

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة أحمد بوقرة بومرداس
UNIVERSITÉ M'HAMED BOUGARA BOUMERDES



Faculté des Sciences
Département de Biologie
Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Domaine: Science de la Nature et de la Vie

Spécialité: Biotechnologie Microbienne

Thème

**Evaluation de l'activité antimicrobienne et cicatrisante
d'extraits de deux plantes de la Région de kabylie: *Pulicaria
odora* L. et *Carthamus caeruleus* L.**

Présenté par : M^{elle} GACI Yasmine

M^{elle} LAHIANI Samia

Soutenu devant le jury composé de :

M ^{me} MILAT-BISSAAD F.Z.	MCA (U.M.B.B)	Présidente
M ^{me} HALLADJ F.	MCB (U.M.B.B)	Promotrice
M ^{me} CHIBANE-AMELLAL H.	MCA (U.M.B.B)	Examinatrice
Mr SALI O.	Vétérinaire (SAIDAL - GDC)	Co-Promoteur

Année Universitaire : 2016/ 2017

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Notre promotrice Madame Halladj F. pour sa disponibilité, sa patience, ses conseils et son grand soutien qui ont contribué énormément à la réalisation de ce travail.

Plus particulièrement, nous présentons nos remerciements les plus sincères et notre gratitude à la direction de GDC- SAIDAL pour l'opportunité qu'ils nous ont offert en nous accueillant au sein de leurs laboratoires de toxicologie et microbiologie pour mener à bien ce travail.

On tient à remercier plus particulièrement Mr. Sali du GDC-SAIDAL pour sa disponibilité, son aide et ses précieux conseils.

Nous tenons à remercier Madame CHIBANE-AMELLAL H. et Madame MILAT-BISSAAD F.Z qui nous ont fait l'honneur de participer au jury de notre soutenance.

Nous remercions vivement tout le personnel de GDC-SAIDAL pour nous avoir aidé à réaliser ce travail.

Dédicaces

A mon Dieu «ALLAH» avant tout et après tout

A mes très chers parents, qui ont sacrifié leur existence pour bâtir la mienne, qui par leurs précieux conseils et soutien ont su me guider vers la voie de la réussite.

A mes frères Malîk, Midou et Wassim et à ma sœur Farida

A tous ceux qui me sont chers,

A tous les membres de ma famille,

A tous mes amis,

A tous, je dédie ce travail.

Yasmine

Dédicaces

A mon Dieu «ALLAH» avant tout et après tout

A mes très chers parents, qui ont sacrifié de leur existence pour bâtir la mienne, qui par leurs précieux conseils et soutien ont su me guider vers la voix de la réussite.

A mes frères Krimo et Mouhamed et mes sœurs,

A tous ceux qui me sont chers,

A tous les membres de ma famille,

A tous mes amis,

A tous, je dédie ce travail.

Samia

Liste des figures

Figure 1 : aspect des feuilles (a) et fleurs (b) de <i>Pulicaria odora</i> L. (photos originales).....	07
Figure 2 : aspect des racines (a), feuilles (b) et fleurs (c) de <i>Carthamus caeruleus</i> L. (photos originales).....	09
Figure 3 : Les souris <i>albinos</i> (photo personnel).....	12
Figure 4 : Poudre de feuilles (photo personnel).....	14
Figure 5 : Poudre de racines (photo personnel).....	14
Figure 6 : Protocole d'extraction des polyphénols.....	18
Figure 7 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	annexe 5
Figure 8 : Protocole d'extraction des saponines des feuilles de <i>Pulicaria odora</i> L.....	20
Figure 9 : Protocole d'extraction des saponines des racines de <i>Carthamus caeruleus</i> L.....	21
Figure 10 : Protocole expérimental de l'antibiogramme (photos personnel).....	24
Figure 11 : Les différentes pommades préparées (photos personnel).....	25
Figure 12 : Les différentes étapes du test de l'activité cicatrisante (photos personnel).....	28
Figure 13 : Zones d'inhibition des souches microbiennes testées (photos personnel).....	39
Figure 14 : Évolution du poids moyen des souris des différents lots d'expérimentation (plaies).....	40
Figure 15 : Évolution du poids moyen des souris des différents lots d'expérimentation (brûlés).....	41
Figure 16 : Courbes représentatives des pourcentages de réduction des surfaces moyennes des plaies traitées par les différents traitements.....	annexe 7
Figure 17 : Représentation photographique des surfaces de cicatrisation des plaies d'excision chez les souris traitées observée durant les 15 jours.....	46
Figure 18 : Courbes représentatives des pourcentages de réduction des surfaces des brûlures traitées par les différents traitements.....	annexe 7
Figure 19 : Représentation photographique de l'évolution de la cicatrisation des brûlures chez	

les souris traitées durant les 19 jours.....	48
--	----

Liste des tableaux

Tableau I : Les principaux caractères du matériel animal utilisé.....	12
Tableau II : Caractéristiques des souches microbiennes testées.....	annexe 3
Tableau III : Souches microbiennes utilisées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne des polyphénols extraits de <i>Carthamus caeruleus</i> L. et <i>Pulicaria odora</i> L.....	13
Tableau IV : Les différentes méthodes du screening phytochimique effectuées.....	15
Tableau V : Les différents lots de souris et type de traitement appliqué.....	26
Tableau VI : Résultats des tests phytochimiques des deux plantes <i>Pulicaria odora</i> L. et <i>Carthamus caeruleus</i> L.....	31
Tableau VII : Rendements des extractions exprimés en g et en %.....	33
Tableau VIII : Résultats des tests d'antibiogramme réalisés avec les polyphénols extraits des deux plantes étudiées.....	36
Tableau IX : Evolution des poids moyens chez les souris expérimentés (plaies).....	annexe 6
Tableau X : Evolution des poids chez les souris expérimentés (brûlées).....	annexe 6
Tableau XI : Évolution des surfaces moyennes des plaies durant la période expérimentale..	42
Tableau XII : Évolution des pourcentages des plaies traitées témoins et celles par les différentes pommades.....	44
Tableau XIII : Évolution des surfaces moyennes des brûlures durant la période expérimentale.....	47
Tableau XIV : Évolution des pourcentages des brûlures traitées par les différentes pommades.....	47

Introduction générale.....	01
----------------------------	----

Chapitre I : synthèse bibliographique

1. Phytothérapie et plantes médicinales.....	03
1.1. Définition de la photothérapie.....	03
1.2. Les plantes médicinales.....	03
1.3. Métabolites secondaires des plantes.....	04
1.3.1. Composés phénoliques.....	04
1.3.2. Les saponosides.....	05
1.3.3. Les alcaloïdes.....	06
2. Espèces de plantes étudiées.....	06
2.1. <i>Pulicaria odora</i> L.....	06
2.1. <i>Carthamus caeruleus</i> L.....	08

Chapitre II : Matériel et méthodes

1. Matériel.....	11
1.1 Matériel biologique.....	11
1.2 Matériel non biologique	13
2. Méthodes d'analyses.....	13
2.1. Préparation de la poudre végétale.....	15
2.2. Screening phytochimique.....	15
2.3. Extraction des polyphénols.....	17
2.4. Dosage des polyphénols.....	15
2.5. Extraction des saponines.....	20
3. Méthodes d'étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait polyphénolique.....	23
4. Etude de l'activité cicatrisante.....	26

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Le screening phytochimique.....	32
2. Extraction des polyphénols.....	34

3. Dosage de la concentration en polyphénols.....	35
4. Extraction des saponines.....	35
5. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	36
6. Evaluation de l'activité cicatrisante des plantes <i>P. odora</i> L. et <i>C. caeruleus</i> L.....	40
Conclusion générale.....	49

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales. Ainsi, si certaines pratiques médicales paraissent étranges et relèvent de la magie, d'autres au contraire semblent plus fondées et plus efficaces ayant pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des humaines (**Djabou, 2006**).

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan. En effet, le développement de la résistance de certains microorganismes pathogènes aux antibiotiques ainsi que l'apparition des effets secondaires de certains médicaments a conduit à la recherche de nouveaux agents antimicrobiens, principalement parmi les extraits de plantes à la recherche de nouvelles molécules bioactives naturelles plus efficaces (**Al-Hajj et al., 2014**). Ainsi, les plantes médicinales naturelles renferment de nombreux principes actifs qui ont des activités thérapeutiques complémentaires ou synergiques. Ces molécules actives ont été largement étudiées et incorporées de nos jours dans de nombreux médicaments et présentent moins d'effets secondaires que le médicament chimique (**Thurzovol et al., 1978**).

L'Algérie possède une richesse considérable en plantes, notamment celles à intérêts médicaux, par exemple : le coquelicot aux pétales rouges ayant de nombreuses vertus, notamment comme antiride et contre la toux sèche, ou encore les feuilles fraîches ou séchées de la sauge utilisées pour soigner les maux de gorge, le rhume et les troubles hormonaux féminins (**Massacrier, 2011**).

Dans certaines régions de l'Algérie (la Kabylie), pour un grand nombre de la population, la médecine traditionnelle demeure le pilier des soins de santé et la plupart des médicaments et des remèdes proviennent de plantes. Ainsi, les feuilles d'une plante sauvage de la famille des *Asteraceae*, *Pulicaria odora* L. sont utilisées sous forme fraîche pour soigner les plaies ou encore pour la préparation de tisane dans le traitement de gastrites. Une autre plante de la même famille, *Carthamus caeruleus* L. sert à la formulation d'une crème (préparée à partir des rhizomes) employée traditionnellement dans le traitement des brûlures sans engendrer aucune cicatrice.

Afin de valoriser cette richesse naturelle et améliorer le patrimoine de médecine traditionnelle algérienne, nous nous sommes proposées d'une part, à l'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits polyphénoliques de ces deux plantes sauvages : *Carthamus*

caeruleus L. et *Pulicaria odora* L. et d'autre part, à l'étude du pouvoir cicatrisant de la plante fraîche et de ces extraits saponosidiques.

Chapitre I

Synthèse
bibliographique

I.1. Phytothérapie et plantes médicinales :

I.1.1. Définition de la phytothérapie :

Le mot phytothérapie se compose étymologiquement de deux racines grecques : "phyton" et "therapeuein" qui signifient respectivement "plante" et "soigner" (**Rwangabo, 1993**). La phytothérapie est, au sens étymologique, «la thérapeutique par les plantes» ; on doit la considérer aujourd'hui comme la thérapeutique utilisant les plantes ou les formes immédiatement dérivées des plantes excluant les principes d'extraction purs isolés des plantes (**Élisabeth, 2001**).

La phytothérapie qui propose des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme, est souvent associée aux traitements classiques (**Hamdi Pacha et al., 2002**). Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers les soins les moins agressifs pour l'organisme ; on estime que 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques (**Verdrager, 1978 ; Iserin, 2001 ; Fernandez, 2003**).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 80% de la population mondiale ont recours à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de la santé (**Farnsworth et al., 1986**).

I.1.2. Les plantes médicinales :

Une plante dite «médicinale» est une plante qui possède des propriétés thérapeutiques. L'utilisation des plantes est très ancienne, et pendant très longtemps elle a représenté pratiquement le seul moyen de soigner, basé sur l'empirisme (**Catier et Roux, 2007**). Environ 35 000 espèces de plantes sont employées à l'échelle mondiale à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Elles sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine (**Elqaj et al., 2007 ; Dutertre, 2011**).

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration de médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs (**Iserin, 2001 ; Ameenah, 2006**).

I.1.3. Métabolites secondaires des plantes:

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (**Lutge *et al.*, 2002 ; Abderrazak et Joël, 2007**). Les métabolites secondaires exercent un rôle majeur dans l'adaptation des végétaux à leur environnement. Ils assurent des fonctions clés dans la résistance aux contraintes biotiques (phytopathogènes, herbivores, etc.) et abiotiques (UV, température, etc.) (**Bourgaud, 2013**). Ils sont divisés principalement en trois grandes familles: les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (**Lutge *et al.*, 2002 ; Abderrazak et Joël, 2007**).

I.1.3.1. Composés phénoliques :

Les polyphénols ou composés phénoliques forment une grande classe de produits chimiques qu'on trouve dans les plantes au niveau des tissus superficiels. Ce sont des composés phytochimiques poly-hydroxylés comprenant au moins un noyau aromatique à 6 carbones (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**). Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (**Urquiaga et Leighton, 2000**).

La structure des composés phénoliques naturels varient depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) aux molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées (**Urquiaga et Leighton, 2000 ; Macheix *et al.*, 2005**).

❖ Les acides phénoliques

Le terme acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique (**Belyagoubi et Benhammou, 2011**).

❖ Les flavonoïdes

Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, dont plusieurs sont responsables de la couleur vive des fleurs, des fruits et des feuilles (**Midoun, 2011**). Ce sont les composés qui ont en commun la structure du diphenylpropane C₆-C₃-C₆; les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné (**Kone, 2009**). Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules dont les plus importantes sont les flavones, les flavanols, les flavanones, les

dihydroflavanols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les auronones et les anthocyanes (**Kone, 2009**).

❖ Les coumarines

Elles dérivent des acides hydroxy-cinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale (**Macheix et al., 2005**). Près de 1000 composés cumoniques sont isolés dans plus de 800 espèces de plantes et dans les microorganismes (**Kone, 2009**).

❖ Les anthocyanes

Les anthocyanes sont des pigments qui confèrent leur couleur aux fruits et aux légumes. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines), et changent de couleur en fonction de leur pH (**Makhloufi, 2010**). Les anthocyanes sont issus de l'hydrolyse des anthocyanides (flavonoïdes proches des flavones) (**Iserin, 2007**).

❖ Les tanins

Les tanins sont des substances d'origine organique que l'on trouve pratiquement dans tous les végétaux et dans toutes leurs parties (écorces, racines, feuille, etc.) (**Michellin kansole, 2009**). Ce sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da (**Kamra et al., 2006**), ils peuvent former des complexes avec les protéines grâce à la présence de plusieurs groupements hydroxyles phénoliques (**Amlan et Patra, 2010**). Deux groupes de tanins différant aussi bien par leur structure que par leur origine biogénétique sont distingués : les tanins hydrolysables et les tanins vrais. Certains tanins auraient des propriétés antioxydants (**Michellin kansole, 2009**).

I.1.3.2. Les saponosides :

Les saponosides sont des métabolites secondaires hétérosidiques présents dans de nombreuses plantes (**Iserin, 2001 ; Çolak et al., 2009**). Le mot saponine est dérivé du mot latin « sapo ». Les saponines ont reçu leur nom du fait qu'elles produisent une mousse semblable à celle du savon (**Hart et al., 2008**). Les saponines sont des glycosides à poids moléculaires élevés, regroupant un ensemble complexe et chimiquement très diversifié de molécules tri-terpéniques ou stéroïdes. Elles se composent d'une fraction aglycone hydrophobe (un noyau stéroïdique ou tri-terpénique) liée à une chaîne mono ou polysaccharidique hydrophile (**Wallace, 2004**). Les saponosides sont très largement répandus

dans le règne végétal, ils présentent des propriétés antivirales, antifongiques, antibactériennes et sont toxiques pour les animaux à sang froid (Élisabeth *et al.*, 2000 ; Guignard, 2000).

I.1.3.3. Les alcaloïdes :

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique) ; on les trouve dans plusieurs familles des plantes. La plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques (Wichtlet Anton, 2009). Certains alcaloïdes sont utilisés comme moyen de défense contre les infections microbiennes (nicotine, caféine, morphine, lupinine) (Hopkins, 2003). Selon Aniszewski (2007), on distingue trois grandes classes qu'ils possèdent ou non un acide aminé comme précurseur direct et qu'ils comportent ou non un azote dans un hétérocycle : les alcaloïdes vrais, les pseudo-alcaloïdes, les proto-alcaloïdes.

I.2. Espèces de plantes étudiées :

I.2.1. *Pulicaria odora* L. :

❖ Distribution géographique et Description :

Selon Hussein *et al.*, (2017), le genre *Pulicaria* comprend 100 espèces largement diffusées en Europe, l'Afrique du nord et en Asie.

Pulicaria odora L. est une Plante vivace de 30-60 cm, elle est velue ou laineuse. Elle présente une tige dressée, simple, ou rameuse dans sa moitié supérieure. La tige souterraine renflée en tubercules est couverte de feuilles écailleuses. Hémicryptophyte, elle est constituée de feuilles alternes de forme ovale oblongue (Figure 1a), denticulées, les inférieures atténuées en pétiole, persistant à la floraison, les caulinaires embarrassantes, mais sans oreillettes saillantes. Elle comporte de grands capitules (15-25mm) longuement pédonculés, solitaires au sommet de la tige et des rameaux ; involucre à bractées velues, linéaires, acuminées ; toutes les fleurs jaunes (Figure 1b), celles en languette étalé, dépassant longuement le disque formé par les fleurs en tube ; akènes blanchâtres, velus ; aigrette rousse dotée d'une couronne dentée de 10 à 12 poils 3 fois plus longs que l'akène. La floraison de la plante a lieu au mois de juin à août ; pollinisée par les insectes (ou autogame) ; dispersée par le vent (Rameau *et al.*, 2008 ; Roubaudi, 2011).



Figure 1 : aspect des feuilles (a) et fleurs (b) de *Pulicaria odora* L. (photos personnel).

❖ **Position systématique :**

D'après **Emberger et Chadefaud (1960)**, l'espèce *Pulicaria odora* L. connue en arable sous le nom "Ouden El hallof" ou encore " Ameaoughuilef " en berbère est classée comme suit :

Règne : *Plantae*

Famille : *Asteraceae (compositae)*

Tribu : *Inulae*

Sub-tribu : *Inulinae*

Ordre : *Asterales*

Genre : *Pulicaria*

Espèce : *Pulicaria odora* L.

❖ Utilisations et propriétés thérapeutiques :

Pulicaria odora L. est exclusif des pathologies dermiques (gale, plaies et brûlures, engelures, eczéma, alopecie, champignon Pityriasis versicolore, rougeole (Meddour, 2010). Selon Ezoubeiri *et al.*, (2005), la fleur de la plante *Pulicaria odora* L. connue localement sous le nom d'Anssif, est utilisée comme épice et dans la préparation de divers aliments délicieux (Lewis et Ausubel, 2006). Les parties aériennes de cette plante sont également utilisées comme agent antibactérien ou anti-diarrhéique (Awen *et al.*, 2010) ; les racines sont aussi utilisées pour leur action anti-inflammatoire (Bellakhdar, 1997). Un grand nombre d'espèces de *Pulicaria* produisent des huiles essentielles dotées de diverses activités biologiques à savoir: antibactérienne, antifongique et génotoxique. Ainsi, les huiles essentielles de *P. crispata* et *P. orientalis*, *P. undulate*, *P. odora* et *P. dysenterica*, *P. glutinosa*, et *P. dytenterica* présentent respectivement une activité cytotoxique, antibactérienne, antispasmodique et antihistaminique (Al-Hajj, 2014).

I.2.2. *Carthamus caeruleus* L. :

❖ Distribution géographique et Description :

C'est une espèce rare qui peut être trouvée dans le pays de la Provence maigre et de la Corse. Elle préfère les endroits secs et ensoleillés de la Méditerranée. Elle est originaire de l'Asie du Sud-ouest (Milouane, 2004), très répandue en Afrique de l'Est et du Nord (Algérie, Maroc, Tunisie, Libye), Australie et les Amériques, et l'Europe (Grèce, Italie, France, Portugal, Espagne) (Boullard, 2001).

La plante *Carthamus caeruleus* L. désignée également sous le nom de la carduncelle bleue, c'est une herbe annuelle ou bisannuelle à tige ascendante simple ou très peu rameuse, glabre, dressée et velue (haute de 20 à 60 cm) (Quezel et Santa, 1963 ; Mioulane, 2004). Ses feuilles glabres ou pubescentes, sont fortement nervées, à contour ovale ou lancéolé ; les inférieures pétiolées, dentées ou lyrées-pinnatifides, les supérieures sessiles amplexicaules ou dentées épineuses (Mioulane, 2004). Les fleurs sont bleues violets, en capitules gros (3 cm de large sur 3-4 cm de long), solitaires au sommet de la tige et des rameaux, globuleux ou ovoïdes (Figure 2b). Corolles bleues tubuleuses que prolongent 5 dents à valeur de courts lobes sommitaux (Figure 2c). Les fruits de *Carthamus caeruleus* L. sont des akènes nettement plus courts que l'aigrette (environ 2 fois), sub-globuleux ou obscurément tétragones, glabres et blanchâtres ; on les trouve dans les champs et les lieux incultes (Quezel et Santa, 1963 ; Boullard, 2001 ; Balmey et Grey-Wilson, 2000).



