

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة محمد بوقرة بومرداس

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE M'HAMED BOUGUERA-BOUMERDES



Faculté des Sciences
Thèse de Doctorat

Présentée par

DAHMANI Mohammed Mahdi

Filière: Sciences Biologiques

Option : Biochimie et Microbiologie appliquées

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

Devant le jury :

FAZOUANE-NAIMI	Fethia	Prof.	UMBB	Présidente
SOLTANI	Yacine	Prof.	USTHB	Examineur
BOUCHERIT-OTMANI	Zahia	Prof.	UABBT	Examinatrice
ARAB	Karim	Prof.	UMBB	Encadreur

Année Universitaire: 2018/2019

Résumé

Ce travail vise à valoriser les vertus de *Carthamus caeruleus* par une caractérisation phytochimique et une évaluation des activités biologique de ses racines. L'étude phytochimique a permis de mettre en évidence les principaux métabolites notamment les polyphénols. L'analyse de l'extrait polyphénolique par CG/SM a révélée pour la première fois la richesse et la diversité moléculaire des racines de *Carthamus caeruleus*. L'évaluation du pouvoir antioxydant *in vitro* par des méthodes colorimétriques (DPPH, FRAP et H₂O₂) a montré que l'extrait polyphénolique de la plante étudié est doté d'un pouvoir antioxydant élevé. L'effet antimicrobien de la plante médicinale varie selon la nature de la souche et de l'extrait testé. *In vivo*, l'extrait phénolique de *Carthamus caeruleus* ne présentent aucune toxicité pour des concentrations comprises entre 100 mg/kg et 250 mg/kg. Par ailleurs, un pouvoir anti-inflammatoire important a été décrit. Enfin, la poudre de *Carthamus caeruleus* à présenté un fort potentiel cicatrisant largement supérieur à celui obtenu par le produit de référence Madécassol® sur la même durée de traitement. De plus *Carthamus caeruleus* aide à promouvoir la repousse des poils chez le modèle murin. La présente étude a permis de confirmer l'efficacité de la plante et d'apporter une preuve biologique mesurable de son pouvoir antioxydant, antimicrobien, antiinflammatoire, cicatrisant et activateur de la pousse des poils.

Mots clés : *Carthamus caeruleus*, CG/SM, cicatrisation, polyphénols, repousse des poils.

Abstract

The roots of *Carthamus caeruleus* have been used by the population of Northern Algeria to treat several pathological conditions, including wound healing and hair growth. The phytochemical study revealed the main metabolites, especially polyphenols. The *in vitro* antioxidant evaluation by colorimetric methods (DPPH, FRAP and H₂O₂) showed that the polyphenol extract of the plant studied has a high antioxidant capacity. The antimicrobial effect of the medicinal plant varies according to the nature of the strain and the extract tested. *In vivo*, the phenolic extract of *Carthamus caeruleus* shows no toxicity at concentrations between 100 mg / kg and 250 mg / kg. In addition, an important anti-inflammatory power has been described. Finally, the *Carthamus caeruleus* powder exhibited a high healing potential that was much greater than that obtained by the Madécassol® reference product over the same treatment period. *Carthamus caeruleus* also helps to promote hair growth in the mouse model. The present study has confirmed the effectiveness of the plant and provides a measurable biological evidence of its antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, wound healing potential, and hair growth promoting activity.

Key words: *Carthamus caeruleus*, GC / MS, wound healing, polyphenols, hair regrowth.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Je tiens tout d'abord à remercier **ALLAH le miséricordieux** et le **tout puissant** qui m'a aidé et m'a donné la volonté, la force, la patience et le courage pour réaliser ce travail.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance et mes sincères remerciements à :

M^r ARAB. K, Professeur à la faculté des sciences (**UMBB**), Mon directeur de thèse, pour avoir accepté de m'encadrer dans une thématique de recherche très intéressante, ses orientations, sa gentillesse et précieux conseils, que ce travail lui témoigne de ma profonde gratitude.

M^{me} FAZOUANE-NAIMI. F, Professeur à la Faculté des sciences (**UMBB**) pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant à présider ce jury, malgré ces grandes responsabilités.

M^r SOLTANI. Y, Professeur à la Faculté des Sciences Biologiques (**USTHB**) et qui malgré ces grandes responsabilités a aimablement accepté l'examinations de ce travail.

M^{me} BOUCHERIT-OTMANI. Z, Professeur à Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (**UABBT**), malgré ces grandes responsabilités à aimablement accepter de se déplacer de l'UABBT pour l'examinations de ce travail.

Je tiens à remercier aussi **M^{me} DAHMANI. A** pour la mise en évidence des structures chimique des biomolécules ainsi que **Mr HARITHI. M** pour sa précieuse présence durant l'expérimentation sur le modèle animale, sans oublier **D^r SELAMA. O** et **D^r BOUDJEMA. K** pour leurs aides et orientation lors de l'étude antimicrobienne.

Je remercie également les membres de l'équipe Plantes Médicinales et luttés biologiques (**PMLB**) du laboratoire Valorisation et Conservation des Ressources Biologiques (**VALCOR**) pour toute l'aide technique fournie.

Je remercie très chaleureusement **D^r BENMOULOUD. A**, pour la mise en disposition du matérielles animales ainsi que ses précieux conseils.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Liste des abréviations

AINS : anti-inflammatoires non stéroïdiens
DAHP : 3-deoxy-D-arabino-heptulosonate 7-phosphate
DAHP synthase : 2-dehydro-3-deoxyarabinoheptulosonate-7- phosphate synthase
ESPS : 5- enolpyruvylshikimate 3-phosphate
PAL : Phénylalanine Ammoniac Lyase
C4H : cinnamate-4-hydroxylase
4CL : CoA-ligase
DME : dose maximale sans effet toxique
ROS : Reactive Oxygen Species
•OH: radical hydroxyl
•O₂ - : l'anion superoxyde
H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène
¹O₂ : le dioxygène singulet
SOD : superoxyde dismutase
GPx : glutathion peroxydase
AscH• : ascorbate tricarbonyle
CMH-1: complexe majeur d'histocompatibilité de classe 1
AINS : -inflammatoire non stéroïdiens
COX : cyclooxygénases
AIS : anti-inflammatoires stéroïdiens
NOS : enzyme NO Synthase
IRE : électroporation irréversible
DHT : dihydrotestostérone
2,4 DPO : 2,4-diaminopyrimidine oxyde
FDA : Food & Drug Administration
VALCOR : Valorisation et Conservation des Ressources Biologiques
CRD : Centre de Recherche et de Développement
DPPH : Diphenyl-1-picrylhydrazyl
OPD : O-Phénylén Diamine
GCMS : gazeuse couplé au spectromètre de masse
NIST98: National Institute of Standards and Technology
FRAP : Test de la réduction du fer

DMSO : Dimethyl sulfoxyde

CMI : concentration minimale inhibitrice

HE : huile essentielle

CCM : Chromatographie sur couche mince

CG/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplé spectromètre de masse

EM : Extrait Méthanolique

SARM : Staphylococcus aureus résistant à la méticilline

SASM : Staphylococcus aureus sensible à la méticilline

C⁻ : Contrôle négative Méthanol

C⁺ : Chloramphénicol

PTGS2 : prostaglandine-endopéroxyde synthase 2

IGF-1: growth insuline-like factor-1

VEGF: facteurs endothéliaux vasculaires

KGF: facteurs de croissance des kératinocytes

HGF : facteurs de croissance

LCMS : chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse

SOD : superoxyde dismutase

CAT : activité de la catalase

Liste des figures

Figure 1	différents partie de <i>Carthamus caeruleus</i> L	4
Figure 2	métabolisme générale du phénylpropanoïde	9
Figure 3	biomolécules issues de la voie du shikimate chez les plantes	10
Figure 4	exemple de quelques acides phénols	11
Figure 5	structure des coumarines	12
Figure 6	exemple de quelques lignanes	13
Figure 7	structure chimique des flavan-3-ols	13
Figure 8	quelques motifs quinoniques .	14
Figure 9	structure de base des flavonoïdes	15
Figure 10	structure de base des Anthocyanes	16
Figure 11	structure de la (+) – catéchine	16
Figure 12	chronologie des différentes phases de la cicatrisation	28
Figure 13	modèle général de réparation de la plaie	31
Figure 14	aspect microscopique de la racine de cheveu	35
Figure 15	structure de la tige pileaire de cheveu	36
Figure 16	différentes parties de la tige pileaire	36
Figure 17	cycle de vie du cheveu	37
Figure 18	situation de la zone d'étude (BNEDER, 1996)	41
Figure 19	schéma récapitulatif de la démarche expérimentale	43
Figure 20	réduction du radical libre DPPH en DPPHH	49
Figure 21	dépôt des disques et détermination de la CMI	53
Figure 22	utilisation des plantes médicinales selon la tranche d'âge et le niveau intellectuelle	57
Figure 23	utilisation des plantes médicinales selon la situation familiale	58
Figure 24	utilisation des plantes médicinales selon la partie utilisée	58
Figure 25	utilisation des plantes médicinales selon les types de pathologies	59
Figure 26	fréquences des familles de plantes utilisées dans l'étude ethnobotanique	59
Figure 27	fréquences des genres utilisées dans l'étude ethnobotanique	61
Figure 28	spectre infrarouge de l'extrait polyphénolique de <i>Carthamus caeruleus</i>	64
Figure 29	profil de l'extrait méthanolique de <i>C caeruleus</i> par GC/SM	66

Figure 30	quantité de nutriment consommée par les souris pendant les jours de gavage de l'extrait polyphénolique	70
Figure 31	quantité d'eau consommée par les souris pendant les jours de gavage de l'extrait	70
Figure 32	pouvoir antioxydant de l'extrait polyphénolique (DPPH)	73
Figure 33	pouvoir réducteur de l'extrait polyphénolique (FRAP)	74
Figure 34	valeurs des concentrations inhibitrices du H ₂ O ₂ par différentes concentrations de l'extrait méthanolique de <i>Carthamus caeruleus</i>	75
Figure 35	effet de l'extrait méthanolique de <i>Carthamus Caeruleus</i> sur œdème de patte de la souris induite par carragénine	77
Figure 36	effet des racines de <i>Carthamus caeruleus</i> sur la cicatrisation en comparaison avec le Madécassol chez le rat	78
Figure 37	chronologie de contraction des plaies après traitement (a) Témoin, (b) Madécassol et (c) <i>Carthamus caeruleus</i>	79
Figure 38	effet de l'extrait méthanolique de <i>Carthamus caeruleus</i> sur la croissance des poils chez les rats Wistar	80

Liste des tableaux

Tableau 1	différentes appellations de <i>Carthamus caeruleus</i> L	5
Tableau 2	classification chimique simplifiée et non exhaustive des anti-inflammatoires non stéroïdiens	25
Tableau 3	plantes médicinales cicatrisantes	33
Tableau 4	plantes médicinales pour la croissance des cheveux	44
Tableau 5	description et pouvoir pathogène des souches testées	45
Tableau 6	les différents tests du screening phytochimique et leurs résultats attendus	49
Tableau 7	estimation de la sensibilité des souches	57
Tableau 8	index visuelle de croissance des poils chez les rats Wistar	59
Tableau 9	tests phytochimiques des racines de <i>Carthamus caeruleus</i> L	64
Tableau 10	longueurs d'ondes et groupements chimiques correspondants	68
Tableau 11	composition chimique de l'extrait méthanolique de <i>Carthamus caeruleus</i>	70
Tableau 12	évolution du poids des souris témoins et traitées par l'extrait polyphénolique	72
Tableau 13	diamètres d'inhibitions et concentrations minimales inhibitrices des polyphénols de <i>Carthamus caeruleus</i>	74

Sommaire

Introduction.....	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
I.1. Généralités sur la plante.....	3
I.1.1. Description botanique	3
I.1.2. Cycle biologique.....	3
I.1.3. Habitat et répartition géographique.....	3
I.1.4. Position systématique	5
I.1.5. Utilisation en médecine traditionnelle.....	5
I.1.6. Données pharmacologiques.....	6
I.2. Les polyphénols.....	6
I.2.1. Biosynthèse des polyphénols	6
I.2.1.1. Voie de l'acide shikimique.....	7
I.2.1.2. Voie de l'acétate / malonate.....	11
I.2.2. Classification des polyphénols.....	11
I.2.2.1. Les acides phénols.....	11
I.2.2.2. Les coumarines.....	12
I.2.2.3. Les lignanes.....	12
I.2.2.4. Les tanins.....	13
I.2.2.5. Les quinones.....	14
I.2.2.6. Les flavonoïdes.....	15
I.2.2.7. Les Anthocyanes.....	15
I.2.2.8. Les flavanes.....	16
I.3. Biodisponibilité des polyphénols.....	17
I.3.1. Absorption des polyphénols à partir de l'intestin grêle.....	18
I.3.2. Conjugaison des polyphénols	17
I.3.3. Transport et concentration plasmatique des polyphénols.....	17
I.3.4. Excrétion des polyphénols	18
I.4. Etude de la toxicité des polyphénols.....	19
I.4.1. Toxicité aiguë.....	19
I.4.2. Toxicité subaigüe.....	19
I.4.3. Toxicité à long terme.....	20
I.5. Stresse oxydant.....	20

I.5.1. Origines cellulaire des espèces réactives de l'oxygène.....	20
I.5.2. Mécanismes d'action des radicaux libres.....	20
I.5. 3. Les défenses antioxydantes.....	21
I.5.3.1. Système antioxydant enzymatique.....	21
I.5.3.2. Système antioxydant endogène non enzymatiques.....	22
I.5.3.3. Système antioxydant exogène.....	22
I.6. L'inflammation.....	23
I.6.1. Inflammation aigue.....	23
I.6.2. Inflammation chronique.....	24
I.6.3. Thérapeutiques de l'inflammation.....	24
I.6.3.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	24
I.6.3.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens.....	26
I.6.3.3. Plantes médicinales anti-inflammatoires.....	26
I.7. Cicatrisation cutanée.....	27
I.7. 1. Cicatrisation normale.....	27
I.7.1.1. Phase inflammation et formation de caillot.....	28
I.7.1.2 Phase de prolifération.....	29
I.7.1. 3. Phase de remodelage.....	30
I.7.2. Cicatrisation pathologique.....	31
I.7.3. Thérapeutiques de la cicatrisation.....	32
I.7.3.1. Traitement classique.....	32
I.7.3.2. Traitement et innovation.....	32
I.7.3.3. Plantes médicinales cicatrisantes.....	32
I.8. Le poil.....	34
I.8.1. Composition du poil.....	34
I.8.1.1. La racine	34
I.8.1.2. La tige pileaire.....	35
I.8.2. Cycle physiologique du poil.....	37
I.8.2.1. Phase anagène.....	38
I.8.2.2. Phase catagène.....	38
I.8.2.3. Phase télogène.....	38
I.8.3. La vascularisation du poil.....	38
I.8.4. Plantes médicinales et poil.....	39

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1. Matériel	40
II.1.1. Matériel biologique.....	40
II.1.1.1. La plante.....	40
II.1.1.2. Souches microbienne.....	41
II.1.1.3. Animaux.....	42
II.1.2. Matériel non biologique.....	42
II.2. Méthodes.....	43
II.2.1. Enquête ethnobotanique.....	44
II.2.2. Caractérisation physicochimique.....	44
II.2.3. Extraction et dosage des polyphénols totaux.....	46
II.2.3.1. Extraction par macération.....	47
II.2.3.2. Dosage des polyphénols.....	47
II.2.4. Caractérisation des polyphénols par infrarouge (IR).....	48
II.2.5. Chromatographie en phase gazeuse couplé au spectromètre de masse (CGSM).....	48
II.2.6. Tests de la toxicité aigue.....	48
II.2.7. Activité antioxydante.....	49
II.2.7.1. Piégeage du radicale libre DPPH.....	49
II.2.7.2. Test de réduction du Fer (FRAP).....	50
II.2.7.3. Test de piégeage du peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂).....	51
II.2.8. Activité antimicrobienne.....	51
II.2.8.1. Revivification des souches microbiennes.....	51
II.2.8.2. Repiquage des souches microbiennes.....	52
II.2.8.3. Préparation de l'inoculum.....	52
II.2.8.4. Préparation des boites de Pétri pour l'antibiogramme.....	52
II.2.8.5. Préparation des disques.....	52
➤ Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	
II.2.8.6. Test de sensibilité des microorganismes obtenus par technique de diffusion en milieu solide.....	53
II.2.8.7. Lecture des résultats.....	53
II.2.9. Activité anti-inflammatoire	53
II.2.10. Activité cicatrisante.....	54
II.2.11. Test de promotion de la croissance des poils in vivo.....	55
II.2.12. Expression statistique des résultats.....	55

Chapitre III : Résultats et discussions

III.1. Enquête ethnobotanique.....	61
III.2. Caractérisation phytochimique.....	65
III.3. Extraction et dosage des polyphénols totaux.....	67
III.4. Caractérisation des polyphénols par infrarouge.....	68
III.5. Caractérisation chromatographie de l'extrait par CG/SM	69
III.6. Tests de la toxicité aigue.....	72
III.7. Activité antimicrobienne.....	75
III.8. Activité antioxydante.....	76
III.8.1. Piégeage du radical libre DPPH.....	77
III.8.2. Pouvoir de réduction de fer.....	77
III.8.3. Activité de piégeage du peroxyde d'hydrogène	78
III.8.4. Activité anti-inflammatoire.....	79
III.9. Activité cicatrisante des <i>Carthamus caeruleus</i>	81
III.10. Activité repousse des poils de <i>Carthamus caeruleus</i>	83
Conclusion et perspectives.....	85
Références bibliographiques.....	86

Introduction générale

Introduction générale

Depuis la nuit des temps les hommes ont su développer les extraordinaires vertus médicinales que recèlent les plantes, dont la connaissance et l'utilisation thérapeutique basées sur l'analyse et l'observation (anCrété, 1965).

La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale: méditerranéenne, saharienne et une flore paléo tropicale, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques (Ozenda, 1991).

Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémiques (Chehema et Djebbar, 2008). Ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle Algérienne une richesse inestimable.

Les plantes médicinales sont une sources importantes de biomolécules présentant des vertus thérapeutiques en comparaison avec les organismes marins, les microorganismes, et les champignons (Oh et al., 2012). Elles contiennent une grande diversité de biomolécules très intéressantes pour le développement de médicaments contre divers cibles pharmacologiques. Parmi les pathologies rencontrées, les maladies inflammatoires caractérisés par une réponse immunitaire complexe des tissus vasculaires à l'invasion par un agent infectieux, physique, chimique ou traumatique (Carleton et Smith, 2006).

Une caractéristique frappante des médicaments allopathiques sont leurs conséquences mortelles dues aux effets indésirables, qui figurent parmi les 10 premières causes de décès et de maladie dans les pays développés, avec 100 000-218 000 personnes décédés aux États-Unis chaque année (Park et al., 2012).

Les antiinflammatoires actuellement utilisés sont associés à des effets secondaires graves défavorables, tels que des lésions gastriques causées par les antiinflammatoires non stéroïdiens (AINS) et une dépendance induite par les opiacés (Suleyman et al., 2007).

Ainsi, le développement de puissants anti-inflammatoires et analgésiques avec moins d'effets secondaires sont nécessaires; ceux-ci pourraient remplacer les AINS et les opiacés.

Chaque année, des millions de personnes souffrent de brûlures, de plaies chroniques ou de plaies aiguës compliquées par une infection, une dégénérescence ou une cicatrisation problématique (Doshi et al., 2016). Plus de 95 % des cas de brûlures par flamme ayant entraîné la mort surviennent dans les pays à revenu faible et intermédiaire. On observe les pics de mortalité chez les enfants de moins de 5 ans et les personnes de 70 ans ou plus. Outre le nombre important de victimes, des millions de personnes souffrent d'incapacité à long terme ou sont défigurées à vie (Chatelain et al., 2018).

Introduction générale

En Algérie, chaque année plus d'un million d'enfants sont victimes d'accidents domestiques.

La tranche d'âge la plus touchée est celle comprise entre 0 et 5 ans. Une enquête menée par le service de santé publique a montré que 50,2% des accidents, surviennent suite à des blessures avec un pourcentage de 19,7% pour les brûlures cutanées (INSP, 2016).

L'espèce *Carthamus caeruleus* L. (مروستقس) est connue sous le nom de Cardoncelle bleue (Bowles et al., 2010). C'est une espèce peu commune rencontrée en Méditerranée dans les clairières humides des forêts, les plaines, les bords des ruisseaux, et surtout dans les terrains argileux (MERATATE, 2016).

Les racines de cette espèce sont très utilisées dans le traitement des brûlures dans la région de Boumerdes, Tizi-Ouzou et Sétif et Telemecen, sous forme de pommade (Saffidine, 2018). Cette dernière est préparée à partir des racines préalablement lavées et épluchées, puis bouillies dans du lait ou de l'eau. Ces racines sont ensuite écrasées, réduites en pommade, appliquée sur les brûlures.

Afin de confirmer l'efficacité de *Carthamus caeruleus* pour le traitement des plaies et des brûlures, des expérimentations ont été effectuées, en particulier l'évaluation de la propriété antioxydant, antimicrobien, antiinflammatoire et cicatrisante.

Notre thèse est structurée de façon classique en trois parties. Une partie bibliographique portant sur une synthèse des données relatives à notre thématique. Une seconde partie expérimentale, qui décrit les démarches méthodologiques, en abordant les analyses quantitatives et qualitatives des extraits de nos plantes, et l'évaluation de leurs activités biologiques. Dans la dernière partie, la discussion des résultats obtenus est rapportée.

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

Chapitre I
Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur la plante

I.1.1 Description botanique

Carthamus caeruleus est une herbe annuelle ou bisannuelle à tige ascendante simple ou très peu rameuse de 0,2m à 0,6m, glabre dressée et velue. La plante possède un rhizome composé d'une racine principale qui évolue horizontalement, et des racines secondaires évoluant verticalement (Figure.1b).

La tige mesure environ 30 à 60 cm de long, non ramifiée, et n'ont pas des ailes (Figure.1c). Les feuilles sont glabres ou pubescentes, fortement nervées, à contour ovale ou lancéolé (Figure.1d). La plante est caractérisée par des feuilles inférieures pétiolées et dentées, et des feuilles supérieures sessiles amplexicaules ou dentées-épineuses. Elle possède des capitules bleus violets, gros (3 cm de large sur 3-4 cm de long), solitaires au sommet de la tige et des rameaux, globuleux ou ovoïdes. Les fleurs sont bleues mais quelques variétés donnent des fleurs r violettes. Très mellifère, le carthame est visité par de nombreux insectes (Figure.1e). Le fruit est un akène nettement plus courts que l'aigrette, subglobuleux ou obscurément tétragones, glabres et blanchâtres. (Figure 1) (Blamey et Grey-Wilson, 2000).

I.1.2. Cycle biologique

Carthamus caeruleus est une plante herbacée vivace. Les graines germent généralement vers fin mars début avril. Les racines participent aussi à la reproduction, car elles drageonnent régulièrement. La floraison a lieu en mai-juin.

La pollinisation peut être soit entomophile (par les insectes), soit anémophile (par le vent) (Mihoub et al., 2017).

I.1.3. Habitat et répartition géographique

Carthamus caeruleus est une plante qualifiée de rudérale. Elle pousse sur les terres humifères et légères, dans les chemins, les coupes des bois, les champs et les jardins bien fumés (Patrikos, 2018). Cette plante supporte tous les types de sols, surtout ceux contenant des matières organiques fraîches. Elle est rencontrée en Europe, en Afrique du Nord et du Sud, en Asie, ainsi qu'en Amérique du Nord et du Sud (Bertrand, 2002). En Algérie, l'espèce à été récolté de Bouira, Tizi-Ouzou, Tlemcen, Sétif et de Boumerdes (Chemouri et al., 2015; Karima et al., 2013).

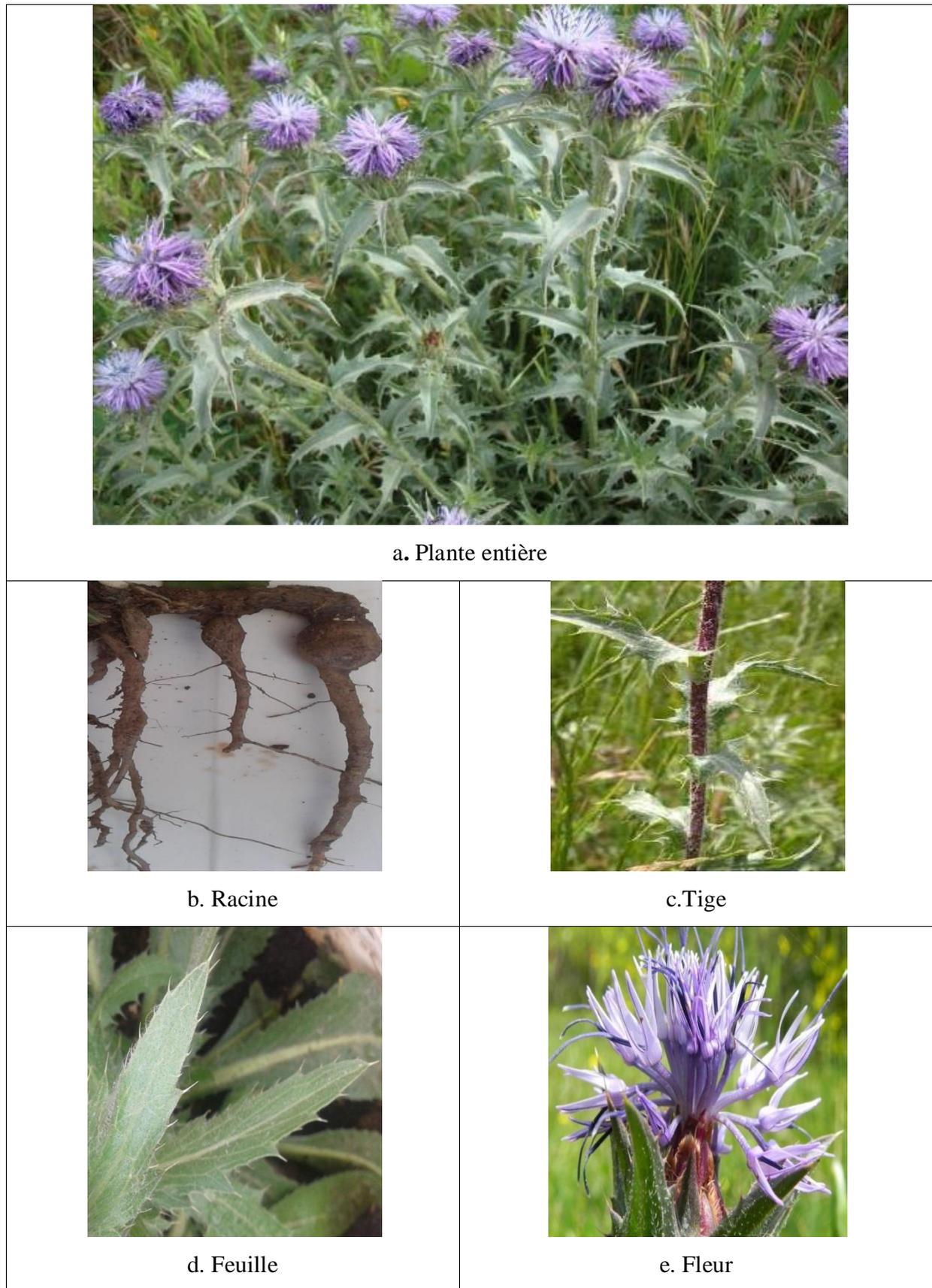


Figure 1 : différents partie de *Carthamus caeruleus* L. a: plante entière; b: racine; c :tige; d: feuille ; e: Fleur

I.1.4. Position systématique

Les *Astéracées* représentent la plus importante famille de la division des spermatophytes. Elle comprend près de 25 000 espèces connues, groupées en 1500 genres repartis en 17 tribus répandues à travers le monde (Guignard, 1994). D'après APGIII (Group, 2009), la position taxonomique de *Carthamus caeruleus* est la suivante:

Règne : Plantae ;

Embranchement : Spermaphytes ;

Classe : Magnoliopsida ;

Ordre : Asterales ;

Famille : Asteraceae ;

Sous famille : Carduoideae ;

Groupe : Cardueae ;

Sous-groupe : Centaureinae ;

Genre : *Carthamus* ;

Espèce: *caeruleus*

Plusieurs noms vernaculaires sont attribués au carthame (Tableau 1).

Tableau 1: différentes appellations de *Carthamus caeruleus* L

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

I.1.5. Utilisations en médecine traditionnelle

Les racines de *Carthamus caeruleus* sont très utilisées dans le traitement des brûlures dans la région de Boumerdes, Tlemcen, Tizi ouzou et Sétif, sous forme de pommade. Cette dernière est préparée à partir des racines préalablement lavées et épluchées, puis bouillies dans du lait ou de l'eau. Ces racines sont ensuite écrasées, réduites en pommade, appliquée sur les brûlures.

I.1.6. Données pharmacologiques

En corrélation avec leur usage traditionnel, deux études ont été menées afin de confirmer les effets pharmacologiques de *Carthamus caeruleus*. La première menée par (Baghiani et al., 2010) a démontré une forte activité antioxydante. La seconde s'est focalisée sur l'activité anti microbienne (Karima et al., 2013).

Récemment une équipe de recherche a exploré l'extraction des polyphénols des racines de *Carthamus caeruleus* en utilisant trois types de solvant : l'éthanol, le méthanol et l'hexane. Selon cette étude, l'éthanol demeure le solvant le plus efficace sur le plan rendement sous des conditions optimisées de température (40 C°) et du temps d'extraction statique (30 min et 5 cycles d'extraction) (Toubane et al., 2017).

I.2. Les polyphénols

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative hétérogène entre les différents tissus. Plus de 8000 structures ont été identifiées (Waksmundzka-Hajnos et Sherma, 2010), allant de simples molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins (Dai et Mumper, 2010). Ils sont synthétisés par l'ensemble des végétaux et ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, faible température, carences). Les polyphénols contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume) (Bruneton, 1993).

I.2.1. Biosynthèse des polyphénols

La biosynthèse du noyau aromatique est un processus fondamental de la biochimie végétale. Par conséquent, la définition des composés phénoliques prend en compte, à la fois des éléments structuraux et l'origine biogénétique des composés. Ils se caractérisent par la présence d'un noyau benzénique, portant un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une fonction ester, éther ou hétéroside. Le ou les noyaux aromatiques peuvent être synthétisés soit par la voie du shikimates, soit par celle de l'acétate, ce qui permet de différencier deux classes de composés phénoliques. Par ailleurs, la voie des polyacétates intervient chez les végétaux supérieurs pour des composés possédant déjà un noyau aromatique obtenu par la voie des shikimates. Les composés obtenus sont dits mixtes (flavonoïdes).

I.2.1.1. Voie de l'acide shikimique

La voie de l'acide shikimique est la voie la plus importante pour la biosynthèse des composés aromatiques dans les plantes et les micro-organismes, y compris les acides aminés aromatiques : la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane (Candeias et al., 2018).

Ce sont des métabolites primaires qui servent de précurseurs pour de nombreux produits naturels tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, les coumarines, et les alcaloïdes (Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011). Les deux substrats phosphoenolpyruvate et l'érythrose-4-phosphate sont des précurseurs qui dérivent respectivement de la glycolyse et de la voie des pentoses phosphate. Ils sont condensés pour former le 3-deoxy-D-arabino-heptulosonate 7-phosphate (DAHP). Cette réaction est catalysée par l'enzyme DAHP synthase (2-dehydro-3-deoxyarabinoheptulosonate-7-phosphate synthase).

La série des réactions enzymatiques conduit respectivement à la formation de : l'acide 3-déhydroquinique par l'enzyme 3-déhydroquinatase synthase ; l'acide 3-déhydroshikimique par l'enzyme 3-déhydroquinatase déshydratase et finalement l'acide shikimique par l'enzyme shikimate déshydrogénase. L'acide shikimique est encore converti en shikimate 3-phosphate par l'enzyme shikimate kinase, et plus tard en 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate (EPSP) par l'enzyme 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase, EPSP est alors converti en acide chorismique par la chorismate synthase. L'acide chorismique est à un point de branchement pour la biosynthèse des acides aminés aromatiques : le tryptophane, la phénylalanine et la tyrosine. La phénylalanine et la tyrosine sont des précurseurs d'une importante classe des composés phénoliques ; les phénylpropanoïdes, aussi bien que plusieurs d'autres classes des composés phénoliques. Ceci exige la conversion de l'acide chorismique en acide préphénique, catalysée par la chorismate mutase et en acide arogénique catalysé par le préphénate aminotransférase. L'enzyme arogénate déshydratase convertit l'acide arogénique en phénylalanine, tandis que l'enzyme arogénate déshydrogénase génère la tyrosine (Wilfred et Nicholson, 2006). La désamination de la phénylalanine grâce à l'action de la Phénylalanine Ammoniac Lyase (PAL) conduit à l'acide t-cinnamique le premier phénylpropane formé. La PAL est l'enzyme constituant le point de branchement entre le métabolisme primaire du shikimate et le métabolisme secondaire des phénylpropanoïdes. L'acide t-cinnamique est ensuite transformé en acide coumarique puis en 4-coumaroyl-coenzyme A, respectivement par l'action des enzymes cinnamate-4-hydroxylase (C4H) et CoA-ligase (4CL). Cette étape conduit directement à la voie du phénylpropanoïde conduisant à la synthèse des différents composés phénoliques (Le Roy et al., 2016) (Figure 2).

