932	6050	0.475	2.092
2	2.705	152004	13983	2.008	4.835
3	2.955	136438	19460	1.802	6.729
4	3.051	122218	15346	1.615	5.306
5	3.370	281482	37615	3.719	13.006
6	3.550	452605	70026	5.979	24.213
7	4.520	59805	4432	0.790	1.533
8	4.646	40397	3989	0.534	1.379
9	5.061	75060	2679	0.992	0.926
10	5.533	47291	1680	0.625	0.581
11	7.002	13921	836	0.184	0.289
12	7.721	469845	16721	6.207	5.782
13	8.888	27885	1189	0.368	0.411
14	9.708	63733	1372	0.842	0.474
15	10.201	35223	1324	0.465	0.458
16	10.752	61692	1693	0.815	0.585
17	11.731	117443	3245	1.552	1.122

Annexes

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
18	12.340	74613	3111	0.986	1.076
19	12.614	102998	2955	1.361	1.022
20	13.376	43372	2104	0.573	0.728
21	13.771	90758	2276	1.199	0.787
22	14.758	25946	1226	0.343	0.424
23	15.182	71961	1984	0.951	0.686
24	15.895	45753	1624	0.604	0.562
25	16.540	118999	2077	1.572	0.718
26	17.413	54458	1453	0.719	0.502
27	18.610	109421	1692	1.446	0.585
28	20.027	70040	1428	0.925	0.494
29	20.823	113320	1958	1.497	0.677
30	22.764	37460	1055	0.495	0.365
31	23.363	90189	2311	1.191	0.799
32	25.001	78021	1986	1.031	0.687
33	26.262	52244	1865	0.690	0.645
34	26.702	49004	1856	0.647	0.642
35	27.291	21039	897	0.278	0.310
36	28.075	15219	379	0.201	0.131
37	29.915	9128	311	0.121	0.108
38	31.132	14362	267	0.190	0.092
39	31.605	9318	340	0.123	0.118
40	32.108	2759	140	0.036	0.048
41	33.339	66791	1523	0.882	0.527
42	33.604	42839	1692	0.566	0.585
43	34.058	13901	738	0.184	0.255
44	34.467	4799	380	0.063	0.131
45	36.030	15892	656	0.210	0.227
46	36.383	4651	337	0.061	0.116
47	37.354	9145	515	0.121	0.178
48	37.861	73453	2539	0.970	0.878
49	38.650	17920	546	0.237	0.189
50	40.081	231368	6990	3.057	2.417
51	41.674	38106	1657	0.503	0.573
52	43.835	2231492	19606	29.479	6.779
53	44.958	1241360	13114	16.399	4.535
54	49.321	84571	1986	1.117	0.687
Total		7569645	289211	100.000	100.000

Annexes

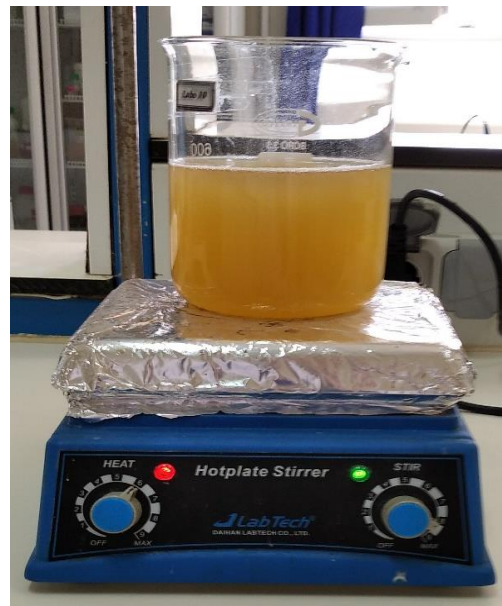
Annexe 3 : quelque Modes opératoires



Manipulation de test β - carotène



Macération de racine séché



Préparation du gélose de Muller-Hinton