Figure 2 : aspect des racines (a), feuilles (b) et fleurs (c) de *Carthamus caeruleus* L. (photos personnel).

❖ Position systématique :

De nom arabe :Mosghresse, Kenjdar, Gergaa, Qartum, elle est désignée par Amegresdes en berbère. Plusieurs noms scientifiques ont été attribuées à cette plante dont : *Carduncellus caeruleus* L. *Kentrophyllum caeruleum*, *Onobroma caeruleus* L. et *Carthamus caeruleus* L.

D'après **Quezel et Santa (1963)**, La classification de l'espèce est la suivante :

Règne : <i>Plantae</i>
Famille : <i>Asteraceae</i> (compositae)
Sub-famille : <i>Carduoïdeae</i>
Tribu : <i>Cardueae</i>
Sub-tribu : <i>Centaureinae</i>
Ordre : <i>Asterales</i>
Genre : <i>Carthamus</i>
Espèce : <i>Carthamus caeruleus</i> L.

❖ Utilisations et propriétés thérapeutiques :

Les rhizomes de *Carthamus caeruleus* L. sont utilisés en Algérie, en médecine traditionnelle comme cicatrisant soit sous forme de poudre ou une crème préparée dans le lait ou dans de l'eau. Cette plante contribue à soigner les brûlures (anti-brûlure). En outre, la richesse de cette plante en polyphénols lui confère une grande activité antioxydante. Les graines sont riches en amidon et en huile (**Hamadi et al., 2014**).

Chapitre II

Matériel et Méthodes

Notre étude porte d'une part, sur l'étude de l'activité cicatrisante des racines de *Carthamus caeruleus* L. et des feuilles de *Pulicaria odora* L., deux plantes à usage traditionnelle en Kabylie. D'autre part, l'activité antimicrobienne de leurs extraits phénoliques a été évaluée

Ce travail a été réalisé pendant une période de quatre mois (du mois de Février au mois de Mai). La caractérisation phytochimique et extraction des composés phénoliques ont été effectuées entre le laboratoire de Biotechnologie Microbienne (BTM) et celui de Biologie et Physiologie des Organismes (BPO) au sein de la Faculté des Sciences de l'Université de Boumerdès (UMBB). La partie expérimentale animale et activité antimicrobienne ont été réalisées au laboratoire de Microbiologie et de Pharmaco-Toxicologie GDC (SAIDAL, Gue de Constantine, El-Harrach).

II.1 Matériel :

II.1.1 Matériel biologique :

II.1.1.1 Matériel végétal :

Le matériel végétal est représenté par les racines de *Carthamus caeruleus* L. et les feuilles de *Pulicaria odora* L. Les deux plantes ont été récoltées au mois de Février 2017 dans la région de Chaabet El Aneur et Bordj Menaiel (Wilaya de Boumerdès). L'identification botanique des espèces a été faite au niveau de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA) d'Alger (ex. INA : Institut National d'Agronomie).

II.1.1.2 Matériel animal :

Les animaux de laboratoire utilisés dans cette étude sont représentés par des souris *albinos* (Figure 3). Un total de 14 souris a été utilisé pour évaluer l'activité cicatrisante des deux plantes. Les principaux caractères du matériel animal utilisé sont résumés dans le tableau ci-après.

Tableau I: Les principaux caractères du matériel animal utilisé.

Les souris	
Nombre	14
Sexe	Mâle
Age	45 - 50 jours
Poids (g)	35±2
Couleur	Blanche
Alimentation	Granulés fournis par l'O.N.A.B
Boisson	Eau ordinaire <i>ad libitum</i>
Elevage	Animalerie GDC-SAIDAL
Conditions d'hébergement	Température : 20 à 24 °C. Humidité : 50%. Éclairage : 10 h/24 h.

**Figure 3 :** Les souris *albinos* (Photo personnel).

II.1.1.3 Les microorganismes étudiés :

Le choix des microorganismes a porté sur cinq souches de référence dont trois bactéries, une levure et un champignon (Tableau III) provenant essentiellement du laboratoire de Microbiologie du GDC-SAIDAL. Les espèces étudiées constituent un problème majeur de santé publique par leur résistance naturelle à divers agents antimicrobiens. Les caractéristiques de ces souches microbiennes sont présentées au tableau II, annexe 3.

Tableau III : Souches microbiennes utilisées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne des polyphénols extraits de *Carthamus caeruleus* L. et *Pulicaria odora* L.

Microorganismes testés	Souche de référence	Référence	Famille	
bactéries	Gram +	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	<i>Micrococcaceae</i>
	Gram +	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	<i>Bacillaceae</i>
	Gram -	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	<i>Enterobacteriaceae</i>
Levures		<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	<i>Saccharomycetaceae</i>
Champignons		<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC 16404	<i>Trichocomaceae</i>

ATCC : American Type Culture Collection.

II.1.2 Matériel non biologique :

La verrerie, réactifs, produits chimiques, et milieux de culture utilisés sont donnés en annexe, 1,2 et 4

II.2 Méthodes d'analyses

II.2.1 Préparation de la poudre végétale

Les racines de la plante *Carthamus caeruleus* L. nettoyées des impuretés puis épluchées et coupées en petit morceaux, ainsi que les feuilles de la plante *Pulicaria odora* L. sont mis à sécher à température ambiante et à l'abri de la lumière.

Après séchage, les racines et les feuilles sont d'abord pilées à l'aide d'un mortier puis finement broyées avec un broyeur électrique (ENIEM) afin d'obtenir une poudre fine. Les poudres ainsi obtenues des racines (Figure 6) et des feuilles (Figure 5) sont conservées dans des bocaux en verre hermétiquement fermé, à l'abri de l'humidité et de la lumière en vue de procéder aux différentes manipulations.

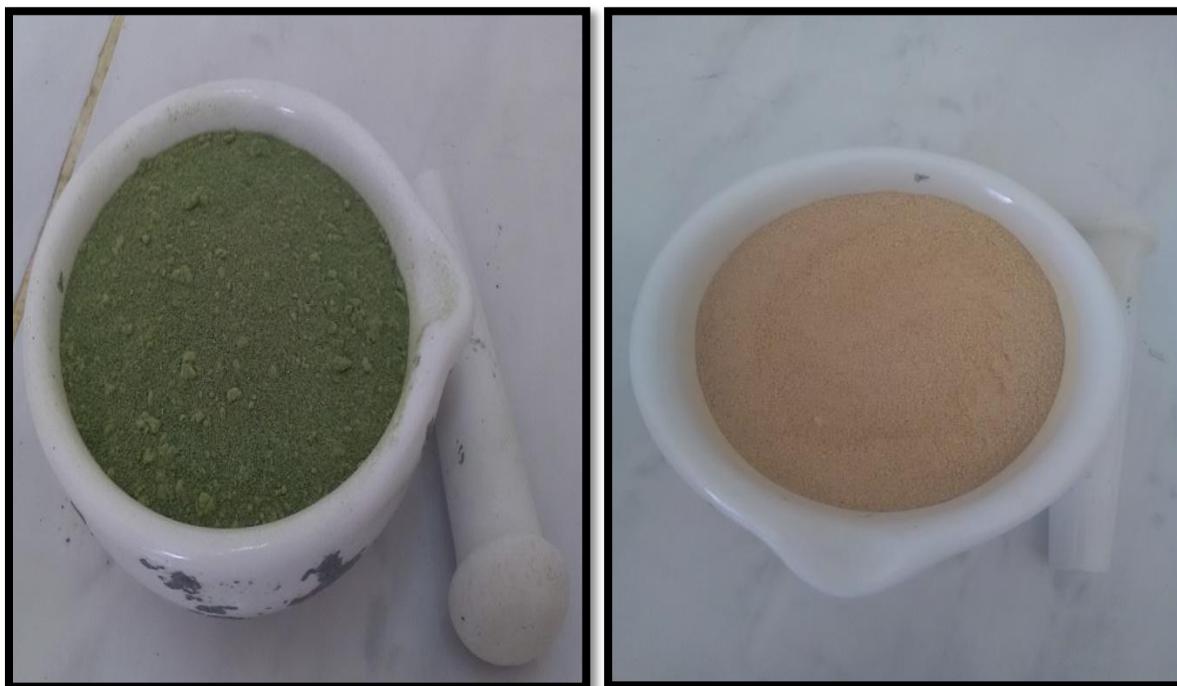


Figure 4:Poudre des feuilles (Photo personnel). **Figure 5:** Poudre des racines (Photo personnel).

II.2.2 Screening phytochimique :

Le screening phytochimique effectué sur les deux plantes (*P. odora* L. et *C. caeruleus* L.) a pour but de déterminer les métabolites secondaires existants dans ces deux plantes (**Bruneton et al., 1999**). Il est réalisé soit en utilisant la poudre de chacune des deux plantes ou leur infusé. Les méthodes de caractérisation utilisées sont celles décrites par **Békro et al., (2007)**.

a) Préparation des infusés :**- Infusé à 5%:**

5 g de la poudre *Pulicaria odora* L. sont mélangées dans 100 ml d'eau distillée bouillante. Après 15 minutes d'infusion, le mélange est filtré. Le filtrat ainsi obtenu est ajusté à un volume de 100 ml par l'eau distillée.

- Infusé à 20%:

20 g de la poudre de *Carthamus caeruleus* L. sont mélangées dans 100 ml d'eau distillée bouillante. Après 15 minutes d'infusion, on suit les mêmes étapes citées ci-dessus.

Les différentes méthodes du screening phytochimique effectuées sur les deux plantes (*P. odora* L. et *C. caeruleus* L.) sont représentées dans le tableau ci-dessous. Les méthodes d'analyse. Deux essais sont réalisés pour chaque test.

Tableau IV : Les différentes méthodes du screening phytochimique effectuées.

Type d'échantillon	Composé mis en évidence	Réactifs ajoutés	Résultat positif
Infusé	Tanins Totaux	5 ml de l'infusé + quelques gouttes d'une solution de FeCl ₃ à 5%	Coloration bleue noire ou verdâtre
	Tanins Galliques	5 ml de l'infusé + 2 g d'acétate de sodium et quelques gouttes de FeCl ₃ à 5%	Coloration bleue Foncé
	Flavonoïdes	Ajouter 5 ml d'HCl pure, un copeau de Mg et 1 ml d'Alcool iso-amylque à 5 ml de l'infusé préparé	Coloration rouge Orangé
	Anthocyanes	5 ml de l'infusé préparé + quelques gouttes d'HCl	Coloration rouge
	Saponosides	Ajouter quelques gouttes d'acétate de plomb à 2 ml de l'infusé	Formation d'un précipité blanc
	Mucilages	1 ml de l'infusé + 5 ml d'éthanol absolu pendant 10 minutes	Apparition d'un précipité floconneux
	Irridoïdes	Ajout de quelques gouttes d'HCl à 2 ml de l'infusé, puis chauffer sur plaque chauffante	Coloration bleue

poudre végétale	Alcaloïdes	5 g de poudre végétale sont humectées avec de l'ammoniaque à 50% ensuite macérées dans un mélange éther/chloroforme dans un rapport 3:1(v/v) pendant 24 h. Après filtration, le filtrat récupéré est épuisé par HCl 2N + quelques gouttes du réactif de Dragendorff	Formation de coloration rouge
	Glucosides	Ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique (H ₂ SO ₄) à 2 g de poudre végétale	Formation de coloration rouge brique
	Coumarines	2 g de poudre végétale sont bouillies à reflux dans 20 ml d'alcool éthylique pendant 15 mn ; le filtrat obtenu est mélangé avec 5 gouttes d'hydroxyde de potassium (KOH) à 10% + quelques gouttes d'HCl à 10%	Formation d'un trouble

II.2.3 Extraction des polyphénols :

Nous avons opté pour le protocole décrit par **Revilla *et al.*, (2001)** en y apportant quelques modifications :

Une quantité de 10 g des feuilles ou des racines fraîches broyées et macérées chacune dans un mélange de 100 ml d'éthanol/eau (v/3v) pendant 72 heures. Les filtrats des deux mélanges ont été évaporés en utilisant un rotavapeur à 45°C (Stuart). Les extraits secs obtenus sont récupérés et conservés dans des flacons à l'abri de la lumière. **Revilla *et al.*, 2001**).

➤ Calcul du rendement de l'extraction :

Le rendement de l'extraction est calculé par la formule suivante (**Carée, 1953**) :

$$R (\%) = (m - m_0) \times 100 / m_t$$

Avec :

m₀ : la masse du ballon vide avant l'extraction.

m : la masse du ballon après l'extraction.

(m - m₀) : la masse de l'extrait sec.

m_t : la masse totale de la poudre végétale utilisée dans l'extraction.

II.2.4. Dosage des polyphénols :

❖ Principe

Le dosage des polyphénols a été déterminé selon la méthode décrite par (Singleton et al., 1999) utilisant le réactif colorimétrique de Folin-Ciocalteu. Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (Boizot et charpentier, 2006).

❖ Mode opératoire

Mélanger 0,5 ml de chaque extrait de plante avec 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu's (dilué 10 fois). Après 3 à 5 min d'incubation, ajouter 1 ml de carbonate de sodium à 20%, bien mélanger et laisser incuber pendant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance est mesurée à 760 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre «Optizen 2120/UV ». Trois essais sont réalisés pour chaque extrait.

Le blanc est représenté par 0,5 ml d'éthanol additionné de 1 ml de Folin-Ciocalteu et 1 ml de carbonate de sodium à 20%.

La Figure 6 récapitule les étapes suivies pour le dosage des polyphénols.

❖ Expression des résultats

La quantité de polyphénols a été déterminée en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée avec de "l'acide gallique" dans les mêmes conditions que les extraits de plantes. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent acide gallique (EAG) par 100 g des racines ou des feuilles fraîches (Figure 7, annexe 5).

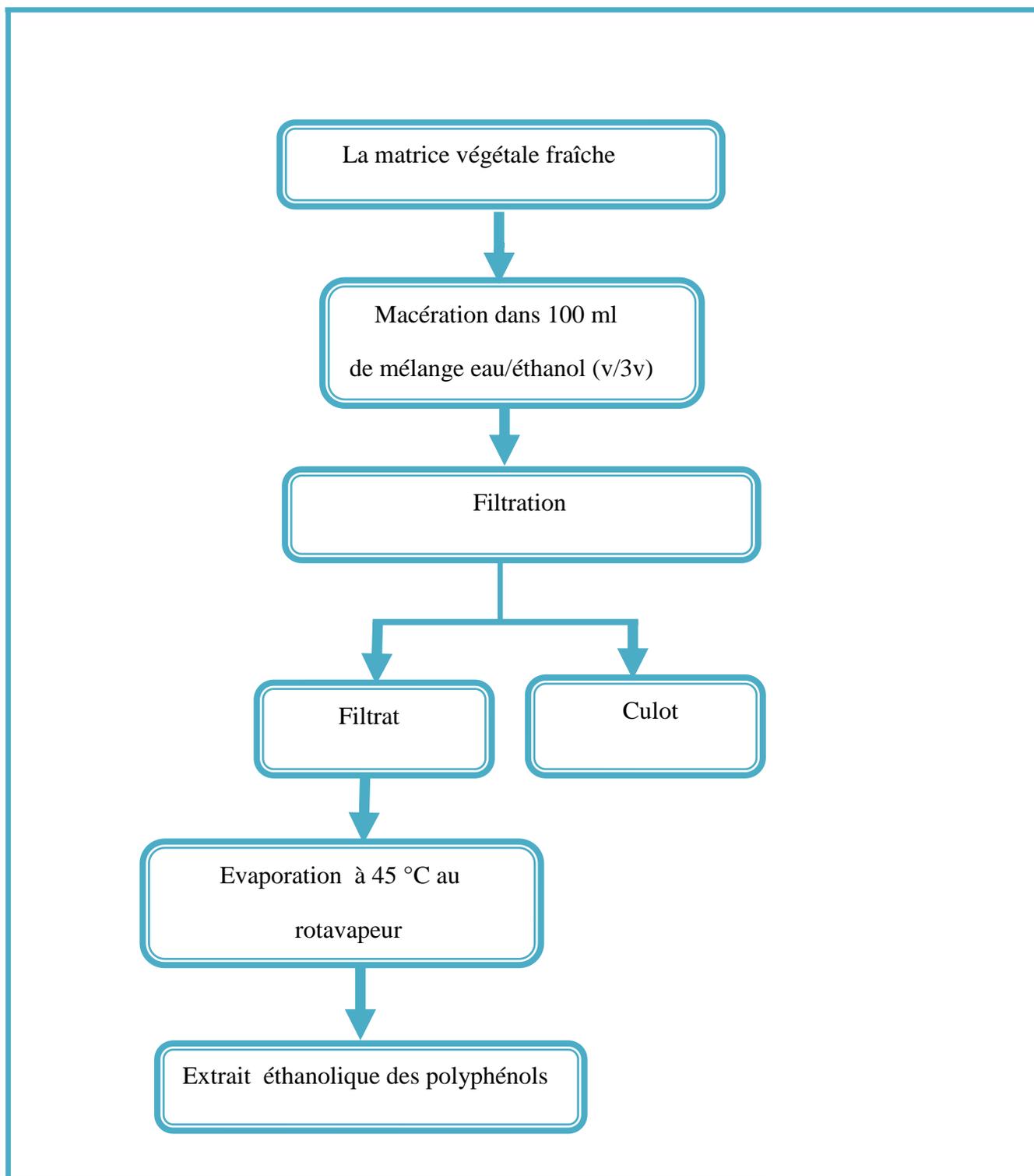


Figure 6 : Protocole d'extraction des polyphénols.

II.2.5.Extraction des saponines :

- **Pour la poudre des feuilles de *Pulicaria odora* L.:**

Une quantité de 60 g de poudre végétale de feuilles a été macérée dans 218 ml de méthanol pendant 72 h sous agitation. Le filtrat du mélange évaporé à 45°C est récupéré dans un mélange de 120 ml d'eau distillé et 120 ml de n-butanol permettant ainsi la séparation de deux phases. La phase organique récupérée est évaporée avec un rotavapeur à 45°C. L'extrait sec obtenu est dissout dans 36 ml de méthanol et 180 ml d'acétate d'éthyle, un précipité est alors formé. Ce dernier est laissé au repos pendant 72h à température ambiante, le surnageant obtenu est décanté et le filtrat est séché au rotavapeur (45°C) pour obtenir un extrait sec. Celui-ci est remis en suspension dans un volume approprié de méthanol de 10 ml. L'extrait obtenu constitue les saponines. Le protocole d'extraction des saponines est illustré dans la Figure 8 (Pike et al., 1974 ; Bruns, 1977).

- **Pour les racines fraîches de *Carthamus caeruleus* L. :**

La méthode d'extraction des saponines est celle décrite par Pike et al., (1974) ; Bruns, (1977). Les racines fraîches de la plante étudiée sont broyées et homogénéisées au mélangeur et extrait avec du méthanol à 70%. Typiquement, les volumes de solvant utilisé étaient de 3 ml de solvant par gramme de poids. La durée d'extraction a été fixée à 2 h avec agitation continue à 65°C.

Par la suite, le mélange est centrifugé pendant une heure à 4500 trs/min (HERMLE). Le surnageant est récupéré par décantation et les culots subissent une seconde extraction avec du méthanol à 70% dans l'eau pendant 1 h puis furent recentrifugés aux conditions citées précédemment.

Les deux extraits sont combinés et subissent une extraction liquide-liquide avec du benzène (1 ml/3 ml de surnageant) ; la phase méthanolique aqueuse (phase inférieure) est récupérée et évaporée sous pression réduite à l'aide d'un rotavapeur à 50°C. Le protocole général d'extraction des saponines est illustré dans la Figure 9.