Une grande diversité caractérise ces phénylpropanoïdes spécifiques du règne végétal.

Le squelette carboné subit, de manière régiospécifique, des réactions d'hydroxylation, de méthylation, de glycosylation, d'acylation, de prénylation ou encore de sulfatation.

Ces réactions biochimiques sont catalysées par des enzymes spécialisées appartenant à des familles multigéniques telles que les monooxygénases, les méthyltransférases, les glucosyltransférases ou encore les acyltransférases. Cette variabilité structurale reflète la multitude des activités et des fonctions biologiques de ces composés. Ceci implique une régulation fine des étapes enzymatiques intervenant dans cette voie métabolique, que ce soit au cours du développement de la plante ou en réponse à divers stimulus environnementaux. La régulation du métabolisme des phénylpropanoïdes et de la voie de l'acide shikimique est coordonnée, afin de mieux contrôler le flux de carbone injecté dans la voie des phénylpropanoïdes, par l'intermédiaire de la PAL (Tohge et R Fernie, 2017).

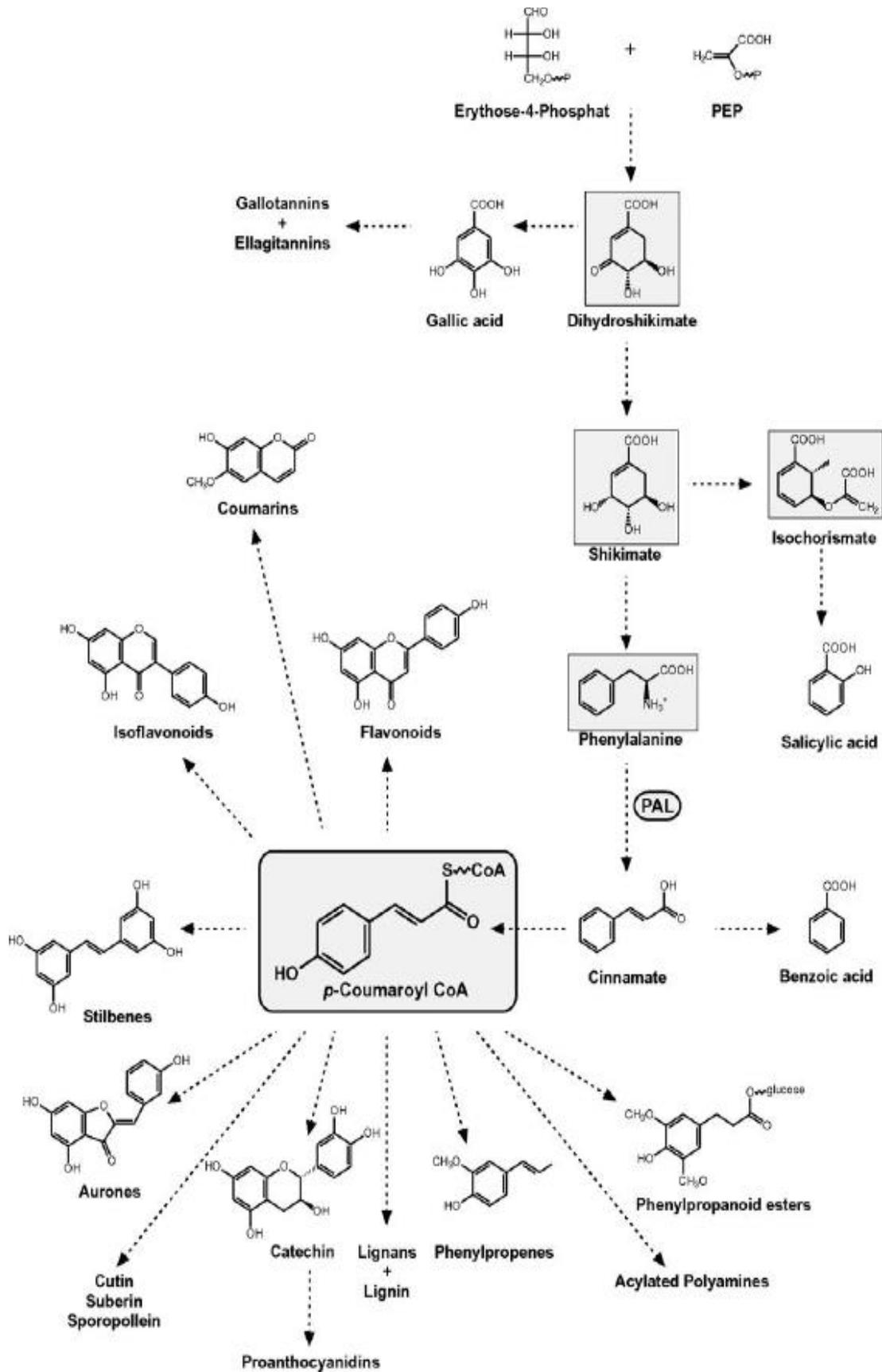
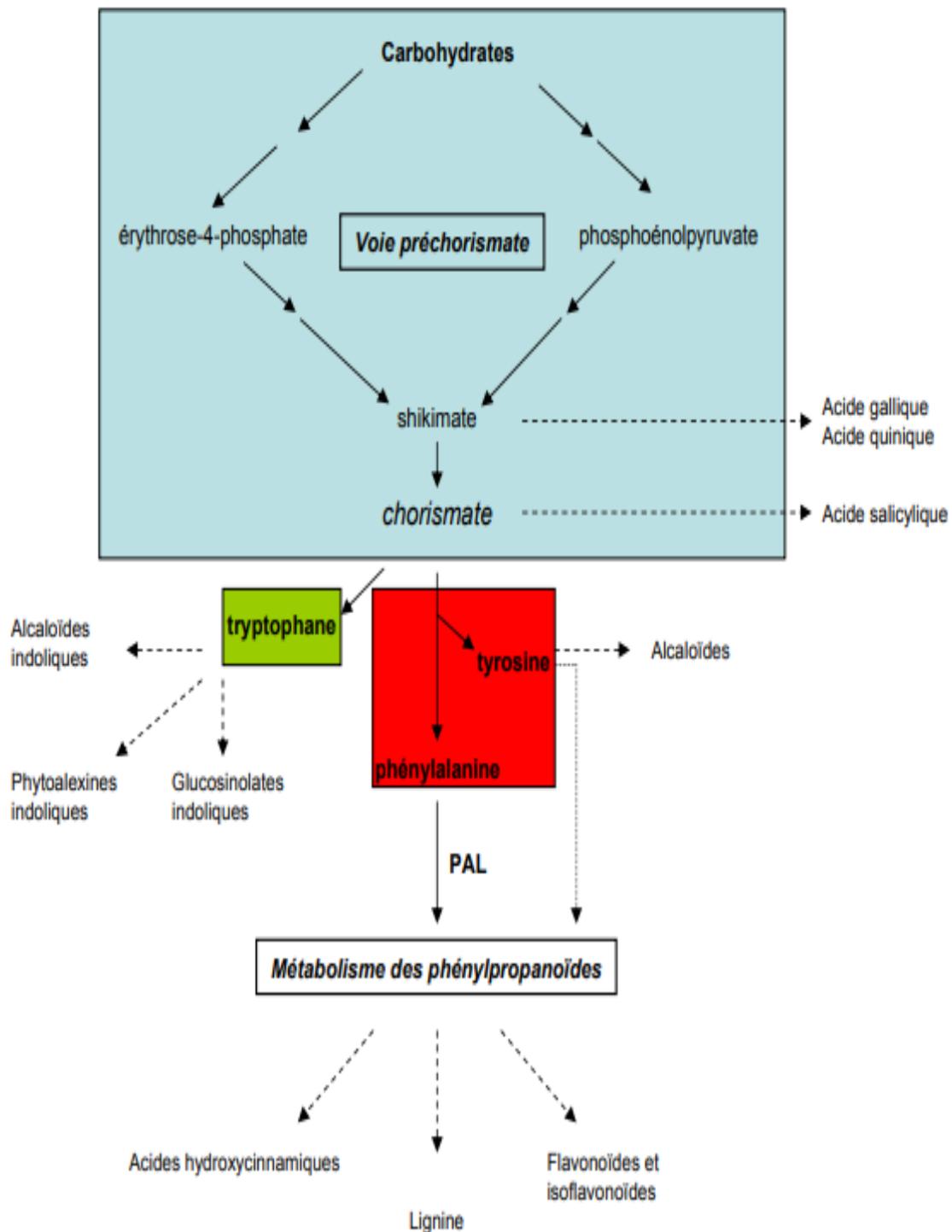


Figure 2 : métabolisme générale du phénylpropanoïde (Vogt, 2010)

La figure 3 résume la variété de motifs moléculaires synthétisés par la voie des shikimates.



En bleu : la voie préchorismate.

En vert : la branche conduisant à la synthèse du tryptophane.

En rouge : la branche conduisant à la phénylalanine et à la tyrosine.

Figure 3 : biomolécules issues de la voie du shikimate chez les plantes (Zidorn, 2018)

I.2.1.2. Voie de l'acétate / malonate

La glycolyse et la β -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl CoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (Akroum, 2011).

I.2.2. Classification des polyphénols

I.2.2.1. Les acides phénols

Les acides phénols, ou acides phénoliques, sont caractérisés par une fonction acide et plusieurs fonctions phénols. Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature. Ils se divisent en deux catégories : ceux dérivés de l'acide benzoïque, et ceux dérivés de l'acide cinnamique. Les premiers sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinée à l'état d'esters ou d'hétérosides. A titre d'exemple, l'acide gallique qui est un élément principal de la structure des tannins hydrolysables. Les seconds sont souvent estérifiés. Les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide *p*-coumarique et l'acide sinaptique dont certains sont représentés dans la figure suivante (Heleno et al., 2015). L'artichaut (*Cynara scolymus* L., Asteraceae) ou encore le romarin (*Rosmarinus officinalis* L. Lamiaceae) contiennent des esters de l'acide caféique (Figure 4) (Adzet et al., 1987).

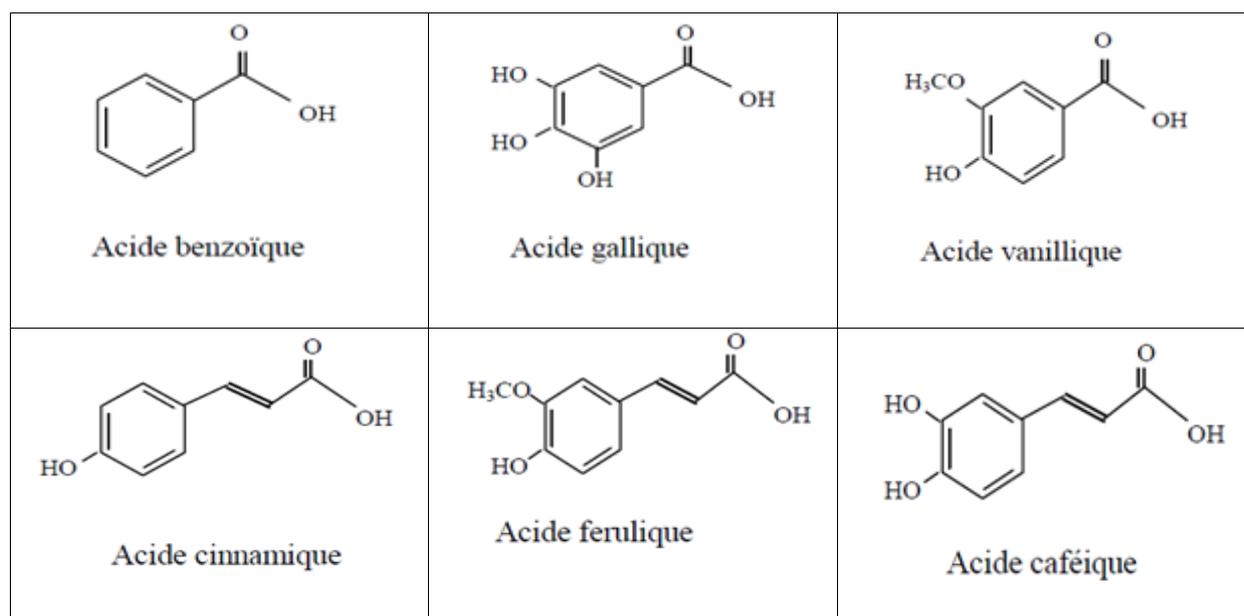


Figure 4 : exemple de quelques acides phénols (Bruneton, 2009)

I.2.2.2. Les coumarines

Les coumarines sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, lactones des acides *ortho*-hydroxy- Z-cinnamiques. L'isomérisation de la double liaison E en Z est réalisée par la lumière à 320 nm. Près d'un millier d'entre elles ont été décrites, et si les plus simples sont très largement distribuées dans le monde végétal, les plus complexes sont surtout décrites chez les Apiaceae et les Rutaceae. Les coumarines sont fréquemment hydroxylées en position 7 et ces hydroxyles peuvent être méthylés ou engagés dans une liaison hétérosidique. L'esculoside, présent dans l'écorce du Marronnier d'Inde, est considéré comme vasculoprotecteur et veinotonique ; c'est le principe actif de médicaments antihémorroïdaires. La prénylation du noyau benzénique des coumarines aboutit à la formation de furano et pyranocoumarines. Elles sont responsables de la phototoxicité de certaines espèces végétales (*Apiaceae* ou *Rutaceae*), qui se manifeste par une dermatite aiguë. Le bergaptène est d'ailleurs utilisé pour ses propriétés photodynamisantes dans le traitement du psoriasis, et certaines coumarines sont aussi utilisées dans les produits solaires (Figure 5) (Kaur et al., 2015).

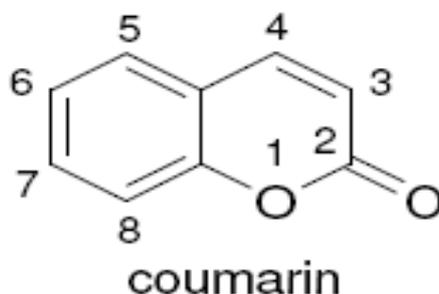


Figure 5 : structure des coumarines (Kaur et al., 2015)

I.2.2.3. Les lignanes

Les lignanes résultent de la condensation d'unités phénylpropaniques. Quatre groupes peuvent être considérés : les lignanes (liaison entre deux carbones β des chaînes latérales de deux unités dérivées du phénylpropane), les néolignanes (un seul carbone β est en jeu), les "oligomères", (condensation de 2 à 5 unités phénylpropaniques) et enfin les norlignanes avec un squelette en C17. Les néolignanes sont surtout présents chez les espèces primitives (Magnoliales, Pipérales) alors que les lignanes se trouvent souvent dans le bois des Gymnospermes et dans les tissus soumis à lignification chez les Angiospermes.

La podophyllotoxine, extraite du rhizome de podophylle (*Podophyllum peltatum*), est une résine aux propriétés antimitotiques, source de dérivés semisynthétiques antinéoplasiques, tel le téniposide (Figure 6) (Saxena et al., 2010).

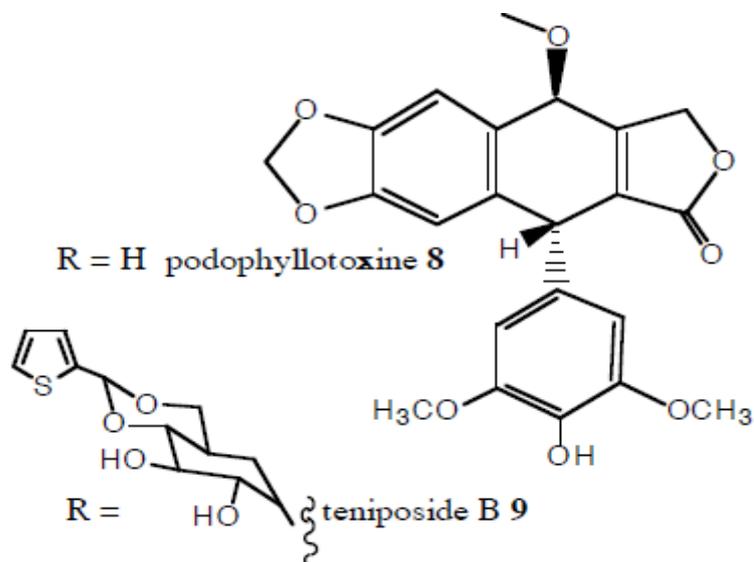


Figure 6: exemple de quelques lignanes (Saxena et al., 2010)

I.2.2.4. Les tanins

Les tanins sont définis comme des composés phénoliques hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000, ayant la propriété de précipiter la gélatine et d'autres protéines et de se colorer par les sels ferriques (Chung et al., 1998). Sur le plan chimique, les tanins sont des polyphénols classés en deux catégories : les tanins hydrolysables et les tanins condensés, qui diffèrent par leur structure chimique et leur origine biogénétique (Schofield et al., 2001) (Figure 7).

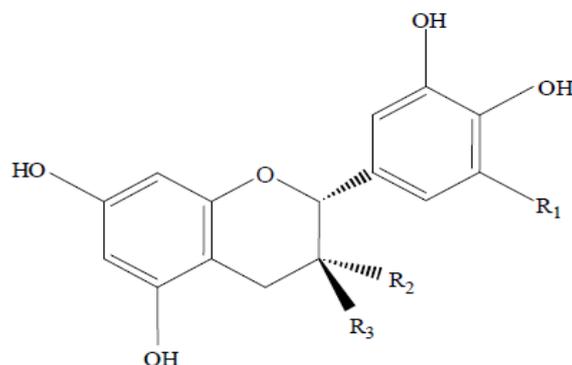


Figure 7 : structure chimique des flavan-3-ols (Bruneton, 1999)

I.2.2.5. Les quinones

Les quinones résultent de l'oxydation de dérivés aromatiques caractérisés par un motif 1,4-dicéto-cyclohexa-2,5-diéniq (para-quinones) ou par un motif 1,2-dicéto-cyclohexa-3,5-diéniq (ortho-quinones).

La dione peut être conjuguée aux doubles liaisons d'un noyau benzénique (benzoquinones) ou à celles d'un système aromatique polycyclique condensé : naphthalène (naphtoquinones), anthracène (anthraquinones), naphtodianthrène (naphtodianthrone) (Figure 8).

On retrouve des motifs quinoniques dans différentes classes de composés secondaires, par exemple à squelette terpénique, présents en particulier chez les Lamiacea (Valant-Vetschera et al., 2003) . Si les naphtoquinones sont sporadiques chez les Angiospermes, les anthraquinones sont, elles, largement répandues, présentes à la fois chez les champignons et lichens et chez les Angiospermes. Beaucoup de naphtoquinones, comme la juglone (Wang et al., 2016), sont antibactériennes et antifongiques conférant, par exemple, à certains bois tropicaux leur résistance aux attaques des micro-organismes. Des activités anti-tumorales sont décrites (Wang et al., 2016; Zhang et al., 2012). Par ailleurs, certaines quinones ont un fort pouvoir allergisant provoquant des dermatites et des réactions prurigineuses (Lepoittevin et Benezra, 1991).

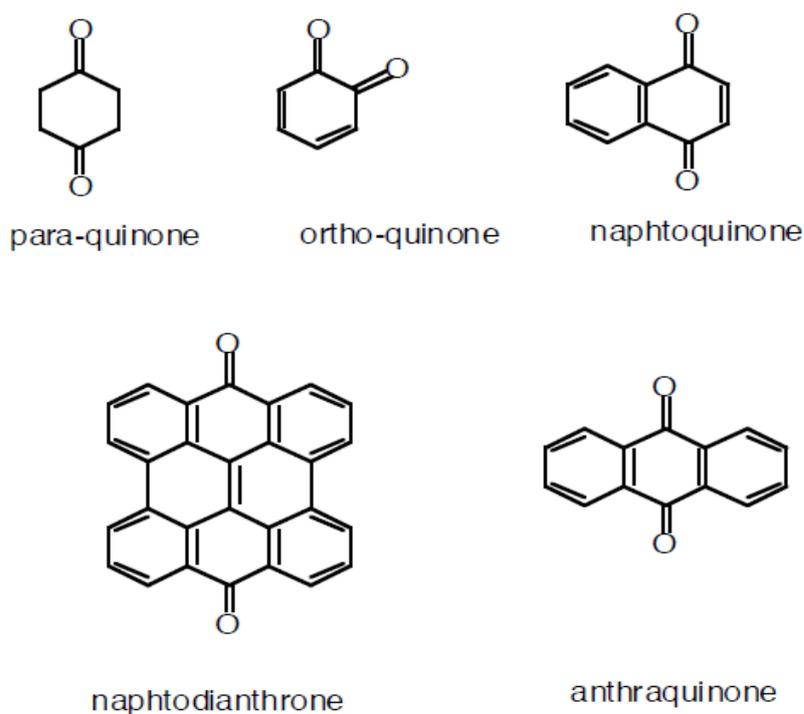


Figure 8 : quelques motifs quinoniques .(Joshi et al., 1985)

I.2.2.6. Les flavonoïdes

Ces molécules bioactives ont un squelette de base formé par deux cycles en C6 (A et B) reliés entre eux par une chaîne en C3 qui peut évoluer en un hétérocycle (cycle C) (Figure 9).

Ils responsables d'engendrer des couleurs allant du jaune clair au jaune or, se divisent, en 6 groupes : flavones, flavonols, flavonones, isoflavones, chalcones, et auronnes.

Ces composés peuvent exister sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, c'est à- dire liée à des oses et autres substances (Harborne, 2013).

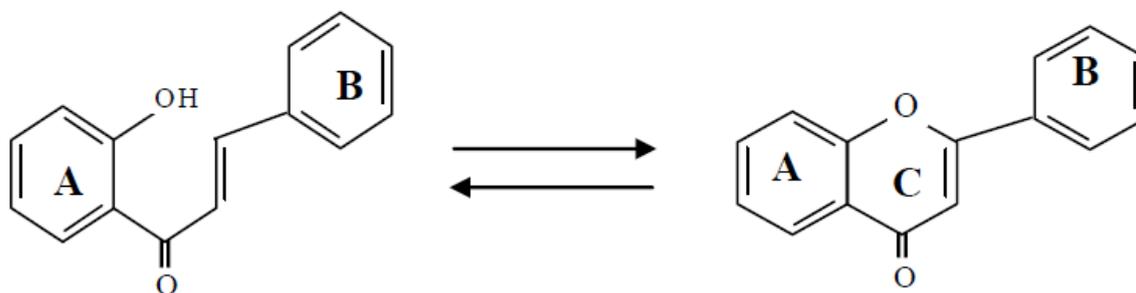


Figure 9: structure de base des flavonoïdes (Harborne, 2013)

I.2.2.7. Les anthocyanes

Les anthocyanes donnent des couleurs très variées : bleu, rouge, mauve, rose ou rouge. Ces molécules forment, comme les flavonoïdes, un squelette de base en C15 formé de deux cycles A et B, et d'un hétérocycle (cycle C), chargé positivement. Cette charge est due à leur structure de base commune : le cation flavylum ou 2-phenyl-1-benzopyrylium (Cooke et al., 2005). Ces métabolites sont, généralement, estérifiées par des sucres pouvant être eux-mêmes estérifiés par l'acide acétique, *p*-coumarique ou caféique, notamment le glucose (Figure 10). Les anthocyanes sont solubles et s'accumulent dans les vacuoles des cellules de l'épiderme des feuilles et au niveau de la pellicule des fruits. Les trois principaux anthocyanes sont : la pélagonidine : possédant un OH en 4' et engendrant une couleur rouge-orange, la cyanidine : possédant deux OH en 3', 4' ou en 4', 5' et engendrant une couleur rouge magenta et la delphinidine : possédant trois OH en 3', 4', 5' et engendrant une couleur mauve.

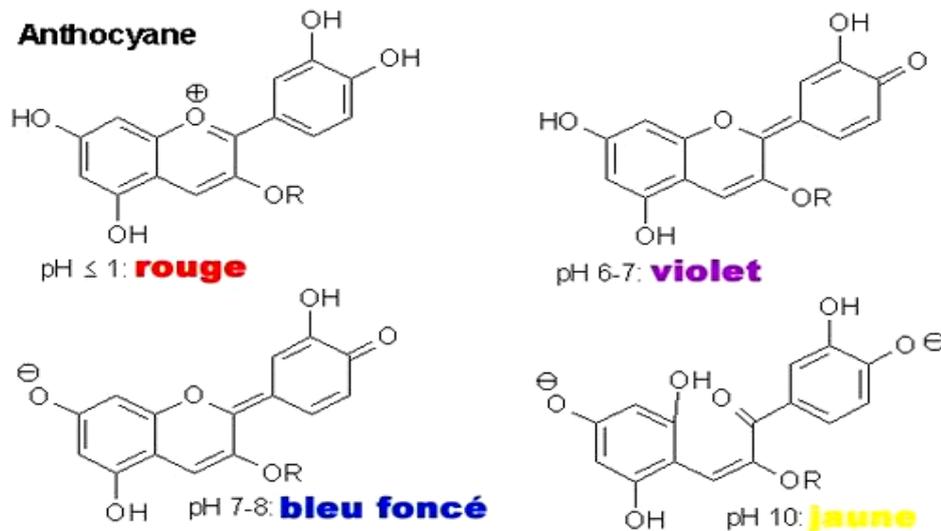


Figure 10: structure de base des Anthocyanes (Cooke et al., 2005)

Il est important de signaler que les anthocyanes sont impliqués dans la défense des végétaux contre les champignons. En effet, des anthocyanidines sont induites par une infection à *Colletotrichum* spp. chez *Sorghum bicolor* (Nicholson et al., 1988) et leur activité antifongique a été démontrée (Czarny et al., 2014).

I.2.2.8. Les flavanes

Les flavanes sont sous forme de monomères (ex : la catéchine) ou sous forme de polymères (dimères, trimères de catéchine). Elles peuvent exister sous forme de plusieurs stéréoisomères provenant de deux carbones asymétriques : C2 et C3. Les flavanes sont très répandues dans les écorces végétales (Figure 11) (Villeneuve et Vergnet, 1988).

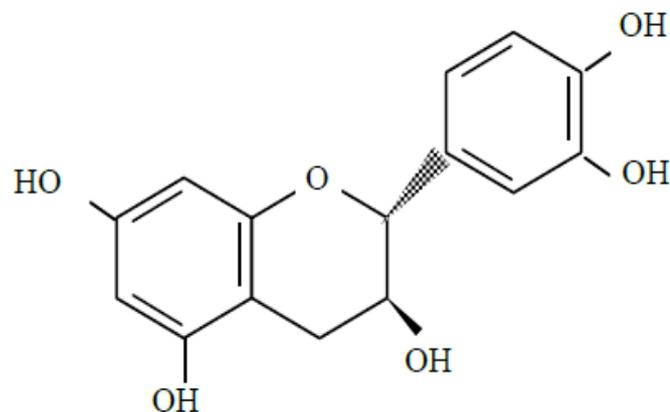


Figure 11: structure de la (+) – catéchine (Villeneuve et Vergnet, 1988)

I.3. Biodisponibilité des polyphénols

La biodisponibilité d'un nutriment varie, non seulement en fonction de l'aliment ingéré, mais aussi en fonction des conditions physiologiques propres à l'individu qui consomme l'aliment : l'absorption par les cellules de l'intestin, le transport vers les organes et l'utilisation par l'organisme (Heaney, 2001). Les phytomicronutriments ayant le plus fort « potentiel santé » sont, d'après les connaissances actuelles, les caroténoïdes, les composés phénoliques et les phytostérols (Borel, 2014). Les effets des polyphénols sur la santé sont indissociables de la notion de biodisponibilité, qui intègre un grand nombre de paramètres comme l'absorption intestinale, l'excrétion des métabolites dans la lumière intestinale, le métabolisme par la microflore, le métabolisme intestinal et hépatique, les propriétés des métabolites circulants (structures, cinétiques d'apparition et d'élimination, liaison à la sérum albumine et autres protéines du plasma), la captation cellulaire, le métabolisme dans les tissus cibles, la sécrétion biliaire et l'excrétion urinaire (Zhong et al., 2017).

I.3.1. Absorption des polyphénols à partir de l'intestin grêle

Les aglycones et les O- β -D-glucosides peuvent être notablement absorbés dans le petit intestin, les premiers par diffusion passive, les seconds selon deux mécanismes : une absorption directe des glucosides *via* le transporteur de glucose sodium-dépendant, suivie par une hydrolyse des glucosides dans le cytosol par une β -glucosidase cytosolique, ou en impliquant la lactase phloridzine hydrolase, une glucosidase de la bordure en brosse de l'intestin qui catalyse l'hydrolyse extracellulaire des glucosides, suivi par l'absorption de l'aglycone ainsi libéré par diffusion passive (Almeida et al., 2018).

I.3.2. Conjugaison des polyphénols

L'absorption des polyphénols dépend de leur poids moléculaire. A cause des grandes différences de poids moléculaire et de leur hydrosolubilité, les proanthocyanidines sont faiblement absorbées dans l'intestin grêle et rapidement métabolisés et éliminés (Dangles et al., 2017). Après hydrolyse, les formes aglycones sont absorbées par les entérocytes intestinaux où ils seront glucuronidés par l'UDP-GT5 (UDP-glucuronyl transférase) durant leur transfert de l'intestin vers la veine porte hépatique. La même réaction a également lieu dans les cellules hépatiques. La dose ingérée détermine également le site primaire du métabolisme.

Les doses supérieures aux apports journaliers recommandés (de l'orge du mg/ jour) à la dose physiologique sont métabolisées d'abord dans le foie, tandis que les doses physiologiques sont métabolisées d'abord au niveau de la muqueuse intestinale (Williamson, 2017). Ces formes glucuronées sont les plus importantes trouvées dans le foie et dans d'autres organes. Les polyphénols contenant un noyau catéchol (catéchines et quercétine) peuvent être méthylés par la COMT6 (catéchol-O-méthyltransférase). Il existe aussi d'autres voies de métabolisation comme la sulfatation par les sulfotransférase 7. Ces processus de conjugaison représentent un processus de détoxification métabolique commun à tous les xénobiotiques, pour faciliter leur élimination biliaire et urinaire en augmentant leur hydrophilie (Goszcz et al., 2017).

I.3.3. Transport et concentration plasmatique des polyphénols

Les métabolites circulants sont liés à des protéines, en particulier à l'albumine. L'affinité des polyphénols pour cette protéine varie en fonction de leur structure chimique. Cette liaison a des conséquences sur la délivrance des métabolites aux cellules et tissus (D Archivio et al., 2007). Une variation de pH induit un changement de conformation de l'albumine, conduisant à la dissociation du complexe.

L'absorption cellulaire pourrait être proportionnelle à la concentration de métabolites non liés. Les concentrations plasmatiques atteintes après consommation dépendent de la nature des polyphénols et de la source alimentaire (Passon et al., 2018).

I.3.4. Excrétion des polyphénols

Les polyphénols sont principalement éliminés par les urines et la bile. Les métabolites hautement conjugués sont préférentiellement éliminés via la bile tandis que les moins conjugués comme les monosulfatés sont préférentiellement excrétés via l'urine.

La quantité totale de métabolites éliminés dans les urines est hautement corrélée à la concentration plasmatique maximale. Le pourcentage d'excrétion urinaire est plus important pour les flavanones des agrumes (4-30% de la consommation) que pour les flavonols (0,3- 1,4%). Pour les catéchines, on en retrouve dans les urines : 0,5 à 6% pour le thé (D Archivio et al., 2007). Ce pourcentage est très faible pour les anthocyanes; moins de 0.1 % des anthocyanes ingérées de baies se retrouvent dans les urines. De plus, une faible teneur est retrouvée dans le plasma sanguin 30 min à 1 heure après ingestion (Bohn, 2014)

Cette faible disponibilité peut être due au fait qu'il existe, dans cette sous-classe, un nombre de structures moléculaires élevé et qu'il existe un nombre important de métabolites pouvant être générés (D Archivio et al., 2007).

I.4. Etude de la toxicité des polyphénols

L'étude de la toxicité concerne des domaines très variés. En effet, l'homme est constamment exposé à la toxicité des médicaments en passant par les végétaux, les animaux, les produits industriels et bien d'autres (Scalbert et al., 2002). Toutes les substances chimiques administrées présentent une certaine toxicité au-delà d'une certaine dose.

Ainsi, une drogue possédant des effets pharmacologiques peut être utilisée comme médicament, si la toxicité des doses administrées est négligeable.

Les essais de toxicité accompagnent donc les essais d'activités biologiques au cours de la sélection de nouvelles molécules. La toxicité peut être appréciée entre autre par la détermination de la DL50.

Elle est dans sa forme la plus simple la dose d'un composé qui provoque une mortalité de 50% dans une population d'animaux ayant reçus une administration unique d'un produit dans des conditions expérimentales bien définies. Cette détermination est fondée sur l'évaluation des réponses de tout ou rien: mort ou survie des animaux (Scalbert et al., 2005).