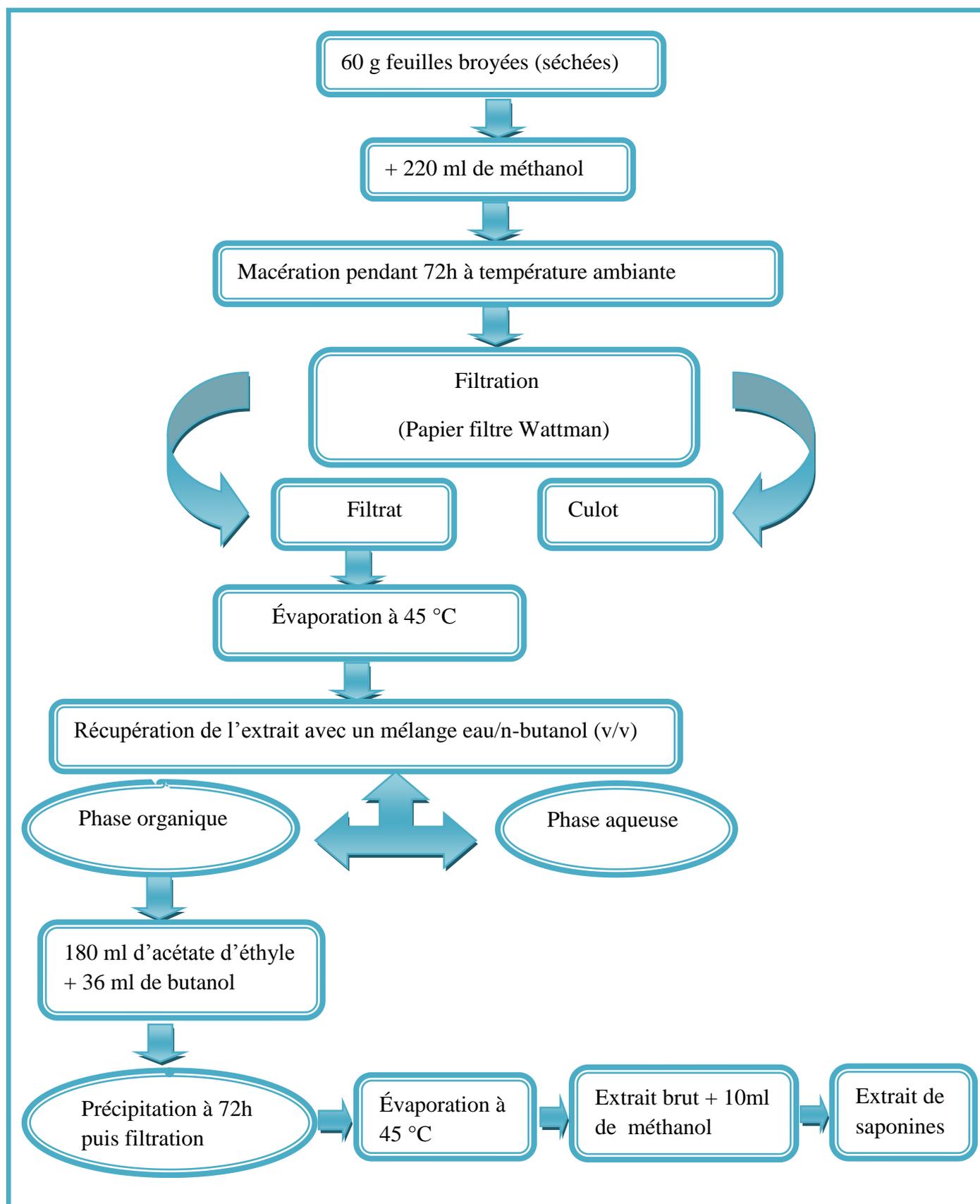


Figure 8: Protocole d'extraction des saponines de feuilles de *pulicaria odora* L.

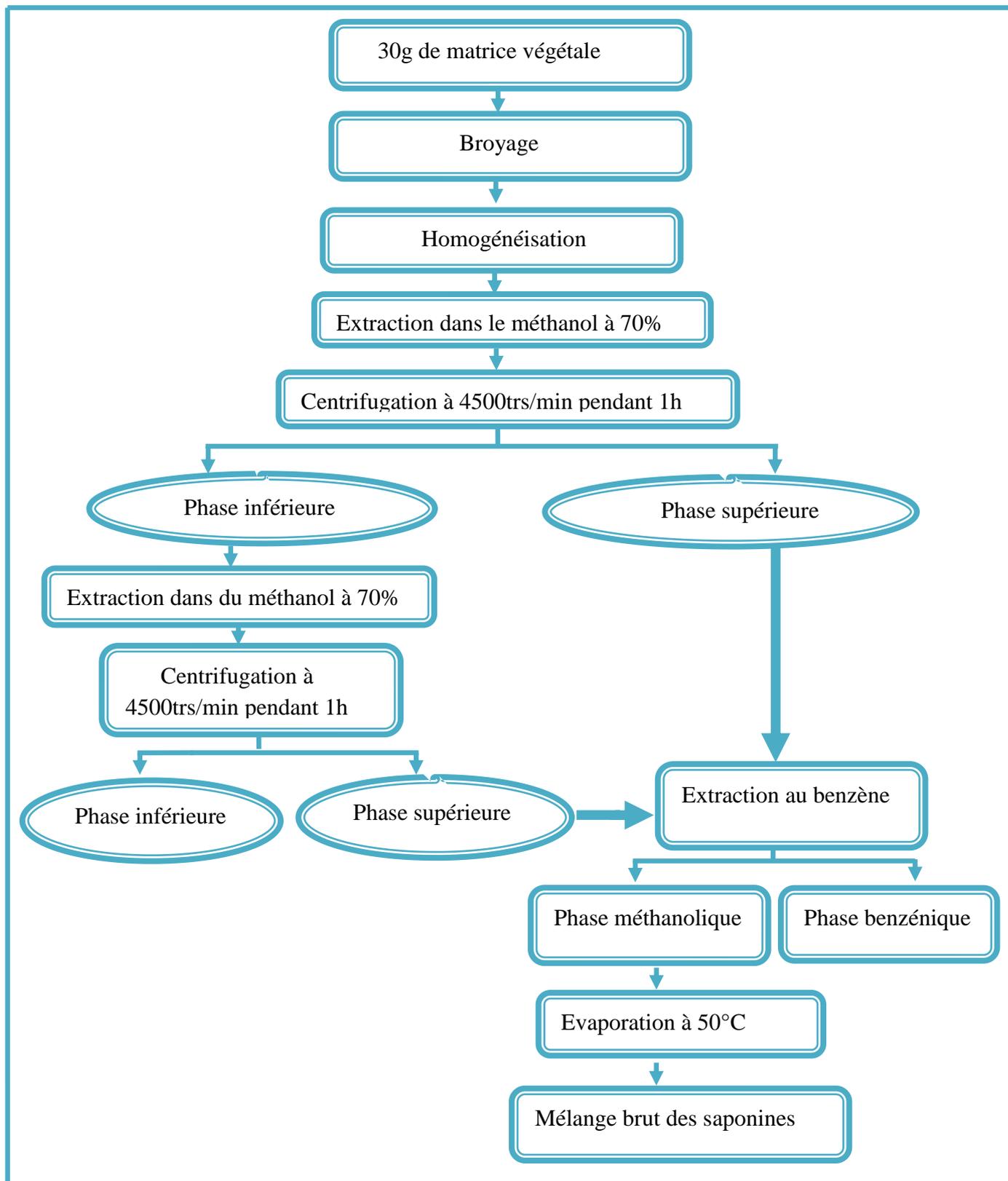


Figure 9: Protocole d'extraction des saponines de racines de *Carthamus caeruleus* L.

II.3. Méthode d'étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait polyphénolique :

L'étude de l'activité antimicrobienne consiste à déterminer la résistance ou la sensibilité des souches à tester aux extraits polyphénoliques respectivement des feuilles et racines de *Pulicaria odora* L. et *Carthamus caeruleus* L. selon la méthode de diffusion sur milieu solide (Ngameni *et al.*, 2009). deux essais sont réalisés pour chaque souche testé.

II.3.1 Mode opératoire

❖ Repiquage des souches :

À partir des tubes de conservation contenant les souches bactériennes et les levures à étudier, préalablement conservées à 4°C, on réalise un ensemencement par stries sur Mueller Hinton (MH) pour les bactéries et sabouraud (SAB) pour les levures et champignons. L'incubation se fait respectivement à 37°C pendant 24 pour les bactéries et à 28°C pendant 3 à 5 jours pour les levures et champignons, on obtient ainsi des cultures jeunes (Joly et Reynaud., 2003).

❖ Préparation de l'inoculum :

À partir des cultures de bactéries, levures et champignons revivifiées, des suspensions microbiennes sont préparées dans des tubes stériles contenant 10 ml d'eau physiologique. Agiter les tubes pendant quelques secondes et réaliser une lecture de densité de chacune des suspensions préparées, à l'aide d'un spectrophotomètre (SHIMADZU 1800/UV) à une longueur d'onde de 620 nm. L'absorbance doit être comprise entre (0,20–0,30) pour les bactéries et entre (2 – 3) pour les levures et champignons, ce qui correspond à une concentration de 10^7 à 10^8 germes/ml (concentration minimale qui assure la croissance microbienne) (Chabbert *et al.*, 1982).

❖ Mise en évidence de l'activité antimicrobienne :

- Les milieux de culture (MH) et (SAB) liquéfiés et en surfusion sont coulés dans des boîtes de Pétri (volume 25 cm³ pour une boîte de 90 mm de diamètre, hauteur de milieu de 4 mm), laisser refroidir et sécher.
- Ensuite, contamination par la technique d'écouvillonnage la surface du milieu et prélever soigneusement l'excès avec une pipette Pasteur en inclinant la boîte (couvercle fermé).
- Puis, laisser sécher à température du laboratoire pendant 10 à 15 minutes.

❖ Dépôt des disques :

À l'aide de pinces, stérilisées par passage dans la flamme du bec Bunsen, un disque absorbant stérile imbibé de l'extrait de polyphénols est déposé à la surface des milieux de culture

préalablement préparés. Laisser les boîtes de Pétri sur la paillasse pendant 30 minutes puis les mettre dans le réfrigérateur pendant 24 heures. Deux répétitions sont effectuées par essai.

❖ Incubation :

Les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 3-5 jours pour les levures et champignons. Après incubation, l'évaluation du pouvoir antimicrobien des extraits de polyphénols se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition qui se traduit par un halo clair autour du disque absorbant. Le diamètre des zones d'inhibition est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse et l'interprétation des résultats se fait selon l'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne donnée par **Meena et Sethi (1994)**.

Les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne sont divisés en quatre classes (par rapport aux disques de 9 mm).

- ✓ Non inhibitrice : diamètre de la zone d'inhibition < 10mm
- ✓ Légèrement inhibitrice 10 mm < diamètre de la zone d'inhibition < 16mm
- ✓ Modérément inhibitrice 16mm < diamètre de la zone d'inhibition < 28mm
- ✓ Fortement inhibitrice diamètre de la zone d'inhibition > 28mm

La Figure 10 illustre les étapes de réalisation de l'antibiogramme.

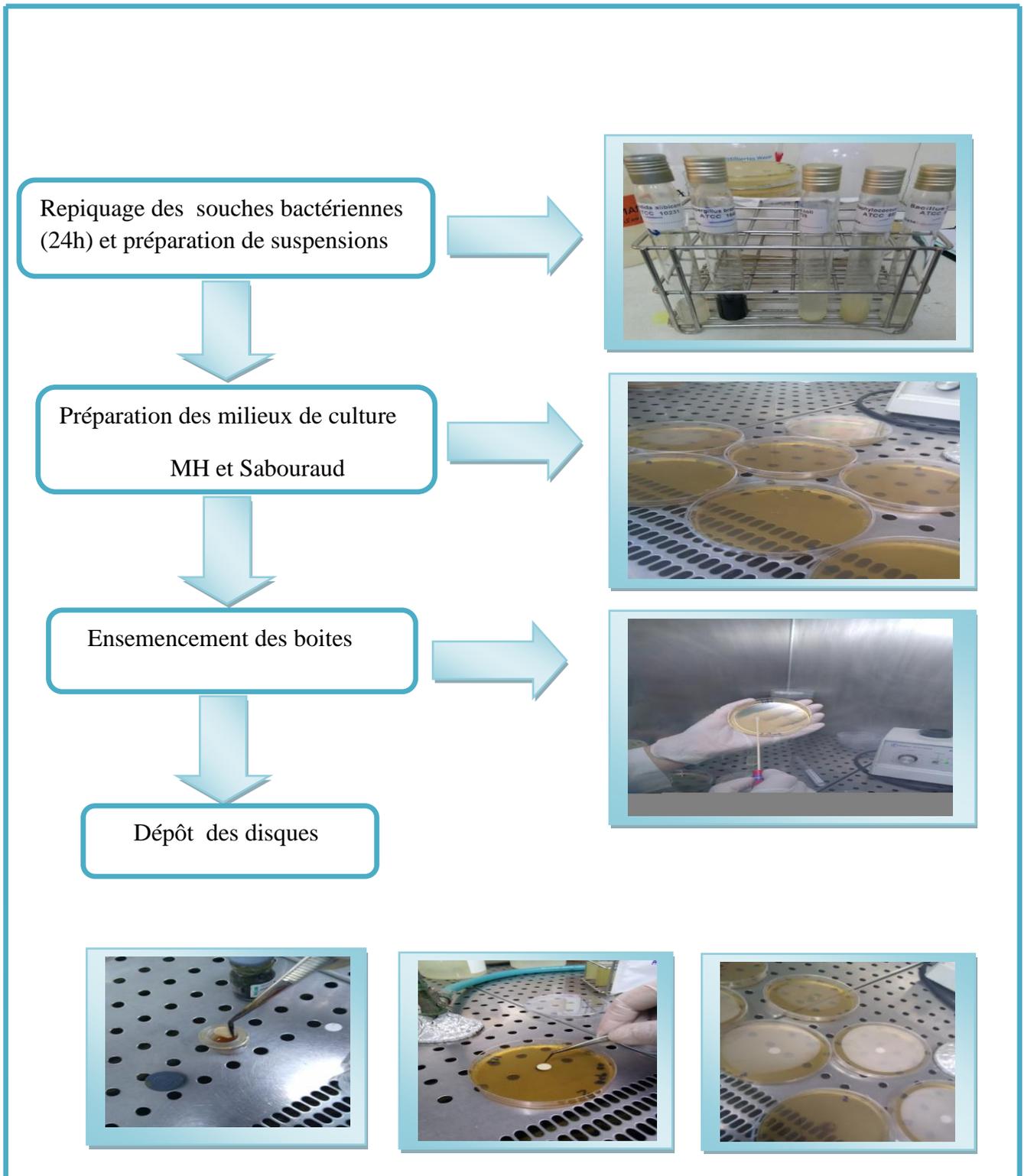


Figure 10 : Protocole expérimental de l'antibiogramme (photos originales).

II.4. Etude de l'activité cicatrisante :

❖ Préparation des pommades :

Elle se fait par mélange de 20 g d'extrait de saponines ou de poudre végétale de chaque plante avec 100 g de vaseline. Les préparations obtenues donnent deux pommades, de couleur verte pour *Pulicaria odora* L. (Figure 12a et b) et de couleur jaune pour l'extrait saponosidique de *Carthamus caeruleus* L. (Figure 12c) et une autre de couleur marron de la préparation à base de poudre de cette dernière (Figure 12d).

Un échantillon de crème traditionnelle des racines de *C. caeruleus* L. (Figure 12e) est préparé telle appliquée par la population de certaines régions de la Kabylie (Chaabet El Ameer et Bordj-Menaïel). Un mélange de racines et d'eau est laissé à bouillir pendant environ 2 heures jusqu'à obtention d'une crème. Les pommades et la crème sont conservées dans des boîtes en plastique hermétiquement fermées afin d'éviter toute contamination.

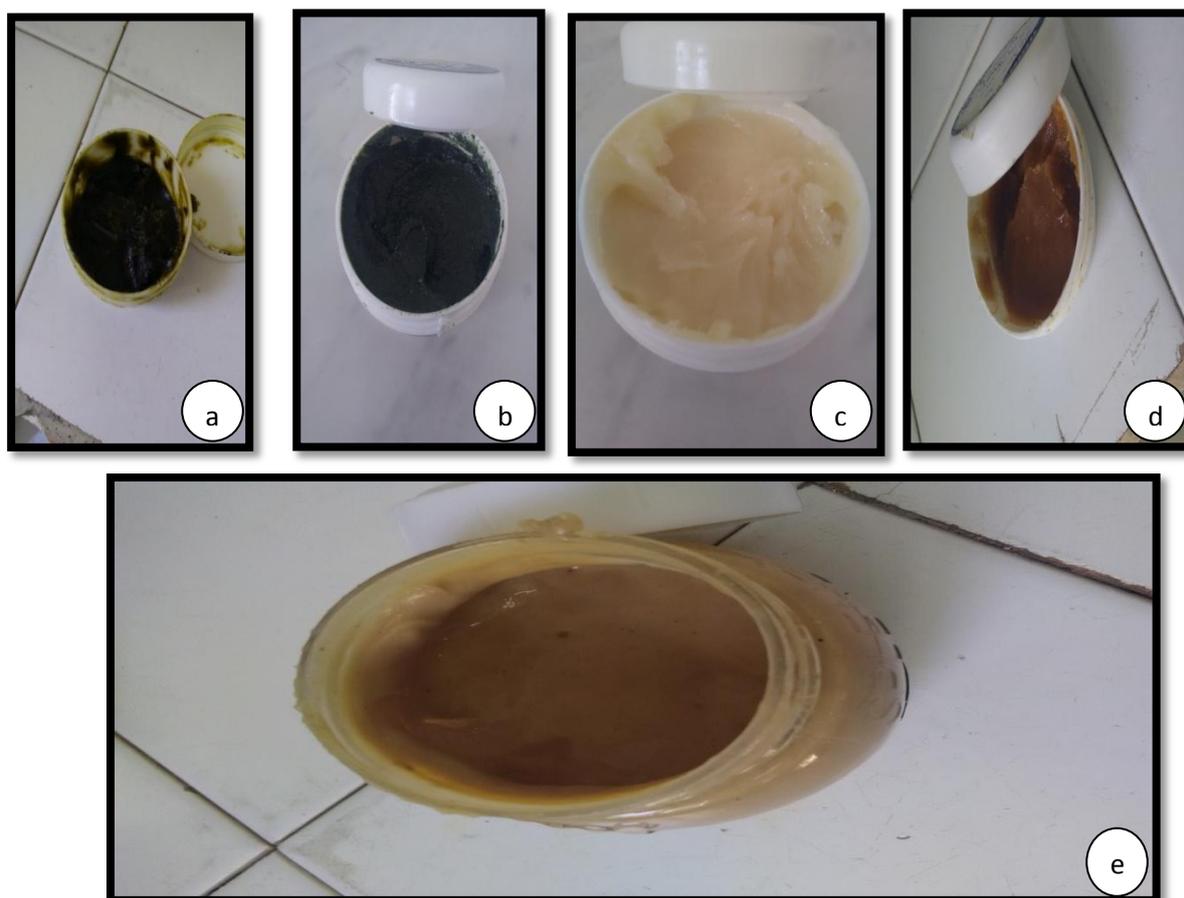


Figure 11 : les différentes pommades préparées (photos personnel).

❖ Essais de cicatrisation réalisés

Deux essais de cicatrisation ont été réalisés, l'un sur des plaies conduit avec les pommades préparées à base de saponines, de poudre végétale, crème traditionnelle et le produit de référence Madécassol[®] et l'autre sur des brûlures mené avec la crème traditionnelle des racines de *C. caeruleus* L. et la pommade à base de poudre végétale de *P. odora* L.

Les applications se font quotidiennement jusqu'à l'épithéliation complète des plaies et des brûlures (environ 15 jours pour les plaies et 19 jours pour les brûlures). Cette étude permet de comparer les différentes cicatrices et leur évolution sur la base de la modification de la surface de la cicatrice.

❖ Protocole expérimental :

1. Préparation des lots :

Pour l'étude de l'activité cicatrisante des plaies, 14 souris sont répartis en 08 lots à raison de deux souris par lot excepté pour l'essai des lots de brûlés (1 souris par lot). Chaque lot est traité par un type de produit comme indiqué dans le tableau V.

Tableau V: Les différents lots de souris et type de traitement appliqué

Lots	Traitement
Lot référence : n=2	plaie essai traitée avec le produit de référence Madécassol [®]
Lot essai 1 : n=2	plaie essai traitée avec la crème traditionnelle des racines de <i>Carthamus caeruleus</i> L.
Lot essai 2 : n=2	plaie essai traitée avec la pommade à base de la poudre des racines de <i>Carthamus caeruleus</i> L.
Lot essai 3 : n=2	plaie essai traitée avec la pommade à base des saponines de <i>Carthamus caeruleus</i> L.
Lot essai 4 : n=2	plaie essai traitée avec la pommade à base de la poudre des feuilles de <i>Pulicaria odora</i> L.
Lot essai 5 : n= 2	plaie essai traitée avec la pommade à base des saponines de <i>Pulicaria odora</i> L.
Lot essai 6 : n= 1	Le brûlé essai traité avec la crème traditionnelle des racines de <i>Carthamus caeruleus</i> L.
Lot essai 7 : n= 1	Le brûlé essai traité avec la pommade à base de la poudre des feuilles de <i>Pulicaria odora</i> L.

2. Préparation des animaux :

La veille de l'expérimentation, les animaux sont pesés, marqués au niveau de leur queue et répartis selon leur lot correspondant. La première étape de l'expérimentation consiste en une épilation de la région dorsolombaire de toutes les souris.

❖ Mode opératoire :

Après avoir préparé les lots de souris (animaux marqué, et épilés, cages étiquetées), on procède aux différentes étapes suivantes (**Bensegueni et al., 2007**).

- Désinfecter la région dorsolombaire épilée avec de l'alcool chirurgicale à 70%.
- À l'aide d'un disque rond de 1,5 cm de diamètre, tracer sur le dos de la souris épilée les zones à découper, l'une près de la tête (plaie témoin) et l'autre près de la queue (plaie essai).
- Découper les zones tracées en utilisant une paire de ciseaux ou bien de lames chirurgicales stériles et une pince pour enlever la peau coupée.
- Nettoyer par la suite les deux plaies (essai et témoin) avec l'eau physiologique à 0,9%.
- Pour la brûlure (2^{ème} degré), provoquer deux zones de réaction à la suite d'un pincement métallique des zones en provoquant des brûlures, l'une près de la tête (zone brûlée témoin) et l'autre près de la queue (zone brûlée essai).

Par la suite, on prend les empreintes des surfaces des plaies et des brûlures (essai et témoin) sur papier transparent à l'aide des feutres indélébiles dès le jour J_0 et tout le long des jours du traitement ($J_3, J_5, J_7, J_9, J_{11}, J_{13}, J_{15}$) et J_{17} et J_{19} pour les brûlures (est-ce le même intervalle de jours).

Les différentes étapes du test de l'activité cicatrisante sont présentées dans la Figure ci-après.

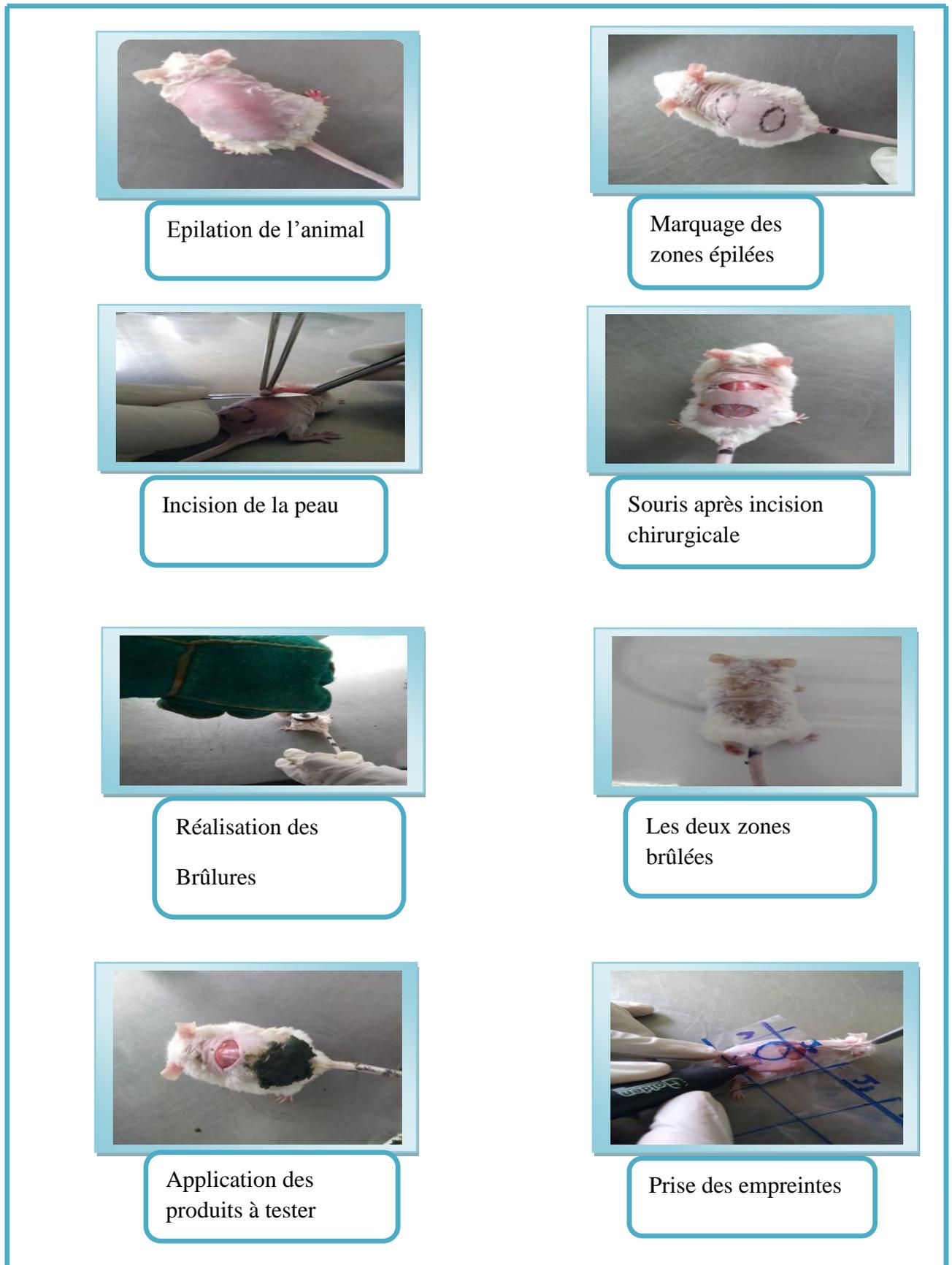


Figure 12 : Les différentes étapes du test de l'activité cicatrisante (photos originales).

❖ Application des traitements :

L'application des produits à tester se fait quotidiennement sur 15 jours sur les plaies (essais) jusqu'à l'épithélialisation complète et environ 19 jours sur les zones brûlées (essais). Par contre, les autres plaies et brûlures (témoins) ne font l'objet d'aucun traitement.

- ✓ Le lot référence : reçoit une application dermique avec le produit de référence Madécassol® (voir annexe 7), la plaie parallèle reste témoin sans aucun traitement.
- ✓ Le lot essai 1 : reçoit une application dermique avec la crème traditionnelle préparée de *Carthamus caeruleus* L.
- ✓ Le lot essai 2 : reçoit une application dermique avec la pommade préparée avec la poudre des racines de *Carthamus caeruleus* L.
- ✓ Le lot essai 3 : reçoit une application dermique avec la pommade préparée à base des saponines de *Carthamus caeruleus* L.
- ✓ Le lot essai 4 : reçoit une application dermique avec la pommade préparée avec la poudre des feuilles de *Pulicaria odora* L.
- ✓ Le lot essai 5 : reçoit une application dermique avec la pommade préparée avec les saponines de *Pulicaria odora* L.
- ✓ Le lot essai 6 : la zone brûlée reçoit une application dermique avec la crème traditionnelle préparée de *Carthamus caeruleus* L.
- ✓ Le lot essai 7 : la zone brûlée reçoit une application dermique avec la pommade préparée avec la poudre des feuilles de *Pulicaria odora* L.

❖ Critères d'évaluation de l'activité cicatrisante :

Les critères d'évaluation de l'activité cicatrisante des feuilles de *Pulicaria odora* L. et les racines de *Carthamus caeruleus* L. sur les plaies et brûlures occasionné sont été menés comme suit :

- Suivi de l'évolution pondérale des animaux mis en expérimentation.
- Evaluation de la cicatrisation des plaies et des brûlures par :
 - ✓ Le calcul des surfaces de plaies et brûlures sont effectuées à l'aide d'une calculatrice.
 - ✓ Le calcul de pourcentage de réduction des surfaces des plaies et brûlures traitées par le produit de référence Madécassol® (LR) et les produits testés (E_n).

Le pourcentage de réduction est calculé comme suit :

$$\% \text{ de réduction (mm)} = \frac{J_0 - J_n}{J_0} \times 100$$

J_n : présente le 15^{ème} jour pour les plaies et le 19^{ème} jour pour les brûlés.

J_0 : présente le 5^{ème} jour pour les plaies et le 9^{ème} jour pour les brûlés.

❖ Étude statistique des données :

L'analyse statistique des résultats est effectuée à l'aide d'un logiciel Excel stat version 6.0 ANOVA, dont on a utilisé l'analyse de la variance à un intervalle de confiance de 95%.

Avec :

* : Test significatif à $P < 0,05$,

* * : Test très significatif à $P < 0,01$,

*** : Test hautement significatif à $P < 0,001$;

NS : Test non significatif à $P > 0,05$.

Chapitre III

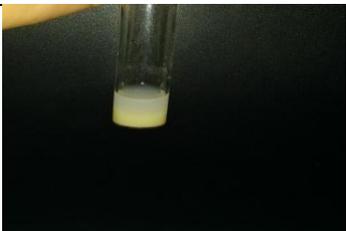
Résultats et discussion

III.1. Le Screening phytochimique :

Le screening phytochimique nous a permis en premier lieu de se renseigner sur les familles chimiques des métabolites secondaires présents dans les feuilles de *Pulicaria odora* L. et les racines de *Carthamus caeruleus* L.

L'ensemble des résultats du screening phytochimique des deux plantes sont présentés dans le tableau VI suivant :

Tableau VI : Résultats des tests phytochimiques des deux plantes *Pulicaria odora* L. et *Carthamus caeruleus* L.

Composé chimique	<i>Pulicaria odora</i> L.		<i>Carthamus caeruleus</i> L.	
Tanins totaux	(+++)		(+)	
Tanins galliques	(+++)		(-)	
Anthocyanes	(-)		(-)	
Flavonoïdes	(+++)		(+++)	
Saponosides	(+++)		(+++)	
Mucilages	(+++)		(+++)	

Iridoïdes	(-)		(-)	
Glucosides	(-)		(-)	
Coumarines	(+++)		(+++)	
Alcaloïdes	(+++)		(+++)	

(-) : absence ; (+) : faible teneur ; (++) : teneur moyenne ; (+++) : forte teneur

Le screening phytochimique réalisé sur la poudre et l'infusé des feuilles de *Pulicaria odora* L. a révélé que cette plante présente une forte proportion de saponosides, flavonoïdes, coumarines, alcaloïdes, mucilages et tanins (totaux et galliques). Elle est par contre, dépourvue des anthocyanes, iridoïdes et glucosides.

Nos résultats sont en partie en accord avec ceux obtenus par **Ezoubeiri et al., (2005)** qui ont indiqué la richesse de cette plante en flavonoïdes et saponosides. De même, **Kamkar et al., (2013)** ont souligné que les composants majeurs des extraits méthanoliques et aqueux d'autres espèces du genre *Pulicaria*, en particulier, *P. gnaphalodes* L. sont représentées par les flavonoïdes, terpenoïdes confortant nos résultats. Dans le même sens, **Pares et al., (1981)** ont isolé et identifié un dérivé des flavonoïdes, le 6-hydroxyflavonoïde à partir des feuilles séchées chez une espèce de la même famille que notre plante, notamment *Pulicaria dysenterica*. **El-Negoumy et al., (1982)** précisent que tous les flavonoïdes de *Pulicaria arabica* L. sont détectés dans les feuilles et les fleurs.

Une étude très récente (**Hussein et al., 2017**) menée sur *Pulicaria undulata*, une plante du genre *Pulicaria* et tribu des Inuleae a permis également l'identification en plus des composés de sesquiterpènes et des huiles essentiels, des dérivés de la classe des flavonoïdes et d'autres dérivés de composés phénoliques en accord avec nos résultats.

En ce qui concerne les rhizomes de *Carthamus caeruleus* L., ils se sont révélés très riches en saponosides, flavonoïdes, coumarines, alcaloïdes, mucilages et glucosides. Ils présentent cependant, une faible teneur en tanins totaux contrairement à *P. odora* L. et une absence totale des anthocyanes, tanins galliques, et des irridoïdes.

En accord avec nos résultats, **Boumerfeg, (2010)** à travers son étude sur les propriétés antioxydantes d'extraits phénoliques de certaines plantes dont *Carthamus caeruleus* L. a montré la richesse des racines de cette plante en flavonoïdes. De même, les résultats de l'analyse phytochimique sont globalement confortés par les travaux de **Aissaoui et al., (2011)** et **Benhamou et Fazouane (2013)** qui ont noté la présence d'une variété de métabolites secondaires chez cette plante expliquant ainsi son utilisation en médecine traditionnelle pour le traitement en particulier des brûlures.

En outre, **Takimoto et al., (2001)**, **Roh et al., (2004)** et plus récemment, les travaux de **Vuong et al., (2013)** ont montré que des graines d'une espèce du genre *Carthamus* (*Carthamus tinctorius* L.) utilisée en médecine traditionnelle en Asie et Corée étaient riches en composés phénoliques dont les flavonoïdes confortant nos résultats. **Kuşoğlu et kahraman (2015)** ont par ailleurs, mis en évidence chez cette espèce la présence de flavonoïdes dans des extraits éthanoliques de feuilles séchées.

III.2.Extraction des polyphénols :

Le rendement d'extraction des polyphénols des deux plantes *P. odora* L. et *C. caeruleus* L. est illustré dans le tableau VII ci-dessous.

Tableau VII : Rendement de l'extraction en polyphénols des deux plantes étudiées.

La plante étudiée	Rendement (%)
Feuilles de <i>P. odora</i> L.	22,02
Racines de <i>C. caeruleus</i> L.	22,73

D'après ces résultats, on note que les deux plantes présentent un rendement presque identique d'environ 22%. Cette valeur est légèrement supérieure à celle rapportée pour une plante de la même famille des Astéracées (*Cynara scolymus* L.) pour laquelle le rendement obtenu est de 20,13% (**Mahmoudi et al., 2012**). Cette différence ainsi observée dans le rendement peut être probablement liée à la différence d'espèce, de la méthode d'extraction (décoction,

macération), de type de solvant d'extraction utilisé ou encore la partie de la plante employée (bractées, tige, fleur, réceptacle). En effet, selon **Escribano-Bailon et Santos- Buelga, (2003)**, l'extraction dépend de plusieurs paramètres y compris la granulométrie de la poudre, le volume et la nature de solvant utilisé.

L'extraction des polyphénols de plantes médicinales est l'une des principales étapes de nombreuses études biologiques et thérapeutiques. Le rendement de cette extraction est également affecté significativement par plusieurs paramètres, tels que la température et le temps d'extraction (**Vuong et al., 2013**). Selon **Lehout et Laib (2015)**, les rendements d'extraction des composés polyphénoliques des feuilles séchées de la plante *Artemisia alba* de la famille des Astéracées varient en fonction de la méthode d'extraction et du type de solvant. Ainsi, des valeurs de 13,3%, 21 % et 28,4% sont obtenus avec des méthodes d'extraction respectives de macération dans un mélange de solvant de méthanol-eau (70 :30), décoction dans de l'eau bouillante pendant 30min. et à l'eau chaude à 77°C.

III.3. Dosage de la concentration en polyphénols :

Les résultats du dosage des polyphénols totaux des deux plantes sont respectivement de 55,02 ±1,54 mgEAG/g pour les feuilles fraîches de *P. odora* L. et 50,14 mgEAG/g pour les racines fraîches de *C. caeruleus* L.

Nos valeurs sont inférieures à celles enregistrées par **Gherib et al., (2016)** qui ont pour leur part indiqué pour une autre espèce du genre *Pulicaria* une teneur de 329,9 ± 0,3 mgEAG/g pour les extraits de fleurs et 222,7±1,1 mgEAG/g pour ceux des feuilles. De même, **Parejo et al., (2003)** ont noté pour des extraits aqueux de neuf plantes appartenant à la famille des Asteraceae des teneurs en polyphénols comprises entre 71 et 211,5 mgEAG/g, teneurs supérieures à celles de nos deux plantes étudiées.

Le résultat obtenu des composés phénoliques a été signalé également par **Wojdylo et al., (2007)** qui ont remarqué que la famille des Asteraceae présente des teneurs élevées en composés phénoliques comparée aux autres familles botaniques. **Kamkar et al., (2013)** ont aussi souligné que les polyphénols sont des constituants majeurs des plantes du genre *Pulicaria*.

Ces divergences dans les résultats sont en partie liées à la différence d'espèce, le type d'organe utilisé dans l'extraction (racines, feuilles, fleur, etc.). Selon **Ebrahimi et al., (2008)**, le contenu phénolique varie en fonction des facteurs climatiques et

environnementaux (la zone géographique, sécheresse, sol, agression et maladie, etc.) alors que **Miliauskas et al., (2004)** a attribué cette différence au patrimoine génétique, la période et le stade de développement de la plante. **Madi, (2010)** a prouvé que les teneurs des polyphénols totaux et des flavonoïdes sont élevées lorsque le milieu de vie de la plante n'est pas adéquat, dans ce cas la plante favorise la synthèse des métabolites secondaires afin de s'adapter et survivre. De plus **Lee et al., (2003)** a indiqué que la méthode d'extraction et de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux.

III.4.Extraction des saponines :

Selon nos résultats, les feuilles de *P. odora* L. présentent un rendement de 2,02% tandis que celui de *C. caeruleus* L. est de 0,44%, valeur très inférieure à celle enregistrée pour la première plante.

Une étude phytochimique récente menée par **Lerançon (2013)** sur *Solidago virgaurea*, une plante de la famille des Astéracées a démontré que le taux de saponines dans la matière sèche varie entre 0 et $4,36 \pm 0,52\%$ selon la population considérée confortant ainsi nos résultats. Cet auteur ajoute que la localisation des saponines est une étude importante à effectuer sachant que, les métabolites secondaires ne sont généralement pas présents de manière homogène dans la plante. Selon **Augustin et al., (2011)**, les saponines peuvent être stockées uniquement dans certains organes, variables selon la plante. Ainsi, chez une plante d'alpestris d'Isola 2000, les saponines sont présentes dans les fleurs/graines et les feuilles, mais absentes ou présentes à l'état de traces dans les tiges et les rhizomes. Ce résultat est en accord avec le rôle de phytoprotecteur des saponines (**Francis et al., 2002 ; González-Lamothe et al., 2009**). En effet, les saponines sont des phytoanticipines, ce sont des composés produits par la plante lors de son développement et stockés dans les organes de la plante les plus exposés. Ils sont activés et/ou libérés lors d'une attaque de pathogène ou une blessure des tissus, permettant ainsi à la plante de survivre.

Dans le cas de la plante *S. virgaurea* de la famille des Astéracées, les saponines sont stockées dans les fleurs/graines et dans les feuilles comme dans notre cas pour *Pulicaria odora* L., organes les plus fragiles de la plante, certainement afin d'assurer la reproduction et la photosynthèse (**Lerançon, 2013**). Cette dernière a de plus, rapporté une variabilité du pourcentage de saponines selon la localisation géographique pour *virgaurea* récoltée à Chastellar (2,50%), à Auron (2,8%) et La Colmiane (3,8%). Une influence de période de récolte est également observée. Les saponines sont présentes en grande quantité dès la

formation de la hampe florale. Cette teneur augmente avec le développement des fleurs et l'avancée de la floraison mais diminue en fin de floraison lorsque les fleurs fanent. Enfin, les taux de métabolites secondaires dans une plante peuvent varier de manière importante d'une année sur l'autre, en particulier à cause des conditions climatiques.

III.5. Évaluation de l'activité antimicrobienne :

Les résultats de l'évaluation du potentiel antimicrobien des extraits polyphénoliques des deux plantes étudiées vis-à-vis des souches microbiennes choisies sont donnés dans le tableau ci-dessous.