I.4.1. Toxicité aiguë

La toxicité aiguë peut se définir comme celle qui provoque la mort ou de très graves troubles physiologiques après un court délai suivant l'absorption par voie transtégumentaire, pulmonaire ou buccale, en une fois ou en plusieurs répétitions d'une dose assez importante d'un composé nocif (Miralles-Cuevas et al., 2017). L'étude de la toxicité aiguë est aussi qualitative et quantitative des phénomènes toxiques qu'il est possible de rencontrer après l'administration de la substance active. Elle décrit les symptômes observés, y compris les phénomènes locaux et permet : l'indication de la dose maximale sans effet toxique (DME), c'est à dire la dose la plus élevée pour laquelle aucun effet toxique n'est relevée par rapport au lot témoin; la notation de la dose minimale pour laquelle la mort survient à tous les animaux de l'expérimentation et la détermination de la DL50 (Lorke, 1983).

I.4.2. Toxicité subaiguë

Dans ce type de toxicité, une proportion significative de la population peut survivre à l'intoxication, bien que tous les individus aient présenté des signes cliniques se produisant

à court terme sur des organes cibles, parfois réversibles et découlant de l'absorption répété du toxique, mais à des dose plus faible que celle de la toxicité aiguë (Cimanga et al., 2018b).

I.4.3. Toxicité à long terme

C'est l'exposition à de très faibles concentrations, parfois même infimes, à des substances dont la répétition d'effets cumulatifs finit par provoquer des troubles beaucoup plus insidieux et irréversibles. Il est à signaler que des troubles de toxicité se manifestent souvent après une longue imprégnation de l'organisme (Ali et al., 2017). Des essais de toxicité par administration réitérée chez l'animal sont toujours effectués lorsqu'une molécule présente un éventuel intérêt thérapeutique (Deng et al., 2018).

I.5. Stress oxydatif

Des molécules prooxydantes appelées radicaux libres ou espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont produites quotidiennement dans l'organisme. Ces dernières sont cependant contrôlées par les antioxydants. Un stress oxydatif survient lorsque l'équilibre est rompu en faveur des radicaux libres. Toute fois, une production excessive de ces molécules réactives ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut déséquilibrer la balance oxydant/antioxydant (Okuno et al., 2018).

I.5.1. Origines cellulaire des espèces réactives de l'oxygène

Les mitochondries, siège majoritaire de la synthèse des radicaux superoxydes, sont des organites présents dans le cytoplasme de toutes les cellules eucaryotes. Elles constituent un système de transport énergétique au cours duquel l'énergie chimique contenue dans les aliments est transformée, par phosphorylation oxydative, en liaisons phosphate à haute énergie (ATP) (Maity et al., 2018). Durant la respiration, quatre électrons sont ajoutés à l'oxygène par le complexe IV de la chaîne respiratoire, cependant l'oxygène peut être réduit en formant des espèces réactives de l'oxygène telles que l'O₂ • et le HO •. La production de ces espèces réactives est nettement accélérée lors de la réduction du flux respiratoires, notamment au cours des maladies (Go et al., 2018).

I.5.2. Mécanismes d'action des radicaux libres

La génération des espèces réactives de l'oxygène dénommées ROS (Reactive Oxygen Species) se produit naturellement au cours de la respiration cellulaire (Tarnawski *et al.*, 2006).

Les ROS dont les plus courants : le radical hydroxyl ($\bullet\text{OH}$), l'anion superoxyde ($\bullet\text{O}_2^-$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le dioxygène singulet ($^1\text{O}_2$) endommagent la vie cellulaire en causant l'oxydation des lipides, des protéines et de l'acide désoxyribonucléique (ADN) (Poprac et al., 2017).

I.5.3. Les défenses antioxydantes

Un antioxydant est une substance présente en faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable qui, de manière significative retarde ou empêche l'oxydation de ce substrat. Il peut agir en supprimant les ROS, ou en empêchant leur formation, ou encore en réparant les dommages causés par ceux-ci. Un bon antioxydant se devra de respecter quelques critères (Martín et al., 2015) :

- Être capable de piéger directement et spécifiquement les radicaux libres ;
- Interagir avec d'autres antioxydants, et, dans la mesure du possible, les régénérer ;
- Être rapidement absorbé ;
- Avoir une concentration qualifiée de « physiologique » dans les tissus et les fluides biologiques ;
- Être efficace en milieu aqueux et/ou dans le milieu membranaire.

I.5.3.1. Système antioxydant enzymatique

Les enzymes antioxydant chez les mammifères ainsi que chez les plantes sont le superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion peroxydase. Le rôle majeur du superoxyde dismutase (SOD) est de catalyser la dismutation des ions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire. La catalase, essentiellement présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes, est capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. L'activité du glutathion peroxydase (GPx), est de détoxifier le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes d'origine lipidique en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur.

D'autres enzymes jouent un rôle non négligeable dans la lutte antioxydante, l'ensemble formant un système complexe : glutathion réductase, thioredoxine reductase, et glutathion transférase (Lubrano et Balzan, 2015).

I.5.3.2. Système antioxydant endogène non enzymatiques

Les systèmes antioxydants non-enzymatiques endogènes incluent de nombreux thiols dont le majoritaire est le glutathion, largement présent sous forme réduite, capable de réagir, *in vitro*, avec les radicaux HO•, RO₂•, RO•, IO₂, ONOO- et l'acide hypochloreux HOCl.

Le glutathion est aussi capable de participer à l'activité enzymatique ont détoxifiant le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes (Pisoschi et Pop, 2015).

I.5.3.3. Système antioxydant exogène

Les antioxydants chimiques exogènes, comprennent majoritairement les vitamines C et E, les caroténoïdes et des composés phénoliques (Hamid et al., 2018).

La vitamine C ou acide ascorbique est une molécule hydrosoluble présente dans la plupart des fruits et légumes (non synthétisée par l'Homme). Elle est connue pour son action protectrice contre l'oxydation membranaire (Rodríguez-Roque et al., 2015). Son caractère antioxydant provient de sa forme ionisée abondante (AsC^{H-}) qui peut aisément réagir avec des radicaux et produire le radical ascorbate tricarbonyle (AsC^{H•}), stabilisé par résonance.

Du fait de son très faible pK, la forme non protonée radicalaire faiblement réactive est privilégiée (AsC^{•-}) (Valko et al., 2016). La vitamine E est le terme générique utilisé habituellement pour désigner les différents tocophérols et tocotriénols (ensemble de 8 molécules dont 4 tocophérols et 4 tocotriénols).

Ce sont de bons antioxydants alimentaires, dont leur rôle physiologique chez l'homme, comme protecteurs des structures membranaires et des lipoprotéines ou pour lutter contre le stress oxydant, est très important. Elle prévient l'apparition d'hydroperoxydes en piégeant les radicaux LOO•. Les caroténoïdes (Car) sont des pigments issus des plantes et microorganismes, et sont regroupés en deux grandes familles : les carotènes et les xanthophylles. On en dénombre environ 600 présents dans la nature. L'activité antioxydante de ceux-ci est liée à leur longue chaîne polyénique qui leur permet de réagir avec les radicaux ROO•, HO•, O₂•-, R• par simple addition électrophile et transfert d'électron. Ils permettent, en particulier, de neutraliser l'oxygène singulet (Kryscio et al., 2017). Les polyphénols, et, en particulier, les flavonoïdes. En effet, de nombreux travaux leur confèrent le rôle d'excellents piègeurs d'espèces réactives directement issues de l'oxygène provenant de biomolécules telles que les lipoprotéines, les protéines et les acides oligonucléiques (ADN, ARN).

Cette faculté, tant étudiée et si reconnue, est fréquemment citée comme étant une clé pour la prévention et/ou la réduction du stress oxydatif en lien direct avec des maladies chroniques comme les maladies cardiovasculaires, la carcinogénèse et les maladies neurodégénératives. Les radicaux libres seraient aussi impliqués dans le processus de vieillissement (Nibir et al., 2017).

I.6. L'inflammation

La réponse inflammatoire est une réponse adaptative engendrée suite à des stimuli nocifs telle qu'une infection ou une agression tissulaire. Elle nécessite une régulation fine, généralement bénéfique, qui conduit à l'élimination d'éventuels pathogènes et au retour à l'homéostasie du tissu lésé (Hotamisligil, 2017).

L'inflammation de courte durée dite inflammation aiguë est un phénomène bénéfique pour l'organisme afin de retrouver son intégrité physiologique. Cependant, l'aspect négatif de l'inflammation intervient quand cette dernière se pérennise et devient une inflammation chronique (Bollen et al., 2017). La réaction inflammatoire est responsable de phénomènes locaux caractérisés par quatre signes cardinaux qui sont la rougeur, la chaleur, la douleur et l'œdème. Mais, elle peut aussi entraîner de multiples effets biologiques et cliniques généraux qui sont d'intensité plus importante en cas de persistance de la réaction inflammatoire. L'inflammation est classée en deux catégories selon la durée et la cinétique du processus inflammatoires : la réaction inflammatoire aiguë et la réaction inflammatoire chronique.

I.6.1. Inflammation aiguë

L'inflammation aiguë est une réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours à quelques semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses (Wirtz et al., 2017).

Les informations les plus récentes révèlent que le sort d'une réponse inflammatoire se déciderait dans les premières heures par un programme de résolution actif et coordonné. Les neutrophiles sont présents dès les premiers instants au site inflammatoire et jouent un rôle déterminant dans l'instauration, la prolongation et la résolution d'une réponse inflammatoire, avec comme molécule clé l'IL-1 β . En effet cette cytokine active les cellules proinflammatoires ainsi que les gènes responsables de la synthèse des médiateurs inflammatoires (Dorward et al., 2015).

I.6.2. Inflammation chronique

L'inflammation chronique est souvent associée avec la persistance d'un antigène. En effet, certains microbes ont des composants dans leur paroi leur permettant de résister à la phagocytose, ce qui induisent souvent une inflammation chronique qui se termine par des dommages tissulaires importants (Von Hundelshausen et al., 2017). D'autres types d'inflammations chroniques sont causés par des maladies auto-immunes caractérisées par la présence d'auto-anticorps activant continuellement les lymphocytes T. Aussi, l'inflammation chronique causée par la présence d'une tumeur cancéreuse peut provoquer des dommages tissulaires importants .(Swidnicka-Siergiejko et al., 2017). L'activation et l'infiltration des macrophages dans les tissus est un incontournable dans l'inflammation chronique.

Les cytokines produites par les macrophages activés stimulent la prolifération des fibroblastes et la production de collagène. Ce processus génère la formation d'un tissu cicatriciel nommé fibrose. Même si la fibrose est un processus de reconstruction du tissu, elle peut compromettre la fonction de ce dernier. Aussi, l'inflammation chronique génère souvent la formation d'une masse «tumeur» appelée granulome (Tian et al., 2017). Cette masse cellulaire est constituée de macrophages activés entourés de lymphocytes. Deux cytokines, IFN- γ et TNF- α , jouent un rôle central dans le développement de l'inflammation chronique.

Les lymphocytes Th1, les cellules NK et les cellules T cytotoxiques produisent de l'IFN- γ alors que les macrophages activés produisent du TNF- α (Soehnlein et al., 2017).

Les macrophages activés par ces cytokines produisent des enzymes protéolytiques et des produits réactifs de l'oxygène et de l'azote responsables des dommages aux tissus environnants. Finalement, le TNF- α et l'IFN- γ agissent en synergie pour augmenter l'expression de molécules d'adhésion intercellulaire (ICAM-1, sélectine-E) et du complexe majeur d'histocompatibilité de classe 1 (CMH-1). L'augmentation de ces dernières protéines d'interaction cellule-cellule favorise l'arrivée de cellules sur le site d'inflammation (Kindt et al., 2007).

I.6.3. Thérapeutiques de l'inflammation

I.6.3.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS) sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, anti-pyrétique et antalgiques (McGettigan et Henry, 2013). À l'heure actuelle, la famille des AINS à laquelle appartient l'acide acétylsalicylique possède de nombreuses indications

thérapeutiques, tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire (Fleck et al., 2018). Avec un large spectre d'activités pharmacologiques de type anti-inflammatoire, analgésique, antipyrétique et antiplaquettaire, les AINS sont aujourd'hui une des classes médicamenteuses les plus utilisées dans le monde (Warner et Mitchell, 2002). Le mécanisme d'action des AINS est essentiellement basé sur l'inhibition de l'activité enzymatique de COX (Ricciotti et al., 2018). Elles permettent ainsi de générer plusieurs types de prostanoides ayant un rôle crucial dans l'inflammation, de limiter la quantité de médiateurs pro-inflammatoires produits lors de ce processus immunitaire, et par conséquent, constituent une stratégie thérapeutique intéressante pour le traitement de l'inflammation. Or, l'activité COX est également indispensable pour le bon fonctionnement de la cellule, ce qui explique en grande partie les effets secondaires des AINS. Le Tableau 2 représente les différentes classes chimiques simplifiées et non exhaustives des anti-inflammatoires non stéroïdiens.

Tableau 2 : classification chimique simplifiée et non exhaustive des anti-inflammatoires non stéroïdiens (Day et Graham, 2016)

Dérivé des acides carboxyliques	Acide salicylique	- Acide acétylsalicylique (aspirine) - Salicylate de sodium - Actylsalicylate de lysine (aspégic)
	Acide propionique	-Ibuprofène -Fénopropène -Kétopropène -Naproxène -Carprofène -Flubriprofène
	Acide amino-nicotinique	-Flunixin -Clonixin
	Acide acétique	-Indométacine -Kétarolac -Diclofénac -Sulindac
	Acide anthraniliques	Acide méclofénamique -Acide tolfénamique -Acide mэфénamique
	Quinolines	-Cincophène
Dérivés des acides énoliques	Oxicam	-Méloxiam -Piroxicam -Tenoxicam

	Pyrazolone	-Phénylbutazone -Oxyphenbutazone -Dipyronne
--	------------	---------------------------------------------------

I.6.3.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol.

Ils représentent le traitement le plus efficace utilisé pour les maladies inflammatoires chroniques tel que l'asthme, l'arthrite rhumatoïde, les maladies inflammatoires de l'intestin et les maladies auto-immune (Crupi et Cuzzocrea, 2018).

Comme pour les AINS, l'usage des glucocorticoïdes est associé à de nombreux effets indésirables. Le risque d'apparition de ces derniers s'accroît avec le prolongement de la durée du traitement et l'augmentation de la posologie. Les troubles observés peuvent être aigus tel que l'hypertension artérielle, la dérégulation de la synthèse naturelle de glucocorticoïdes à la fin du traitement. Ils peuvent être chroniques tel que l'ostéoporose, les cataractes et la prise de poids (Caplan et al., 2017).

I.6.3.3. Plantes médicinales anti-inflammatoires

Les plantes médicinales sont considérées comme une source de nouvelles molécules avec plusieurs activités biologiques, notamment l'activité anti-inflammatoire (Kazemi et al., 2018).

Parmi la multitude de plantes médicinales indiquant une activité anti-inflammatoire le saule demeure la première plante médicinale à activité anti-inflammatoire.

De nombreuses études *in vitro* et *in vivo* ont mis en évidence l'action inhibitrice de l'extrait aqueux d'écorce de saule sur la synthèse des prostaglandines avec une efficacité comparable à l'indométacine ou à l'acide acétylsalicylique (Untergehrer et al., 2018).

En plus de l'inhibition de la voie de la cyclooxygénase, l'extrait d'écorce de saule présente une activité inhibitrice de la voie des lipoxygénases (Koeberle et Werz, 2018).

L'extrait montre une bonne activité inhibitrice sur la libération des leucotriènes LTB₄ aussi bien à faible dose (50 mg/kg) qu'à haute dose (150 mg/kg) et est plus efficace que l'acide acétylsalicylique dans la suppression des leucotriènes (Kyriakopoulos et al., 2017). La famille des Astéracées contient un grand nombre d'espèces médicinales possédant des principes actifs divers (Sülsen et al., 2017).

Dans de nombreux cas, l'effet thérapeutique de ces plantes médicinales a été corrélé à la présence de métabolites secondaires de types lactones sesquiterpéniques, caractéristiques de cette famille (Lobstein et al., 2017). Le genre *Carthamus* a révélé la présence de plusieurs composés bioactifs tels que le carthamine, le carthamone, le caryophyllène, le décanal, le décane, P-le cymène, le quinochalcone, le tinctormine de *Carthamus tinctorius* (Lou et al., 2017), les flavonoïdes, des glycosides et des sérotonines de *Carthamus lanatus* (Stagos et al., 2018), Plusieurs auteurs ont rapportées des activités pharmacologiques pour le genre *Carthamus* (Lou et al., 2017) .

En effet l'extrait de *Carthamus tinctorius* montre une forte inhibition des cyclooxygénases COX-1 et COX-2 (Wang et al., 2014).

L'activité anti-inflammatoire de *Carthamus lanatus* a été évaluée *in vivo* avec le test de l'œdème de patte de souris induit par carragénine montrent une bonne activité inhibitrice de la réaction inflammatoire (Bocheva et al., 2003).

I.7. Cicatrisation cutanée

La cicatrisation est un phénomène inflammatoire, c'est-à-dire une réponse du tissu conjonctif ou conjonctivo-vasculaire à une agression tissulaire. Elle peut être assimilée à une cascade d'événements cellulaires et biochimiques qui conduit à la restauration de l'intégrité d'un tissu lésé par la formation d'une cicatrice (Parfejevs et al., 2018).

I.7.1. Cicatrisation normale

La cicatrisation est l'ensemble des phénomènes physiologiques naturels aboutissant à partir d'une plaie à la restauration de la structure cutanée. De cette manière les tissus humains et animaux sont capables de réparer des lésions localisées par des processus de réparation et de régénération qui leurs sont propres.

La réparation des lésions est un alignement complexe de différents processus dynamiques, qui ne sont pas encore complètement compris (Kamran et al., 2017). Ce phénomène naturel inclus plusieurs aspects et événements moléculaire et cellulaire.

Le déroulement de la cicatrisation est divisé en trois phases: phase inflammatoire, phase de prolifération et formation de tissu et enfin la phase de remodelage tissulaire (Figure 12).

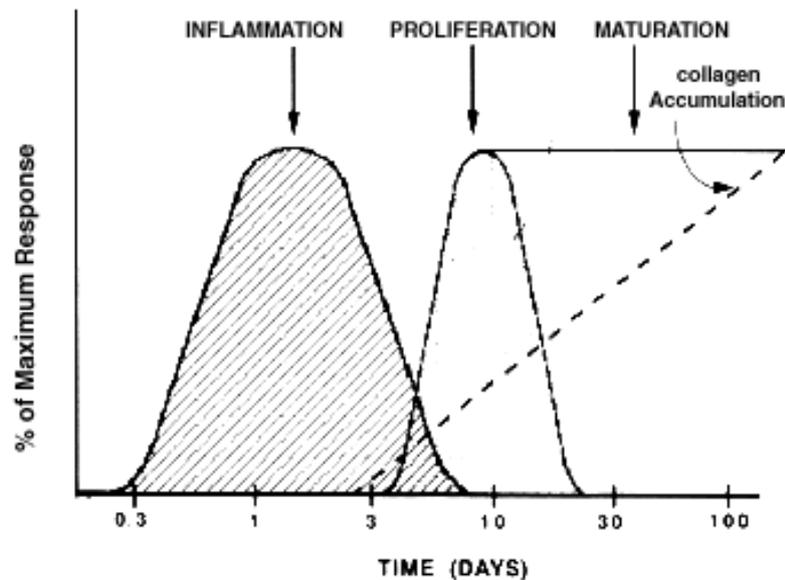


Figure 12: chronologie des différentes phases de la cicatrisation (Wallace et Bhimji, 2017)

La cicatrisation est réglée et synchronisée par un groupe de cytokines, tels que le PDGF, FGF, TNF, IGF, et le TGF α et β . Ces derniers sont sécrétés par les thrombocytes, les macrophages, les neutrophiles, les lymphocytes, cellules endothéliales et les fibroblastes (Morand et al., 2017). Ces facteurs interviennent dans toutes les étapes de la cicatrisation. Lorsqu'elles ne sont ni trop profondes, ni trop étendues, la plupart des plaies ou brûlures cutanées cicatrisent rapidement en quelques semaines. Ces mêmes auteurs signalent 3 phases successives: la phase inflammatoire et formation du caillot (0 à 3 jours), la phase proliférative ou formation de tissu (3 à 12 jours) et la phase de remodelage tissulaire.

I.7.1.1. Phase inflammation et formation de caillot

La plupart des blessures cutanées comportent des effractions vasculaires, qui entraînent l'irruption du sang en dehors des vaisseaux. Le saignement aide à nettoyer la surface de la plaie et fournit des cellules qui jouent un rôle important dans la phase suivante. Après agrégation et dégranulation des plaquettes, la coagulation du sang conduit à la formation d'un caillot fibrino-plaquettaire (Wallace et Bhimji, 2017).

Ce dernier est composé de plaquettes incluses dans un réseau formé en majorité de fibrine ainsi que de fibronectine plasmatiques, de vitronectine et de thrombospondine. Ce caillot permet, en même temps, de rétablir l'étanchéité de la peau et de fournir aux kératinocytes une matrice extracellulaire temporaire pour leur migration. Cependant, les plaquettes incluses dans le caillot jouent un double rôle, la coagulation et la libération de médiateurs inflammatoires, tel que le Platelet-derived growth factor (PDGF), qui attire

et active les macrophages et les fibroblastes (Miron et al., 2017). La libération des différents médiateurs vasoactifs et facteurs chimiotactiques par les plaquettes et les cellules épithéliales activées, permettent le recrutement précoce, des cellules immunitaires inflammatoires au niveau du site de la lésion (Dai et Medzhitov, 2017). Au début, les granulocytes sont majoritaires, et libèrent des enzymes qui dégradent les débris et tissus nécrosés. Le catabolisme au sein de la plaie est intense et du pus, formé de cellules dégénérées, de débris tissulaires et d'exsudat inflammatoire, apparaît (Masur et Bekeschus, 2018).

Ces polynucléaires ont une durée de vie courte : au bout de 24 heures, les monocytes deviennent prédominants. Dans la plaie, ils se transforment en macrophages qui poursuivent le nettoyage de la plaie (Olingy et al., 2017).

I.7.1.2. Phase de prolifération

Au bout de trois jours, le caillot fibrino-plaquettaire se rétracte laissant apparaître le tissu conjonctif sous-jacent qui prend le nom de tissu de granulation, du fait de la présence des granulations roses qui apparaissent à la surface du nouveau derme et qui correspondent aux nombreux capillaires qui l'envahissent. Le tissu de granulation, formé de vaisseaux, de fibroblastes et de substance fondamentale, joue un rôle primordial dans la cicatrisation : il comble la perte de substance, est très résistant à l'infection et sert de support à la migration de l'épithélium à sa surface (Soliman et al., 2018). Cette néo-vascularisation est due à l'angiogenèse, déclenchée et entretenue principalement par le VEGF et le β -FGF, sécrétés par les cellules endothéliales lésées et les macrophages (An et al., 2018). La formation de néo-capillaires permet l'apport de sang et de nutriments indispensables à la fibrogénèse (Miscianinov et al., 2018). Celle-ci commence par la migration de fibroblastes provenant de cellules mésenchymateuses indifférenciées du tissu conjonctif avoisinant et plus particulièrement de l'adventice des vaisseaux sanguins. Ces cellules qualifiées de « fibroblastes migrants » apparaissent en 24 à 48 heures sur les bords de la plaie et progressent dans la plaie, attirées par les macrophages (Buskermolen et al., 2017). Au bout de 3 à 5 jours, les fibroblastes synthétisent la substance fondamentale qui sert de base à la synthèse du collagène à partir du 4^{ème} ou du 5^{ème} jour, dont le dépôt remplace la fibrine (Zubair et al., 2018). Au fur et à mesure que la quantité de collagène augmente dans la plaie, le nombre de fibroblastes diminue (Frahs et al., 2018). Ensuite, les cellules épidermiques des annexes de la peau, tel que les follicules de cheveux, par leur prolifération enlèvent rapidement le sang coagulé et le stroma endommagé au niveau de la lésion (Rognoni et Watt, 2018).

L'expression des récepteurs membranaires aux intégrines, leur permet d'interagir avec des protéines matricielles autre que le collagène-I (Schnittert et al., 2018). Ainsi, la migration et la desquamation au niveau des lésions permettent la séparation entre la croûte et le tissu vivant (Zheng et al., 2018). A la suite de la réépithélialisation, les protéines de la membrane basale réapparaissent dans un ordre bien précis de la marge vers l'intérieur de la blessure.

I.7.1.3. Phase de remodelage

La phase de remodelage débute après fermeture de la plaie, par une régression du tissu granuleux qui peut persister pendant 2 ans. La contraction des plaies est achevée vers le 21^{ème} jour associé à un contenu maximal en collagène.

Initialement nécessaires à la migration et à la prolifération cellulaire, la fibronectine et l'acide hyaluronique sont progressivement lysés et remplacés par le collagène, les fibres élastiques et les glycoaminoglycanes constituant une matrice plus résistante aux forces de traction. Différents éléments interviennent dans ce phénomène, des cellules, tels que les polynucléaires et les macrophages, et des enzymes tel que les protéases synthétisées par les fibroblastes (Baht et al., 2018).

Ces éléments interviennent de façon importante dans les phénomènes de remodelage matriciel, en favorisant la lyse et la synthèse de nouvelles molécules, mieux orientées et organisées. L'âge, les forces de tension et la pression influencent la synthèse et l'organisation des molécules de collagène. Toutefois, les cicatrices sont, dans tous les cas, moins résistantes et moins élastiques que la peau normale, en partie à cause d'un certain déficit en élastine et en raison de la reconstitution d'une matrice relativement désorganisée (Ito et al., 2007) (Figure 13).

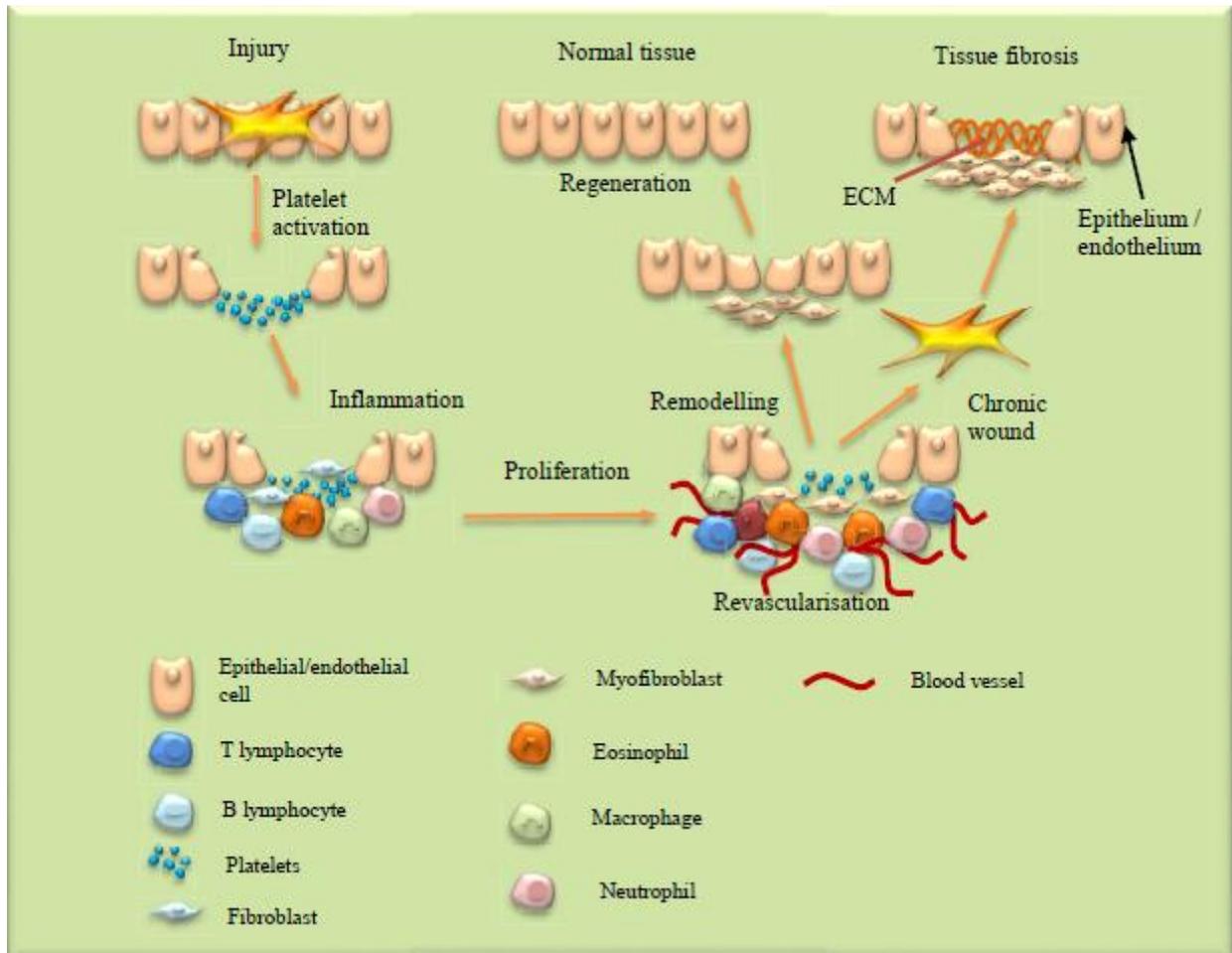


Figure 13: modèle général de réparation de la plaie (Arwert et al., 2012)

I.7.2. La cicatrisation pathologique

Le déroulement anormal des mécanismes de la cicatrisation, peut conduire à des cicatrices pathologiques sous différentes formes.

Ainsi, les plaies chroniques, les cicatrices rétractiles et les cicatrices chéloïdes résultent respectivement d'un retard, d'une altération et d'un excès de ce processus de cicatrisation (Martin et Nunan, 2015). La région de cicatrisation peut subir une rétraction excessive, ce qui est souvent le résultat d'une plaie mal orientée par rapport aux lignes de tractions physiologiques de cette région. Elles surviennent après des brûlures profondes, et elles peuvent avoir des répercussions fonctionnelles telles que sur la mobilité des membres (Rowan et al., 2015). La cicatrisation pathologique peut être sous forme de retard du processus, lié probablement à plusieurs facteurs locaux ou généraux, qui peuvent entraver le déroulement des différentes phases de la cicatrisation.

Ainsi, les carences alimentaire, l'état physiologique de la personne ou aussi les infections virales ou bactériennes, peuvent être à l'origine du retard de la cicatrisation (Zhao et al., 2016).

I.7.3. Thérapeutiques de la cicatrisation

I.7.3.1. Traitement classique

Les traitements des plaies ont pour but de favoriser la cicatrisation ou d'éliminer les facteurs qui inhibent la cicatrisation (Rowan et al., 2015). Les traitements pourront non seulement assurer une évolution optimale de la cicatrisation mais aussi tenter de l'améliorer de façon quantitative et qualitative. Le traitement des plaies a constamment évolué, la découverte de l'implication des germes en 1860 par Pasteur a révolutionné les méthodes thérapeutiques avec l'application de l'asepsie. Actuellement, des pansements modernes sont appliqués avec succès et des techniques chirurgicales élaborées permettent de refermer la majorité des plaies.

I.7.3.2. Traitement et innovation

L'électroporation irréversible (IRE) est une nouvelle thérapie qui utilise des impulsions électriques d'une microseconde pour traité plusieurs pathologies.

La nouvelle méthode est fondée sur l'exposition de la peau affectée à des champs électriques à haute tension à impulsions très courtes (Gibot et al., 2017).

Un traitement par électroporation irréversible partielle utilisant 200 impulsions de 250 V et 70 μ s de durée, délivrée à 3 Hz tous les 20 jours au cours d'un total de cinq séances de thérapie après la brûlure initiale, a entraîné une réduction de 57,9% de la zone de cicatrice par rapport aux non traités (Golberg et al., 2016).

I.7.3.3. Plantes médicinales cicatrisante

Les résultats expérimentaux (*in vivo* et *in vitro*) sur l'application d'extraits végétaux et de ses composés actifs pour le traitement des plaît à renouveler l'attention des scientifiques pour l'importance des plantes médicinale notamment dans le domaine de la médecine régénératrice (Akther et al., 2016)

Les extraits de plantes médicinales de *Annona squamosa* (Ponrasu et al., 2013), *Ageratina pichinchensis* (Romero-Cerecero et al., 2017), *Andrographis paniculata* (Al-Bayaty et al., 2012), *Butea monosperma* (Muralidhar, 2011) et les extraits de *Calendula* (Parente et al., 2012) induisent une accélération du processus de cicatrisation cutanée. James et Dubery (2009) ont étudié les propriétés de cicatrisation des composants actifs de *Centella asiatica*. Les auteurs expliquent cette activation du processus de cicatrisation par le fait que cette plante aurait une action antioxydante, une activation de la synthèse de collagène et celle de l'angiogenèse. Le madécassoside l'un des principaux composés purifiés de l'extrait total de *Centella asiatica* a amélioré l'infiltration des cellules inflammatoires, indiquant une augmentation de la réépithélisation résultant de la prolifération dermique des fibroblastes par rapport au groupe témoin de souris (Roy, 2013). Les extraits des racines de *Berberis lyceum* indique une bonne guérison des plaies dans un modèle de murin (Asif et al., 2007). Dans une étude comparative, l'extrait méthanolique s'est avéré plus puissant par rapport à l'extrait aqueux, alors que les deux extraits présentaient un résultat significatif en comparaison avec le témoin. De plus, il y a eu une augmentation de l'agrégation du collagène chez les rats traités avec l'extrait de méthanolique par rapport au groupe de rats témoin (Ali et al., 2013). L'activité cicatrisante de l'extrait de mucilage *Cydonia oblonga* évaluées chez le lapin. Après l'application d'extraits de mucilage à différentes concentrations (5%, 10% et 15%) on a observé une augmentation de la vitesse de guérison des blessure par rapport au témoin positive (Tamri et al., 2014). Récemment, les scientifiques se sont concentrés sur l'efficacité des feuilles de *Urtica dioica* pour le traitement des plaies (Akther et al., 2016; Razika et al., 2017). Le tableau 3 montrent des plantes médicinales largement utilisées en médecine régénératrice pour la guérison des plaies et d'autres applications biomédicales (Maver et al., 2015).

Tableau 3: plantes médicinales cicatrisantes (Mohanty et al., 2018)

Genres et espèces	Famille	Extrait utilisé	Références
<i>Aloe vera</i>	Asphodelaceae	0.5 jus d'aloé vera poudre	Rahmani et al.,2014
<i>wedelia trilobata L</i>	Asteraceae	Extrait de feuille d'éthanol	Balekar et al.,2012
<i>Andrographis paniculata</i>	Acanthaceae	extrait aqueux de feuille	Al Bayaty et al.,2012
<i>Morus alba L</i>	Moraceae	Aqueux et extrait de racine	Kaushik et al.,2013
<i>Psidium guajava</i>	Myrtaceae	Extrait de feuille	Fernandes et al.,2015

I.8. Le poil

Le corps humain compte cinq millions de poils (dont 100 000 cheveux). Les poils jouent un rôle dans la protection des parties génitales contre les coups et les irritations liées aux frottements. Ils détectent également les variations de température grâce à l'action du muscle arrecteur du poil. Ils permettent au corps de se refroidir absorbant la sueur pour prévenir la déshydratation. Enfin, les poils apportent une douceur à la peau, faisant intervenir la glande sébacée dans la production de sébum.

I.8.1. Composition du poil

Le poil est constitué de deux parties : l'une visible qui émerge au dessus de la peau appelée tige pileuse, et l'autre plus profonde qui constitue la racine.

I.8.1.1. La racine

La racine est composée de plusieurs parties avec, de la profondeur vers la surface, la papille dermique, le bulbe pileux, les glandes sébacées et le muscle érecteur (Figure 14).

La papille dermique est composée de cellules conjonctives, qui s'incorporent à la base du follicule pileux et commande les cycles de croissance du poil. Le bulbe pileux est le lieu de multiplication folliculaire pileux. Le bulbe contient deux types de cellules : les kératinocytes et les mélanocytes. Dans sa partie supérieure, les cellules commencent à s'individualiser en deux gaines épithéliales, internes et externes, qui entourent le follicule pileux et la tige pileuse. Dans la zone profonde du bulbe, les mélanocytes vont synthétiser le pigment appelé mélanine et le transférer à la tige pileuse qui va pousser pigmentée.

C'est dans ce bulbe que se trouve notre ADN. La pousse du poil s'effectue par sa base ; la partie du cheveu situé à environ 0,5 millimètres de la base du follicule est déjà à son stade final. Les glandes sébacées sont accolées au follicule pileux (Bernard, 2006).

Ce sont les glandes sébacées qui contiennent les sébocytes, qui, quand ils meurent, produisent une substance grasse : le sébum. Celui-ci arrive à la surface de la peau et lubrifie le poil.

Le muscle érecteur (ou muscle horripilateur) du poil est le dernier élément de la racine. Sa contraction provoque un redressement du cheveu en cas de peur.

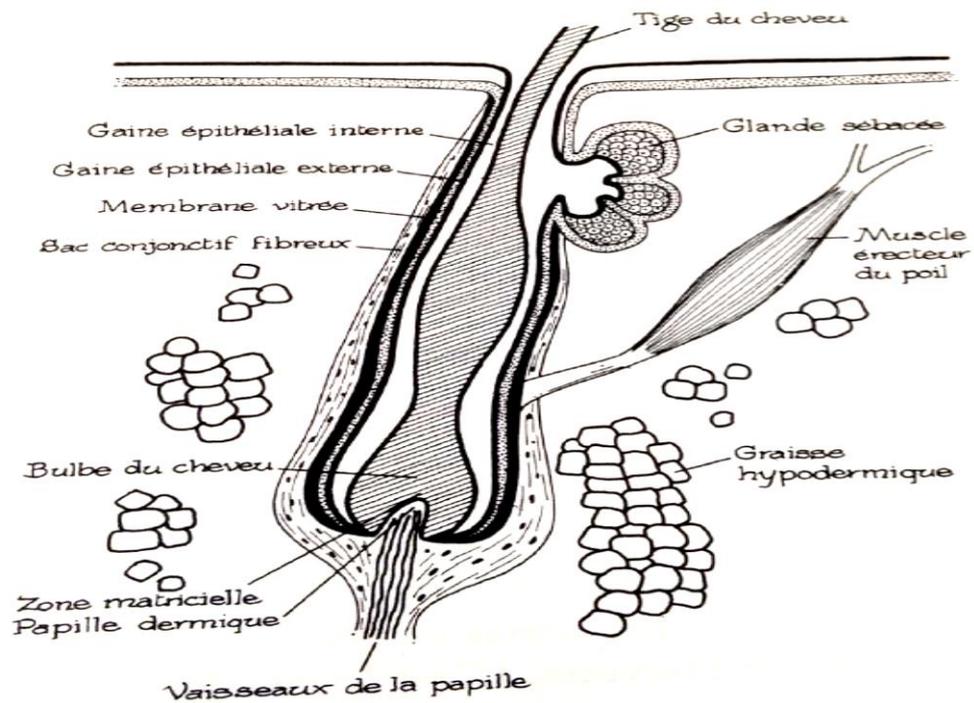


Figure 14: aspect microscopique de la racine du poil (Bouhanna, 2006)

I.8.1.2. La tige pileire

La tige est formée de cellules mortes. Elle n'est plus irriguée par les vaisseaux qui l'ont fabriquée. Elle se présente sous forme de longues cellules cylindriques composées essentiellement de kératine, une protéine organisée en chaînes polypeptidiques contenant de nombreux acides aminés avec majoritairement de la cystéine.

Ces chaînes sont disposées en hélices alpha tressées et reliées entre elles par de nombreux types de liaisons dont les ponts di-sulfures ou encore les liaisons hydrogènes (Figure 15).

Cette organisation permet l'incroyable solidité du poil dont un seul peut supporter jusqu'à soixante grammes avant de se rompre (Harkey, 1993).

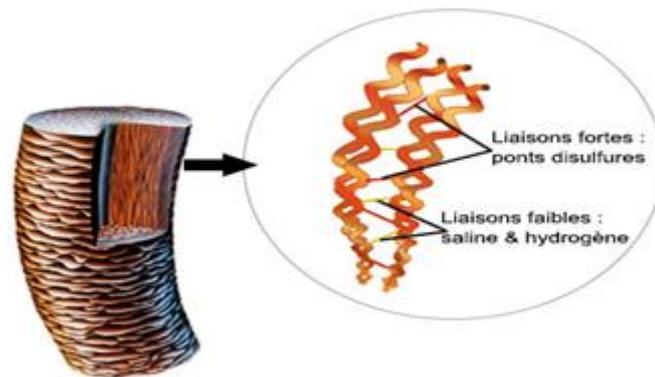


Figure 15 : structure de la tige pileuse du poil (Bernard, 2006)

La tige comprend trois parties circulaires : la moelle, le cortex et la cuticule (Figure 16).

La moelle se trouve au centre, elle correspond à la colonne centrale. Le cortex entoure la moelle. Il représente la majeure partie de la tige (90% du poids total). C'est au niveau du cortex que se trouvent les pigments de mélanine qui donnent au poil sa couleur. A l'extérieur se trouve la cuticule, l'enveloppe protectrice du poil.

Toute modification de forme, de couleur, et toute réparation ne pourra se faire que par un apport extérieur (soin cosmétique). En dehors de la kératine, le poil est aussi constitué d'eau et de lipide. Sa composition chimique est de 45% de carbone, 28% d'oxygène, 15% d'azote, 7% d'hydrogène et 5% de soufre et de traces de calcium, cuivre, zinc, plomb, fer (Harkey, 1993).

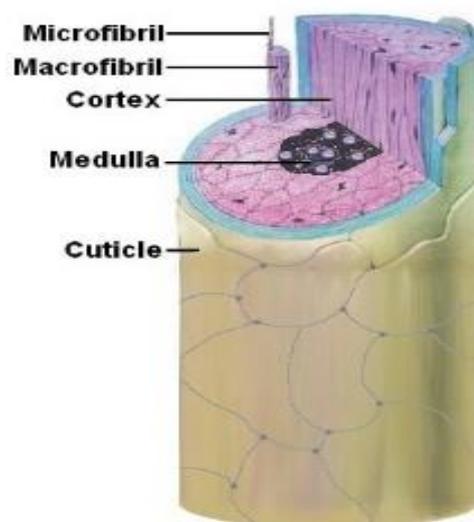


Figure 16: différentes parties de la tige pileuse (Harkey, 1993)

I.8.2. Cycle physiologique du poil

Les poils apparaissent au sixième mois de grossesse entre la 24^{ème} et la 27^{ème} semaine d'aménorrhée. Contrairement aux cellules de la peau, ils ne poussent pas de façon continue mais par cycles successifs qui vont s'enchaîner toute la vie (Rompolas et al., 2012).

Le poil pousse de 0,35 à 0,44 millimètres par jour, soit environ 1 à 1,4 centimètres par mois. C'est un phénomène naturel qui se produit indépendamment pour chaque follicule. Lorsque l'un meurt, le suivant prend immédiatement sa place et le fait tomber.

Cette croissance indépendante de chaque cheveu va permettre de conserver une chevelure durable. Chaque jour, 50 à 80 poils tombent de manière physiologique (Hoffmann, 2002). Chaque cycle se déroule en quatre phases : anagène, catagène, télogène et la chute (Figure 17). Chacune de ces phases, est de durée inégale.

Elles se succèdent sans cesse. Les durées des cycles vont de deux à quatre ans chez l'homme et de quatre à sept ans chez la femme (Paus et al., 1999). Les cycles se renouvellent de 20 à 25 fois chez l'être humain, ce qui est en théorie censé couvrir toute la durée de la vie (Korosec et Lichtenberger, 2018).

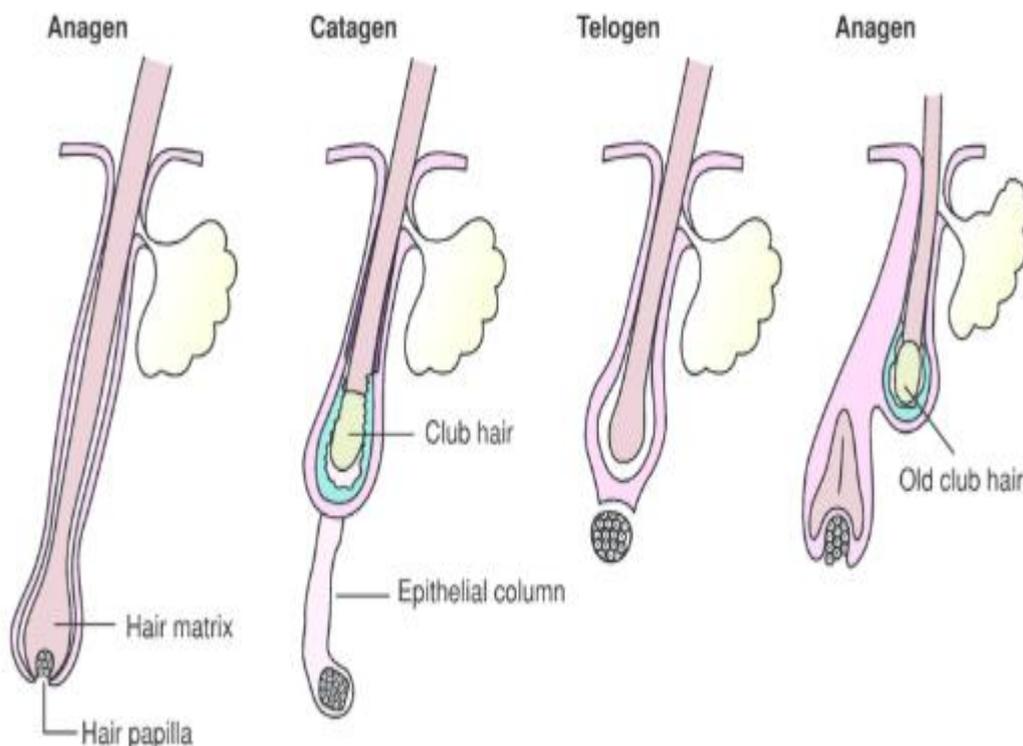


Figure 17 : cycle de vie du poil (Ellis et al., 2002)

I.8.2.1. Phase anagène

Elle correspond à la phase de croissance, c'est la phase la plus longue. Sa durée est de l'ordre de 2 à 6 ans et dépend des caractères génétiques de la personne. La phase anagène est une phase de croissance caractérisée par un renouvellement cellulaire intense suivi par une maturation terminale. Elle induit la croissance épithéliale du bulbe pileux profondément dans le derme. La longueur du follicule est à son maximum, il y a production de poils. La phase dure de quelques mois (cils) à quelques années (cheveux) (Ansell et al., 2011).

I.8.2.2. Phase catagène

C'est la phase de régression et de dégradation pendant laquelle la croissance s'arrête. Les cellules de la partie profonde meurent, l'ensemble du follicule pileux se rétracte vers la surface du cuir chevelu. Elle dure deux à trois semaines avec 2% des cheveux retrouvés dans cette phase. Le vaisseau sanguin ne délivre plus autant de nutriments, la base du bulbe s'amincit (Naito et al., 2008).

I.8.2.3. La phase télogène

C'est une phase de repos de trois à quatre mois, au cours de laquelle il y a une absence totale d'activité cellulaire car le cheveu n'est plus nourri par les vaisseaux.

Il est prêt à tomber mais reste encore sur la tête le temps que la racine suivante soit assez forte pour le faire chuter. Cette phase concerne 13% des cheveux (Wang, 2018).

I.8.3. La vascularisation du poil

La vascularisation des poils est très riche. Elle provient de l'anastomose de cinq artères qui vascularisent toute la surface pileuse : l'artère frontale interne, l'artère frontale externe, l'artère temporale superficielle, l'artère auriculaire postérieure et l'artère occipitale (Zhou et al., 2009).

Ces anastomoses produisent des artérioles qui irriguent chacune plusieurs bulbes pileux. La vascularisation va permettre d'apporter aux cheveux l'oxygène ainsi que les nutriments, et d'éliminer les toxines en fonction de la pression artérielle de l'artériole. En effet, cette pression est responsable du débit sanguin. Si elle est basse, le débit sera lent, les nutriments arriveront difficilement au bulbe pileux et les toxines seront mal éliminées (Suri et al., 1998). Au contraire, lors de l'activité physique la pression artérielle va augmenter, ce qui va induire une vasodilatation des artérioles et favoriser les échanges.

I.8.6.5. Plantes médicinales

Les plantes sont un réservoir énorme de principes actifs utilisés depuis des millénaires. Aujourd'hui, des plantes de plus en plus nombreuses entrent dans la composition de produits naturels destinés à améliorer l'apparence physique.

Cette tendance s'est accélérée, en réponse à la suspicion qui pèse sur certains ingrédients chimiques présents dans les cosmétiques.

Une multitude de travaux de recherche ont montré la capacité des plantes à induire la croissance des poils. Le tableau 4 indique des exemples de plantes médicinales induisant la repousse des cheveux :

Tableau 4 : plantes médicinales pour la croissance des cheveux

Nom scientifique de la plantes	Familles	References
<i>Carthamus tinctorius</i>	Asteraceae	(Junlatat and Sripanidkulchai, 2014)
<i>Thuja orientalis</i>	Cupressaceae	(Zhang et al., 2013)
<i>Lycopersicon esculentum</i>	Solanaceae	(Choi et al., 2013)
<i>Asiasari radix</i>	Aristolochiaceae	(Rho et al., 2005)
<i>Eclipta alba</i>	Asteraceae	(Datta et al., 2009)
<i>Sophora flavescens</i>	Fabaceae	(Roh et al., 2002)

Chapitre II
Matériel et Méthodes

Ce travail a pour objectif la caractérisation physico-chimique des extraits des racines de Marosgos « مروسقس » *Carthamus caeruleus* et l'évaluation de leurs effets biologiques.

La première étape, réalisée *in vitro*, est destinée à l'étude phytochimique des polyphénols issue des racines de la plante et l'évaluation de leur effet antioxydant et antimicrobien. La deuxième partie *in vivo*, consiste à évaluer l'activité anti-inflammatoire, cicatrisante et la promotion de la croissance des poils des molécules bioactives de notre plante médicinale. Ces deux parties sont élaborées au niveau du laboratoire de recherche **VALCOR** (**V**alorisation et **C**onservation des **R**essources **B**ioLogiques) de la Faculté des sciences de l'Université M'hamed Bougara de Boumerdes, et au niveau du CRD (Centre de **R**echerche et de **D**éveloppement) Aldar groupe Asmidal Alger.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

II.1.1.1. La plante

Le choix de la plante de *Carthamus caeruleus* est basé sur une étude ethnobotanique préliminaire que nous avons effectuée. Cette étude a montré des vertus thérapeutiques formidables de cette plante médicinales pour le traitement des pathologies cutanées. La récolte de la plante médicinale a été effectuée durant les mois de mars et avril de l'année 2014, au niveau des montagnes Draâ El Mizan située à 42 km au sud-ouest de Tizi Ouzou et à 110 km au sud-est d'Alger (Figure 18). La récolte a été faite par temps sec et chaud après le lever du soleil, afin d'éviter l'humidification de la plante. Les plantes mouillées de pluie ou de rosée nécessitent plus de temps pour le séchage, s'altèrent, moisissent, fermentent et perdent, de toute façon, toute valeur thérapeutique. Lors des prélèvements des échantillons, les pieds les plus sains, exemptes de traces d'insectes ou de mollusques sont retenus, les parties malades, fanées et abimées sont retirées.

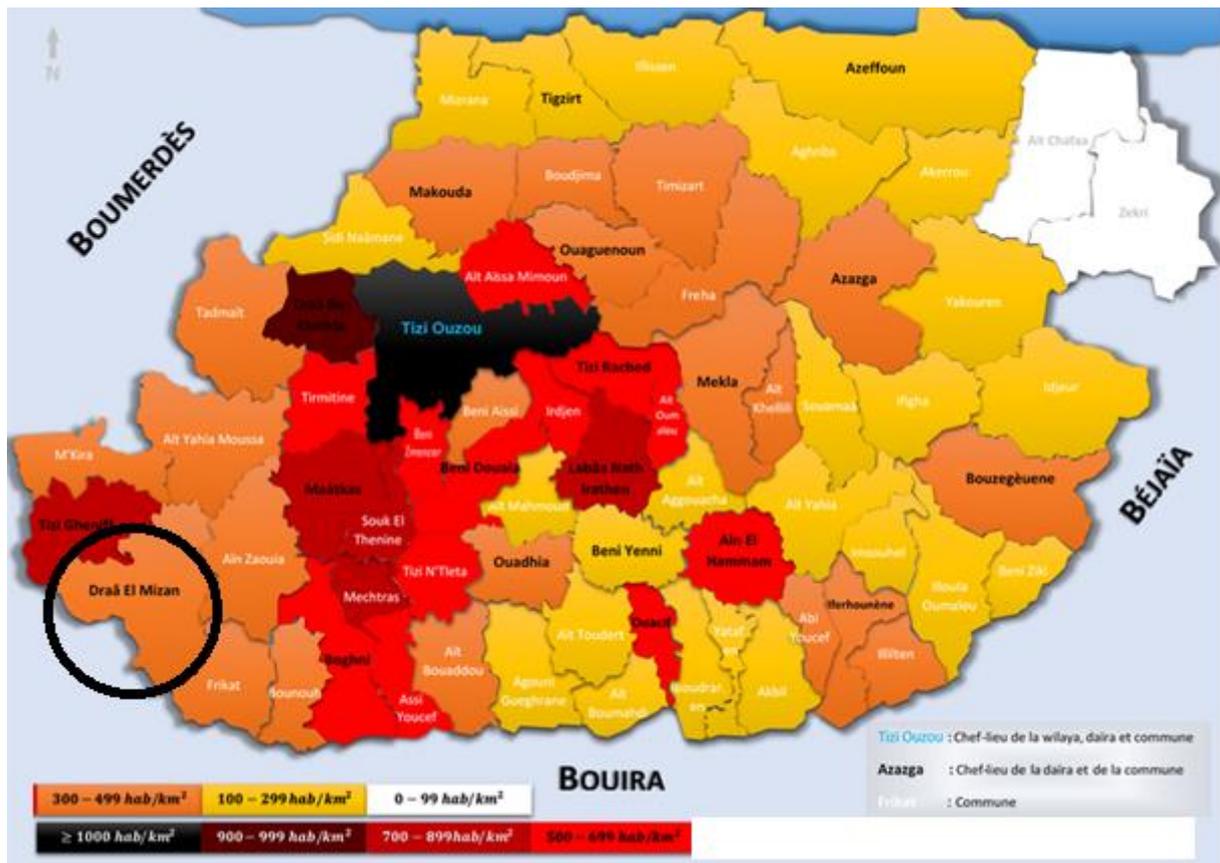


Figure 18 : situation de la zone d'étude (BNEDER, 1996)

II.1.1. 2. Souches microbiennes

On a utilisé dans notre étude 5 souches bactériennes et un champignon de références à savoir : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Streptocoque pneumonia* et un Champignon : *Aspergillus sp* (Tableau 5).

Tableau 5 : description et pouvoir pathogène des souches testées

Microorganismes	Espèces	Références	Pouvoir pathogène
Bactéries Bacille Gram-	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Gastro-entérite
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Infection nosocomiale

Bactéries Cocci Gram+	<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876	Intoxication alimentaire
	<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 4698	Infection cutanée
	<i>SARM</i>	ATCC 25923	Intoxications
	<i>SASM</i>	ATCC 25923	alimentaires
	<i>Streptococcus pneumonia</i>	ATCC 49619	Intoxications
	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 49452	alimentaires
	<i>Aspergillus niger</i>	-	Pneumonie
Champignon			Infection nosocomiale Dermatite

II.1.1.3. Animaux

L'étude des différentes activités a porté sur des rats et des souris provenant de l'animalerie de l'Institut Pasteur d'Algérie (Centre d'élevage, Kouba, Alger). Les rats utilisés appartiennent à la souche Wistar, et pèsent entre 100 et 122 g. Les souris sont de souche Swiss, dont le poids est compris entre 20 et 30 g. Ces animaux sont placés au niveau de l'animalerie la faculté des sciences de l'université de Boumerdes. Ils sont maintenus à une température ambiante égale à 25 °C, avec un cycle naturel de lumière. Les animaux reçoivent la nourriture et l'eau à volonté.

II.1.2. Matériel non biologique

Tous les réactifs sont de qualité analytique et proviennent de plusieurs firmes : Le 2,2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), Acétate de sodium (Merck), Acide chloridrique (Panreac), Acide sulfurique (Merck), , Carbonate de sodium, Chlorure de sodium, Dihydrogénophosphate de potassium, , Eau oxygéné (Merck), Eukit (Fluka), Eosine B (Sigma), Glycine (Merck), Hématoxyline (Sigma), Hydroxyde de sodium (Prolabo), O Diazinidine (sigma) O-Phénylén Diamine OPD (Sigma), Paraffine (Panreac), Pepsine (Sigma), Sulfate d'ammonium (Merck), TEMED, Tris HCl (sigma), Tween-20 (Pharmacia), Eukit (Fluka), HCl (Prolabo), Matériel microbiologique.

II.2. Méthodes

Plusieurs aspects sont évalués dans ce travail. Le schéma suivant résume la méthodologie entreprise (Figure 19):

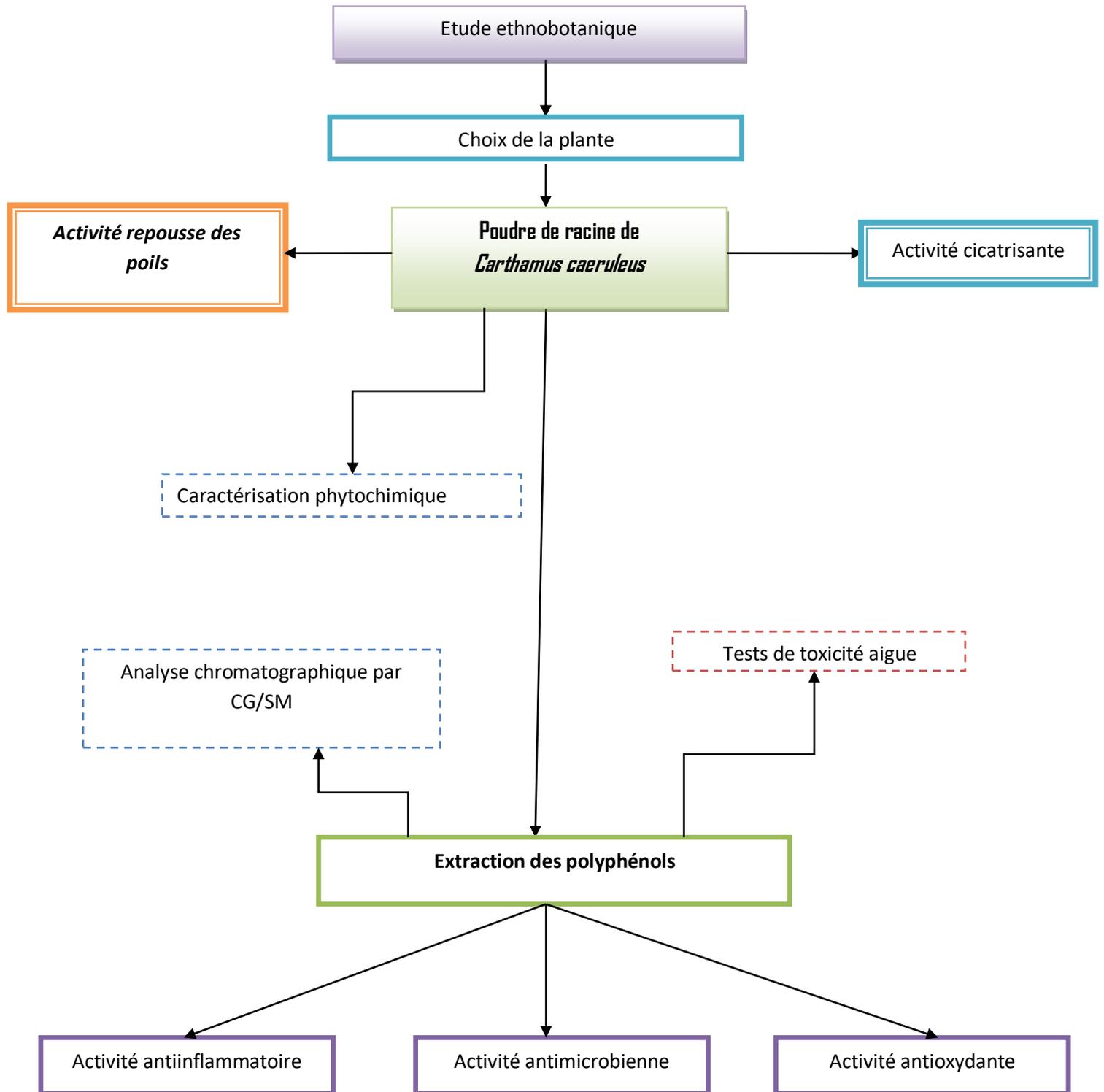


Figure 19 : schéma récapitulatif de la démarche expérimentale

II.2.1. Enquête ethnobotanique

La médecine traditionnelle demeure le recours principal pour une grande majorité des populations pour résoudre leurs problèmes de santé, non seulement du fait qu'elle constitue un élément important du patrimoine culturel, mais aussi pour les raisons de moyens financiers limités face aux produits conventionnels. Elle a été transmise d'une génération à l'autre par la communication orale, posant le danger de perte d'une certaine connaissance.

L'enquête ethnobotanique s'avère indispensable pour la connaissance des plantes médicinales et leurs utilisations. Une vaste connaissance de la façon d'utiliser les plantes contre les différentes maladies est fort envisageable dans les zones où l'utilisation des plantes est toujours de grande importance.

Le but de notre étude était d'identifier les différentes utilisations médicinales traditionnelles des plantes médicinales, et de documenter la connaissance médicinale traditionnelle liée à l'utilisation de ces plantes au niveau de Draâ El Mizan qui est une commune de la wilaya de Tizi Ouzou en Algérie, située à 42 km au sud-ouest de Tizi Ouzou et à 110 km au sud-est d'Alger, dans la région de la Kabylie en. Les coordonnées géographiques de Draa el Mizan, latitude : 36°32'10" Nord Longitude : 3°50'00" Est de l'altitude par rapport au niveau de la mer : 410 m. Les résultats donneront un aperçu général sur le pouvoir curatif de ces plantes selon les guérisseurs dans ces localités.

A cet effet une fiche d'enquête ethnobotanique renfermant un questionnaire a été proposée. Afin de répondre au questionnaire, des interviews directes entre deux personnes dont l'une transmet à l'autre des informations ont été effectuées. Par la suite nous avons choisie parmi les plantes médicinales de notre enquête ethnobotanique une plante médicinale de la famille des Asteraceae *Carthamus caeruleus* pour une évaluation des activités biologique.

II.2.3. Caractérisation phytochimique

Les tests phytochimiques réalisés sur les racines de *Carthamus caeruleus*, ont pour objectif de rechercher les substances bioactives (métabolites primaires ou secondaires) synthétisées par cette plante. Ils sont effectués soit sur la poudre, soit sur l'infusé à 10 %.

Les méthodes de caractérisation utilisées dérivent de celles décrites par (Raaman, 2006) (Tableau 6).

Tableau 6 : les différents tests du screening phytochimique et leurs résultats attendus

Métabolites	Mode opératoire	Résultats attendus
Anthocyanes	Rajouter quelques gouttes d'HCl à 5 ml de l'infusé	Rouge
Leuco-anthocyanes	2 g de la poudre végétale est additionnée dans 20 ml d'un mélange de Propanol / Acide chlorhydrique (v/v). Le mélange est porté en bain Marie bouillant pendant 15 mn	Rouge
Tanins catéchiques	15 ml d'infusé sont additionnés à 7 ml de réactif de Stiansy	Rouge
Tanins galliques	À 5 ml de l'infusé 2 g d'acétate de sodium et quelques gouttes de FeCl ₃ sont rajoutés	Bleu foncé
Quinones libres	2 g de poudre humectées par 2 ml d'HCl N, sont mis en contact avec 20 ml de chloroforme pendant 3 heures. Le filtrat est agité avec 5 ml d'ammoniaque ^{1/2}	Rouge
Saponosides	À 2 ml d'infusé quelques gouttes d'acétate de plomb sont Rajoutés	Précipité blanc
Alcaloïdes	Faire macérer 5 g de poudre humectées avec l'ammoniaque ¹ / ₂ pendant 24 h dans 50 ml d'un mélange éther chloroforme (3v/v). Le filtrat est épuisé par l'Acide chlorhydrique 2 N. Des réactions de précipitations sont réalisées sur la solution Chlorhydrique	En présence d'alcaloïde, le réactif de Dragendroff donne un précipité rouge
Sénosides	Introduire dans une fiole conique 2,5 g de poudre, puis 50 ml d'eau distillée et 2 ml d'HCl concentré sont rajoutés. Le mélange est chauffé dans un bain Marie pendant 15 mn. Après refroidissement, la solution est agitée avec 40 ml d'éther. La couche étherée est séparée, séchée avec le sulfate de sodium anhydre, ensuite évaporer à siccité. Au résidu refroidi, 5 ml d'Ammoniaque dilué (1/2) sont rajoutés	Elle se développe une coloration jaune ou orangé. Le chauffage de cette solution au bain Marie pendant 2 mn donne une coloration violette rouge en présence des sénosides

Coumarines	Faire bouillir à reflux 2 g de poudre dans 20 ml d'alcool éthylique pendant 15 mn puis filtrer. À 5 ml du filtrat 10 gouttes de la solution alcoolique de KOH à 10% et quelques gouttes d'HCl à 10% sont rajoutées	Formation d'un trouble
Amidon	À 2 g de poudre végétale rajouter quelques gouttes d'Iode (I ₂)	Coloration bleu violette
Flavonoïdes	Additionner à 5 ml d'infusé 5 ml d'HCl, un copeau de Mg et 1 ml d'Alcool isoamylique	Rouge orangé
Glucosides	Rajouter à 2 g de poudre végétale quelques gouttes de H ₂ SO ₄	Rouge brique ensuite violette
Mucilages	Introduire 1 ml d'infusé dans un tube à essai, ajouter 5 ml d'alcool absolu	
Irridoïdes	Rajouter à 2 ml de l'infusé, quelque gouttes de l'acide Chlorhydrique	Après chauffage, une coloration bleu

II.2.3. Extraction et dosage des polyphénols totaux

Il existe plusieurs techniques d'extraction des biomolécules à partir de sources végétales.