Tableau VIII : Résultats des tests d'antibiogramme réalisés avec les polyphénols extraits des deux plantes étudiées.

Plante étudiée / Souches	<i>Pulicaria odora</i> L.		<i>Carthamus caeruleus</i> L.	
	D _{moy.} des zones d'inhibition (mm)	Degré de sensibilité	D _{moy.} des zones d'inhibition (mm)	Degré de sensibilité
<i>Staphylococcus aureus</i>	13,5 ± 1	Légèrement inhibitrice	20 ± 0	Modérément inhibitrice
<i>Bacillus subtilis</i>	12,5±0,33		20±0,66	
<i>Escherichia coli</i>	6±4	Résistante	5,5±3,66	Résistante
<i>Candida albicans</i>	0	Résistante	6±4	Résistante
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	5±3,33	Résistante	13,5±1	Légèrement inhibitrice

D_{moy.} : Diamètre moyen

L'étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait polyphénolique de la plante *Pulicaria odora* L. a montré une légère activité sur les deux souches de bactéries à Gram+ testées (*S. aureus* et *B. subtilis*) avec des zones d'inhibition respectives de 13,5±1 et 12,5±0,33 mm. Cependant, ces mêmes souches se sont révélées moyennement sensibles à l'extrait polyphénolique de

Carthamus caeruleus L. Par contre, la souche à Gram- représentée par *E. coli* ainsi que la levure *C. albicans* se sont montrées résistantes aux deux extraits de polyphénols testés.

A l'inverse, le champignon *Aspergillus brasiliensis* a montré une sensibilité moyenne à l'extrait de *Carthamus caeruleus* L. alors qu'il s'est révélé résistant à celui de *Pulicaria odora* L.

En accord avec nos résultats, **Saffidine et al., (2013)** ont démontré pour des extraits polyphénoliques de racines de *Carthamus caeruleus* L. une activité moyenne vis-à-vis des mêmes souches étudiées. Au contraire, ces derniers ont observé une sensibilité de la levure *C. albicans*. **Sokmen et al., (2003)** ont montré que les extraits méthanoliques de la plante *Achilleas intenisii* (Asteraceae) inhibent la croissance de *S. aureus*, *Bacillus sp*, *E. coli*, *E. agglomerans* et *S. marcescens*.

Concernant la plante *P. odora* L., à notre connaissance, il n'existe aucune étude faisant part de l'activité antimicrobienne des extraits polyphénoliques. Le peu de travaux disponibles sont axés sur l'effet des huiles essentielles. Ainsi, des huiles essentielles extraites des racines de cette plante (**Ezoubeiri et al., 2005, Hanbali et al., 2005**) se caractérisent par une activité antibactérienne et antifongique. Cependant, des travaux menés avec différentes espèces du même genre, notamment des extraits de polyphénols méthanoliques de l'espèce *Pulicaria dysenterica* sont actifs sur des souches de *B. subtilis* et *S. aureus* confortant nos résultats (**Bahman et al., 2002**) alors que **Hashim El-Kamali et Al-TayebMahjoub, (2009)** ont démontré une sensibilité des mêmes souches bactérienne qu'on a étudié (Gram+ et Gram-) aux extraits méthanoliques et éthanoliques de l'espèce *Pulicaria undulata*. Cette différence de sensibilité des souches microbiennes aux extraits biologiques peut être expliquée par une adaptation évolutive liée étroitement aux conditions biotiques (l'espèce elle-même) et abiotique (milieu).

En général, selon la littérature une grande variabilité de l'activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis des différentes souches est observée. D'après **Çolak et al., (2009)**, la sensibilité d'un microorganisme à un extrait dépend des propriétés de type de polyphénols et du microorganisme lui-même.

Dans notre étude, les deux souches bactériennes à Gram positive testées sont plus sensibles que la souche à Gram négative. Cette différence dans la sensibilité aux extraits peut être attribuée à la différence de la structure entre les bactéries Gram positive et les bactéries Gram

négative (Shtayeh *et al.*, 1998). Selon Yakhlef *et al.*, (2011), la résistance de la bactérie à Gram négative n'est pas surprenante du fait que ces bactéries possèdent une résistance intrinsèque aux agents biocides qui est en relation avec la nature de leurs membranes externes composées de lipopolysaccharides qui forment une barrière imperméable aux composés hydrophobes.

De plus, Trombetta *et al.*, (2005) ont conclu, l'effet antimicrobien des composés polyphénoliques est partiellement dû à une perturbation des fractions lipidiques de la membrane plasmique des bactéries. Selon toujours ces auteurs, ces composés phénoliques altèrent la perméabilité de la membrane et causent ainsi la perte de ses organites intracellulaires. D'autres auteurs, Dhaouadi *et al.*, (2010) suggèrent que l'effet antimicrobien des polyphénols induit l'inhibition de la croissance bactérienne suite à leur adsorption sur la membrane cellulaire et leur interaction avec les enzymes et les effecteurs ou la privation en substrats et ions métalliques.

La Figure ci-après représente les Zones d'inhibition selon les souches microbiennes testées.

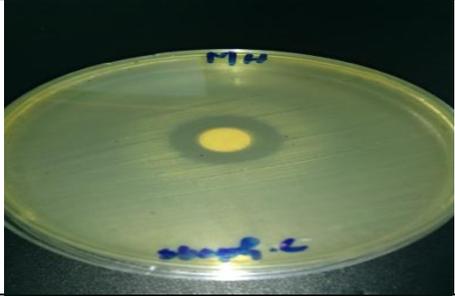
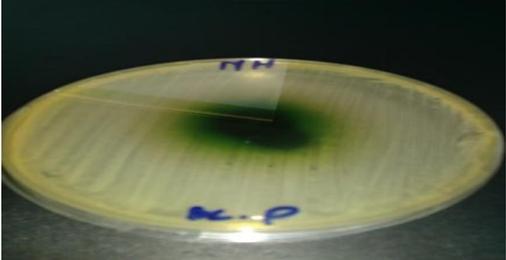
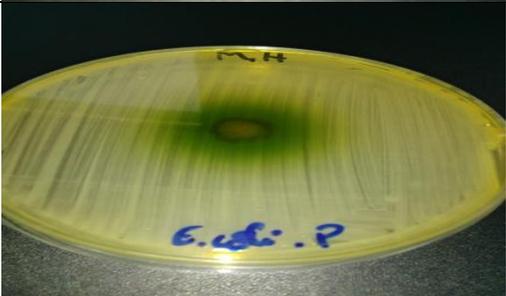
Activité antimicrobienne des polyphénols		
	<i>Pulicaria odora</i> L.	<i>Carthamus caeruleus</i> L.
<i>Staphylococcus aureus</i>		
<i>Bacillus Subtilis</i>		
<i>Escherichia Coli</i>		
<i>Candida albicans</i>		
<i>Aspergillus brasiliensis</i>		

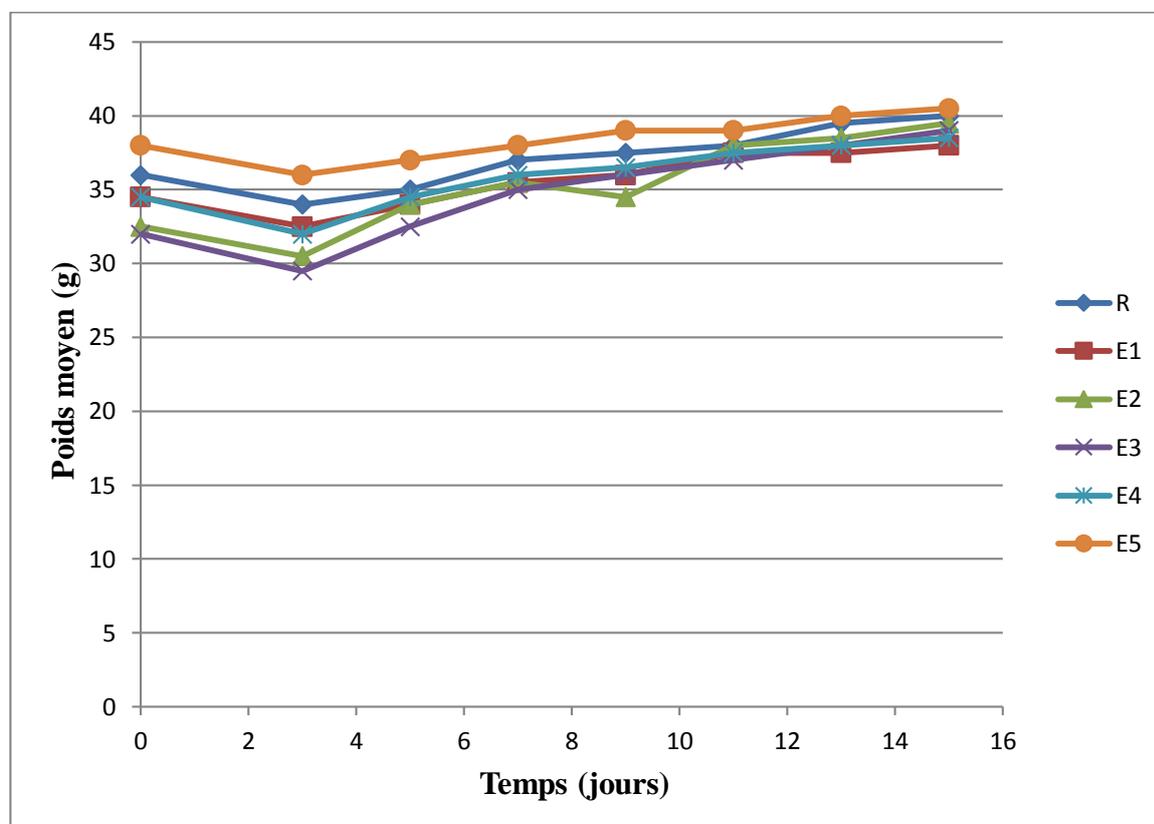
Figure 13: Zones d'inhibition des souches microbiennes testées (Photos personnel).

III.6.Évaluation de l'activité cicatrisante des plantes *P. odora* L. et *C. caeruleus* L.

III.6.1.Évolution pondérale :

III.6.1.1.Évolution pondérale des souris avec plaies :

Les résultats de l'évolution pondérale des souris expérimentés sont illustrés dans la Figure 15 (tableau IX, annexe 6).

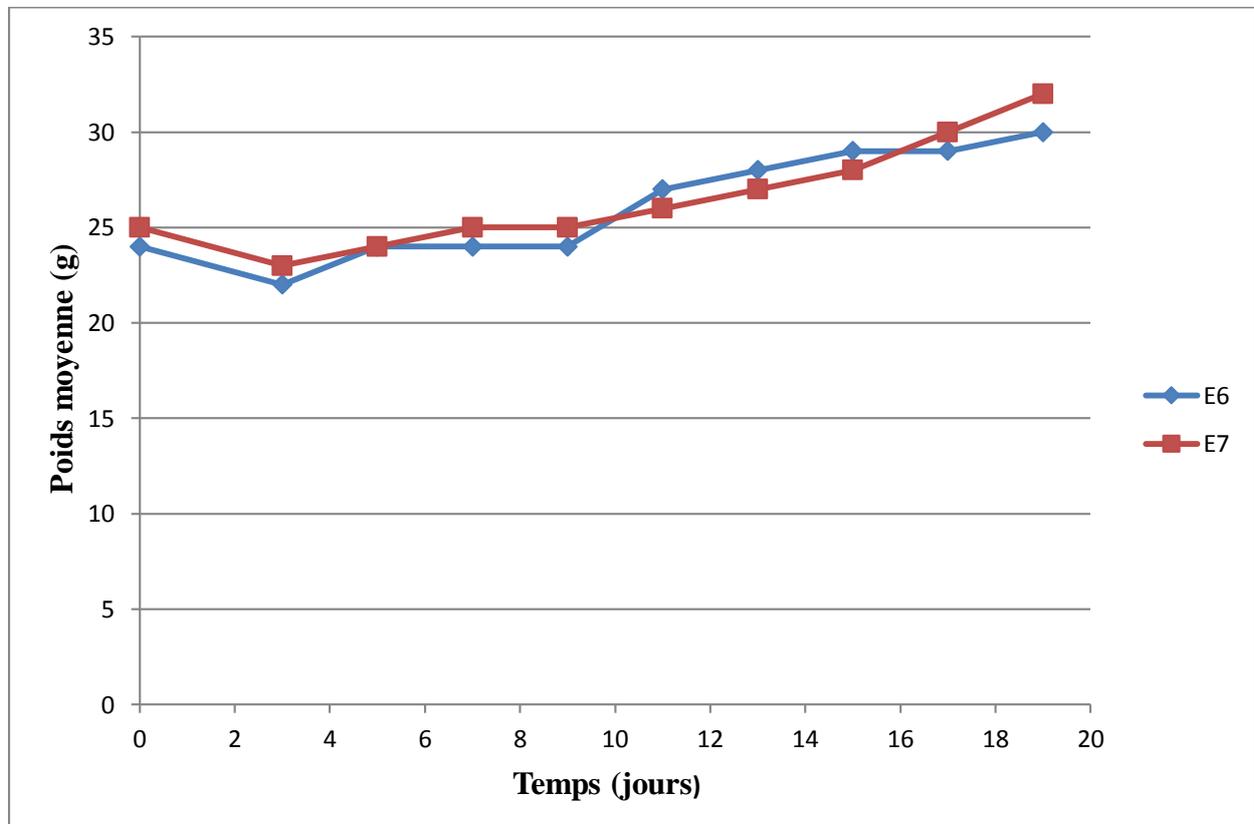


R : lot traité par le produit de référence Madécassol® ; E1 : lot traité par la crème traditionnelle ; E2 : lot traité par la poudre de *C.caeruleus* L.; E3: lot traité par l'extrait saponosidique de *C .caeruleus* L. ; E4 : lot traité par la poudre de *P.odora* L.; E5 : lot traité par l'extrait saponosidique de *P.odora* L.

Figure 14 : Évolution du poids moyen des souris des différents lots d'expérimentation (plaies)

III.6.1.2.Évolution pondérale des souris brûlées :

Les résultats de l'évolution pondérale des souris expérimentés sont illustrés dans la figure 16 (tableau X, annexe 6).



E6 : poids moyenne de lots traité par la crème traditionnelle ; E7 : poids moyenne de lots traité par la poudre de *P.odora*

Figure 15 : Évolution du poids moyen des souris des différents lots d'expérimentation (brûlés)

Comme indiqué par les Figures 16 et 17, on observe pour les différents traitements une diminution du poids des souris au cours des trois premiers jours avec cependant, une reprise du poids à compter de ce 3^{ème} jour pour les différents lots traités. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Benhamou et Fazouane, 2013**. Selon **Lodhi et al., (2006)**, cette diminution du poids corporel ainsi enregistrée serait probablement en partie liée à l'effet direct du traumatisme induit par les lésions dorsales qui entraînent une diminution de la consommation de l'aliment par la souris.

III.6.2. Évolution des surfaces des plaies et des brûlures:

Au cours de la période du suivi de la cicatrisation, les plaies et les brûlures ont été régulièrement mesurées et photographiés tous les deux jours (Tableau XI et XIV).

III.6.2.1. Évolution des surfaces des plaies :

Le tableau XI montre les résultats de l'évolution des surfaces moyennes des plaies en fonction des différents traitements appliqués.

Tableau XI : Évolution des surfaces moyennes des plaies durant la période expérimentale.

Temps Lots	J ₀	J ₅	J ₉	J ₁₂	J ₁₅
Lot référence n=2	1,2291 ± 0,0654 ^{a***}	0,8678 ± 0,055 ^{a***}	0,4594 ± 0,1178 ^{a***}	0,16095 ± 0,0235 ^{a***}	0,073 ± 0,0016 ^{a***}
Essai 1 n=2	1,0406 ± 0,0602 ^{b*}	0,64395 ± 0,0942 ^{b*}	0,1354 ± 0,0065 ^{b*}	0,0579 ± 0,0084 ^{b*}	0,00705 ± 0,0005 ^{b*}
Essai 2 n=2	1,570575 ± 0,2932 ^{c*}	1,1623 ± 0,2513 ^{c*}	0,2395 ± 0,0288 ^{c*}	0,1109 ± 0,0098 ^{c*}	0,0154 ± 0,0014 ^{c*}
Essai 3 n=2	1,2291 ± 0,0654 ^{d***}	0,9503 ± 0 ^{d***}	0,30975 ± 0,0147 ^{d***}	0,17765 ± 0,0124 ^{d***}	0,0881 ± 0,0017 ^{d***}
Essai 4 n=2	1,1388 ± 0,1256 ^{e*}	0,8678 ± 0,055 ^{e*}	0,20415 ± 0,0523 ^{e*}	0,0706 ± 0 ^{e*}	0,0215 ± 0,0026 ^{e*}
Essai 5 n=2	0,9581 ± 0,1152 ^{f*}	0,7107 ± 0,0497 ^{f*}	0,1963 ± 0 ^{f*}	0,0402 ± 0,0058 ^{f*}	0,00705 ± 0,0005 ^{f*}

Les valeurs verticales affectées d'indices différents sont significatifs * : significatif ***: hautement significatif.

Il est à signaler que l'ensemble des travaux menés avec la plante *Pulicaria odora* L. traitent de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles. A ce jour, il n'y a aucun travail sur l'activité cicatrisante de cette espèce de plante. De ce fait, on s'est proposé de comparer nos résultats par rapport à ceux obtenus dans ce travail avec la deuxième plante étudiée, en particulier, *Carthamus caeruleus* L.

Comme on peut l'observer à J₀, les surfaces moyennes des plaies sont presque homogènes. À partir du 5^{ème} jour, on observe une réduction importante de la moyenne des surfaces des plaies traitées par la crème traditionnelle comparée aux autres traitements. Cette surface est légèrement supérieure avec une statistique significative comparé à celles des plaies traitées par l'extrait saponosidique de *P. odora* L. et des lots traités par le produit de référence, la poudre de *P. odora* L. et l'extrait saponosidique des racines fraîches de *C. caeruleus* L. qui sont respectivement de 0,0667 cm² ; 0,2238 cm² ; 0,2238 cm² et 0,3066 cm².

Entre le 5^{ème} et le 9^{ème} jour, la réduction des surfaces moyennes des plaies est presque la même pour les différents traitements. Par contre, au 12^{ème} jour, les surfaces des plaies traitées par la crème traditionnelle, la poudre et l'extrait saponosidique de *P. odora* L. représentent la moitié de celles des plaies traitées par Madécassol[®], la poudre et l'extrait saponosidique de *C. caeruleus* L. qui sont respectivement de 0,0579 cm² ; 0,0706 cm² ; 0,0402 cm² contre 0,16095 cm² ; 0,1109 cm² ; 0,17765 cm² (P<0,05).

Au 15^{ème} jour, la moyenne des surfaces des plaies traitées par la crème traditionnelle, l'extrait saponosidique de *P. odora* L., la poudre des deux plantes (*P. odora* L., *C. caeruleus* L.) représentent plus que la moitié de celles des lots traités par le produit de référence Madécassol[®] et qui sont respectivement de 0,00705 cm² ; 0,00705 cm² ; 0,0215 cm² ; 0,0154 cm² contre 0,073 cm². Cette différence entre les résultats d'un point de vue statistique est hautement significative (P<0,001). A l'inverse, la moyenne des surfaces des plaies traitées par l'extrait saponosidique des racines fraîches de *C. caeruleus* L. est significativement légèrement supérieure à celle traitée par Madécassol[®] (0,0881 cm² contre 0,073 cm²).

En résumé, nos résultats suggèrent que (Tableau XI) la crème traditionnelle présente un effet de cicatrisation plus efficace que l'extrait saponosidique de *P. odora* L. (P < 0,05).

De même, la poudre de *C. caeruleus* L. s'est révélée plus efficace que la poudre de *P. odora* L. En outre, l'extrait saponosidique des racines fraîches de *C. caeruleus* L. a un pouvoir de cicatrisation moindre que le produit de référence Madécassol[®] (P < 0,05) ce qui est

probablement lié à la teneur de l'extrait des racines en saponines dont la concentration est faible de l'ordre de 0,44% .

Le tableau rapportant les pourcentages de réduction des surfaces des plaies pour les différents traitements est représenté ci-dessous.

Tableau XII : Évolution des pourcentages des plaies traitées par les différentes pommades.