Les techniques d'extraction à pression ambiante, sans ou avec agitation et/ou chauffage utilisées depuis longtemps sont considérées comme techniques classiques (conventionnelles).

Les techniques plus récentes sont appelées alternatives (Zhao et al., 1999).

II.2.3.1. Extraction par macération

Pour extraire les polyphénols des racines de *Carthamus caeruleus* par macération, nous avons opté pour le protocole décrit par Romani et collaborateurs (2006) en y apportant quelques modifications : 10 à 30 g de la poudre des racines de la plante médicinales sont macérés à température ambiante pendant 2 à 3 jours avec 100 ml de solutions de méthanol (95%). Après filtration sur un tissu mousseline, les filtrats sont centrifugés pendant 20 min à 4000 t/min à température ambiante. L'extrait a ensuite été stocké à 4°C durant 24 h, filtré et le solvant a été évaporé à sec sous pression réduite à 70°C à l'aide d'un évaporateur rotatif (Büchi R- 461).

Le rendement d'extraction est calculé en pourcentage du rapport de la masse de l'extrait obtenu sur la masse totale de la poudre végétale utilisée dans l'extraction, selon la formule suivante :

$$R\% = \frac{(m - m_0) * 100}{mT}$$

Où:

m : masse du ballon après extraction ;

m₀ : masse du ballon vide (avant l'extraction) ;

(m-m₀) : masse de l'extrait sec ;

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

II.2.3.2. Dosage des polyphénols

La teneur en phénols totaux des extraits a été déterminée par la méthode de Folin–Ciocalteu, mélange de complexes d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et l'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀) de couleur jaune.

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif. Elle entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 760 nm. Le test en question, consiste à mélanger une quantité de 0.5 ml de l'extrait à différentes concentrations avec 1ml du réactif de Folin–Ciocalteu fraîchement préparé (10 fois dilué) et 1ml de carbonate de sodium à 20 % (Na₂ CO₃).

L'ensemble est incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 60 minutes et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 760nm. La quantification des polyphénols a été déterminée en fonction d'une courbe d'étalonnage, réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations, dans les mêmes conditions que l'échantillon (Wong et al., 2006).

II.2.4. Caractérisation des polyphénols par infrarouge (IR)

La caractérisation par infrarouge permet d'avoir une idée sur les groupements fonctionnels d'un extrait.

La spectrométrie infrarouge est une approche rapide, de faible coût marginal, non toxique, pour fournir des indicateurs de qualité des extraits de plante.

L'appareil utilisé est de type Perkin Elmer qui dispose d'une source lumineuse, d'un filtrage numérique destiné à compenser les émissions de CO₂ et l'absorption de H₂O en temps réel, d'un interféromètre, d'un dispositif permettant de générer les interférences, d'un compartiment échantillon qui permet d'accueillir plusieurs types d'accessoires (porte-échantillon) dépendant du mode de mesures utilisé (réflexion ou transmission), d'un détecteur ou capteur photosensible et d'un convertisseur analogique numérique qui transforme le signal analogique en un signal numérique manipulable par le système informatique.

II.2.5. Chromatographie en phase gazeuse couplé au spectromètre de masse (CGSM)

L'analyse de l'extrait méthanolique a été réalisée sur un système Hewlett Packard GC / MS (GC 6890; 5973 MSD). Une colonne capillaire HP MS-5 (30 m, 0,25 mm, épaisseur du film 0,25 µm) est directement couplé au spectromètre de masse. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium (1 mL / min). Le programme de température utilisée était de 8 min isotherme à 40°C, puis 40 à 250°C à une vitesse de 2°C / min, puis maintenu pendant 5 min isotherme. La température de l'injecteur était de 250°C. L'ionisation des composants de l'échantillon a été effectuée en mode Electron ionisation (EI) (70 eV). Les composés sont détectés selon leur ordre d'élutions, ils sont identifiés grâce à leur spectre de masse et leur temps de rétention. Ceci est réalisé grâce à l'ensemble chromatographe en phase gazeuse-spectromètre de masse, couplé à un système informatique gérant une bibliothèque de spectres de masse : NIST98 (National Institute of Standards and Technology).

II.2.6. Tests de la toxicité aigue

Pour évaluer la toxicité aigue des extraits méthanoliques de *Carthamus caeruleus* des souris ont été réparties en 5 lots homogènes de 6 souris.

Les animaux du lot témoin ont reçu 0,5ml de solution physiologique NaCl (0,9%). Les souris des autres lots ont reçu des concentrations différentes d'extrait méthanolique de *Carthamus caeruleus* en fonction des poids moyens des différents lots (100, 150, 200, 250mg/kg par jour par gavage). Les animaux reçoivent quotidiennement de l'eau du robinet et la nourriture pendant toute la période de l'essai.

Les animaux ainsi traités ont été soumis à une observation continue durant 15 jours en vue de relever le nombre de morts et les signes cliniques observés pour chaque lot.

Un jour après le dernier traitement, les animaux ont été sacrifié par dislocation cervicale et le foie, le cœur et les reins de chaque animaux ont été prélever pour une observation macroscopique (Omotoso et al., 2017).

II.2.7. Activité antioxydante

Pour évalue les activités biologique de notre plante médicinales, nous avons effectué plusieurs méthodes permettant d'apprécie le potentiel pharmacologique des molécules bioactifs des racines de *Carthamus caeruleus*

II.2.7.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

La molécule 1, 1-diphényl-2-picrylhydrazyle (a, a-diphényl-bpicrylhydrazyle, DPPH) est caractérisée comme un radical libre stable en raison de la délocalisation des l'électron.

La délocalisation de l'électron donne également naissance à la couleur violette profonde, caractérisée par une bande d'absorption dans une solution d'éthanol centrée à environ 517 nm. Lorsqu'une solution de DPPH est mélangée à celle d'un substrat (AH) qui peut donner un atome d'hydrogène, cela donne lieu à la forme réduite avec la perte de cette couleur violette. Le protocole expérimental suivi pour étudier l'activité du piégeage du radical libre DPPH, est celui de o Manzocco et collaborateurs1998 (Figure 20).

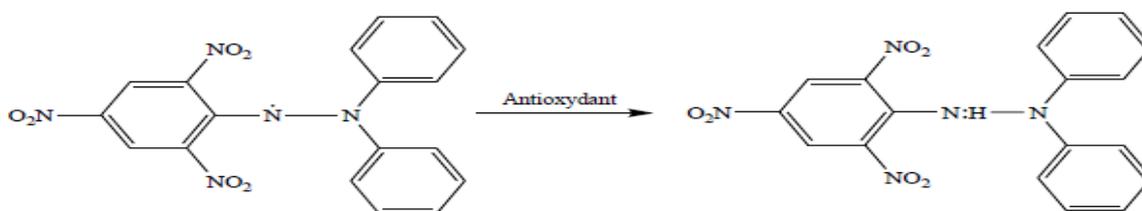


Figure 20: réduction du radical libre DPPH en DPPHH (Molyneux, 2004)

A différentes concentrations (100mg /ml, 80mg/ml, 60mg/ml, 40mg/ml, 20mg/ml, 10mg /ml) 25µl de chaque extrait méthanolique, sont ajoutés à 975 µl d'une solution méthanolique de DPPH à $6,34 \cdot 10^{-5}$ M (0,0024g dans 100mL méthanol) ; pour chaque concentration un blanc est préparé. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé, en parallèle, en mélangeant 25 µl du méthanol avec 975 µl d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée.

Après incubation à l'obscurité pendant 30 minutes et à la température ambiante, la réduction du DPPH s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune de la solution. La lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Puis calculer:

$$\% \text{ d'activité antioxydante} = \% \text{ d'activité antioxydante} = \frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

Pour chaque concentration, les résultats sont la moyenne de 3 expériences menées en parallèle.

II.2.7.2. Test de la réduction du fer (FRAP)

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. L'activité réductrice du fer de nos extraits est déterminée selon la méthode décrite par Benzie et Strain (1999), basée sur la réaction chimique de réduction du Fe^{3+} présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en Fe^{2+} . La réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+}) en couleur bleu vert du fer ferreux (Fe^{2+}). Cette capacité réductrice peut servir comme un indicateur significatif de l'activité antioxydante potentielle d'un composé. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm. Un volume égal à 1 ml de l'échantillon à différentes concentrations (100 mg/ml, 80 mg/ml, 60 mg/ml, 40 mg/ml, 20 mg/ml, 10 mg/ml) est mélangé avec 2,5 millilitres d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH = 6.6) et 2,5 millilitres d'une solution de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. Le tout est incubé à 50°C pendant 20 minutes, puis refroidi à la température ambiante. Ensuite, 2,5 millilitres d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 minutes. 2,5 millilitres du surnageant sont ajoutés à 2,5 millilitres d'eau distillée et 500 µl d'une solution de $(\text{FeCl}_3, 6\text{H}_2\text{O})$ à 0.1% sont ajoutés également au mélange. La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (PerkinElmer, Lambda 800). L'acide ascorbique est utilisé comme contrôles positifs dans cette expérience aux mêmes concentrations choisies et dans les mêmes conditions expérimentales. Pour explorer les résultats obtenus, la manière la plus commune utilisée par la majorité des auteurs est de tracer les graphes des absorbances obtenues en fonction des différentes concentrations utilisées. L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des fractions testées. Pour chaque concentration, les résultats sont la moyenne de 3 expériences menées en parallèle.

II.2.7.3. Test piégeage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ scavenging activity)

Une des méthodes les plus communes pour évaluer la capacité du piégeage du peroxyde d'hydrogène est basée sur l'absorption de cette molécule dans le domaine de l'U.V. Comme la concentration de H₂O₂ diminue par les composés piégeurs, la valeur d'absorbance de ce dernier à 280 nm diminue également.

Néanmoins, il est tout à fait normal que les échantillons absorbent également à cette longueur d'onde, exigeant ainsi l'exécution d'une mesure blanche (Ruch et al., 1999). La réalisation d'une telle méthode nécessite beaucoup de rigueur au moment de la manipulation. Pour étudier l'activité du piégeage du H₂O₂, nous avons utilisé la méthode décrite par Ruch *et al.*, 1989 in Shon *et al.*, 2008 avec quelques modifications.

Un volume de 400 µl de l'extrait de chaque concentrations (100mg/ml, 80mg/ml, 60mg/ml, 40mg/ml, 20mg/ml, 10mg/ml), préparé dans une solution tampon phosphate à 0,1M (pH =7,4) sont mélangés avec 600 µl d'une solution de peroxyde d'hydrogène à 43mM (préparée dans le même tampon phosphate), puis incubation pendant 10 min. La réaction des échantillons avec le peroxyde d'hydrogène est suivie à l'aide d'un spectrophotomètre à 280 nm. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition selon la formule suivante :

$$\% \text{ du piégeage du H}_2\text{O}_2 = \frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

Dans les mêmes conditions opératoires, l'acide ascorbique, à la même concentration choisie, est utilisé comme contrôle positif.

Pour chaque concentration, les résultats sont la moyenne de 3 expériences menées en parallèle.

II.2.8. Activité antimicrobienne

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

II.2.8.1. Revivification des souches microbiennes

La revivification des souches microbiennes est réalisée par la méthode de stries. Ces derniers sont alors revivifiés à partir des tubes de conservation sur gélose nutritive pour les bactéries et sur milieu Sabouraud pour les levures et les champignons.

Les cultures Sont incubées à l'étuve à 37°C pendant 24h pour les bactéries et à 27°C pendant 48h pour les levures et les champignons. .

II.2.8.2. Repiquage des souches microbiennes

Les bactéries étudiées sont repiquées dans un milieu nutritif par la méthode des stries, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures. Cependant, les levures sont repiquées sur une gélose Sabouraud puis incubé à 27°C pendant 3 jours. Cette étape permet l'obtention d'une culture jeune et des colonies bien isolées qui vont servir à préparer l'inoculum.

II.2.8.3. Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé à partir des colonies jeunes de bactéries, de levures et moisissures et d'eau physiologique 0.9% stérile. Les colonies isolées sont prélevées à l'aide d'une anse de platine et homogénéisées dans de l'eau physiologique. Il faut noter que pour obtenir une suspension de 10^8 germes par ml, l'absorbance doit être entre 0.2 et 0.3 pour les bactéries et entre 2 et 3 pour les levures à une longueur d'onde de 620 nm.

II.2.8.4. Préparation des boîtes de Pétri pour l'antibiogramme

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

II.2.8.5. Préparation des disques

Les disques stériles ont été imprégnés avec l'extraits brut de composés phénoliques à raison de 2µl par disque, puis déposés stérilement à l'aide d'une pince au centre de la boîte de Pétri préalablementensemencée. Les boîtes ont été incubées 24 heures à 37 °C.

➤ Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Des dilutions en série de 1/2 à 1/16 ont été réalisées avec le Diméthyl sulfoxyde (DMSO). Parallèlement, des boîtes témoins dotées de disques imprégnés de méthanol (solvant d'extraction) sont préparées afin de tester son effet sur les souches microbiennes. Trois répétitions sont réalisées pour chaque souche bactérienne. Ceci, va nous permettre de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) de notre extrait (Figure 21).

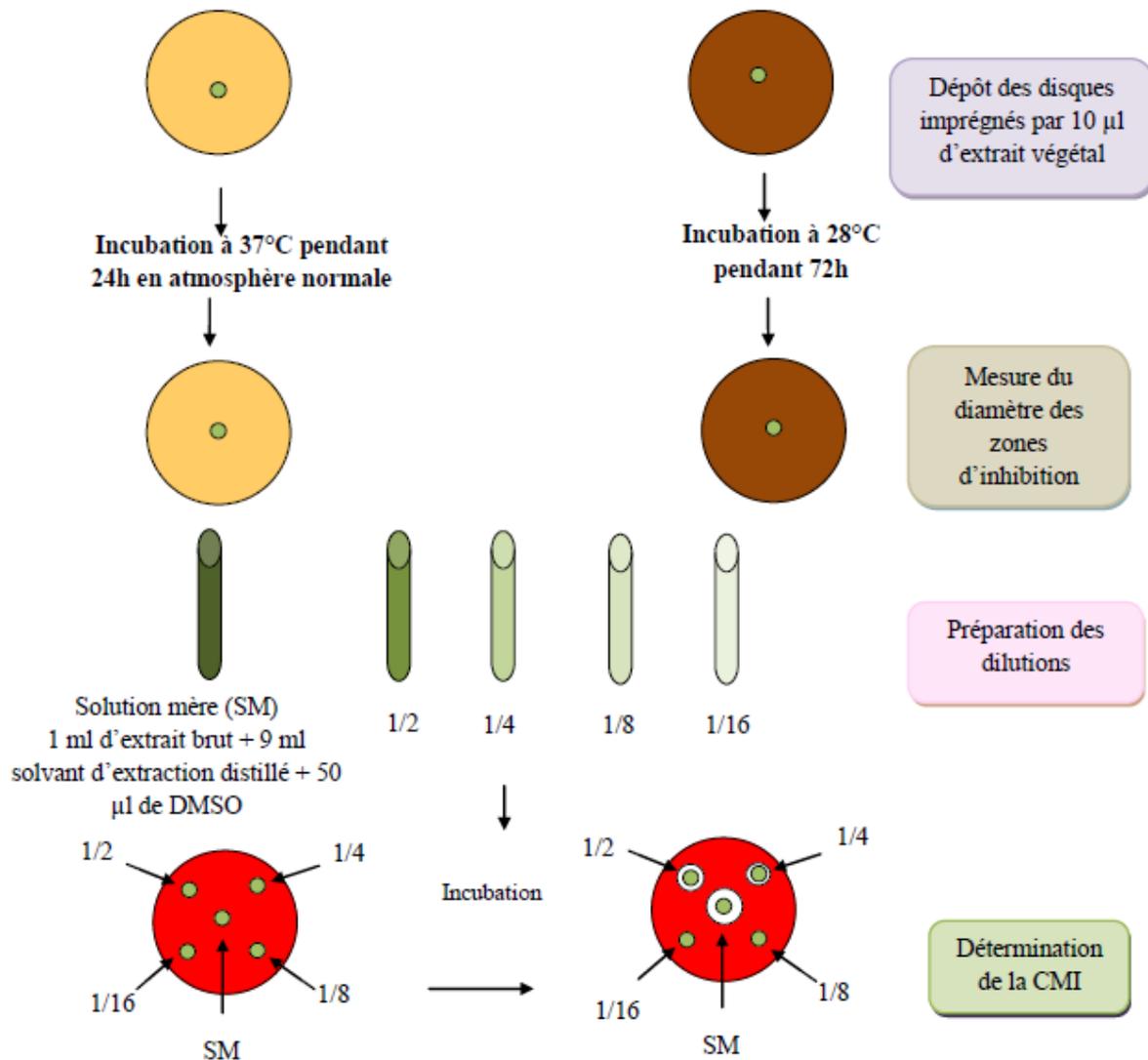


Figure 21 : dépôt des disques et détermination de la CMI.

II.2.8.6. Test de sensibilité des microorganismes obtenus par la technique de diffusion en milieu solide

Pour tester la sensibilité des microorganismes aux composés phénoliques. La méthode consiste à ensemencer dans chaque boîte de Pétri 1ml de chaque suspension microbienne. Ensuite déposer les disques, de 6mm de diamètre, imprégnés par 5µl de l'extrait étudié et ceux imprégnés par 5µl du solvant d'extraction sur le milieu gélosé, en appuyant très légèrement en dessus pour les faire adhérer à la gélose. Les milieux utilisés sont la gélose nutritive pour les bactéries et Sabouraud pour les levures.

Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 27°C pendant 48 heures pour les levures. Le test de l'antibiogramme est répété trois fois pour chaque souche microbienne cibles.

II.2.8.7. Lecture des résultats

Les disques apparaissent, après incubation à l'étuve entourée d'une zone d'inhibition, dont le diamètre permet de déterminer la sensibilité des germes vis-à-vis de l'extrait phénolique et du méthanol même. La lecture des résultats se fait en se basant sur la mesure des zones d'inhibition obtenues. La sensibilité aux différents extraits est classée selon le diamètre des zones d'inhibition (Tableau 7)

Tableau 7: estimation de la sensibilité des souches (Moreira et al., 2005)

Diamètre (mm)	Activité antimicrobienne	Souche
D < 7	Nulle	Résistante
D [7-14]	Faible	Sensible
D [15-19]	Moyenne	Très sensible
D > 20	Forte	Extrêmement sensible

II.2.9. Activité anti-inflammatoire

La méthode décrite par Winter (1962) a été utilisée pour évaluer l'effet anti-inflammatoire (Winter et al., 1962). Pour l'application de cette méthode, les animaux sont répartis en trois lots renfermant chacun six souris, qui sont mis à jeun 12 heures avant l'expérimentation. La première étape de consiste à administrer une heure avant l'injection de la carragénine, différenciées solutions ont été administrées par voie intra-péritonéale.

Le premier lot a été traité par l'extrait méthanolique (2.5ml/kg), le deuxième lot par de l'NaCl et le troisième par du Diclofenac comme produit de référence (2.5ml/kg). À la 3^{ème} heure on coupe les pattes de chaque souris et pesés immédiatement patte droite par rapport à la patte gauche.

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition de l'œdème :

$$P = \frac{(DM-DMT)}{DM} * 100$$

Ou :

D M : la différence moyenne de poids entre les morceaux des pattes droites traitées à carragénine et ceux des pattes gauches non traitées du lot témoin.

D M T : la différence moyenne de poids entre les morceaux des pattes droites traitées aux produits à tester dans carragénine et ceux des pattes gauches non traitées des lots traités.

II.2.11. Activité cicatrisante

Dans notre étude, nous avons suivi la méthode de Süntar et *al.* (2013). Le principe consiste en l'application du produit à tester sur des plaies provoquées. Il s'agit d'une pommade à base de poudre de racine de *Carthamus caeruleus*. Le test est réalisé sur six rats mâles de souche Wistar en bonne santé, pesant entre 200 et 230 grammes, acclimatés pendant une semaine avant l'essai à l'animalerie du Département de Biologie de Boumerdes. Les rats, répartis en 3 lots, sont anesthésiés par une injection intramusculaire de chlorhydrate de kétamine à raison de 15 mg.kg⁻¹. Les poils du dos de l'animal ont été rasés avec un rasoir électrique. Ensuite, une plaie de 1 cm de long et 0.5 cm de large a été effectuée. Les trois lots sont respectivement traités avec NaCl 0.9% , Madécassol® (produit de référence) et la pommade. Les applications sont faites de façon quotidienne, à raison d'une fois par jour, pendant quinze jours. Il est à signaler que les plaies ne sont pas protégées par un pansement. Les empreintes des surfaces des plaies sont reprises sur papier transparent chaque jour. L'interprétation des observations est basée sur la comparaison de l'évolution de la surface des plaies. Le pourcentage de réduction des superficies est calculé par la formule suivante:

$$\text{Contraction de la plaie en pourcentage} = \frac{\text{Surface guérie}}{\text{surface totale}} * 100$$

II.2.11. Test de promotion de la croissance des poils *in vivo*

Les animaux ont été divisés en 2 groupes aléatoires (n = 6) pour étudier l'activité promotrice de la croissance des cheveux de la racine *Carthamus caeruleus*. Tous les animaux ont été rasés par écrêtage pour observer le développement du follicule pileux en phase anagène. Un traitement quotidien par les racines de notre plante médicinale a été appliqué pendant 9 jours. Le tableau suivant donne les scores pour chaque stade de croissance des poils (Moreira et al., 2005)

Tableau 8 : index visuelle de croissance des poils chez les rats Wistar (Kim et al., 2010)

Grade	Condition
0	Pas de changement
1	<30% de la zone montre le blanchiment de la peau, Pas de pousse des poils.
2	30%~70% de la zone montre le blanchiment de la peau, Pas de pousse des poils.
3	> 70% de la zone montre le blanchiment de la peau, ou <30% montre la croissance des poils.
4	> 70% de la zone montre le blanchiment de la peau, et 30%~70% montre la croissance des poils.
5	> 70% de la zone montre le blanchiment de la peau, et > 70% montre la croissance des poils.
6	> 90% de la zone montre la croissance des poils.

II.2.12. Expression statistique des résultats

La significativité des résultats des activités biologiques de l'extrait polyphénolique de notre plante médicinale été déterminée en utilisant le test de *Student*. Les valeurs de $p \leq 0.05$ sont considérées statistiquement significatives.

Chapitre III
Résultats et Discussions

III.1. Enquête ethnobotanique

L'étude ethnobotanique a montré que les plantes utilisées par la population locale de Draa El Mizan sont majoritairement des plantes récoltées. L'utilisation des plantes médicinales dans cette région est répandue chez toutes les tranches d'âge, avec une prédominance chez les personnes âgées de 40 à 50 ans (37,14%), suivie par la tranche d'âge de 50 à 60 ans (Figure 22.a). L'usage varie selon le niveau intellectuel de l'utilisateur, les personnes y ont le niveau de l'enseignement primaire et le niveau secondaire représente la fréquence la plus élevée, soit un pourcentage de 48,57% (Figure 22.b).

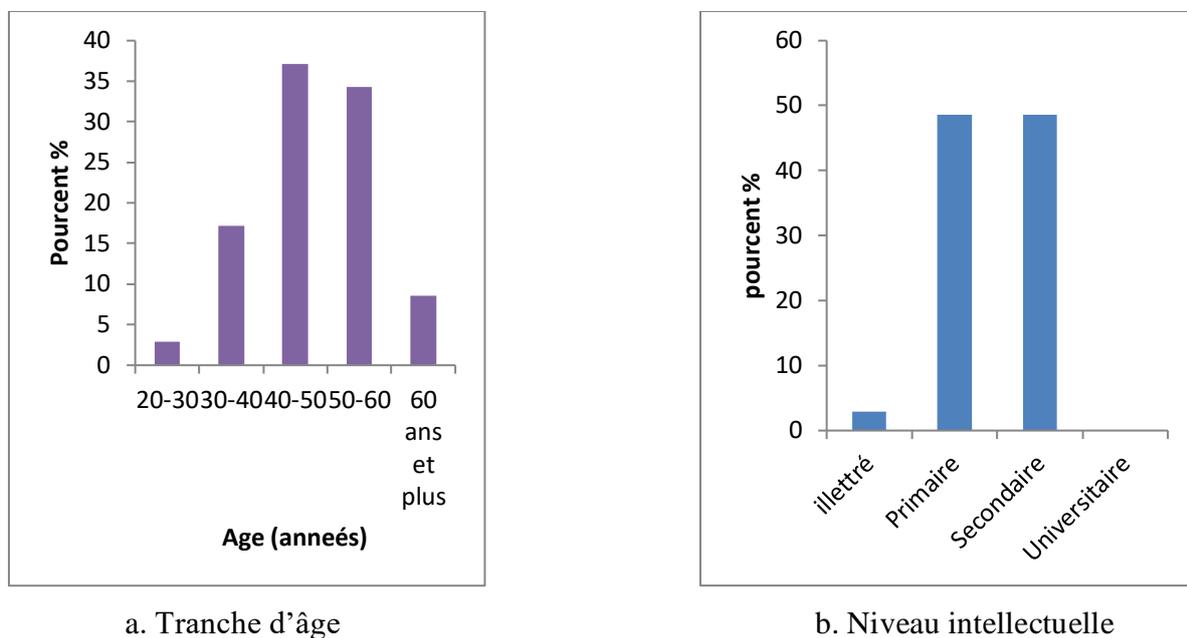


Figure 22 : utilisation des plantes médicinales selon la tranche d'âge et le niveau intellectuelle

L'étude a fait ressortir aussi que l'usage des plantes médicinales est plus important chez les personnes mariées (82,85%), en raison du coût élevé des médicaments, ce qui leur permet de se soigner (Figure 23). Il en ressort aussi de cette enquête que les différentes parties des plantes sont utilisées suivant les pathologies rencontrées.

De manière générale, les feuilles représentent la partie la plus utilisée avec une fréquence de 71,32%, suivie des racines avec un pourcentage de 21,32% (Figure 24). L'utilisation des feuilles peut être expliquée selon Bitsindou (1986) par le fait qu'elles sont rapidement récoltées et faciles d'usage.

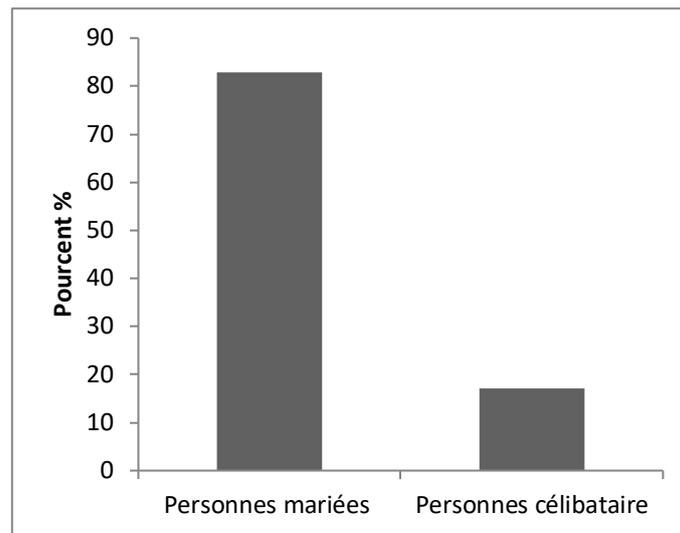


Figure 23 : utilisation des plantes médicinales selon la situation familiale

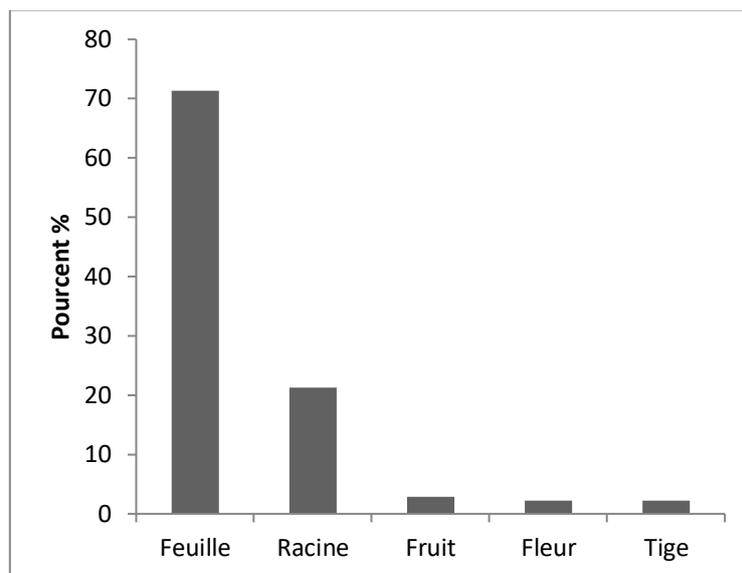


Figure 24 : utilisation des plantes médicinales selon la partie utilisée

Il est à signaler que les plantes médicinales utilisées par la population locale sont préconisées pour le traitement de plusieurs pathologies. En effet, les problèmes digestifs viennent en première position avec un pourcentage de 39,53%, suivie des blessures et des brûlures cutanés (24,41%), maladies cardiovasculaires (19,76%), maladies respiratoires (8,14%) et enfin les jaunisses avec une fréquence de (8,14%) (Figure 25).

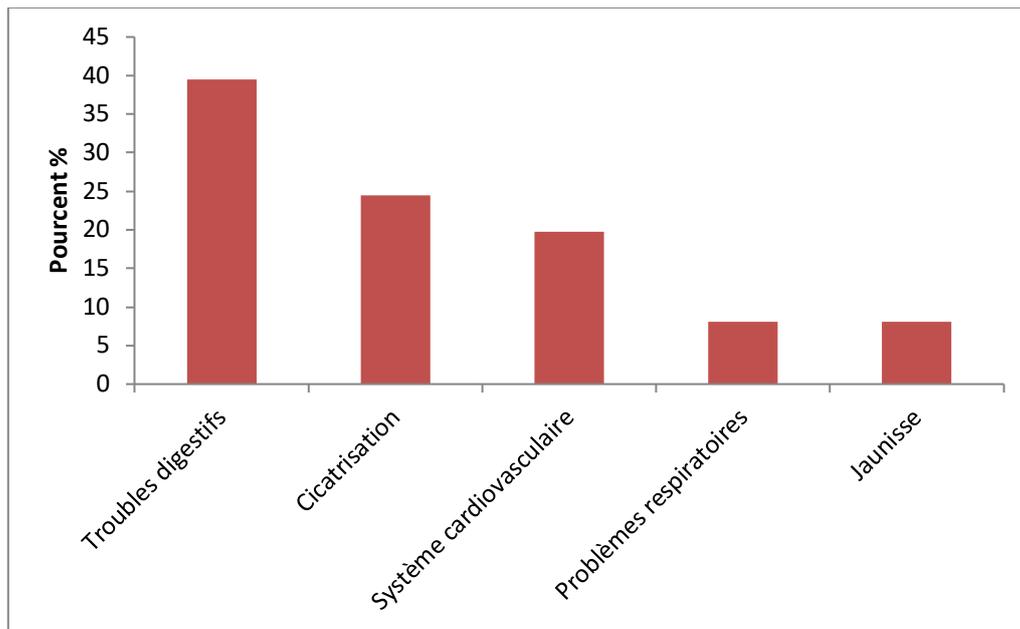


Figure 25 : utilisation des plantes médicinales selon les types de pathologies

L’exploration des plantes médicinales utilisées dans la région de Draa El Mizan montre une diversité spécifique remarquable, soit au total 26 espèces réparties en 15 familles. La famille la plus utilisée est celle des Lamiaceae (30,77%), suivie par les Asteraceae avec une fréquence de 11,53% (Figure 26).