R : produit de référence Madécassol®; **E1** : Crème traditionnelle de *Carthamus caeruleus* L.; **E2** : Poudre des racines de

Jours Lots	J₁	J₅	J₉	J₁₂	J₁₅
R	0	29,39	62,62	86,90	94,06
E1	0	38,11	86,98	94,43	99,32
E2	0	26	84,75	92,93	99,01
E3	0	22,68	74,79	85,54	92,83
E4	0	23,79	82,07	93,80	98,11
E5	0	25,82	79,51	95,80	99,26

Carthamus caeruleus L.; **E3** : Extrait de saponine de *Carthamus caeruleus* L.; **E4** : Poudre des feuilles *Pulicaria odora* L.; **E5** : Extrait de saponine de *Pulicaria odora* L.

D'après ces résultats (Tableau XII et Figure 17, annexe 7), l'effet cicatrisant de la crème traditionnelle de *Carthamus caeruleus* L., l'extrait saponosidique de *Pulicaria odora* L. et les poudres des deux plantes (*P. odora* L. et *C. caeruleus* L.) s'avère plus efficace que celui du médicament de référence avec une augmentation respectivement de 5,25% ; 5,2% ; 4,05% et 4,95% en faveur des différentes préparations.

En outre, le produit de référence Madécassol® utilisé pour l'étude de l'activité cicatrisante est à base de saponosides extraits d'une plante médicinale appelée *Centella asiatica* qui appartient à la famille des *Aspiaceae*. Les constituants les plus actifs de cette plante sont des saponosides principalement, l'asiaticoside, le centelloside, le madécassoside. La majorité des études pharmacologiques ont montré que le madécassoside stimule et régule la production de

collagène, matrice fibreuse indispensable à la cicatrisation des plaies (**Brinkhaus et al., 2000**). Cela nous permet de supposer que les saponosides existants dans les deux plantes considérées dans cette étude augmentent peut-être l'action des cellules responsables à la synthèse du collagène et la réparation de la destruction tissulaire.

Par ailleurs, lorsqu'on compare les moyennes des surfaces finale et initiale de chaque lot, on constate qu'au 15^{ème} jour, les surfaces moyennes des plaies traitées par le produit de référence ne présentent que 0,073 / 1,2291 (soit 5,94 %) ; 0,00705 / 1,57075 (soit 0,45 %) ; 0,00705 / 0,9581 (soit 0,73 %) ; 0,00705 / 0,9581 (soit 0,73 %) ; 0,0154 / 1,5707 (soit 0,98 %) ; 0,0215 / 1,338 (soit 1,6 %) ; 0,0881 / 1,2299 (soit 7,16 %) de celles respectivement des lots traités par la crème traditionnelle, l'extrait saponosidique de *P. odora* L., la poudre de *C. caeruleus* L., la poudre de *P. odora* L., l'extrait saponosidique de *C. caeruleus* L. Donc, les plaies se sont contractées respectivement de 94,06 % ; 99,32 % ; 99,26 % ; 99,01 % ; 98,11 % (Tableau XII et Figure 17, annexe 7).

L'analyse statistique des résultats de cicatrisation a montré que la crème traditionnelle, l'extrait saponosidique de *P. odora*, la poudre de chacune des deux plantes sont plus efficaces dans le traitement des plaies que Madécassol® ($P < 0,001$).

Par ailleurs, **Benhamou et Fazouane (2013)** ont indiqué qu'une préparation traditionnelle des rhizomes de *Carthamus caeruleus* L. avec du lait a un effet de guérison des plaies et des brûlures plus puissant que la pommade pharmaceutique (Madécassol®) pour les plaies et (Biafine) pour les brûlures.

D'après les résultats obtenus l'effet cicatrisant de la crème traditionnelle de *C. caeruleus* L. s'avère plus efficace que les autres pommades préparées, en particulier l'extrait saponosidique de *P. odora* L. Cela peut être expliqué par l'intervention des autres métabolites secondaires qui renforcent l'effet cicatrisant lorsque la matrice fraîche entière est considérée. Par ailleurs, l'effet cicatrisant de poudre de *C. caeruleus* L. s'est révélé plus efficace que celui de *P. odora* L. s'expliquant peut être par la différence de la composition chimique ou par l'utilisation des parties différents de plantes (feuilles, racines).

Les résultats de l'évolution des surfaces moyennes de cicatrisation des plaies en fonction des traitements appliqués sont mentionnés dans la Figure ci-après.

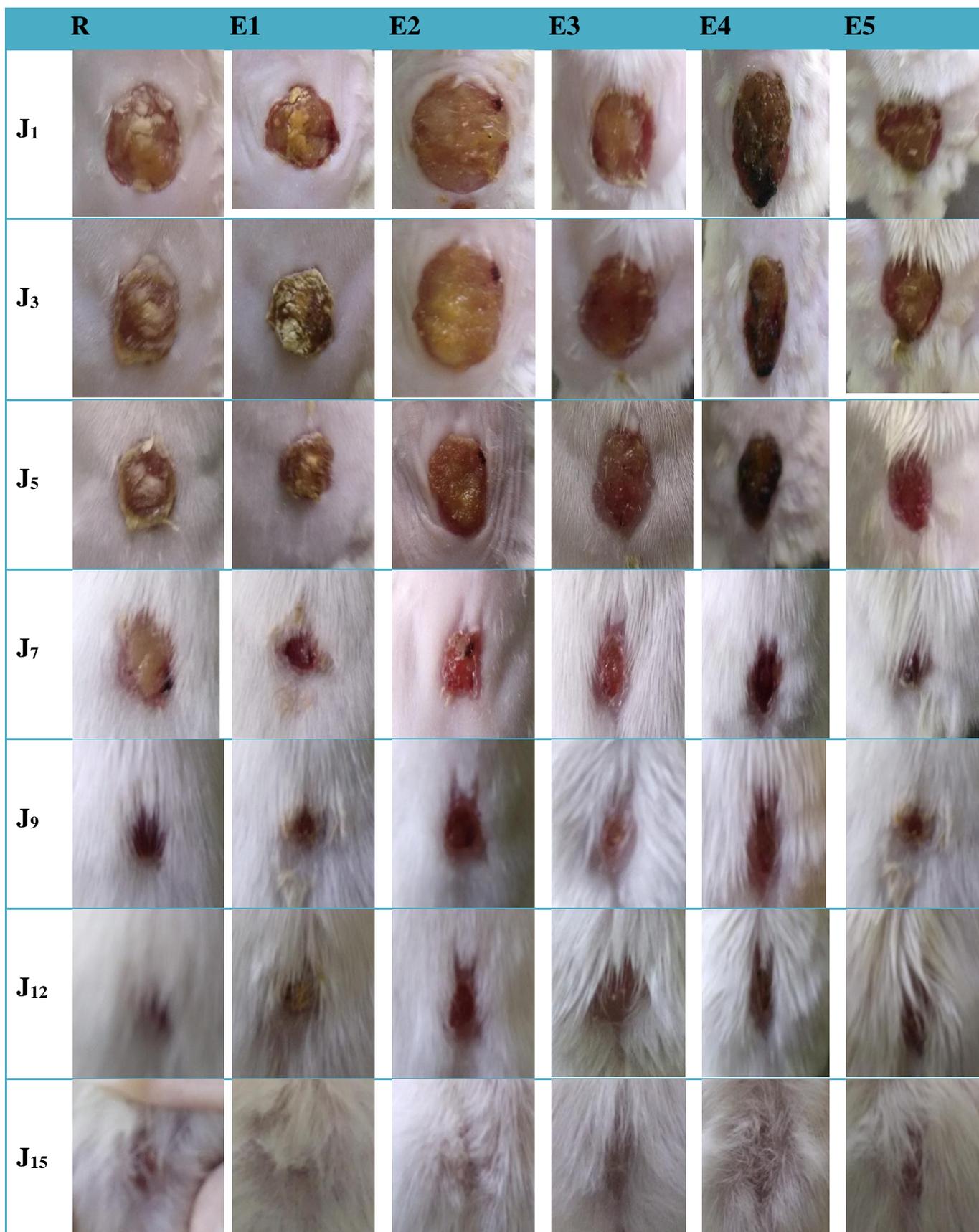


Figure 17: Représentation photographique de l'évolution des surfaces de cicatrisation des plaies d'excision chez les souris traitées observée durant les 15 jours.

III.6.2.2. Évolution des surfaces des brûlures :

L'évolution des surfaces moyennes et les pourcentages des brûlures durant la période d'expérimentation sont montrées dans les tableaux XIII et XIV ci-après.

Tableau XIII: Évolution des surfaces moyennes des brûlures durant la période expérimentale.

Temps \ Lots	J ₀	J ₃	J ₉	J ₁₂	J ₁₅	J ₁₇	J ₁₉
Essai témoin 6	2,0106	2,0106	1,7671	0,7859	0,5026	0,2827	0,1256
Essai 6 n=1	1,767	1,767	1,2271	0,2827	0,0962	0,0490	0,0314
Essai témoin 7	2,2698	2,2698	2,298	1,5393	0,6361	0,5026	0,3848
Essai 7 n=1	2,5446	2,5446	1,5393	0,5026	0,1963	0,0962	0,0706

Tableau XIV : Évolution des pourcentages des brûlures témoins et celles traitées par les différentes pommades.

	J ₀	J ₃	J ₉	J ₁₂	J ₁₅	J ₁₇	J ₁₉
Et6	0	0	12,11	60,94	75	85,93	93,75
E6	0	0	30,55	84	94,55	97,22	98,22
Et7	0	0	0	32,18	71,97	77,85	83,04
E7	0	0	39,50	80,24	92,28	96,21	97,22

E6 : Crème traditionnelle de *Carthamus caeruleus* L. ; **E7 :** Poudre des feuilles *Pulicaria odora* L. Et6 : brûlures témoins du souris traitées par la Crème traditionnelle de *Carthamus caeruleus* L. ; Et7 : brûlures témoins du souris traitées par la Poudre des feuilles *Pulicaria odora* L.

À J₀, les surfaces des brûlures sont presque identiques. À partir du 9^{ème} jour, on observe une réduction importante des surfaces des brûlures traitées par la crème traditionnelle et la poudre de *Pulicaria odora* L. Entre le 9^{ème} et 17^{ème} jour, la cicatrisation se poursuit de façon positive pour les deux traitements avec un effet presque identique. Les pourcentages de cicatrisation atteints au bout du 19^{ème} jour pour la crème traditionnelle et la poudre de *P. odora* L. sont respectivement de 98,22 % et 97,22 % suggérant ainsi, un pouvoir de cicatrisation presque identique.

Le tableau XIII et la Figure 19, annexe 7 rapportant les pourcentages de réduction des surfaces des brûlures pour les différents traitements.

La Représentation photographique des surfaces de la cicatrisation des brûlures chez les souris traitées est présentée dans la Figure ci-dessous.

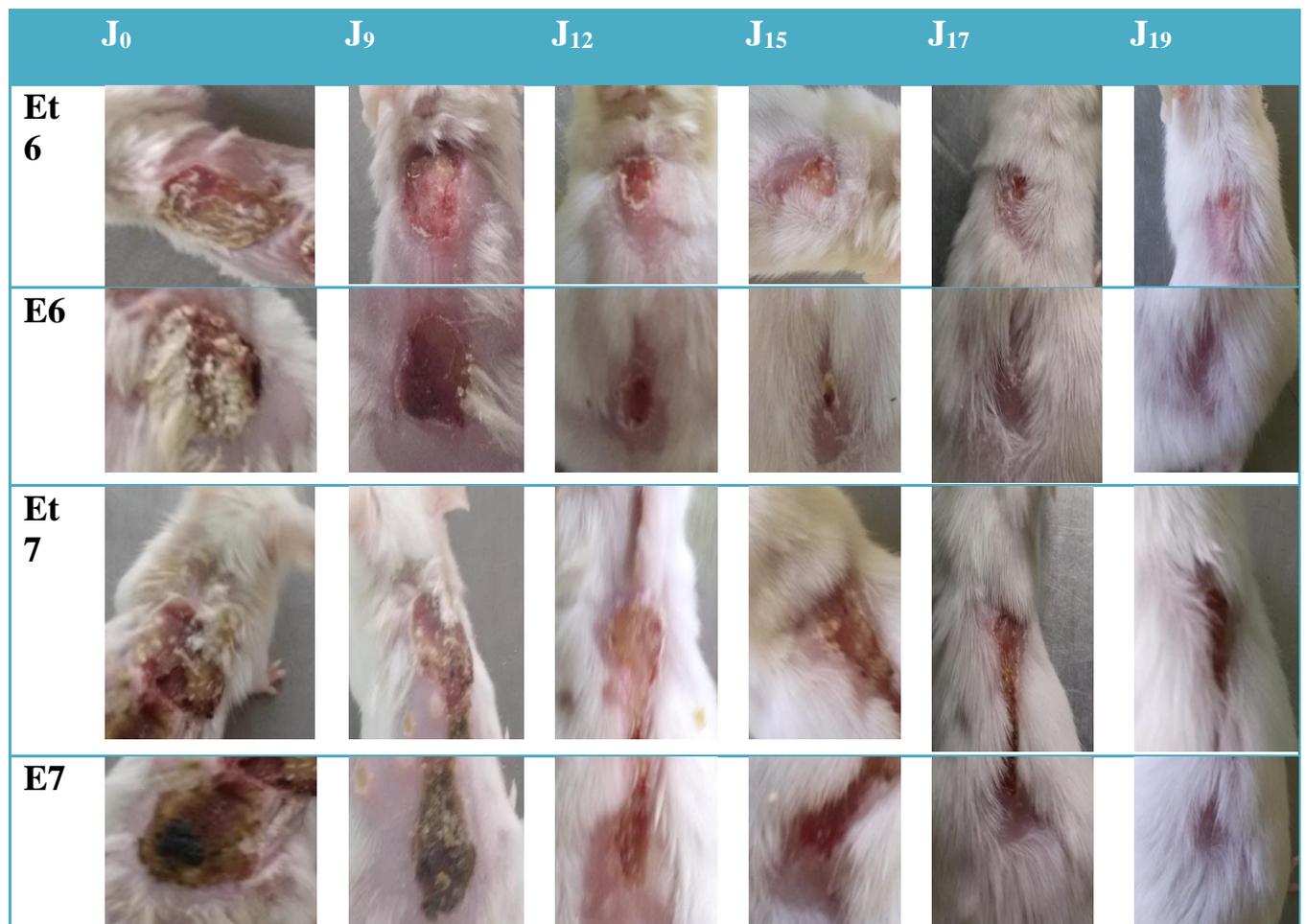


Figure 19 : Représentation photographique des surfaces de la cicatrisation des brûlures chez les souris traitées durant les 19 jours.

Conclusion

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier sont riches en molécules bioactives à intérêts bénéfiques sur la santé humaine. Parmi ces plantes, *Pulicaria odora* L. et *Carthamuscaeruleus* L. sont deux plantes utilisées traditionnellement pour leurs vertus thérapeutiques vis-à-vis de plusieurs maladies (gale, plaies, brûlures, engelures, eczéma, etc.). À cet effet, notre étude a pour objectif d'évaluer *in vitro* l'activité antimicrobienne de leurs extraits polyphénoliques et *in vivo* l'effet cicatrisant de pommades préparées à base des extraits saponosidiques ou de la poudre végétale des deux plantes suscitées et d'une crème obtenue avec la matrice fraîche de *Carthamuscaeruleus* L.

Les résultats du screening phytochimique des deux plantes étudiées (*P. odora* L. et *C. caeruleus* L.) montrent une biodiversité remarquable en substances bioactives tels que la présence des flavonoïdes, des saponines, des mucilages, des coumarines et des alcaloïdes, avec en outre, une richesse de *P. odora* L. en tanins (totaux et galliques). Le rendement d'extraction en polyphénols est identique pour les deux plantes avec une valeur moyenne de l'ordre de 22.02 % et 22.73 % pour respectivement les feuilles fraîches de *P. odora* L. et les racines fraîches de *C. caeruleus* L. Cependant, le pourcentage d'extraction des saponines est variable avec un taux très élevé pour les feuilles de *P. odora* L. (2,02%) comparé à celui des racines fraîches de *C. caeruleus* L. (0,44%).

Par ailleurs, les résultats du dosage de la concentration des polyphénols ont révélé des teneurs intéressantes, soit une valeur de $55,02 \pm 10,54$ mgEAG/g pour les feuilles fraîches de *P. odora* L. et $50,14 \pm 1,75$ mgEAG/g pour les racines fraîches de *C. caeruleus* L. De plus, les polyphénols extraits à partir des feuilles de *P. odora* L. et les racines de *C. caeruleus* L. ont un pouvoir d'inhibition de la croissance des bactéries Gram positive (*Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*) comparé aux bactéries Gram négative étudiées. En outre, l'extrait polyphénolique de *C. caeruleus* L. présente une légère activité inhibitrice sur la croissance du champignon *Aspergillus brasiliensis* alors que la souche de *Candida albicans* s'est révélée résistante aux deux extraits.

Les essais préliminaires visant la mise en évidence de l'activité cicatrisante des deux plantes (crème traditionnelle, l'extrait saponosidique et la poudre de chacune des deux plantes étudiées) ont été réalisés sur des souris *albino* et ont montrés que :

- ✓ le poids corporel moyen des quatre lots diminue à J₃ avec toutefois une reprise normale tout le long de la période d'expérimentation.
- ✓ Le pourcentage de réduction des plaies traitées par la crème traditionnelle (99,32 %), par l'extrait saponosidique de *P. odora* L. (99,26 %), par la poudre de *C. caeruleus* L. (99,01 %) et par la poudre de *P. odora* L. (98,11 %) sont hautement significatifs ($P < 0,001$) comparés à celui du lot de référence Madécassol® (94,06 %).
- ✓ Un pourcentage de réduction des brûlures presque comparable est obtenu avec la crème traditionnelle (98,22%) et la poudre de *P. odora* L. (97,22 %) suggérant ainsi leur pouvoir cicatrisant identique.

En perspectives, il est intéressant de compléter cette étude par :

- ✓ Etudier l'influence d'autres méthodes d'extraction (par exemple : sonication, hydrodistillation) et type de solvant sur le rendement d'extraction en saponosides et composés polyphénoliques ;
- ✓ Extraction, purification et caractérisation par une analyse par CG-SM ou HPLC des différents extraits polyphénoliques et saponosides identifiés pour les deux plantes ;
- ✓ Approfondir les essais de cicatrisation des extraits saponosidiques et de la crème traditionnelle étudiés par des études histologiques ;
- ✓ Elaboration des pommades ou encore de crème à intérêt cosmétologique à base des feuilles ou racines de *P. odora* L. (Ouden El hallouf) ou encore à base des racines de *C. caeruleus* L. (Mosghresse) avec conduite d'essais cliniques.
- ✓ Elargir l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits polyphénoliques sur d'autres espèces bactériennes pathogènes pour la santé humaine ;
- ✓ Evaluation de la performance de préparations combinées des extraits des deux plantes.

Références bibliographiques

- Abderrazak M., Joël R. 2007. La botanique de A à Z. Ed. *Dunod*. Paris. 177p.
- Aissaoui G., Benmahdjoub M., Amari M., Derias S., Fazouane F., Benhamou A., Hoceini A., Benmahjoub S. 2011. Effet du séchage par énergie solaire sur la composition phytochimique de *Carthamus caeruleus* 48(9).
- Alberto Marco J., Sanz Juan F., Albiach R. 1992. Caryophyllene Derivatives from *Pulicaria dysenterica*. *Phytochemistry*, 31(7): 2409-2413.
- Al-Hajj N.Q.M., Wang H.X. Ma., Lou C., Bashari M. 2014. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of aromatic medicinal plants (*Pulicaria inuloides*-Asteraceae and *Ocimum forskolei*-Lamiaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13 (8): 1287-1293.
- Ameenah G. F. 2006. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow *Molecular Aspects of Medicine*, 27: 1-93.
- Amlan K., Patra J.S. 2010. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*, 71: 1198-1222.
- Aniszewski T. 2007. Alkaloids-Secrets of life, Alkaloid chemistry, Biological Significance. Applications and Ecological Role. *Elsevier*, 334p.
- Augustin, J. M., Kuzina, V., Andersen, S. B., Bak, S. 2011. Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins. *Phytochemistry*, 72 (6): 435-457.
- Awen B.Z., Unnithan C.R., Ravi S., Lakshmanan A.J. 2010. GC-MS analysis, antibacterial activity and genotoxic property of *Erigeron mucronatus* essential oil. *Natural Product Communication*, 5: 621-624.
- Bahman N., Gholan reza A., Parivash G. 2002. Antimicrobial Activity of *Pulicaria dysenterica* L. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 1: 31-32.
- Balmey M., Grey-Wilson C. 2000. Toutes les fleurs de méditerranées : Les fleurs, les graminées, les arbres et les arbustes. Ed. : Delachaux et Niestlé S.A. Paris, 560p. 458-459.
- Békro Y., Békrol J., Boual B., Ehouan F. 2007. Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill). Herend et Zarucchi (*Caesalpinaceae*). *Rev. Sci. Nat.*, 4(2): 217-225.