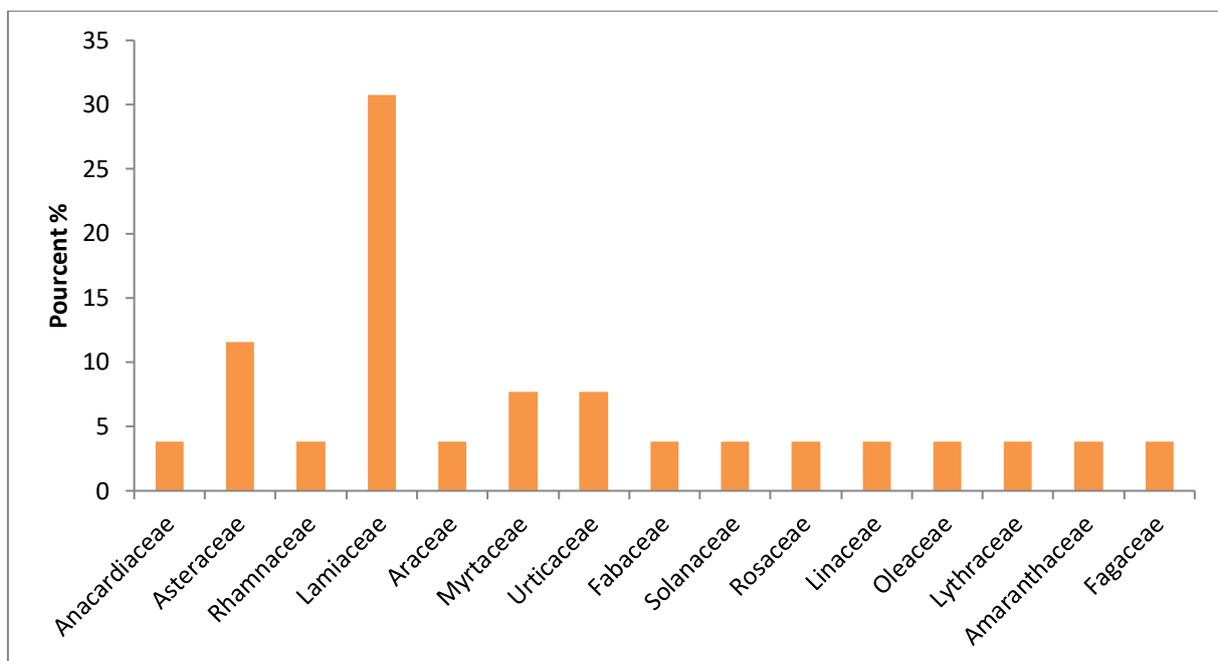


Figure 26 : fréquences des familles de plantes utilisées dans l’étude ethnobotanique

Nos résultats sont en accord avec les travaux de Benarba et al. (2015) qui ont montré dans leur étude ethnobotanique réalisée à Mascara, l'importance de la famille des Lamiaceae (13,57%) et dans l'usage traditionnel. L'importance des Lamiaceae réside dans le grand nombre de taxons médicinaux présent et leur richesse en huile essentielle (Bozin et al., 2006). En effet, les HEs ont des propriétés médicinales nombreuses et variées.

La plus part des constituants des HEs ont un pouvoir antibactériens, d'où leur usage antiseptique (Worwood, 2016). D'autres composés présentent des propriétés digestives ou des propriétés antispasmodiques, sédatives et cicatrisantes (Keskin et al., 2017).

De plus, les espèces répertoriées, *Carthamus caeruleus* est l'espèce la plus utilisée avec une fréquence de 14,17%. Cette plante est utilisée par la population de Draa El Mizan pour le traitement des brûlures à différents degrés.

Nous avons été étonné lors de notre enquête ethnobotanique de constater plusieurs personnes rappeler les bienfaits de cette espèce et surtout de vouloir transmettre l'idée de son éventuelle intégration en pharmaceutique, afin de faire profiter un maximum de patients.

En seconde position *Rhamnus lycioides* (11.8%) cette plante est utilisée comme laxatif, et contre les affections hépatiques.

Les plantes de genre *Rhamnus* sont connus pour leurs propriétés pharmacologique, parmi les quelles l'activité hypotensive, l'activité antiproliférative et antioxydante (Ammar et al., 2009). Par la suite deux espèces se présentes a troisième position avec la même fréquence (11%) c'est *Rosmarinus officinalis* et *Lavandula stoechas*.

Les parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* sont utilisées par voie orale pour soulager la colique rénale, les dysménorrhées et comme antispasmodique (Asghari et al., 2018) (Figure 27). *Lavandula stoechas* est une espèce végétale bien connue et utilisée pour ses vertus médicinales principalement attribués à sa teneur en HE. Elle était utilisée par les médecins musulmans qui la considéraient comme céphalique (tonique), résolvente, désobstruante et contre les infections pulmonaires et pour l'expulsion des humeurs bilieuses et flegmatiques (Benabdelkader, 2012). En Crète, l'HE et l'infusion des feuilles sont utilisées par des thérapeutes traditionnels comme spasmolytiques, contre le diabète, les douleurs menstruelles féminines, les calculs rénaux, l'anthrax, l'otite, l'hypertension et la matière végétale brute est également utilisée comme insectifuge (Skoula et al., 1996).

Elle est également utilisée pour les différentes maladies du système nerveux central, comme l'épilepsie et la migraine (Koulivand et al., 2013).

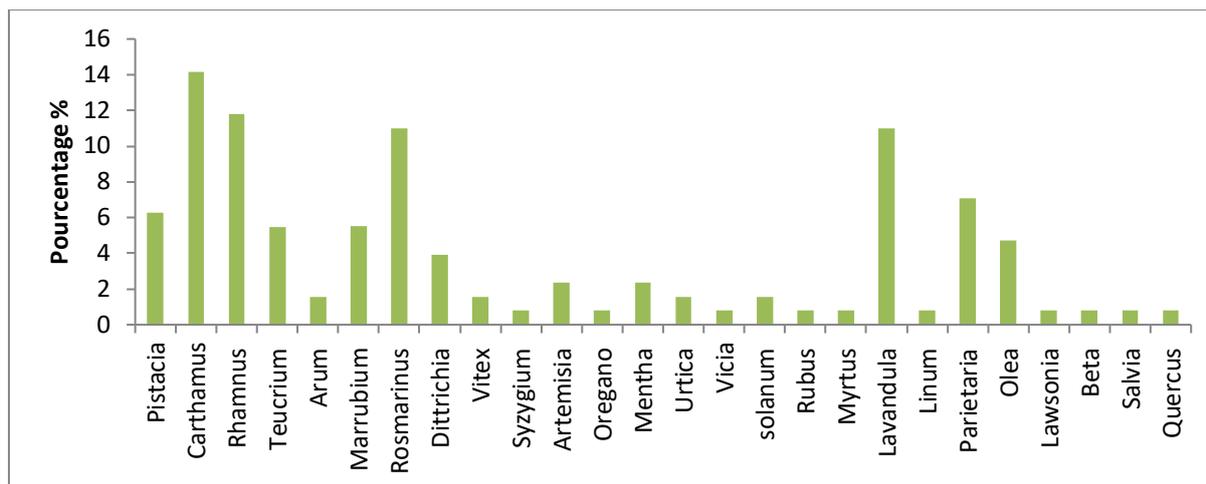


Figure 27 : fréquences des genres utilisées dans l'étude ethnobotanique

III.2. Caractérisation phytochimiques

Les plantes médicinales renferment une variété de composés secondaires qui peuvent être bénéfiques ou néfastes. Toutefois, il ne s'ensuit pas nécessairement que les mêmes composés soient aussi toxiques ou bénéfiques lorsqu'ils se trouvent dans la plante que lorsqu'ils en sont extraits. Le screening phytochimique a permis de nous renseigner sur les familles chimiques produites par les racines de *Carthamus caeruleus*. Les résultats sont résumés dans le tableau 9.

Tableau 9 : tests phytochimiques des racines de *Carthamus caeruleus* L

Substances	Précipitation ou une coloration par des réactifs spécifiques
Tanins totaux	+++
Tanins catéchiques	-
Tanins galliques	++
Flavonoïdes	+++
Anthocyanes	+++
Leucoanthocyanes	+++
Sénosides	+++
Amidon	+
Quinones Libres	+++
Saponosides	+++
Alcaloïdes	-
Glucosides	+++
Mucilage	+++
Iridoïdes	-
Coumarines	+++

(-) : absence de substance ; (+) : faible présence de substance ; (++) : Moyenne présence de substance ;

(+++): Forte présence de substance

Selon les résultats obtenus du test phytochimique, on remarque que les racines de *Carthamus caeruleus* sont très riches en tanins totaux, tanins galliques, flavonoïdes, saponosides, mucilages, anthocyanes, leucoanthocyanes et coumarines.

Cependant, elles sont moyennement riches en tanins galliques. En revanche, on note une absence totale des alcaloïdes et des irridioïdes.

Les résultats de la présente étude sont en accord avec ceux trouvés par Benhamou et Fazouane (2013), ayant signalés la richesse des racines de *Carthamus caeruleus* récoltée à Boumerdes en tanins galliques, flavonoïdes, saponosides et en mucilages.

Cette étude a également montré l'existence d'une réelle biodiversité moléculaire, qui confère à la plante des vertus médicinales importantes à valoriser.

Parmi les métabolites secondaires mis en évidence, les flavonoïdes ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales : antioxydantes (Granato et al., 2018), anti-inflammatoires, inhibiteurs d'enzymes, antiallergiques, antiulcérogènes, et effets protecteurs vasculaires (Umesh et al., 2018), et antimicrobiens (Usman et al., 2018), antitumoraux, antisécréteurs et antidiarrhétiqes (de Souza et al., 2018), hypotenseurs et aphrodisiaques (Rai et al., 2018).

Les tanins avec leurs propriétés de former des complexes avec les protéines, présentent des propriétés antidiarrhétiqes, antibactériennes et antifongiques (Daing et al., 2017; Usman et al., 2018), et renforcent les vaisseaux sanguins contribuant à l'accumulation de la vitamine C dans l'organisme (El-Guendouz et al., 2017).

Les anthocyanes sont des puissants antioxydants. Les coumarines ont des propriétés antipyrétiques, analgésiques, sédatives, antioedémateuses et anti-convulsivantes, ainsi qu'une capacité à favoriser l'expulsion des gaz intestinaux entraînant une diminution des ballonnements et des flatulences (Mpondo et al., 2015). Plusieurs effets biologiques ont été attribués aux saponines.

Elles ont des propriétés antioxydantes, antifongiques, antivirales, immunostimulantes, hypocholestérolémiantes et anticancérigènes. Les saponines ont également une incidence importante sur la croissance, la consommation alimentaire et la reproduction chez les animaux (Francis et al., 2002).

De plus, ces métabolites montrent une activité cicatrisante des plaies par activation du processus de cicatrisation (Razika et al., 2017). Les coumarines quant à elles, possèdent des propriétés anticoagulantes et antimicrobiennes (Salvador et al., 2018).

III.3. Extraction et dosage des polyphénols totaux

L'extrait polyphénolique présente un aspect liquide et une couleur marron jaunâtre. Le rendement obtenu pour 30g de racines de *Carthamus caeruleus* est de $11,76 \pm 0,27$ %. Le dosage des polyphénols est réalisé selon la méthode de Folin- Ciocalteu. Cette dernière nécessite préalablement l'établissement d'une courbe d'étalonnage avec l'acide gallique comme étalon . La teneur en polyphénols totaux obtenue est de $57,91 \pm 0,57$ mg EAG/g. Boumerfeg (2010) a noté une teneur en polyphénols totaux des racines de *Carthamus caeruleus*, récoltée à partir de la région de Sétif (Algérie), de $12,53 \pm 0,67$ mg EAG /g, en utilisant un mélange hydroalcoolique comme solvant.

Cette différence peut être due à la méthode d'extraction (Lee et al., 2002), la région de récolte, ainsi que le type de solvant utilisé. En effet, (Falleh et al., 2008) ont signalé que la solubilité des composés phénoliques est fonction de leur degré de polymérisation, de leur interaction avec les autres constituants et le type de solvant utilisé.

Par ailleurs, la méthode d'extraction doit permettre d'avoir une fraction complète en composés d'intérêt et doit éviter leur modification chimique (Dai et Mumper, 2010).

La teneur phénolique d'une plante dépend également d'un certain nombre de facteurs intrinsèques et extrinsèques, en particulier les conditions climatiques, la maturité à la récolte et les conditions de stockage (Podsędek, 2007).

Il semble que l'augmentation de la température, et l'effet des jours longs favorisent l'accumulation des polyphénols, et exercent une influence sur la qualité des principes actifs polyphénoliques synthétisés par les plantes (Cosmulescu et Ion, 2011).

Le type de solvant d'extraction doit non seulement avoir une haute capacité d'extraction de biomolécules issue de la plante, mais aussi de bénéficier d'un certain taux de sécurité. L'éthanol est l'un des meilleurs solvant pour une extraction polyphénolique (Cimanga et al., 2018a). D'autres auteurs ont montré que le méthanol reste le solvant le mieux choisi pour extraire les antioxydants d'une plante (Złotek *et al.*, 2016).

III.4. Caractérisation des polyphénols par Infra Rouge (IR)

Les résultats de la caractérisation par infrarouge de l'extrait polyphénolique sont représentés dans la figure suivante:

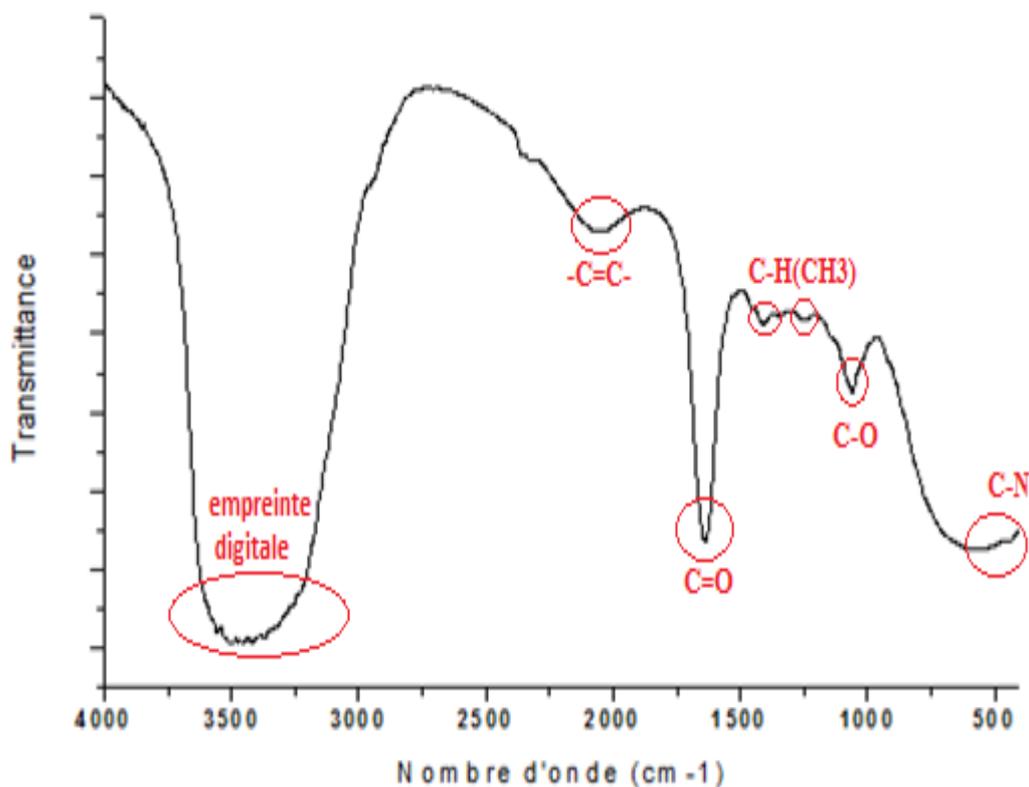


Figure 28 : spectre infrarouge de l'extrait polyphénolique de *Carthamus caeruleus*

L'extrait polyphénolique des racines de *Carthamus caeruleus* montre un spectre infrarouge caractéristique avec plusieurs bandes. En effet, les bandes larges autour de 3400 cm^{-1} sont associées à la vibration d'élongation de la liaison OH (fonction phénol).

Les bandes étroites autour de 2926 cm^{-1} correspondent à la vibration de déformation de la liaison CH (fonction alcène). Les bandes fortes autour de 1620 correspondent à la vibration d'élongation de la liaison C=O (fonction aldéhyde).

Enfin, les bandes autour de 1100 cm^{-1} sont attribuées à la vibration d'élongation de la liaison C-H (fonction ester). La richesse que possède cet extrait en double liaisons lui confère une activité antioxydante importante.

D'autres travaux ont été effectués sur l'extrait de *Carthamus tinctorius* ont indiqué aussi une richesse en radicaux hydroxyles ainsi que la présence de groupements amines

(Huang et al., 2018). Le spectre infrarouge de l'extrait polyphénolique de *Carthamus caeruleus* montre la présence de différents groupements fonctionnels (Tableau 10).

Tableau 10 : longueurs d'ondes et groupements chimiques correspondants

Longueur d'ondes (cm-1)	Liaisons	Fonction	Intensité de la bande
3000- 3500	Empreinte digitale		
2000-2500	-C=C-	Alcyne	Bande forte et large
1500-2000	C=O et C instant en alpha	Amide	Bande forte et étroite
1000-1500	C-H(CH ₃)	Nitrile	Bande moyennement forte
	C-O	Ester	Moyenne à faible bande
1000-500	C-N	Nitrile	Bande faible

III.5. Caractérisation chromatographie de l'extrait par CG/SM

Les résultats de l'analyse par CG/SM de l'extrait méthanolique de *Carthamus caeruleus* à montré une richesse en composé bioactives. Un totale de 119 pics à été observé sur le chromatogramme (Figure 29), dont 24 molécules ont été identifiées avec un score de reconnaissance supérieure ou égale à 90% (Tableau 11).

Parmi les molécules identifiées, l'acide n-Hexadecanoïc et l'acide 9,12-octadécadiénoïque sont des métabolites secondaires communs présent dans plusieurs plantes et sont connue comme ayant de nombreuses propriétés biologiques, en particulier l'effet antimicrobien, anti-inflammatoire, hypocholestérolémiant, préventif du cancer, hépatoprotecteur et antioxydant (Ma et al., 2018).

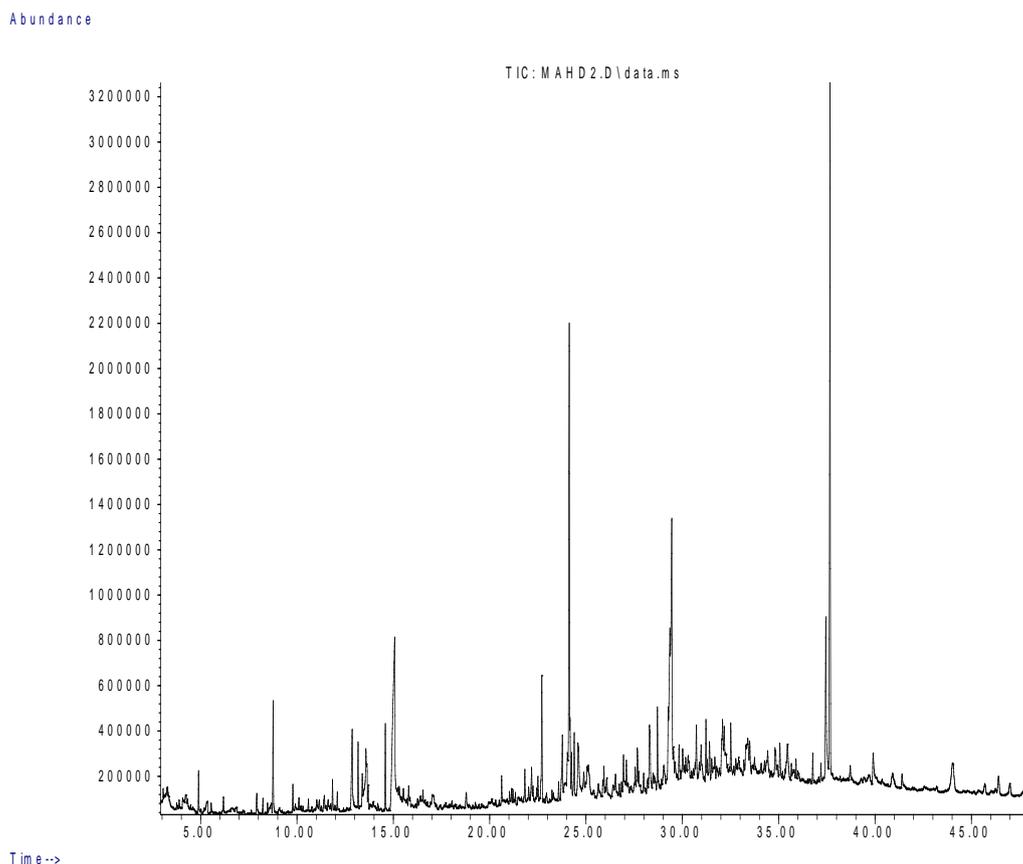
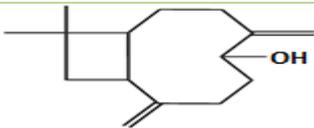
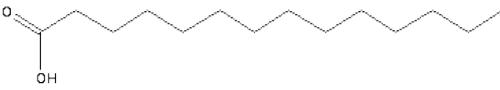
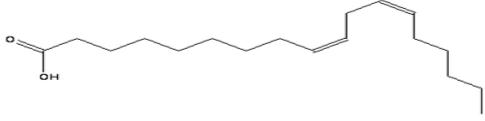
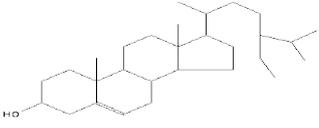
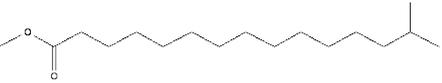
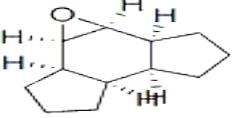
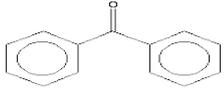
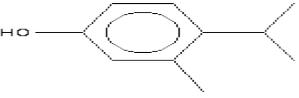
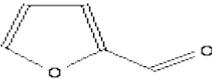
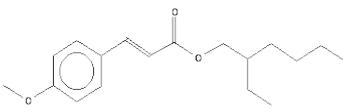
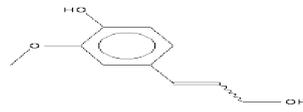
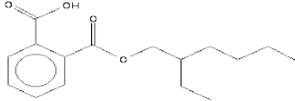
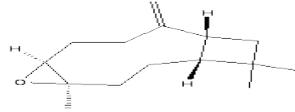
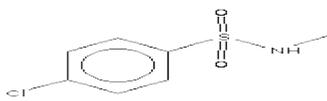
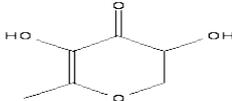
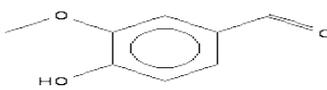


Figure 29 : profil de l'extrait méthanolique de *Carthamus caeruleus* par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

Le 1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono (2-ethylhexyl) ester est une biomolécule dotée de plusieurs activités biologiques, ce qui lui confère un pouvoir antifongique, anti rétroviral, anti tumoral, antioxydant, anti-inflammatoire et antimicrobien (Ezhilan et Neelamegam, 2012). Des études ont montrés que le 2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl) (5-HMF) inhibe la formation de certaines forme d'anémie sévère (Abdulmalik et al., 2005), que le 5-HMF possède une puissante activité antihypoxique (Li et al., 2011) et que le caryophyllène oxide est doté d'une activité analgésique et anti-inflammatoire (Chavan et al., 2010). Cette étude a également montré l'existence d'une réelle biodiversité moléculaire. Des travaux antérieurs effectués sur *Carthamus caeruleus* ont révélés la présence de nombreux métabolites secondaires tels que la et Methyl (Z)-5,11,14,17-eic et Agarospirol cette molécule est douée de bonne activité bactérienne. (Toubane et al., 2017)

Tableau 11: composition chimique de l'extrait méthanolique de *Carthamus caeruleus*

Composés chimiques identifiés	Temps de rétention (min)	Structure
Caryophylla-3(15),7(14)-dien-6-ol	23,76	
Tetradecanoic acid	25,93	
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)	32,08	
n-Hexadecanoic acid	29,43	
1-Pentadecene	20,62	
Gamma.-Sitosterol	44,02	
Methyl isohexadecanoate	28,7	
(7R,8S)-cis-anti-cis-7,8-Epoxytricyclo[7.3.0.0(2,6)]dodecane	27,34	
9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester, (E,E)	31,41	
Benzophenone	23,58	
3-Methyl-4-isopropylphenol	16,53	
2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl)	15,06	

Furfural	4,9	
2-Propenoic acid, 3-(4-methoxyphenyl)-, 2-ethylhexyl ester	34,54	
Coniferol	25,64	
1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) ester	37,65	
Caryophyllene oxide	22,8	
4-Chlorobenzenesulfonamide, N-methyl	28,3	
Cyclodecene	26,07	
2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	12,86	
9-Tetradecenal, (Z)	29,04	
Vanillin	18,78	
13-Docosamide, (Z)	41,4	
Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)	21,03	

Toutes les structures chimiques ont été reportées de l'U.S. National Library of Medicine

III.6. Test de la toxicité aigue

D'après nos résultats, le poids des souris traitées subit une faible augmentation significative ($p < 0.05$) pour tous les groupes par rapport aux animaux témoins (Tableau 12).

Tableau 12 : évolution du poids des souris témoins et traitées par l'extrait polyphénolique

Lots	Avant le traitement (g)	Après le traitement (g)	Augmentation (%)
Témoin	22±0,7	24,62±0,8**	11,9
Lot 1 (reçoit 100mg/Kg)	23±0.65	26,5±0.23**	15,21
Lot 2 (reçoit 150mg/Kg)	24,25±0.88	26,5±0.18**	9,77
Lot 3 (reçoit 200mg/Kg)	25,5±0.31	27±0.51*	5,88
Lot 4 (reçoit 250mg/Kg)	27,5±0.47	27,75±0.33	0.9

Les résultats sont exprimés en moyenne± EMS, test de Student: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ lots comparés au lot témoin

Les plantes médicinales malgré leurs effets thérapeutiques doivent être utilisées avec une grande prudence car elles peuvent avoir un risque de toxicité. Diverses plantes peuvent être toxiques, et être à l'origine de perturbations hépatiques, rénales et de la fonction thyroïdienne (Selih et al., 2015). D'après les résultats présentés sur le tableau 12, aucune mortalité n'a été signalée lors de la détermination de la toxicité de l'extrait polyphénolique de *Carthamus caeruleus*, selon le mode aiguë, par voie orale chez les souris aux différentes doses. Cependant, les poids des souris du groupe 4 traité par une dose de 250mg/kg d'extrait polyphénolique a montré une faible augmentation non significative ($p > 0,05$) de poids corporel de 0,9% par rapport au lot témoin (11,9%), avec une diminution de la mobilité, de la vivacité et de l'appétit. Le changement du poids corporel est utilisé comme un indicateur des effets indésirables des composés chimiques (Srinivasa Rao et al., 2018). La perte de poids est corrélée à l'état physiologique de l'animal.

Cette diminution peut être expliquée par une réduction de la consommation des aliments, mais aussi par les possibilités d'interactions dose/absorption et par la diminution de la quantité de nourriture absorbée (Figure 30). En effet, les résultats indiquent une diminution de la consommation des nutriments et une augmentation de la consommation du volume d'eau du lot 4 (250mg/Kg) comparativement au lot témoin (Figure 31).

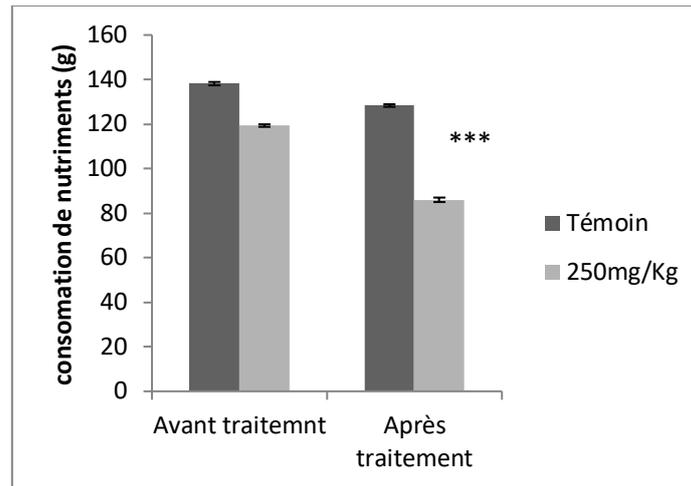


Figure 30 : quantité de nutriment consommée par les souris pendant les jours de gavage de l'extrait polyphénolique

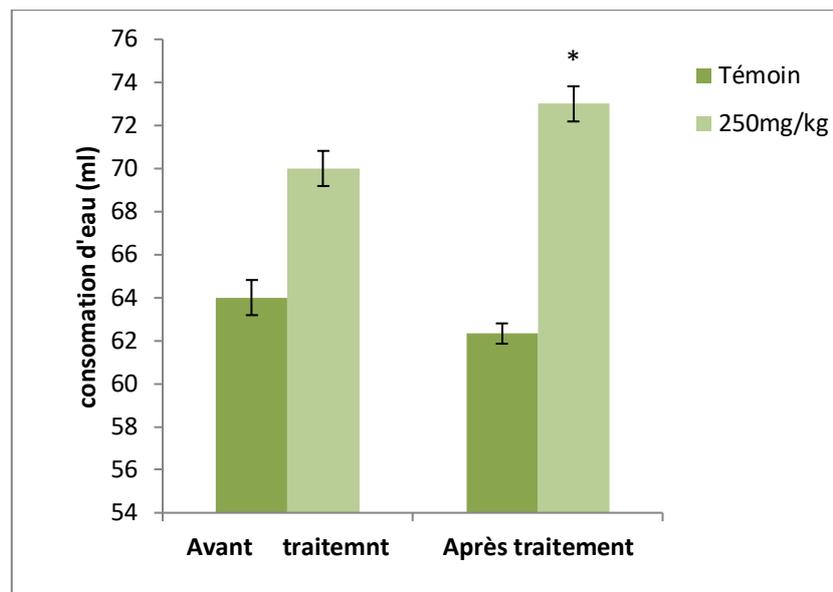


Figure 31 : quantité d'eau consommée par les souris pendant les jours de gavage de l'extrait polyphénolique (Les résultats sont exprimés en moyenne \pm EMS, test de Student: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ et *** $p < 0,001$ lots comparés au lot témoin)

Les résultats menés par Liu et collaborateurs ont montré que le traitement par l'extrait de *Carthamus tinctorius* pendant 90 jours à la dose de 180 mg/kg, induit une légère néphrotoxicité (Liu et al., 2004).

Des études plus récentes ont montrés la possibilité d'induction des effets toxiques sur le tissu testiculaire de souris par l'extrait de *Carthamus tinctorius*, ce qui les a poussé à recommander son utilisation avec prudence (Mirhoseini et al., 2012). De plus, le Carthame présente une toxicité sur le développement des embryons et des larves de poisson zèbre. Dans le même contexte, Xia et al. (2017) ont suggéré une contre-indication de cette plante médicinale chez la femme enceinte, en raison du rôle important jouait par l'extrait de *Carthamus tinctorius* dans la toxicité embryonnaire. En effet, selon ces auteurs, le cœur en développement et l'organe cible de la toxicité engendrée par l'extrait de cette plante.

III.7. Activité antimicrobienne

L'évaluation du potentiel antimicrobien de l'extrait polyphénolique est réalisée sur plusieurs microorganismes. La sensibilité des germes vis-à-vis des métabolites secondaires est exprimée par l'apparition des zones d'inhibitions. Dans le tableau 13 sont inclus les valeurs en (mm) des zones ou diamètres d'inhibitions relatives aux différentes souches testées.

Tableau 13 : diamètres d'inhibitions et concentrations minimales inhibitrices des polyphénols de *Carthamus caeruleus*

Souches microbiennes testées	Diamètre d'inhibition (mm)			CMI (mg/ml)
	EM	C ⁻	C ⁺	EM
<i>Bacillus cereus</i>	11,33±0.57	-	25±0.0	1/2
<i>Escherichia coli</i>	12,67±2.08	-	15,66±1,33	1/4
<i>Enterococcus faecalis</i>	9,33±0.57	-	7±0,0	-
<i>Micrococcus luteus</i>	9,67±0.57	-	-	-
<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	-	-	12±0,0	-
<i>Staphylococcus pneumoniae</i>	24,67±0.57	-	20±0,0	1/6
SASM	9±0,0	-	11±0,0	-
SARM	9±0,0	-	12±0,0	-
<i>Aspergillus niger</i>	10,1±1	-	-	-

CMI : concentration minimale inhibitrice ; (SARM) : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline ; (SASM) : *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline ; (EM) : Extrait Méthanolique ; C⁻ : Contrôle négative Méthanol ; C⁺ : Chloramphénicol.

De manière générale, des effets antibactériens significatifs et variables ont été obtenus avec l'extrait méthanolique, aussi bien sur des bactéries Gram-positives que Gram-négatives.

La sensibilité des bactéries Gram-positif est signalée par (Chi et Holo, 2018).

L'absence de la membrane externe des bactéries Gram (+) les rend plus sensibles aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH et les extraits naturels (Boudjema et al., 2018).

Les résultats obtenus ont montrés que les diamètres des zones d'inhibition diminuent graduellement avec les dilutions. Ainsi, *Bacillus cereus* s'est montrée sensible à l'extrait méthanolique des racines de *Carthamus caeruleus*, avec un diamètre d'inhibition de $11,33 \pm 0,57$ mm. Ces résultats sont en accord avec ceux de Saffidine et al. (2013).

En effet, ces auteurs en testant plusieurs extraits méthanoliques de racines de *Carthamus caeruleus* sur une souche de *Bacillus* ont noté une valeur d'inhibition maximale de $20 \pm 1,5$ mm. De même, une sensibilité à l'extrait testé est notée pour *Escherichia coli* et *Staphylococcus pneumoniae* avec respectivement un diamètre d'inhibition maximale de $12,67 \pm 2,08$ mm et $24,67 \pm 0,57$ mm.

L'effet inhibiteur de la croissance de *K. pneumoniae* exercé par *Carthamus caeruleus* est également noté par d'autres auteurs (Belkhiri et al., 2018; Karima et al., 2013). Cependant, les autres germes testés se sont montrés soit peu sensibles, soit résistants : *Enterococcus faecalis* ($9,33 \pm 0,57$ mm), *Micrococcus luteus* ($9,67 \pm 0,57$ mm), *SARM* ($9 \pm 0,0$ mm), *SARS* ($9 \pm 0,0$ mm) et *Pseudomonas aerogenosa* ($6,33 \pm 0,57$ mm).

La résistance de cette dernière aux extraits de *Carthamus caeruleus* est citée dans les travaux de Saffidine et al. (2013).

Il faut noter que le pouvoir antimicrobien des plantes médicinales est corrélé à leur richesse en composants antimicrobiens (Stević et al., 2017).

III.8. Activité antioxydante

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour estimer l'activité antioxydante *in vitro*. Certaines d'entre elles reposent sur la capacité réductrice d'un composé comme étant un indicateur significatif de son potentiel antioxydant, d'autres reposent sur la mesure d'une molécule à piéger les composés radicalaires (Javanmardi et al., 2003). Les trois méthodes appliquées dans notre étude sont : la méthode de piégeage du radical libre DPPH, la méthode de la réduction du fer FRAP et piégeage du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

III.8.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)

La méthode de DPPH a été choisie, en raison de sa simplicité, rapidité, sensibilité et de sa reproductibilité, mais aussi parce que les mesures de l'IC50 exprimées en mg/ml sont comparables entre elles et à celle d'une référence (Ozkan et al., 2019).

Les résultats du pourcentage d'inhibition (PI %) du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) obtenus pour l'extrait phénolique sont enregistrés dans la figure 32. Nos valeurs sont en accord avec celles obtenues par Baghiani et al. (2010), après avoir testés différents extraits de *Carthamus caeruleus*, soit un pouvoir antiradicalaire allant de 20 à 65%. (Toubane et al., 2017), ont signalé un effet inhibiteur plus puissant de l'extrait éthanolique de *Carthamus caeruleus* par rapport aux extraits obtenus par l'hexane et par le méthanol.

L'action inhibitrice des radicaux libres par les polyphénols a été signalée par (Bjørklund et Chirumbolo, 2017). Ces mêmes auteurs ont révélés que ces métabolites secondaires sont impliqués dans la prévention des diverses pathologies associées au stress oxydant, telles que le cancer, les maladies cardio-vasculaires, l'ostéoporose ou les maladies inflammatoires.

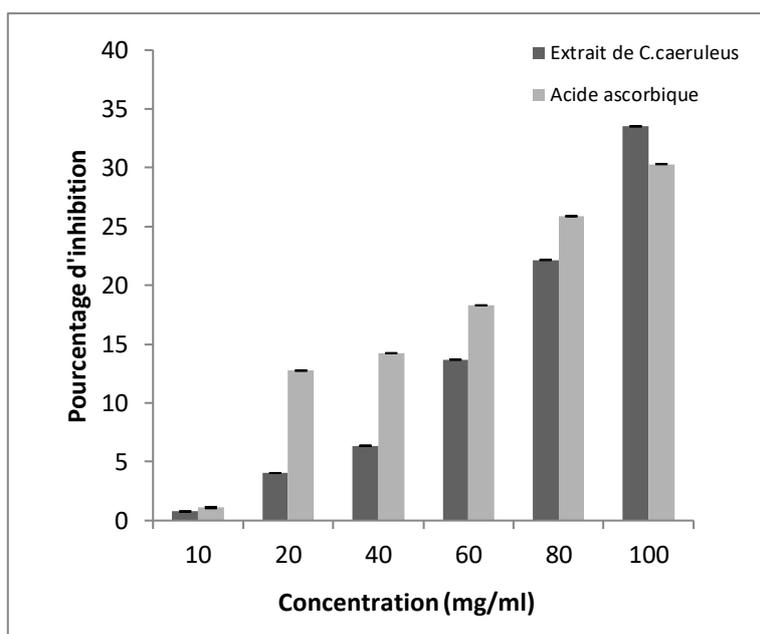


Figure 32 : pouvoir antioxydant de l'extrait polyphénolique (DPPH)

III.8.2. Pouvoir de réduction de fer

L'évaluation de l'activité antioxydante par réduction du fer est une méthode facile et reproductible, pour cela elle est très utilisée pour distinguer les extraits de plante les plus riches en biomolécules.

Cette technique peut être appliquée aussi bien chez les plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux (Li et al., 2008). Les résultats du pouvoir réducteur de l'extrait des racines de notre plante sont reportés sur la figure 33.

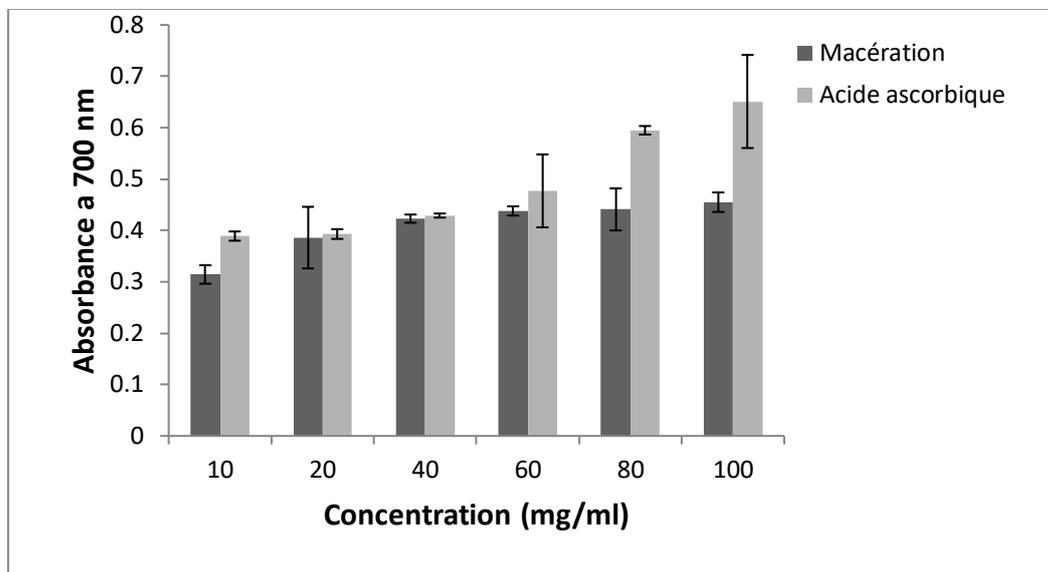


Figure 33 : pouvoir réducteur de l'extrait polyphénolique (FRAP)

A travers ces résultats, l'extrait polyphénolique des racines de *Carthamus caeruleus* a présenté un pouvoir réducteur élevé supérieur à celui exercé par l'antioxydant de référence l'acide ascorbique. Ce pouvoir réducteur élevé des polyphénols est signalé par (Zhang et Tsao, 2016), et bien corrélé avec la teneur en composés phénoliques (Djeridane et al., 2010).

III.8.3. Activité du piégeage du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 scavenging activity)

Bien que le peroxyde d'hydrogène ne soit pas un radical libre proprement dit, il représente une source importante des radicaux libres hydroxyles, qui sont toxiques en présence d'ions métalliques comme le cuivre ou le fer.

Il peut traverser les membranes cellulaires et peut donc oxyder et endommager de nombreux composés cellulaires (Yvonne et al., 2004).

Le peroxyde d'hydrogène est fortement impliqué aux niveaux de plusieurs pathologies telles que le cancer, les maladies auto-immunes, les maladies inflammatoires chroniques et les pathologies neuro-dégénératives (Thiagarajah et al., 2017).

Les résultats obtenus dans notre travail ont montré la capacité de l'extrait méthanolique de *Carthamus caeruleus* a diminué les concentrations du peroxyde d'hydrogène, caractérisée par un effet dose dépendant (Figure 34). Al-Snafi (2015) a mis évidence le rôle des polyphénols dans piégeage du peroxyde d'hydrogène.

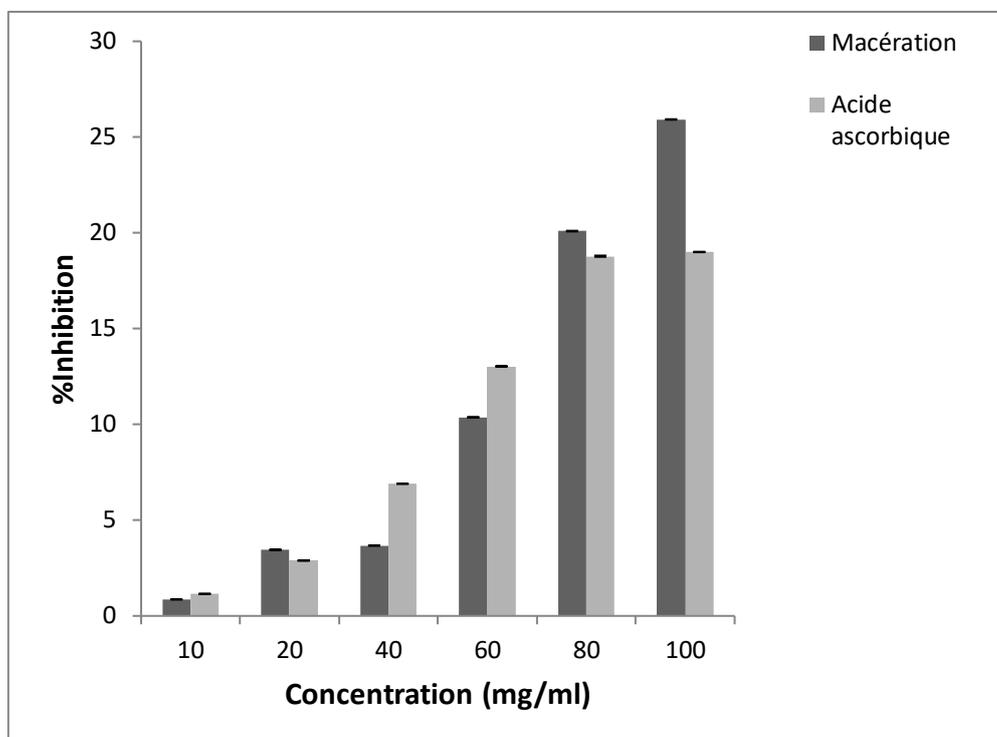


Figure 34 : valeurs des concentrations inhibitrices du H₂O₂ par différentes concentrations de l'extrait méthanolique de *Carthamus caeruleus*

III.12. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est un processus habituellement bénéfique dont le but principal est l'élimination de l'agent pathogène et la réparation des lésions tissulaires. Seulement, il faut rappeler que l'inflammation peut parfois être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance au niveau du siège de l'inflammation. (Blander et al., 2017)

D'un autre côté, la surproduction des espèces réactives d'oxygènes au-delà des capacités antioxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies allant de l'artériosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, les ischémies et le processus du vieillissement (Choubey et Panchanathan, 2016).

Cependant, l'utilisation de substances chimiques de synthèse anti-inflammatoires ou antioxydantes est accompagnée toujours d'effets secondaires indésirables, alors que l'utilisation de composés phytochimiques s'avère utile et sans effets secondaires (Kafeshani, 2015).

L'activité anti-inflammatoire de *Carthamus caeruleus* à été observée après la 4^{ème} heure d'expérimentation. Sachant que, la troisième heure après administration de la carragénine représente son effet maximal (Duarte et al., 2016) (Figure 35).

Les études faites par Rokia et ses collaborateurs (2006) sur les feuilles et les racines de *M. senegalensis* et les feuilles et les écorces de racine de *T. emetica*, montre que les extraits des deux plantes administrés par voie intragastrique, une heure avant l'injection de la carragénine, réduisent l'œdème à la 3^{ème} heure.

L'inhibition en pourcentage de l'œdème chez les animaux traités par l'extrait de *Carthamus caeruleus* est de 92.20%, ce qui est nettement supérieur à celui des animaux traités avec Diclofenac 82.05%. Les résultats obtenus montrent clairement que l'extrait des racines de *Carthamus caeruleus* provoque une inhibition précoce d'un œdème consécutif de l'infiltration des cellules inflammatoires et d'une sécrétion importante de médiateurs inflammatoires.

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

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

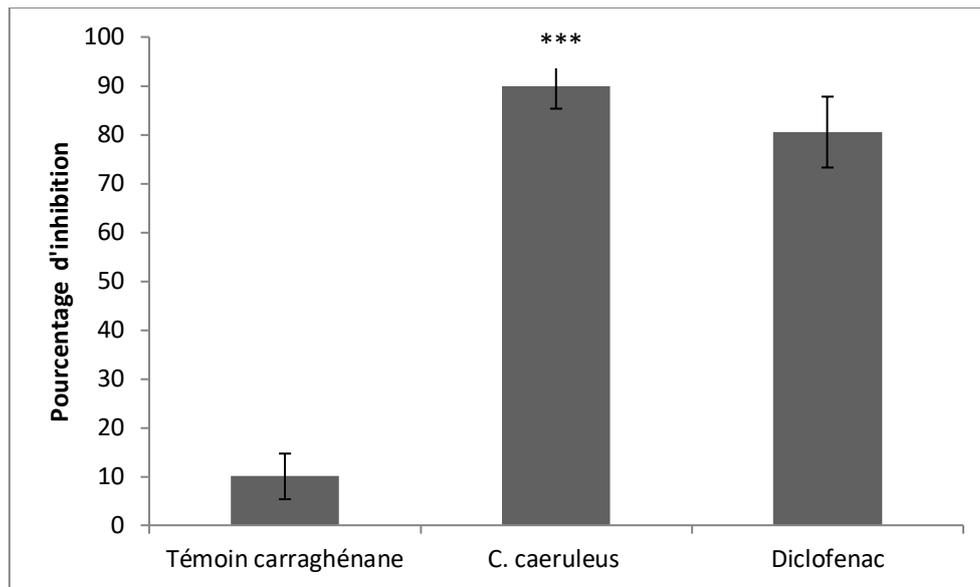


Figure 35 : effet de l'extrait méthanolique de *Carthamus Caeruleus* sur œdème de patte de la souris induite par carraghénine

III.9. Activité cicatrisante des *Carthamus caeruleus*

Au cours de la période d'expérimentation, aucune mortalité n'a été observée chez les animaux. Tous les rats ont été en bonne santé et ils ont été disponibles pour l'évaluation.

Les paramètres morphologiques des surfaces des plaies ont été utilisés pour évaluer l'effet cicatrisant de la poudre de racines de la plante étudiée. A travers les données obtenues, on constate une réduction des surfaces moyennes des plaies dans les trois lots mais de façon inégale (Figure 36). Les résultats de notre étude montrent qu'aucune modification significative ($p > 0,05$) de la surface des plaies n'est observée durant les trois premiers jours de l'incision. Cependant, une réduction importante et significative ($p < 0,05$) de la moyenne des surfaces des plaies traitées par le produit de référence comparé aux autres traitements est observée à partir du 7^{ème} jour (Figure 37).

L'activité cicatrisante de la crème à base de poudre de *Carthamus caeruleus* est plus visible à partir du 8^{ème} jour ($P < 0,05$). En effet, la valeur notée est supérieure à celle des plaies traitées par le produit de référence, soit respectivement $95 \pm 12.25\%$ et $87 \pm 15.06 \text{ cm}^2$.

Nos résultats sont en accord des travaux effectués sur la même plante médicinale récoltée à Boumerdes (Benhamou et Fazouane, 2013).

Plusieurs médicaments pour stimuler le processus de cicatrisation des plaies tirent leur origine des plantes (Mohanty et al., 2018).

Dans une étude présentant une revue bibliographique détaillée sur les cicatrisants naturels, ont investigué les différents phyto-constituants, les formulations de plusieurs plantes, ainsi que les différents produits nutraceutiques responsables de l'activité de cicatrisation (Marume et al., 2017). Les auteurs ont signalé que les principaux ingrédients de l'extrait de *C. quadrangularis*, *A. multiflorum* et *E. abyssinica* ont été utilisés pour traiter différents types de plaies. Leur effet le plus bénéfique semble être la stimulation de la maturation des cicatrices suite à la production de collagène de type I et la diminution de la réaction inflammatoire et la production de myofibroblastes. Une étude récente a mis en évidence qu'un complexe bioactive l'oléosine-rhFGF9 qui est constitué de l'oléosine une protéine structurale issue de graine de *Carthamus tinctorius* et FGF9 qui est un facteur qui joue un rôle important dans la régulation du développement embryonnaire, de la prolifération cellulaire, de la différenciation cellulaire et de la migration cellulaire. Cette biomolécule favorise la cicatrisation des plaies par l'activation des fibroblastes (Cai et al., 2018). Plusieurs auteurs expliquent le pouvoir cicatrisant de composants phénoliques des plantes médicinales par leur capacité antibactériennes, antioxydantes et antiinflammatoires (Karima et al., 2013; Kazemian et al., 2018). Il a été démontré que les plantes médicinales présentant des propriétés cicatrisantes ont souvent un niveau élevé de stérols végétaux (Davis et al., 1994). Le genre *Carthamus* est connu pour sa richesse en stérols (Hamrouni et al., 2007).

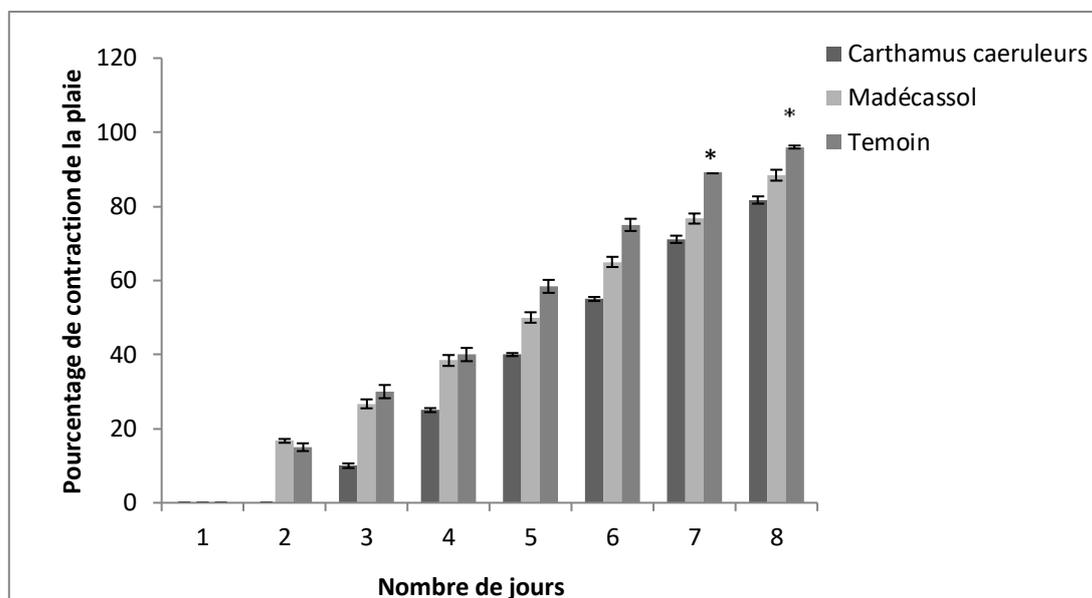


Figure 36 : effet des racines de *Carthamus caeruleus* sur la cicatrisation en comparaison avec le Madécassol (Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. Test de Student: * $p < 0,05$; groupes comparés au groupe témoin)

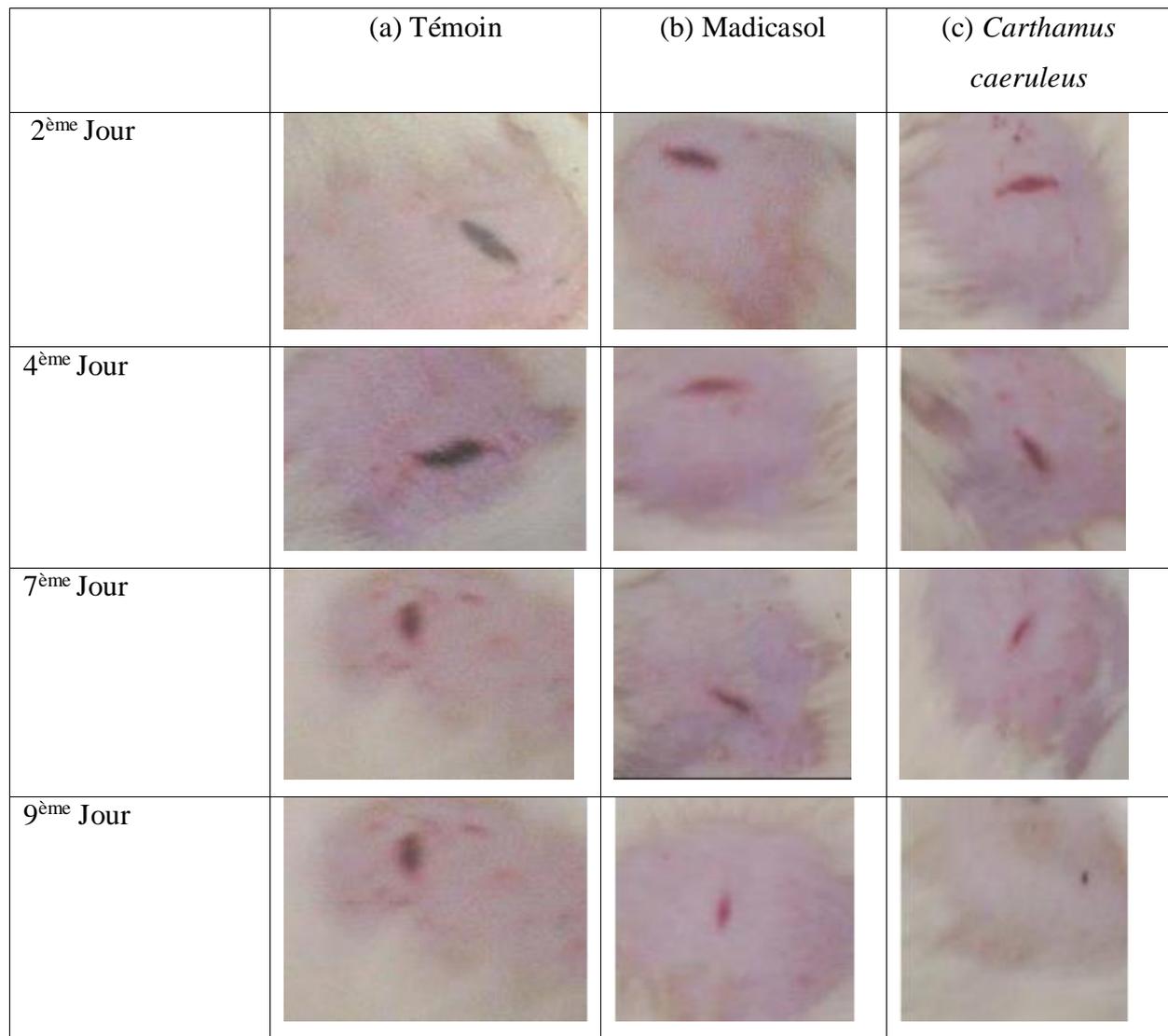


Figure 37: chronologie de contraction des plaies après traitement (a) Témoin, (b) Madicasol et (c) *Carthamus caeruleus*

III.10. Activité repousse des poil de *Carthamus caeruleus*

Dans le cadre de notre étude, nous avons testé le potentiel des racines de *Carthamus caeruleus* pour induire la repousse des poils. Les résultats des tests de croissance des cheveux *in vivo* ont fait ressortir que *Carthamus caeruleus* contribue à l'induction de la phase anagène de la croissance des poil chez le modèle animale, comparativement au lot témoin (Figure 38). Le screening phytochimique des racines de *Carthamus caeruleus* à montré une richesse remarquable de cette plante médicinale en flavonoïde.

Un certain nombre de chercheurs a montré un effet des flavonoïdes sur la croissance des cheveux, en renforçant la paroi du capillaire des petits vaisseaux sanguins alimentant les follicules pileux (Madaan et al., 2017).

Ainsi les flavonoïdes sont impliqués dans la stimulation de la phase télogène en anagène, et provoquent aussi l'expression de certains facteurs de croissance, tels que la growth insuline-like factor-1 (IGF-1), les facteurs endothéliaux vasculaires (VEGF), les facteurs de croissance des kératinocytes (KGF) et les facteurs de croissance (HGF) des hépatocytes, tous en ayant des effets stimulateurs sur la croissance du follicule pileux (Madaan et al., 2017). L'analyse chromatographique de l'extrait méthanolique a permis d'identifier 1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono (2-ethylhexyl) ester (MEHP). Cette biomolécule induit l'expression de l'ARNm de la prostaglandine-endopéroxyde synthase 2 (PTGS2), une enzyme importante pour la synthèse de prostaglandines qui favorise la vasodilatation et l'augmentation de la perméabilité microvasculaire (Tetz et al., 2015). Il est ainsi probable que les racines de *Carthamus caeruleus* améliorent l'activité de la croissance des cheveux en augmentant la vasodilatation, la distribution des glandes sébacées et des capillaires autour des follicules pileux. Des résultats similaires ont été mis en évidence sur *Carthamus tinctorius* (Junlatat et Sripanidkulchai, 2014). Des travaux effectués sur *Eclipta alba* (Asteraceae) ont montrés l'efficacité de l'extrait éthanolique de cette plante dans l'induction de la repousse de poils chez le modèle animale (Roy et al., 2008). Ces résultats pourraient contribuer à la mise au point de nouveaux médicaments à base de biomolécules issue des extraits de racine de *Carthamus caeruleus* pour le traitement des patients souffrant de perte de cheveux.

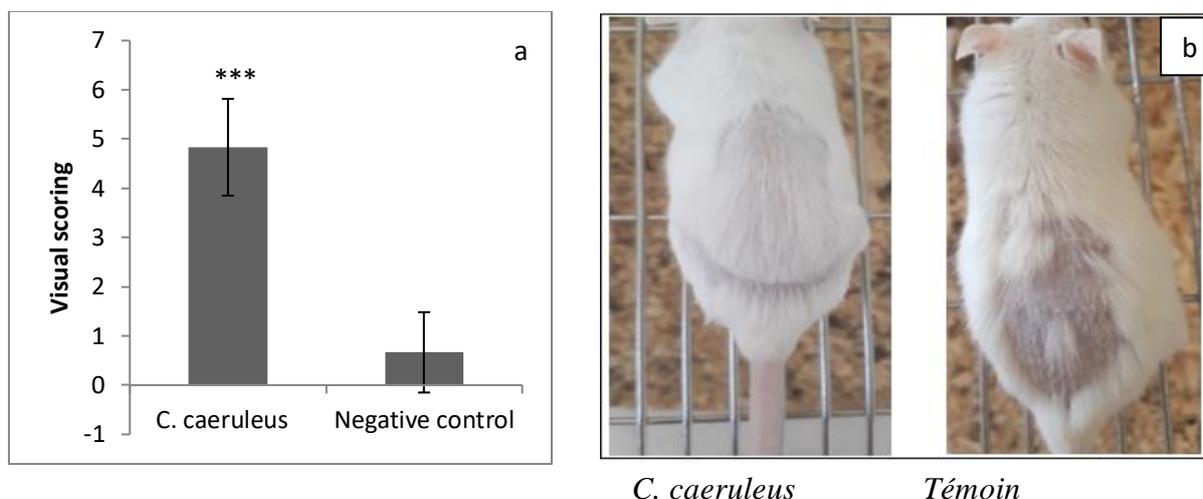


Figure 38 : effet de l'extrait méthanolique de *Carthamus caeruleus* sur la croissance des poils
(a) : score visuel ; (b): sections dorsale de la peau

Conclusion générale

Conclusion générale

Dans le but de rechercher de nouvelles molécules à intérêt thérapeutique, nous nous sommes intéressés à valoriser les vertus de *Carthamus caeruleus* par une caractérisation phytochimique et l'évaluation des activités biologiques.

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

Le screening phytochimique a fait ressortir une richesse en polyphénols, flavonoïdes et saponosides. L'analyse de l'extrait méthanolique des racines de *Carthamus caeruleus* par CG/SM a révélée pour la première fois la présence de plus de 20 composés bioactives. L'analyse de l'activité antioxydante *in vitro* a montrée un pouvoir réducteur et une activité antiradicalaire importants de l'extrait polyphénoliques. Un fort pouvoir antiradicalaire est noté pour l'extrait polyphénolique représenté par une IC50 relativement similaire à celui du produit standard, l'acide ascorbique. Concernant l'effet antimicrobien, l'analyse a fait ressortir une activité inhibitrice importante sur les germes multirésistants responsables des maladies infectieuses. Le test de toxicité aigue réalisé sur des souris pour des doses allant de 100 mg/kg à 250 mg/kg n'a engendré aucune mortalité. Cependant, des variations dans la prise du poids des souris sont constatées. L'évaluation de l'effet antiinflammatoire a montré un excellent effet par rapport au lot témoin. De plus, le test d'évaluation de l'activité cicatrisante a permis de mettre en évidence le potentiel cicatrisant de la crème des racines de *Carthamus caeruleus* sur le modèle animal. Enfin notre plante médicinale active fortement la repousse de poil chez le modèle murin.

Il ressort du présent travail que *Carthamus caeruleus* est un produit fort intéressant riche en molécules bioactives qui pourrait être utilisés en pharmaceutique.

Cette étude ouvre des perspectives expérimentales qui devraient nous permettre d'avancer vers une meilleure connaissance du (des) mécanisme(s) moléculaire(s) intervenant dans les effets pharmacologiques observés :

- ✓ Purifications des extrait des racines de *Carthamus caeruleus* afin d'identifier les molécules à l'origine des effets pharmacologiques.
- ✓ Une analyse par une chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse chromatographiques (LCMS).
- ✓ Effectuer des tests microbiens sur d'autres souches fongiques.
- ✓ Développer un modèle *in silico* d'une molécule bioactive des racines de *Carthamus caeruleus*.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Adzet, T., Camarasa, J., Laguna, J.C., 1987. Hepatoprotective activity of polyphenolic compounds from *Cynara scolymus* against CCl₄ toxicity in isolated rat hepatocytes. *Journal of Natural products* 50, 612-617.
- Akroum, S., 2011. Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels.
- Akther, M., Islam, E., Islam, M.T., Das, P.R., Haque, M., Jahan, R., Al-Nahain, A., Rahman, S., Rahmatullah, M., 2016. A preliminary study on significant antihyperglycemic activity as determined through oral glucose tolerance tests of three common plants belonging to the Brassicaceae family. *World J Pharm Pharmaceut Sci* 5, 159-172.
- Al-Bayaty, F.H., Abdulla, M.A., Hassan, M.I.A., Ali, H.M., 2012. Effect of *Andrographis paniculata* leaf extract on wound healing in rats. *Natural Product Research* 26, 423-429.
- Ali, M.R., Rahman, M.A., Wu, Y., Han, T., Peng, X., Mackey, M.A., Wang, D., Shin, H.J., Chen, Z.G., Xiao, H., 2017. Efficacy, long-term toxicity, and mechanistic studies of gold nanorods photothermal therapy of cancer in xenograft mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 201619302.
- Ali, S., Igoli, J., Clements, C., Semaan, D., Almazeb, M., Rashid, M.-U., Shah, S.Q., Ferro, V., Gray, A., Khan, M.R., 2013. Antidiabetic and antimicrobial activities of fractions and compounds isolated from *Berberis brevissima* Jafri and *Berberis parkeriana* Schneid. *Bangladesh Journal of Pharmacology* 8, 336-342.
- Almeida, A.F., Borge, G.I.A., Piskula, M., Tudose, A., Tudoreanu, L., Valentová, K., Williamson, G., Santos, C.N., 2018. Bioavailability of Quercetin in Humans with a Focus on Interindividual Variation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 17, 714-731.
- Ammar, R.B., Bhourri, W., Sghaier, M.B., Boubaker, J., Skandrani, I., Neffati, A., Bouhleb, I., Kilani, S., Mariotte, A.-M., Chekir-Ghedira, L., 2009. Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L.(Rhamnaceae): A structure-activity relationship study. *Food chemistry* 116, 258-264.
- An, Y., Liu, W., Xue, P., Ma, Y., Zhang, L., Zhu, B., Qi, M., Li, L., Zhang, Y., Wang, Q., 2018. Autophagy promotes MSC-mediated vascularization in cutaneous wound healing via regulation of VEGF secretion. *Cell death & disease* 9, 58.
- Ansell, D.M., Kloepper, J.E., Thomason, H.A., Paus, R., Hardman, M.J., 2011. Exploring the "hair growth-wound healing connection": Anagen phase promotes wound re-epithelialization. *Journal of Investigative Dermatology* 131, 518-528.
- Arwert, E.N., Hoste, E., Watt, F.M., 2012. Epithelial stem cells, wound healing and cancer. *Nature Reviews Cancer* 12, 170.
- Asghari, S.S., Ramezani, M., Gerami, M., Ramezani, F., 2018. Study of biologically synthesized silver nanoparticles on the phenol and flavonoid parameters in *Rosmarinus officinalis* L. In the Name of God, 39.
- Asif, A., Kakub, G., Mehmood, S., Khunum, R., Gulfranz, M., 2007. Wound healing activity of root extracts of *Berberis lyceum* Royle in rats. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives* 21, 589-591.
- Attal, N., Bouhassira, D., 2000. Séance thématique Nouvelles approches pharmacologiques de la douleur, *Annales pharmaceutiques françaises*. Masson, pp. 121-134.
- Baghiani, A., Boumerfeg, S., Belkhiri, F., Khennouf, S., Charef, N., Harzallah, D., Arrar, L., Abdel-Wahhab, M.A., 2010. Antioxidant and radical scavenging properties of *Carthamus caeruleus* L extracts grow wild in Algeria flora. *Comunicata Scientiae* 1, 128.
- Baht, G.S., Vi, L., Alman, B.A., 2018. The Role of the Immune Cells in Fracture Healing. *Current osteoporosis reports* 16, 138-145.
- Belkhiri, F., Baghiani, A., Boumerfeg, S., Charef, N., Khennouf, S., Arrar, L., 2018. IN VITRO ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF ROOT EXTRACTS FROM ALGERIA.
- Benabdelkader, T., 2012. Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas sensu lato*, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. Université Jean Monnet-Saint-Etienne.