- Bellakhdar J. 1997. La pharmacopée traditionnelle marocaine. Ibis Press. 764p.
- Belyagoubi N., Benhammou N. 2011. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de Doctorat en Biologie – Option : Substances Naturelles, Activités biologiques et Synthèse, Université Aboubakr Belkaïd, (Tlemcen): 109p.
- Benhamou A., Fazouane F. 2013. Ethnobotanical study, phytochemical characterization and healing effect of *Carthamus caeruleus* L. rhizomes. *Food technology Laboratory, University of Boumerdes, Algeria. Int. J. Med. Arom. Plants*, 2249-4340, 3 (1): 61-68.
- Bensegueni A., Bekro J. et boulebda N. 2007. *Evaluation de l'activité cicatrisante d'un onguent traditionnel de la région de Constantine sur les plaies d'excision chez le rat.* Mémoire de Magister - Option : Sciences et Technologie, Constantine, 75p.
- Boizot N., Charpontier J. 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le cahier des techniques de l'INRA*, 79-82.
- Boullard B. 2001. Plantes médicinales du monde (Réalités et croyances), Ed : ESTEM, ISBN 2 84371 1177, 660p.
- Boumerfeg S. 2010. Antioxydative properties of *Tamus communis* L., *Carthamus caeruleus* L. and *Ajugaiva* L. extracts. Thèse de doctorat en Biologie-Option: Biochimie. Université Ferhat Abbas Sétif, 116p.
- Bourgaud F. 2013. Les questions et travaux de recherche nécessaires au développement de la filière ; exemple de l'apport des sciences cognitives à la productions/valorisation des métabolites secondaires d'intérêt, 99(3).
- Brinkhaus B., Lindner M., Schuppan D., Hahn E. 2000. Chemical, pharmacological and clinical profile of the East Asian medical plant *Centella asiatica*. *Phytomedicine*, 27(5): 427-448.
- Brun B., Gilgan M., Logan V., Burnell J. et Apsimon J. 1977. Estimation of a steroid released from the crude saponins of the starfish, *asterias vulgaris* by sololysis seasonal and géographique abundance. *Analytical biochemistry*, 81: 196-208.
- Bruneton J. 1999. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Ed. Tech & Doc 3^{ème} Edition. Paris. 1120p.
- Catier O., Roux D. 2007. Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie. 3^{ème} Edition, Paris, 141p.

- Carrée P. 1953. Précis de technologie et de chimie industrielle. Ed. Ballière, Betfil .T 3, 548p.
- Chabbert Y. A. 1982. Sensibilité bactérienne aux antibiotiques. In Bactériologie médicale (Edited by Le Minor. I and Véron. M), Flammarion, Paris, 205-212.
- Çolak F., Savaroğlu F., İlhan S. 2009. Antibacterial and Antifungal Activities of *Arum maculatum* L. Leaves Extracts. *Journal of Applied biological Sciences*, 3(3): 13-16.
- Delarras C. 2014. Pratique en microbiologie de laboratoire Recherche Levures-moisissures. Edition Tec & Doc, Lavoisier, 772p.
- Dhaouadi K., Raboudi F., Estevan C., Barrajo E., Vilanova., Hamdaoui M., Fattouch S. **2010**. Cell Viability Effets and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tunisian Date Syrup (Rub El Tamer) Polyphenolic Extracts. *J. Agric. Food Chem.*, 59: 402-406.
- Djabou N. 2006. *Sambucus Nigra* L., une plante de la pharmacopée traditionnelle Nord africaine. Mémoire de Magistère en chimie – Option- Chimie Organique Appliquée. Université AbouBekr Belkaid, Tlemcen, 143p.
- Dutertre J.M. 2011. Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Bordeaux 2-Victor Segalen U.F.R des Sciences Médicales, France, 120p.
- Ebrahimi N. S., Hadian J., Mirjalili M. H., Sanboli A., Youcef zadi M. 2008. Essential oil composition and antibacterial activity of caramanicus at different phonological stages. *Food Chemistry*, 110: 927-931.
- Élisabeth G., Michel S., Marie P.O. 2000. Les préparations en pharmacie Dossier 2 : Botanique-Pharmacognosie, Phytothérapie-Homéopathie. Edition : *Technique et documentation*, 273p.
- Élisabeth S. 2001. Pharmacognosie. Le préparateur en pharmacie [dossier 2]: Botanique-Pharmacognosie-Phytothérapie-Homéopathie. Édition : *Technique et Documentation*, Paris, 99-190.
- El-Negoumy S. I., Mansour R. M.A., Saleh N. A. M. 1982. Flavonols of Pulicaria Arabica. *Phytochemistry*, 21(4): 953-954.

- Elqaj M., Ahami A. et Belghyti D. 2007. La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. *Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques"*. Maroc. 43 : 21-23.
- Emberger, L., Chadefaud, M. 1960. *Traité De Botanique*. Edition : *Masson & Cie*, Tome II, Paris. 1540p.
- Escribano- Bailon MT., Santos- Buelga C. 2003. polyphenols extract from food. In: "Methods in polyphenol analysis". Ed. *Roy. Soc. Chem.* 1: 16
- Ezoubeiri A., Gadhi C.A., Fdil N., Benharref A., Jana M., Vanhaelen M. 2005. Isolation and antimicrobial activity of two phenolic compounds from *Pulicariaodora* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 99: 287-292.
- Farnsworth N.R., Akerele O., Bingel A.S., Soejarto D.D., Guo Z. 1986. Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé*. 64(2) : 159-164.
- Fernandez M. 2003. De quelques plantes dites médicinales et leurs fonctions. Ed: *Aenigma*. 63p.
- Francis G., Kerem, Z., Makkar, H. P. S., Becker, K. 2002. The biological action of saponins in animal systems: a review. *Br. J. Nutr.* 88: 587-605.
- Gherib M., Chahrazed B., El HACHI Abdelhamid I., Chaouche T. M., Atik-Bekkara F. 2016. Antioxidant and Antibacterial of Aerial Part Essential Oil and Some Organic Extracts From The Algerian Medicinal Plant *Pulicaria mauritanica* coss. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(1): 76-84.
- González-Lamothe R., Mitchell G., Gattuso M., Diarra M., Malouin F., Bouarab K. 2009. Plant antimicrobial agents and their effects on plant and human pathogens. *Int. J. Mol. Sci.* 10 (8): 3400-3419.
- Guignard J.L. 2000. *Biochimie végétale* 2^{ème} édition. *Dunod*. 188-485.
- Hamadi F., Boudif K., Gougam H., Djouab A., Allane T., Benmounah A., Benamara S. 2014. Caractérisation d'une préparation semi-solide traditionnelle et anti-brûlure. *Phytothérapie*, 12 : 149-155.

- Hamdi Pacha Y., Bekhiri A., Benazzouz M., Benhamza L., Bensegni L. 2002. Evaluation de l'activité cicatrisante suite à des brûlures expérimentales de quelques plantes algériennes. *Rev. Méd. Pharm. Afr.* 16: 1-8.
- Hanbali F. E. L., Mellouki F., Benherraf A., Blazquez A. M., Boira H. 2005. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Pulicaria odora* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 99: 399-401.
- Hart K.J., Yáñez-Ruiz D.R., Duval S.M., MeEwan N.R., Wewbold C.j. 2008. Plant extraction to manipulate rumen fermentation. *Animal feed science and technology*. 147: 8-35.
- Hashim El- kamali H., Al Tayeb Mahjoub S. 2009. Antibacterial Activity of *Francoeuria crispa*, *Pulicaria undulate*, *Ziziphus spina-Christi* and *Cucurbita pepo* Against Seven Standard Pathogenic Bacteria. *Ethnobotanical Leaflets*, 13: 722-733.
- Hopkins W. G. 2003. Physiologie végétale. 2^{ème} édition américaine, de Boeck et Lancier S.A, Paris: 532p.
- Hussein S. R., Marzouk M. M., Soltan M. M., Ahmed E. K., Said M. M., Hamed A. R. 2017. Phenolic constituents of *Pulicaria undulata* (L.) C. A. Mey. Sub sp. *Undulata* (Asteraceae): Antioxidant protective effects and chemosystematic significances. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25: 333-339.
- Iserin P. 2001. Encyclopédie des plantes médicinales. Édition *Larousse*, 335p.
- Iserin P. 2007. *Larousse des plantes médicinales, identification, préparation, soins.* (ed.). *Larousse*. 14-15.
- Joly B., Reynaud A. 2003. Entérobactéries: Systématiques et méthodes d'analyses. Edit. *Techniques et Documentation*. Paris, 356p.
- Takimoto T., Suzuki K., Arisaka H., Murata T., Ozaki H., Koyama N. 2001. Effect of *N*-(p-coumaroyl) serotonin and *N*-feruloylserotonin, major anti-atherogenic polyphenols in safflowerseed, on vasodilation, proliferation and migration of vascular smooth muscle cells. *Mol. Nutr.Food Res*, 55: 1561–1571.
- Kamkar A., Ardekani M. R. S., Shariatifar N., Misagi A., Mozaffari Nejad A. S., Jamshidi A. H. 2013. Antioxidative effect of Iranian *Pulicaria gnaphalodes* L. extracts in soybean oil. *South African Journal of Botany*, 85: 39-43.

- Kamra D.N., Agarwal N., Choudhary L.C. 2006. Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. *International Congress Series*, 1293: 156-163.
- Kone D. 2009. Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes, extraction, identification d'alcaloïdes, caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leurs activité antioxydante. Thèse de doctorat chimie organique. Université de Bamako. 157p.
- Kusoglu E., Kahraman S. 2015. Total Phenolic Content and Radical Scavenging Activity of *Carthamus Tinctorius* L. *International Journal of Electronics, Mechanical and Mechatronics Engineering*, 5 (2): 943-947.
- Laurençon L. 2013. Contribution à l'étude phytochimique de *Solidago virgaurea* : application dans le domaine bucco -dentaire et étude de la variabilité phytochimique pour la création d'une filière. Thèse de Doctorat en Sciences –Discipline de Chimie- Université Nice Sophia Antipolis UFR Sciences, 355p.
- Lee K., Kim Y. J., Lee C. Y. 2003. Cacao has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food Chemistry*, 51: 7292-7295.
- Lehout R., Laib M. 2015. Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale: *Artemisia herba alba* Asso. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences Biologiques, spécialité- Biochimie moléculaire et santé. Université des frères Mentouri, Constantine, 51p.
- Lewis k., Ausubel FM. 2006. Prospects for plant derived antibacteriel. *Nature Biotechnology*, 24: 1504-1507.
- Lodhi S., Singh R., Pal A., Singhai A. 2006. Wound healing potential of *Tephrosia purpurea* (Linn.) Pers. In rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 108: 204-210.
- Lutge U., Kluge M., Bauer G. 2002. Botanique 3^{ème} Ed. : *Technique et documentation*. Lavoisier. Paris. 211p.
- Macheix J., Fleuriot A., Jay Allemand C. 2005. Les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechnologiques et universitaires romandes* : 192p.
- Madi A. 2010. Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister, 116p.

- Mahmoudi S., Khali M., Mahmoudi N. 2012. Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.) 37p.
- Makhloufi A. 2010. Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf) et *Rosmarinus officinalis* L.) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de Doctorat d'Etat en Biologie, Spécialité : Microbiologie et sécurité sanitaire des aliments. Université Aboubaker Belkaid Bechar, 136p.
- Massacrier J. 2011. Savoir revivre, Édition du Devin; [http:// savoir.revivre.coerrance.org/](http://savoir.revivre.coerrance.org/).
- Meddour R. 2010. Revue des Régions arides, Numéro Spécial. In Séminaire International: Les plantes Arômatisées et Médicinales SIPAM. Hocine Laouer, Nacira Boulaacheb, Salah Akkil, 181-201.
- Meena M.R., Sethi V. 1994. Antimicrobial activity of the essential oils from species. *Journal of Food Science and Technology Mysore*, 31: 68-70.
- Michellin Kansole R. 2009. Etude ethnobotanique phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkinafaso. Diplôme d'études approfondies (D.E.A). Université Ouagadougou, 76p.
- Midoun T. 2011. Extraction des composés phénoliques et étude leur activité antioxydant par la voltamétrie cyclique. Mémoire de Master en Sciences de la matière, Spécialité : chimie appliquée, Université Kasdi Merbah Ouargla, 65p.
- Miliauskas G., Veenskutonis P. R., Van Beek T. A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food Chemistry*, 85: 231-237.
- Mioulane P. 2004. Encyclopédie universelle des 15000 plantes et fleurs de jardin. 2^{ème} édition : Larousse. ISBN, Paris, 1104p.
- Ngameni B., Kuete V., Simo I., Mbaveng A., Awoussong P., Patnam R., Ngadjui B. 2009. Antibacterial and antifungal activities of the crude extract and compounds from *dorstenia turbinata* (Moraceae) of *South African J botany*.75: 256-261.
- Parejo I., Viladomat F., Bastida J., Rosas-Romero A., Saavedra G., Murcia M. A., Jiménez A. M., Codina C. 2003. Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity, *Life Sciences* 73: 1667-1681.
- Pares J. O., Oksuz S., Ulubelen A., Mab T. Y. 1981. 6-Hydroxyflavonoids from *Pulicaria dysenterica* (Compositae). *Phytochemistry*, 20(8): 2057.

- Pike R., Gilan M., Apsimon J. 1974. Quantification of a starfish saponine steroids Aglycone of commercial interest. *Res. Public health*, 88: 375-386.
- Quézel P., Santa S. 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Tome I et II. Éd. CNRS, Paris : 1160-1170.
- Rameau J.C., Mansion D., Dumé G., Gauberville C. 2008. Flore forestière française. Tome II, Région méditerranéenne, 2419p.
- Revilla E., Garcia-beneytez E., Gabellon F., Martin-Ortega M., Ryan J. M. 2001. value of high performance liquid chromatographie analysis of anthocyanins in the differentiation of red grape cultivars and red wines made from them. *Journal of chromatography A*, 915: 53-60.
- Roh, J.S.; Han, J.Y.; Kim, J.H.; Hwang, J.K. 2004. Inhibitory effects of active compounds isolatd from safflower (*Carthamus tinctorius*L.) seeds for melanogenesis. *Biol. Pharm. Bull.* 27: 1976-1978.
- Roubaudi L. 2011. Compte rendu de la section botanique dans les îles d'hygères du 14 au 16 mai 2011. In Bulletin mensuel de la société linnéenne de lyon, 80 (9-10) : 227-238.
- Rwangabo P.C. 1993. La médecine traditionnelle au Rwanda KARTHALA Editions, 258p.
- Saffidine K., Sahli F., Zerroug M. M. 2013. Antimicrobial activity of an Algeria medical plant: *Carthamus Caeruleus* L. *Pharmacognosy Communications*, 3(4).
- Sarni-Manchado P., Cheynier V. 2006. Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. *Lavoisier*. (Tec et Doc), Paris, 300-398.
- Shtayeh A., Yaghmour R., Faidi Y., Salem K., Al Nuri M. 1998. Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of Ethnopharmacology*, 60: 265-271
- Singleton V. L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R. M. 1999. Analysis of totalphenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocaltu reagent. *Method. Enzymol.* (299): 152-178.
- Sokmen A., Vardar-Unlu G., Polissiou M., Daferera D., Sokmen M., Donmez E. 2003. Antimicrobial Activity of Oil and Methanol Extracts of *Achillea Sintenisii* Hub. Mor. (Asteraceae). *Phytotherapy Research*, (17): 1005-1010.

- Takimoto, T., Suzuki, K., Arisaka, H., Murata, T., Ozaki, H., Koyama, N. 2001. Effect of *N*-(p-coumaroyl) serotonin and *N*-feruloylserotonin, major anti-atherogenic polyphenols in safflowerseed, on vasodilation, proliferation and migration of vascular smooth muscle cells. *Mol. Nutr.Food Res.* 55, 1561–1571.
- Thurzovol L., Kresanek I., Mika K. 1978. Les plantes de santé qui poussent autour de nous. Édition Elsevier Séquoia, Bruxelles, 260p.
- Trombetta D., Castelli F., Sarpietro M. G., Venuti V., Cristani M., Daniele C., Saija A., Mazzanti G., Bisignano G. 2005. Mechanisms of antibacterial Action of Three Monoterpenes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49 (6): 2774-2777
- Urquiaga I. N. E. S., Leighton F. E. D. E. 2000. Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biol, Res.* 33 (2): 55-64.
- Verdrager J. 1978. Les médicaments qui nous viennent des plantes, Ed. *Maloine S. A*, 12-15.
- Vuong Q.V., Hirun S., Paul Droach., Michael C Bowyer., Phoebe A. Phillips and Christopher J. Scarlett. 2013. Effect of extraction conditions on total phenolic compound and antioxidant activities of Caricapapaya leaf aqueous extracts, *journal of herbal medicine.* 3:104–111.
- Wallace R.J. 2004. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of Nutrition Society.* (63): 621-629.
- Wichtl M., Anton R. 2009. Plantes thérapeutiques : Traditions, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition *Lavoisier*, Paris. 38- 41.
- Wojdylo A., Oszmianski J., Czemerys R. 2007. Antioxydant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105: 940-949.
- Yakhlef G., Laroui S., Hambaba L., Aberkane M. C., Ayachi A. 2011. *Ethnopharmacologie*, Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus Vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie*, 9 : 209-218.
- Yu S. Y., Lee Y. J., Kim J. D., Kang S.N., Lee S.K., Jung Y. J., Lee H. K., Lim J. H., Lee O. H. 2013. Phenolic Composition, Antioxidant Activity and Anti-Adipogenic Effect of Hot Water Extract from Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Seed *Nutrients*, 5: 4894-4907; doi:10.3390/nu5124894
- Yusufoglu H. S. 2014. Analgesic, antipyretic, anti-inflammatory, hepatoprotective and nephritic effects of the aerial parts of *Pulicaria arabica* (Family: Compositae) on rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7(1): 583-590.

Annexes

Annexe 1 : Liste des produits chimiques

Formule chimique	Nom chimique
$(\text{CH}_3\text{COO})_2 \text{Pb}$	Acétate de plomb
$\text{C}_4 \text{H}_8 \text{O}_2$	Acétate d'éthyle
$\text{C}_2 \text{H}_4 \text{O}_2$	Acide acétique
$\text{C}_2 \text{H}_3\text{NaO}_2$	Acétate de sodium
CH_3COCH_3	Acétone
CHCl_3	Chloroforme
EtOH	Éthanol
FeCl_3	Trichlorure ferrique
H_2SO_4	Acide sulfurique
HCl	Acide chlorhydrique
HgCl_2	Chlorure de mercure
KOH	Hydroxyde de potassium
Na_2SO_4	Sulfate anhydre de sodium
NaCl	Chlorure de sodium
NaOH	Hydroxyde de sodium
NH_4OH	Ammoniaque ou hydroxyde d'ammonium
I_2	Iode
C_6H_6	Benzène
$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$	Butanol
MeoH	Méthanol

Annexe 2 : Composition des principaux milieux de culture utilisés.

➤ **Gélose Mueller Hinton (M.H)**

Composition en (g/L)

Infusion de viande de bœuf déshydratée	300g
Hydrolysate de caséine	17.5g
Amidon de maïs	15g
Agar-agar	18g
Eau distillée	1000ml
pH final	7,3 ± 0.1 à 25°C

Stérilisation à 121°C /15mn. Après refroidissement, 5 ml de l'additif Hecktoen sont rajoutés à 225 ml de cette gélose Hecktoen.

➤ **Milieu sabouraud**

Composition (g/L)

Peptone	10g
Glucose	20g
Agar -agar	15g
Eau distillée	1000ml
pH final	6,3

Stérilisation à 121°C /15mn.

Annexe 3 :

Tableau II : Caractéristiques des souches microbiennes testées (Delarras, 2014).

Souche		Systématique		Caractère généraux
Bactéries	Gram +	Règne : <i>Bacteria</i> Embr. : <i>Firmicutes</i> Classe : <i>Bacilli</i> Ordre : <i>Bacillales</i> Famille : <i>Micrococcaceae</i> Genre : <i>Staphylococcus</i> Espèce : <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	C'est une bactérie aéro-anaérobie facultative, immobile, catalase positive, coagulase positive. Elle appartient à la famille de <i>Micrococcaceae</i> et au genre <i>Staphylococcus</i> . Le nom (aureus) signifie (or) et vient du fait que, sur gélose, les colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> sont pigmentées (couleur dorée) <i>Staphylococcus aureus</i> est le pathogène le plus fréquemment rencontré chez l'homme au niveau du naso-pharynx, et de la peau.
		Règne : <i>Bacteria</i> Embr. : <i>Firmicutes</i> Classe : <i>Bacilli</i> Ordre : <i>Bacillales</i> Famille : <i>Bacillaceae</i> Genre : <i>Bacillus</i> Espèce : <i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i> sont des bacilles à Gram positif sporogène, aéro-anaérobie facultative, catalase positive, et mobiles par une ciliature péritriche, à distribution ubiquitaire. ils sont responsables des septicémies, des endocardites, ainsi que des toxi-infections alimentaires.
	Gram -	Règne : <i>Bacteria</i> Embr. : <i>Proteobacteria</i> Classe : <i>Gamma proyeobacteria</i> Ordre : <i>Enterobacteriales</i> Famille : <i>Enterobacteriaceae</i> Genre : <i>Escherichia</i> Espèce : <i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ou colibacille (bacille de colon) est une bactérie aérobie anaérobie facultative, oxydase négative, habituellement mobile (flagelles péritriches) et pourvue de fimbriae. Elle appartient à la famille des <i>Enterobacteriaceae</i> , au genre <i>Escherichia</i> . sa présence est un indicateur de contamination fécale, responsable de gastro-entérites, infections urinaires, méningites et septicémies.

Levures	<p>Règne : <i>Fungi</i></p> <p>Embr. : <i>Ascomycota</i></p> <p>Classe : <i>Saccharomycetes</i></p> <p>Ordre : <i>Saccharomycetales</i></p> <p>Famille : <i>Saccharomycetaceae</i></p> <p>Genre : <i>Candida</i></p> <p>Espèce : <i>Candida albicans</i></p>	<i>Candida albicans</i>	<p>Espèce la plus virulente qui profite d'un affaiblissement des défenses immunitaires pour contaminer les muqueuses de la bouche et du vagin et donner des enduits blanchâtres, les douleurs sont parfois très importantes. <i>Candida albicans</i> est responsable d'infections superficielles aussi bien que systémiques. Les infections superficielles comprennent le Muguet, des vulvo-vaginites, des intertrigos (plis cutanés humides), des onychomycoses et périomyxis</p>
Champignons	<p>Règne : <i>Fungi</i></p> <p>Embr. : <i>Ascomycota</i></p> <p>Classe : <i>Eurotiomycetes</i></p> <p>Ordre : <i>Eurotiales</i></p> <p>Famille : <i>Trichocomaceae</i></p> <p>Genre : <i>Aspergillus</i></p> <p>Espèce : <i>Aspergillus brasiliensis</i></p>	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	<p><i>Aspergillus</i> élabore plusieurs composés dont certains sont très toxiques telle que fumitoxines, des composés trémorgéniques et d'autres molécules peuvent être à l'origine de toxicoses chez les animaux d'élevage (syndromes nerveux, musculaires ou hémorragiques). En se développant dans le foie, peut convertir l'acide coumarique du mélilot en dicoumarol, composé anticoagulant, responsable d'hémorragies chez les bovins. L'exposition à cette espèce se fait la plupart du temps par l'inhalation d'air contaminé par les moisissures présentes sur la matière végétale en décomposition, des grains contaminés ou des aérosols d'eaux résiduelles.</p>

Annexe 4 : Matériel non biologique utilisé.

Équipements et appareillage	Verreries et accessoires
<ul style="list-style-type: none">- Etuve Memmert- Bain-marie- Balance analytique (KERN)- Bec Bunsen- Etuve sous vide- Rotavapor- Spectrophotomètre- Autoclave- Hotte à flux lumineuse verticale (S ERIL-VBH)-Mixer électrique-Plaque chauffante-Vortex-Réfrigérateur	<ul style="list-style-type: none">- Erlenmeyer de 100 ml, 250ml- Flacons- Bêcher de 50ml, 100ml- Fiole de 10ml, 20ml, 50ml, 100ml- Entonnoirs- Pilon et mortier en porcelaine- Pipettes graduées- Pipettes Pasteur- Tubes à essai- Boîtes de Pétri- Écouvillons- Papier filtre- Disques en papier- Barreau magnétique- Spatule- Seringues- Parafilm- Micropipettes-Pince

Annexe 5 :

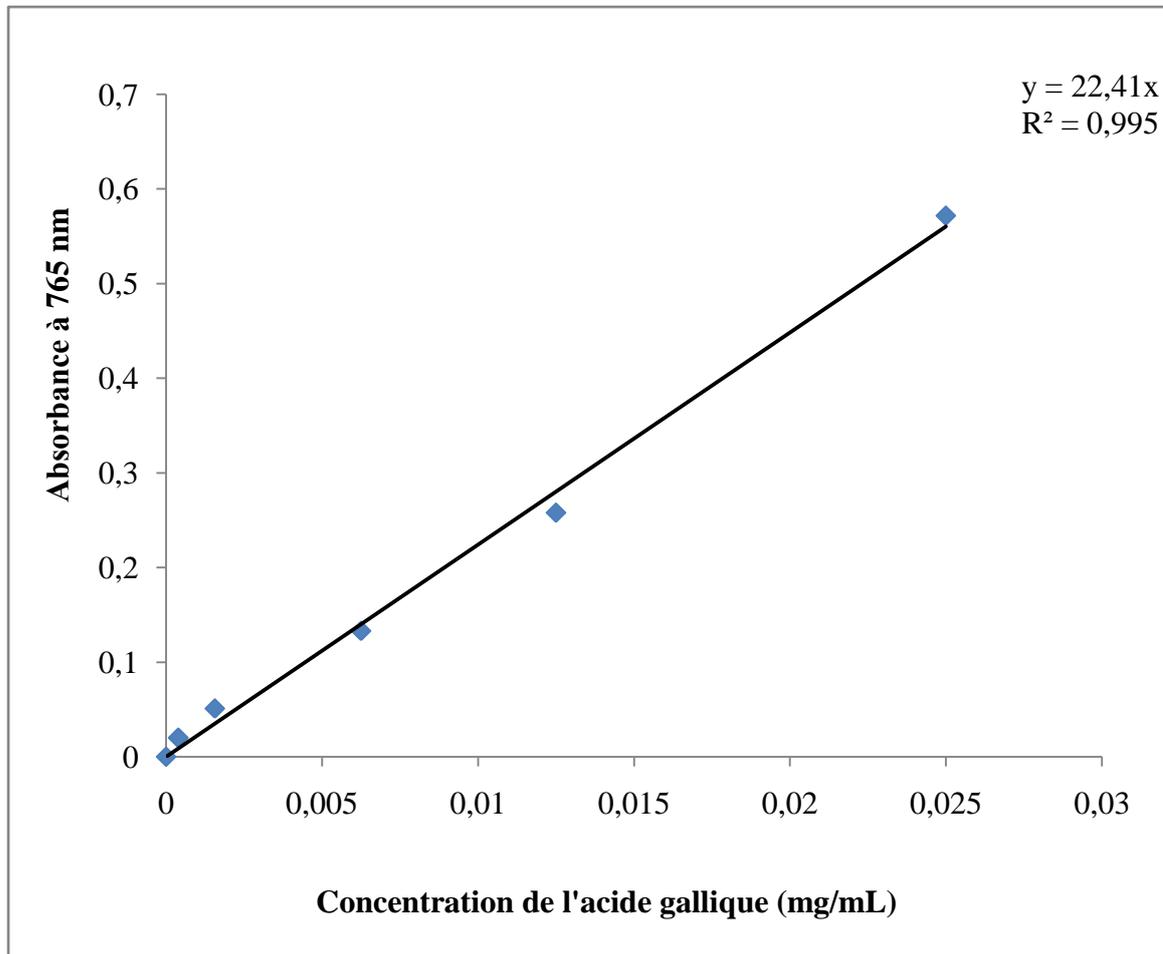


Figure 7: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Annexe 6 :

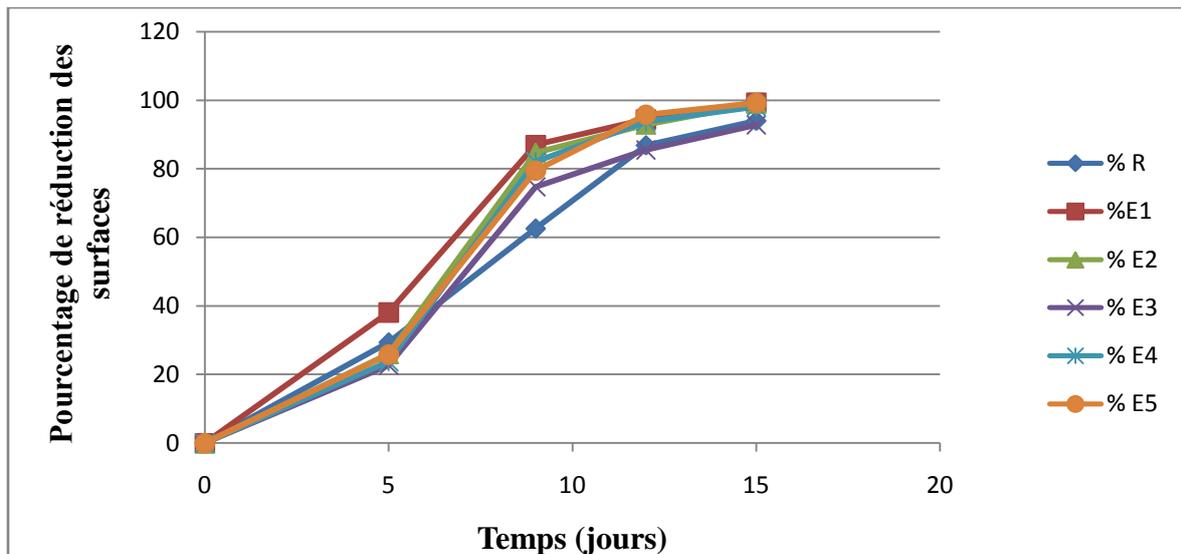
Tableau IX : Evolution des poids moyens chez les souris expérimentés (plaies).

	J₀	J₃	J₅	J₇	J₉	J₁₁	J₁₃	J₁₅
R	36	34	35	37	37,5	38	39,5	40
E1	34,5	32,5	34	35,5	36	37,5	37,5	38
E2	32,5	30,5	34	35,5	37,5	38	38,5	39,5
E3	32	29,5	32,5	35	36	37	38	39
E4	34,5	32	34,5	36	36,5	37,5	38	38,5
E5	38	36	37	38	39	39	40	40,5

Tableau X : Evolution des poids chez les souris expérimentés (brûlées).

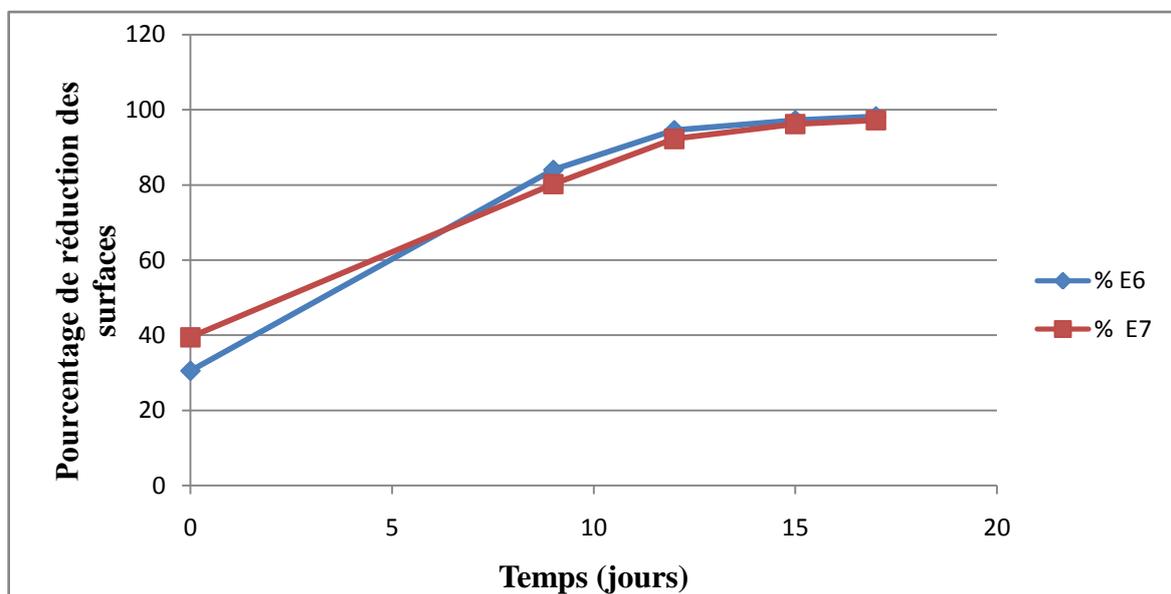
	J₀	J₃	J₅	J₇	J₉	J₁₁	J₁₃	J₁₅	J₁₇	J₁₉
E6	24	22	24	24	24	27	28	29	29	30
E7	25	23	24	25	25	26	27	28	30	32

Annexe 7 :



R : produit de référence Madécassol® ; **E1** : Crème traditionnelle de *Carthamus caeruleus* L. ; **E2** : Poudre des racines de *Carthamus caeruleus* L. ; **E3** : Extrait de saponine de *Carthamus caeruleus* L. ; **E4** : Poudre des feuilles *Pulicaria odora* L. ; **E5** : Extrait de saponine de *Pulicaria odora* L.

Figure 16 : Courbes représentatives des pourcentages de réduction des surfaces moyennes des plaies traitées par les différents traitements.



E6 : Crème traditionnelle de *Carthamus caeruleus* L. ; **E7** : Poudre des feuilles *Pulicaria odora* L.

Figure 18 : Courbes représentatives des pourcentages de réduction des surfaces des brûlures traitées par les différents traitements.

Résumé :

Le présent travail porte sur l'étude phytochimique, les activités antimicrobienne et cicatrisante de *Pulicaria odora* L. et de *Carthamus caeruleus* L. récoltée dans la région de Chaabet El Ameer et Bordj Menail (Wilaya de Boumerdès) située au nord Algérien. Le but de cette étude est de tester le pouvoir antimicrobien des extraits polyphénoliques et cicatrisant des extraits saponosidiques des deux plantes. Le screening phytochimique révèle une richesse en métabolites secondaires dans les feuilles de *Pulicaria odora* L. et dans les rhizomes de *Carthamus caeruleus* L. (flavonoïdes, saponines, mucilages, coumarines et alcaloïdes). Les rendements d'extraction des polyphénols des deux plantes *P. odora* L. et *C. caeruleus* L. sont respectivement de 22,02 % et 22,73 % alors que celui des saponines est de 2,02 % et 0,44 %. Le dosage des polyphénols pour les feuilles de *Pulicaria odora* L. et les racines de *C. caeruleus* L. a montré des teneurs respectives de 55,02 ± 1,54 mg EAG/g et 50,14 ± 1,75 mg EAG/g. En outre, l'analyse de l'activité antimicrobienne révèle que les extraits polyphénoliques sont efficaces vis-à-vis des bactéries Gram⁺ par rapport aux bactéries Gram⁻ pour les deux plantes. Concernant les résultats de l'activité cicatrisante, les plaies traitées par la crème traditionnelle préparée par les rhizomes de *Carthamus caeruleus* L. se sont distinguées par leur meilleure cicatrisation (99,32%) comparées à celles traitées par l'extrait saponosidiques de *Pulicaria odora* L. (99,26 %) et les poudres de plantes *C. caeruleus* L. (99,01 %) et *P. odora* L. (98,11 %). Néanmoins, l'ensemble des traitements effectués montre un effet de cicatrisation plus efficace que le produit de référence Madécassol[®].

Mots clés : *Pulicaria odora* L., *Carthamus caeruleus* L., activité antimicrobienne, activité cicatrisante, screening phytochimique, saponines, polyphénol.

ملخص :

يركز هذا العمل على الدراسة الكيميائية النباتية، القوة المضادة للميكروبات و أنشطة التئام الجروح للنبتين *Carthamus caeruleus* L. المحسودة من شرعية العامر وبرج منايل (ولاية بومرداس) شمال الجزائر. والغرض من هذه الدراسة هو اختبار القوة المضادة للميكروبات لمقتطف البوليفينول والتئام الجروح لمقتطفات الصابونين. الفحص الكيميائي النباتي يكشف ثروة من المركبات الثانوية في أوراق *Pulicaria odora* L. و في جذور *Carthamus caeruleus* L. (الفلافونويد، الصابونين، الصمغ، الكومارين وقلويدات). وعائدات استخراج مادة البوليفينول للنبتين *P. odora* L. و *C. caeruleus* L. هي 22.02% و 22.73% على التوالي، في حين عوائد استخراج الصابونين هي 2.02% و 0.44%. وفحص لمادة البوليفينول لأوراق *Pulicaria odora* L. و جذور *C. caeruleus* L. أظهر على التوالي محتويات كل من 55.02 ± 1.54 mg EAG/g و 50.14 ± 1.75 mg EAG/g. وبالإضافة إلى ذلك، كشف تحليل النشاط البكتيري أن مستخلصات البوليفينول فعالة وجها لوجه مع غرام + البكتيريا مقارنة مع البكتيريا سالبة الجرام لكل من الزهبيين. وفيما يتعلق بنتائج نشاط تضميد الجراح، يكشف أن الجراح التأم بشكل أفضل مع كريم التقليدي لجذور *Carthamus caeruleus* L. تميزوا من خلال تحسين الشفاء (99.32%) مقارنة مع الذين عولجوا مع الصابونين المستخرج من *Pulicaria odora* L. (99.26%) ومساحيق النبتتين (*C. caeruleus* L. (99.01%) و *P. odora* L. (98.11%). ومع ذلك، كل العلاجات تنفيذ يظهر تأثير الشفاء أكثر فعالية من Madécassol[®] منتج المرجعية.

كلمات البحث : *Pulicaria odora* L., *Carthamus caeruleus* L., القوة المضادة للجراثيم، أنشطة التئام الجروح، الفحص الكيميائي النباتي، الصابونين، البوليفينول.

Summary :

This work deals with phytochemistry study of *Pulicaria Odora* L. and *Carthamus caeruleus* L. plants harvested in Chaabet El Ameer and Bordj Menail (Boumerdes) at the North of Algeria. Moreover, the power of antimicrobial polyphenolic extracts and healing activity were examined. Results of the phytochemistry screening revealed the existence of secondary metabolites (flavonoids, saponins, mucilages, coumarin and alkaloids) in *Pulicaria Odora* L. leaves and *Carthamus caeruleus* L. roots. The yield extraction of polyphenolic extracts are respectively 22,02% and 22,73% for *P. odora* L. and *C. caeruleus* L. and it was around 2,02% and 0,44% for saponins.

Polyphenolic contents of *Pulicaria odora* L. leafy and *C. caeruleus* L. roots are respectively about 55,02=1,54mg EAG/g and 50,14=1,75.mgEAG/g. Furthermore, antimicrobial activity test indicated that polyphenolic extracts of both plants were efficient in on Gram positive bacteria. Concerning the healing activity results, wounds treated with a traditional creme prepared with the *Carthamus caeruleus* L. roots showed efficient screening (99,32%) compared to those which are treated with saponins extracts of *Pulicaria odora* L. (99,26%) and powder plants (99,01%) for *C. caeruleus* L. and (98.11%) for *P. odora* L. All treatments showed the screening effectiveness compared to Madecassol[®] standard product.

Key words : *Pulicaria odora* L., *Carthamus caeruleus* L., Antimicrobial activity, Healing activity, Screening phytochemistry, Saponins, Polyphenols.