Références bibliographiques

- Benhamou, A., Fazouane, F., 2013. Ethnobotanical study, phytochemical characterization and healing effect of *carthamus coeruleus* L. Rhizomes.
- Bernard, B.A., 2006. La vie révélée du follicule de cheveu humain. *médecine/sciences* 22, 138-143.
- Bjørklund, G., Chirumbolo, S., 2017. Role of oxidative stress and antioxidants in daily nutrition and human health. *Nutrition* 33, 311-321.
- Blander, J.M., Longman, R.S., Iliev, I.D., Sonnenberg, G.F., Artis, D., 2017. Regulation of inflammation by microbiota interactions with the host. *Nature immunology* 18, 851.
- Bocheva, A., Mikhova, B., Taskova, R., Mitova, M., Duddeck, H., 2003. Antiinflammatory and analgesic effects of *Carthamus lanatus* aerial parts. *Fitoterapia* 74, 559-563.
- Bohn, T., 2014. Dietary factors affecting polyphenol bioavailability. *Nutrition reviews* 72, 429-452.
- Bollen, J., Trick, L., Llewellyn, D., Dickens, C., 2017. The effects of acute inflammation on cognitive functioning and emotional processing in humans: A systematic review of experimental studies. *Journal of psychosomatic research* 94, 47-55.
- Boudjema, K., Bouanane, A., Gamgani, S., Djeziri, M., Mustapha, M.A., Fazouane, F., 2018. Phytochemical profile and antimicrobial properties of volatile compounds of *Satureja calamintha* (L) Scheel from northern Algeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 17, 857-864.
- Bouhanna, P., 2006. Soigner et entretenir ses cheveux: les nouveaux traitements du cheveu. Alpen Editions sam.
- Bowles, V.G., Mayerhofer, R., Davis, C., Good, A.G., Hall, J.C., 2010. A phylogenetic investigation of *Carthamus* combining sequence and microsatellite data. *Plant systematics and evolution* 287, 85-97.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Simin, N., Anackov, G., 2006. Characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *Journal of agricultural and food chemistry* 54, 1822-1828.
- Bruneton, J., 1993. Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. *Technique et Documentation Lavoisier*.
- Bruneton, J., 1999. Toxic plants dangerous to humans and animals. Intercept Limited.
- Bruneton, J.P., 2009. Phytochimie, plantes médicinales. 4 e éd. Paris: Tec & Doc—Éditions médicales internationales.
- Buskermolen, J.K., Roffel, S., Gibbs, S., 2017. Stimulation of oral fibroblast chemokine receptors identifies CCR3 and CCR4 as potential wound healing targets. *Journal of cellular physiology* 232, 2996-3005.
- Cai, J., Wen, R., Li, W., Wang, X., Tian, H., Yi, S., Zhang, L., Li, X., Jiang, C., Li, H., 2018. Oil body bound oleosin-rhFGF9 fusion protein expressed in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) stimulates hair growth and wound healing in mice. *BMC biotechnology* 18, 51.
- Candeias, N.R., Assoah, B., Simeonov, S.P., 2018. Production and Synthetic Modifications of Shikimic Acid. *Chemical Reviews* 118, 10458-10550.
- Caplan, A., Fett, N., Rosenbach, M., Werth, V.P., Micheletti, R.G., 2017. Prevention and management of glucocorticoid-induced side effects: a comprehensive review: a review of glucocorticoid pharmacology and bone health. *Journal of the American Academy of Dermatology* 76, 1-9.
- Carleton, B.C., Smith, M.A., 2006. Drug safety: Side effects and mistakes or adverse reactions and deadly errors? *British Columbia Medical Journal* 48, 329.
- Chatelain, S., Serror, K., Chaouat, M., Mimoun, M., Boccara, D., 2018. Immolation dans notre centre de traitement des brûlés de 2011 à 2016, *Annales de Chirurgie Plastique Esthétique*. Elsevier, pp. 41-46.
- Chehma, A., Djebar, M.R., 2008. Les espèces médicinales spontanées du Sahara septentrional algérien: distribution spatio-temporelle et étude ethnobotanique. *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie* 17, 36-45.
- Chemouri, F.Z., Ghezlaoui-Bendi-Djelloul, B.-E., Benabadji, N., 2015. Floral Diversity of the Tlemcen Mountains (Western Algeria). *Ecologia Balkanica* 7.
- Chen, X.-M., Tait, A.R., Kitts, D.D., 2017. Flavonoid composition of orange peel and its association with antioxidant and anti-inflammatory activities. *Food chemistry* 218, 15-21.

Références bibliographiques

- Chi, H., Holo, H., 2018. Synergistic Antimicrobial Activity Between the Broad Spectrum Bacteriocin Garvicin KS and Nisin, Farnesol and Polymyxin B Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. *Current microbiology* 75, 272-277.
- Choi, J.S., Jung, S.K., Jeon, M.H., Moon, J.N., Moon, W.S., Ji, Y.H., Choi, I.S., Wook, S.S., 2013. Effects of *Lycopersicon esculentum* extract on hair growth and alopecia prevention. *Journal of cosmetic science* 64, 429-443.
- Choubey, D., Panchanathan, R., 2016. IFI16, an amplifier of DNA-damage response: role in cellular senescence and aging-associated inflammatory diseases. *Ageing research reviews* 28, 27-36.
- Chung, K.-T., Wong, T.Y., Wei, C.-I., Huang, Y.-W., Lin, Y., 1998. Tannins and human health: a review. *Critical reviews in food science and nutrition* 38, 421-464.
- Cimanga, K., Lubiba, N., Makila Bool-Miting, F., Tona, L., Kambu, K., Vlietinck, A., Pieters, L., 2018a. Biological activities of arredoul jaune, a phytomedicine based ethanol extract from fresh roots of *Pentadiplandra brazzeana* baill.(Pentadiplandaceae) used as an antidiarrhoeal drug in Kisangani-Democratic Republic of Congo. *European journal of biomedical and pharmaceutical sciences* 5, 130-139.
- Cimanga, K., Makila, B., Kambu, K., Tona, L., Vlietinck, A., Pieters, L., 2018b. ASSESSMENT OF ACUTE AND SUBACUTE TOXICITY OF AQUEOUS EXTRACT AND IN VITRO SUSCEPTIBILITY OF EXTRACTS AND ISOLATED INDOLOQUINOLINE ALKALOIDS FROM *CRYPTOLEPIS SANGUINOLENTA* (LINDL.) SCHLECHTER (PERIPLOCACEAE) ROOT BARK TO *ENTAMOEBIA HISTOLYTICA*.
- Cooke, D., Steward, W.P., Gescher, A.J., Marczylo, T., 2005. Anthocyanins from fruits and vegetables—does bright colour signal cancer chemopreventive activity? *European Journal of Cancer* 41, 1931-1940.
- Cosmulescu, S., Ion, T., 2011. Seasonal variation of total phenols in leaves of walnut (*Juglans regia* L.). *Journal of Medicinal Plants Research* 5, 4938-4942.
- Crété, P., 1965. Précis de botanique, systématique des angiospermes tome 2; 2^{ème} édition révisée. Faculté de Pharmacie de Paris-masson.
- Crupi, R., Cuzzocrea, S., 2018. Mannuronic Acid as an Anti-inflammatory Drug, Alginates and Their Biomedical Applications. Springer, pp. 257-268.
- Czarny, A., Zaczyńska, E., Jeleń, M., Zimecki, M., Pluta, K., Morak-Młodawska, B., Artym, J., Kocięba, M., 2014. Antimicrobial Properties of Substituted Quino [3, 2-b] benzo [1, 4] thiazines. *Polish journal of microbiology* 63, 335-339.
- D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., Masella, R., 2007. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-Istituto Superiore di Sanita* 43, 348.
- Dai, J., Mumper, R.J., 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* 15, 7313-7352.
- Dai, X., Medzhitov, R., 2017. Inflammation: Memory beyond immunity. *Nature* 550, 460.
- Daing, M.I., Pathak, A., Bhat, M.A., Sharma, R., Zargar, M.A., 2017. In vitro Antioxidant and Antibacterial Efficacy of Condensed Tannins Containing Tree Leaves Extract of Jammu Province. *Journal of Animal Research* 7, 165.
- Dangles, O., Dufour, C., Tonnelé, C., Trouillas, P., 2017. The Physical Chemistry of Polyphenols: Insights into the Activity of Polyphenols in Humans at the Molecular Level. *Recent Advances in Polyphenol Research*, 1-35.
- Datta, K., Singh, A.T., Mukherjee, A., Bhat, B., Ramesh, B., Burman, A.C., 2009. *Eclipta alba* extract with potential for hair growth promoting activity. *Journal of ethnopharmacology* 124, 450-456.
- Davis, R.H., DiDonato, J., Johnson, R., Stewart, C.B., 1994. Aloe vera, hydrocortisone, and steroid influence on wound tensile strength and anti-inflammation. *Journal of the American Podiatric Medical Association* 84, 614-621.
- Day, R.O., Graham, G.G., 2016. Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs: Overview. *Compendium of Inflammatory Diseases*, 986-993.
- de Souza, P.O., Bianchi, S.E., Figueiró, F., Heimfarth, L., Moresco, K.S., Gonçalves, R.M., Hoppe, J.B., Klein, C.P., Salbego, C.G., Gelain, D.P., 2018. Anticancer activity of flavonoids isolated from *Achyrocline satureioides* in gliomas cell lines. *Toxicology in Vitro* 51, 23-33.

Références bibliographiques

- Deng, J., Qu, Y., Liu, T., Jing, B., Zhang, X., Chen, Z., Luo, Y., Zhao, W., Lu, Y., Lin, B., 2018. Recent organ-on-a-chip advances toward drug toxicity testing. *Microphysiological Systems* 2.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Brunel, J.M., Stocker, P., 2010. RETRACTED: Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. Elsevier.
- Dorward, D.A., Lucas, C.D., Chapman, G.B., Haslett, C., Dhaliwal, K., Rossi, A.G., 2015. The role of formylated peptides and formyl peptide receptor 1 in governing neutrophil function during acute inflammation. *The American journal of pathology* 185, 1172-1184.
- Doshi, G.M., Nalawade, V.V., Mukadam, A.S., Chaskar, P.K., Zine, S.P., Somani, R.R., Une, H.D., 2016. Elucidation of flavonoids from *Carissa congesta*, *Polyalthia longifolia*, and *Benincasa hispida* plant extracts by hyphenated technique of liquid chromatography-mass spectroscopy. *Pharmacognosy research* 8, 281.
- Duarte, D.B., Vasko, M.R., Fehrenbacher, J.C., 2016. Models of inflammation: carrageenan air pouch. *Current protocols in pharmacology* 72, 5.6. 1-5.6. 9.
- El-Guendouz, S., Al-Waili, N., Aazza, S., Elamine, Y., Zizi, S., Al-Waili, T., Al-Waili, A., Lyoussi, B., 2017. Antioxidant and diuretic activity of co-administration of *Capparis spinosa* honey and propolis in comparison to furosemide. *Asian Pacific journal of tropical medicine* 10, 974-980.
- Ellis, J.A., Sinclair, R., Harrap, S.B., 2002. Androgenetic alopecia: pathogenesis and potential for therapy. *Expert reviews in molecular medicine* 4, 1-11.
- Ezhilan, B.P., Neelamegam, R., 2012. GC-MS analysis of phytochemicals in the ethanol extract of *Polygonum chinense* L. *Pharmacognosy research* 4, 11.
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C., 2008. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies* 331, 372-379.
- Fleck, S., Rumpold-Seitlinger, G., Bornemann-Cimenti, H., 2018. Mechanisms and clinical relevance of the interaction between metamizole and acetylsalicylic acid-a review. *ANASTHESIOLOGIE & INTENSIVMEDIZIN* 59, 180-185.
- Frahs, S.M., Oxford, J.T., Neumann, E.E., Brown, R.J., Keller-Peck, C.R., Pu, X., Lujan, T.J., 2018. Extracellular Matrix Expression and Production in Fibroblast-Collagen Gels: Towards an In Vitro Model for Ligament Wound Healing. *Annals of biomedical engineering*, 1-14.
- Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H.P., Becker, K., 2002. The biological action of saponins in animal systems: a review. *British journal of Nutrition* 88, 587-605.
- Ghasemzadeh, A., Ghasemzadeh, N., 2011. Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of medicinal plants research* 5, 6697-6703.
- Gibot, L., Kotnik, T., Golberg, A., 2017. Electroporation Applications in Wound Healing, *Bioengineering In Wound Healing: A Systems Approach*. World Scientific, pp. 355-377.
- Go, Y.-M., Fernandes, J., Hu, X., Uppal, K., Jones, D.P., 2018. Mitochondrial network responses in oxidative physiology and disease. *Free Radical Biology and Medicine*.
- Golberg, A., Villiger, M., Khan, S., Quinn, K.P., Lo, W.C., Bouma, B.E., Mihm Jr, M.C., Austen Jr, W.G., Yarmush, M.L., 2016. Preventing scars after injury with partial irreversible electroporation. *Journal of Investigative Dermatology* 136, 2297-2304.
- Goszcz, K., Duthie, G.G., Stewart, D., Leslie, S.J., Megson, I.L., 2017. Bioactive polyphenols and cardiovascular disease: chemical antagonists, pharmacological agents or xenobiotics that drive an adaptive response? *British Journal of Pharmacology* 174, 1209-1225.
- Granato, D., Shahidi, F., Wrolstad, R., Kilmartin, P., Melton, L.D., Hidalgo, F.J., Miyashita, K., van Camp, J., Alasalvar, C., Ismail, A.B., 2018. Antioxidant activity, total phenolics and flavonoids contents: Should we ban in vitro screening methods? *Food chemistry* 264, 471-475.
- Group, A.P., 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161, 105-121.
- Guignard, J.-L., 1994. *Botany*. Paris (France), Masson, 1994.

Références bibliographiques

- Hamid, H.A., Ramli, A.N.M., Zamri, N., Yusoff, M.M., 2018. UPLC-QTOF/MS-based phenolic profiling of Melastomaceae, their antioxidant activity and cytotoxic effects against human breast cancer cell MDA-MB-231. *Food chemistry* 265, 253-259.
- Hamrouni, I., KCHOUK, M.-E., MARZOUK, B., 2007. Safflower (*Carthamus tinctorius* L.), Borage (*Borago officinalis* L.) and Black cumin (*Nigella sativa* L.) seed oils as a source of essential fatty acids and sterols. *Revue des régions arides*, 179-184.
- Harborne, J.B., 2013. *The flavonoids: advances in research since 1980*. Springer.
- Harkey, M.R., 1993. Anatomy and physiology of hair. *Forensic science international* 63, 9-18.
- Heleno, S.A., Martins, A., Queiroz, M.J.R., Ferreira, I.C., 2015. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. *Food chemistry* 173, 501-513.
- Hoffmann, R., 2002. Interaction hormonale et croissance du cheveu, *Annales de dermatologie et de vénéréologie*. Masson, pp. 787-792.
- Hotamisligil, G.S., 2017. Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders. *Nature* 542, 177.
- Huang, X.-X., Yan, Z.-Y., Liu, S., Wang, X.-B., Song, S.-J., 2018. Investigation of chemical constituents of safflower and their tyrosinase inhibitory activity. *Journal of Asian natural products research*, 1-9.
- Ito, M., Yang, Z., Andl, T., Cui, C., Kim, N., Millar, S.E., Cotsarelis, G., 2007. Wnt-dependent de novo hair follicle regeneration in adult mouse skin after wounding. *Nature* 447, 316.
- Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., Vivanco, J., 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food chemistry* 83, 547-550.
- Joshi, K.C., Singh, P., Sharma, M.C., 1985. Quinones and other constituents of *Markhamia platycalyx* and *Bignonia unguisati*. *Journal of Natural products* 48, 145-145.
- Junlatat, J., Sripanidkulchai, B., 2014. Hair Growth-Promoting Effect of *Carthamus tinctorius* Floret Extract. *Phytotherapy research* 28, 1030-1036.
- Kafeshani, M., 2015. Ginger, micro-inflammation and kidney disease. *Nutrition* 31, 703-707.
- Kamran, Z., Zellner, K., Kyriazis, H., Kraus, C.M., Reynier, J.-B., Malmay, J.E., 2017. In vivo imaging of epithelial wound healing in the cnidarian *Clytia hemisphaerica* demonstrates early evolution of purse string and cell crawling closure mechanisms. *BMC developmental biology* 17, 17.
- Karima, S., Farida, S., Mihoub, Z.M., 2013. Antimicrobial activity of an Algerian medicinal plant: *Carthamus caeruleus* L. *Pharmacognosy Communications* 3.
- Kaur, M., Kohli, S., Sandhu, S., Bansal, Y., Bansal, G., 2015. Coumarin: A promising scaffold for anticancer agents. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)* 15, 1032-1048.
- Kazemi, S., Shirzad, H., Rafieian-Kopaei, M., 2018. Recent findings in molecular basis of inflammation and anti-inflammatory plants. *Current pharmaceutical design*.
- Kazemian, H., Ghafourian, S., Sadeghifard, N., Houshmandfar, R., Badakhsh, B., Taji, A., Shavalipour, A., Mohebi, R., Ebrahim-Saraie, H.S., Hourii, H., 2018. In vivo antibacterial and wound healing activities of Roman chamomile (*Chamaemelum nobile*). *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)* 18, 41-45.
- Keskin, I., Gunal, Y., Ayla, S., Kolbasi, B., Sakul, A., Kilic, U., Gok, O., Koroglu, K., Ozbek, H., 2017. Effects of *Foeniculum vulgare* essential oil compounds, fenchone and limonene, on experimental wound healing. *Biotechnic & Histochemistry* 92, 274-282.
- Kim, S.-C., Kang, J.-I., Kim, M.-K., Hyun, J.-H., Boo, H.-J., Park, D.-B., Lee, Y.-J., Yoo, E.-S., Kim, Y.H., Kim, Y.H., 2010. Promotion effect of norgalanthamine, a component of *Crinum asiaticum*, on hair growth. *European Journal of Dermatology* 20, 42-48.
- Kindt, T.J., Goldsby, R.A., Osborne, B.A., Kuby, J., 2007. *Kuby immunology*. Macmillan.
- Koeberle, A., Werz, O., 2018. Natural products as inhibitors of prostaglandin E₂ and pro-inflammatory 5-lipoxygenase-derived lipid mediator biosynthesis. *Biotechnology advances*.
- Korosec, A., Lichtenberger, B.M., 2018. In vitro models to study hair follicle generation, *Skin Tissue Models*. Elsevier, pp. 279-301.
- Koulivand, P.H., Khaleghi Ghadiri, M., Gorji, A., 2013. Lavender and the nervous system. *Evidence-based complementary and alternative medicine* 2013.

Références bibliographiques

- Kryscio, R.J., Abner, E.L., Caban-Holt, A., Lovell, M., Goodman, P., Darke, A.K., Yee, M., Crowley, J., Schmitt, F.A., 2017. Association of antioxidant supplement use and dementia in the prevention of Alzheimer's disease by vitamin E and selenium trial (PREADViSE). *JAMA neurology* 74, 567-573.
- Kyriakopoulos, A.M., Nagl, M., Baliou, S., Zoumpourlis, V., 2017. Alleviating Promotion of Inflammation and Cancer Induced by Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *International journal of inflammation* 2017.
- Le Roy, J., Huss, B., Creach, A., Hawkins, S., Neutelings, G., 2016. Glycosylation is a major regulator of phenylpropanoid availability and biological activity in plants. *Frontiers in plant science* 7, 735.
- Lee, J.Y., Chang, E.J., Kim, H.J., Park, J.H., Choi, S.W., 2002. Antioxidative flavonoids from leaves of *Carthamus tinctorius*. *Archives of pharmacal research* 25, 313.
- Lepoittevin, J.-P., Benezra, C., 1991. Allergic contact dermatitis caused by naturally occurring quinones. *Pharmaceutisch Weekblad* 13, 119-122.
- Li, H.-B., Wong, C.-C., Cheng, K.-W., Chen, F., 2008. Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT-Food Science and Technology* 41, 385-390.
- Liu, Z., Li, C., Li, M., Li, D., Liu, K., 2004. The subchronic toxicity of hydroxysafflor yellow A of 90 days repeatedly intraperitoneal injections in rats. *Toxicology* 203, 139-143.
- Lobstein, A., Couic-Marinier, F., Briot, C., 2017. Huile essentielle de Laurier noble. *Actualités Pharmaceutiques* 56, 57-60.
- Lorke, D., 1983. A new approach to practical acute toxicity testing. *Archives of toxicology* 54, 275-287.
- Lou, L.-L., Liu, S., Yan, Z.-Y., Lin, B., Wang, X.-B., Huang, X.-X., Song, S.-J., 2017. Tetrahydro- β -Carboline alkaloids from *Carthamus tinctorius* L. with tyrosinase inhibitory activity. *Phytochemistry Letters* 22, 107-112.
- Lubrano, V., Balzan, S., 2015. Enzymatic antioxidant system in vascular inflammation and coronary artery disease. *World journal of experimental medicine* 5, 218.
- Ma, J., Xu, R.-R., Lu, Y., Ren, D.-F., Lu, J., 2018. Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activity of Supercritical Fluid Extract of *Elsholtzia ciliata*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 21, 556-562.
- Madaan, A., Joshi, V., Kishore, A., Verma, R., Singh, A.T., Jaggi, M., Sung, Y.K., 2017. In vitro Hair Growth Promoting Effects of Naringenin and Hesperetin on Human Dermal Papilla Cells and Keratinocytes. *American Journal of Dermatology and Venereology* 6, 51-57.
- Maity, P., Bepari, M., Pradhan, A., Baral, R., Roy, S., Choudhury, S.M., 2018. Synthesis and characterization of biogenic metal nanoparticles and its cytotoxicity and anti-neoplasticity through the induction of oxidative stress, mitochondrial dysfunction and apoptosis. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 161, 111-120.
- Martin, M.A., Ramos, S., Mateos, R., Marais, J.P., Bravo-Clemente, L., Khoo, C., Goya, L., 2015. Chemical characterization and chemo-protective activity of cranberry phenolic powders in a model cell culture. Response of the antioxidant defenses and regulation of signaling pathways. *Food research international* 71, 68-82.
- Martin, P., Nunan, R., 2015. Cellular and molecular mechanisms of repair in acute and chronic wound healing. *British Journal of Dermatology* 173, 370-378.
- Marume, A., Matope, G., Katsande, S., Khoza, S., Mutingwende, I., Mduluza, T., Munodawafa-Taderera, T., Ndhala, A.R., 2017. Wound Healing Properties of Selected Plants Used in Ethnoveterinary Medicine. *Frontiers in pharmacology* 8, 544.
- Masur, K., Bekeschus, S., 2018. Perspectives in Immunology of Wound Healing, *Comprehensive Clinical Plasma Medicine*. Springer, pp. 401-408.
- Maver, T., Hribernik, S., Mohan, T., Smrke, D.M., Maver, U., Stana-Kleinschek, K., 2015. Functional wound dressing materials with highly tunable drug release properties. *RSC Advances* 5, 77873-77884.
- McGettigan, P., Henry, D., 2013. Use of non-steroidal anti-inflammatory drugs that elevate cardiovascular risk: an examination of sales and essential medicines lists in low-, middle-, and high-income countries. *PLoS medicine* 10, e1001388.
- MERATATE, F., 2016. DETERMINATION STRUCTURALE ET EVALUATION BIOLOGIQUE DES SUBSTANCES NATURELLES BIOACTIVES. Université de m'sila.

Références bibliographiques

- Mesa, M.G., González, A.D., de la Luz, L.L.A., Hernández, Y.B., Barreiro, M.L., 2017. A Talipariti elatus Sw. Fryxell Flowers Extract Inhibits Histamine-Induced Edema in Mice.
- Mihoub, I., Robert, T., Ghashghaie, J., Vilatersana, R., Lamy, F., Benmrid, R., Lamothe-Sibold, M., Aid, F., 2017. Phylogenetic position of two endemic Carthamus species in Algeria and their potential as sources of genes for water use efficiency improvement of safflower. *Journal of Systematics and Evolution* 55, 34-43.
- Miralles-Cuevas, S., Oller, I., Agüera, A., Llorca, M., Pérez, J.S., Malato, S., 2017. Combination of nanofiltration and ozonation for the remediation of real municipal wastewater effluents: acute and chronic toxicity assessment. *Journal of hazardous materials* 323, 442-451.
- Mirhoseini, M., Mohamadpour, M., Khorsandi, L., 2012. Toxic effects of Carthamus tinctorius L.(Safflower) extract on mouse spermatogenesis. *Journal of assisted reproduction and genetics* 29, 457-461.
- Miron, R.J., Fujioka-Kobayashi, M., Bishara, M., Zhang, Y., Hernandez, M., Choukroun, J., 2017. Platelet-rich fibrin and soft tissue wound healing: a systematic review. *Tissue Engineering Part B: Reviews* 23, 83-99.
- Miscianinov, V., Martello, A., Rose, L., Parish, E., Cathcart, B., Mitić, T., Gray, G.A., Meloni, M., Zen, A.A.H., Caporali, A., 2018. MicroRNA-148b Targets the TGF- β Pathway to Regulate Angiogenesis and Endothelial-to-Mesenchymal Transition during Skin Wound Healing. *Molecular Therapy*.
- Mohanty, A., Das, C., Prusty, S., Sahu, P., 2018. Wound Healing Potential of Medicinal Plants: A Review. *Research & Reviews A Journal of Pharmacognosy* 4, 17-40.
- Molyneux, P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol* 26, 211-219.
- Morand, D., Davideau, J.L., Clauss, F., Jessel, N., Tenenbaum, H., Huck, O., 2017. Cytokines during periodontal wound healing: potential application for new therapeutic approach. *Oral diseases* 23, 300-311.
- Moreira, M., Ponce, A., Del Valle, C., Roura, S., 2005. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT-Food Science and Technology* 38, 565-570.
- Mpondo, E.M., Yinyang, J., Dibong, S., 2015. Valorisation des plantes médicinales à coumarines des marchés de Douala Est (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences* 85, 7804–7823.
- Muralidhar, A., 2011. Pharmacological and phytochemical study of butea monosperma lam stem bark mechanism based analytical approach.
- Naito, A., Midorikawa, T., Yoshino, T., Ohdera, M., 2008. Lipid peroxides induce early onset of catagen phase in murine hair cycles. *International journal of molecular medicine* 22, 725-729.
- Nibir, Y.M., Sumit, A.F., Akhand, A.A., Ahsan, N., Hossain, M.S., 2017. Comparative assessment of total polyphenols, antioxidant and antimicrobial activity of different tea varieties of Bangladesh. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 7, 352-357.
- Nicholson, S.E., Kim, J., Hoopingarner, J., 1988. Atlas of African rainfall and its interannual variability. Department of Meteorology, the Florida State University.
- Oh, Y., Kang, O., Kim, S., Mun, S., Park, C., Kim, Y., Kim, Y., Lee, Y., Han, S., Keum, J., 2012. Anti-inflammatory effect of sinomenine by inhibition of pro-inflammatory mediators in PMA plus A23187-stimulated HMC-1 Cells. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 16, 1184-1191.
- Okuno, Y., Fukuhara, A., Hashimoto, E., Kobayashi, H., Kobayashi, S., Otsuki, M., Shimomura, I., 2018. Oxidative stress inhibits healthy adipose expansion through suppression of SREBF1-mediated lipogenic pathway. *Diabetes*, db171032.
- Olingy, C.E., San Emeterio, C.L., Ogle, M.E., Krieger, J.R., Bruce, A.C., Pfau, D.D., Jordan, B.T., Peirce, S.M., Botchwey, E.A., 2017. Non-classical monocytes are biased progenitors of wound healing macrophages during soft tissue injury. *Scientific reports* 7, 447.
- Omotoso, K.S., Aigbe, F.R., Salako, O.A., Chijioke, M.C., Adeyemi, O.O., 2017. Toxicological evaluation of the aqueous whole plant extract of Aerva lanata (L.) Juss. ex Schult (Amaranthaceae). *Journal of ethnopharmacology* 208, 174-184.
- Ozenda, P., 1991. Flore de Sahara (3 édition mise à jour et augmentée) Paris. Editions du CNRS.

Références bibliographiques

- Ozkan, G., Franco, P., De Marco, I., Xiao, J., Capanoglu, E., 2019. A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. *Food Chemistry* 272, 494-506.
- Parente, L.M.L., Júnior, L., de Souza, R., Tresvenzol, L.M.F., Vinaud, M.C., de Paula, J.R., Paulo, N.M., 2012. Wound healing and anti-inflammatory effect in animal models of *Calendula officinalis* L. growing in Brazil. *Evidence-based complementary and alternative medicine* 2012.
- Parfejevs, V., Debbache, J., Shakhova, O., Schaefer, S.M., Glausch, M., Wegner, M., Suter, U., Riekstina, U., Werner, S., Sommer, L., 2018. Injury-activated glial cells promote wound healing of the adult skin in mice. *Nature communications* 9, 236.
- Park, P.-J., Moon, B.-S., Lee, S.-H., Kim, S.-N., Kim, A.-R., Kim, H.-J., Park, W.-S., Choi, K.-Y., Cho, E.-G., Lee, T.R., 2012. Hair growth-promoting effect of *Aconiti Ciliare* Tuber extract mediated by the activation of Wnt/ β -catenin signaling. *Life sciences* 91, 935-943.
- Passon, M., Bühlmeier, J., Zimmermann, B.F., Stratmann, A., Latz, S., Stehle, P., Galensa, R., 2018. Polyphenol Phase-II Metabolites are Detectable in Human Plasma after Ingestion of ¹³C Labeled Spinach—a Pilot Intervention Trial in Young Healthy Adults. *Molecular nutrition & food research* 62, 1701003.
- Pastrikos, G., 2018. *CARTHAMUS CAERULEUS* L.(CARDUEAE, ASTERACEAE), A NEW RECORD FOR RODOS ISLAND, GREECE.
- Paus, R., Müller-Röver, S., Botchkarev, V.A., 1999. Chronobiology of the hair follicle: hunting the “hair cycle clock”, *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*. Elsevier, pp. 338-345.
- Pisoschi, A.M., Pop, A., 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. *European journal of medicinal chemistry* 97, 55-74.
- Podsedek, A., 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT-Food Science and Technology* 40, 1-11.
- Ponrasu, T., Jamuna, S., Mathew, A., Madhukumar, K.N., Ganeshkumar, M., Iyappan, K., Suguna, L., 2013. Efficacy of L-proline administration on the early responses during cutaneous wound healing in rats. *Amino acids* 45, 179-189.
- Poprac, P., Jomova, K., Simunkova, M., Kollar, V., Rhodes, C.J., Valko, M., 2017. Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases. *Trends in pharmacological sciences* 38, 592-607.
- Raaman, N., 2006. *Phytochemical techniques*. New India Publishing.
- Rai, A., Das, S., Chamallamudi, M.R., Nandakumar, K., Shetty, R., Gill, M., Sumalatha, S., Devkar, R., Gourishetti, K., Kumar, N., 2018. Evaluation of the aphrodisiac potential of a chemically characterized aqueous extract of *Tamarindus Indica* pulp. *Journal of ethnopharmacology* 210, 118-124.
- Razika, L., Thanina, A.C., Nadjiba, C.-M., Narimen, B., Mahdi, D.M., Karim, A., 2017. Antioxidant and wound healing potential of saponins extracted from the leaves of Algerian *Urtica dioica* L. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences* 30.
- Ricciotti, E., Castro, C., Tang, S.Y., Briggs, W.T., West, J.A., Malik, D., Rhoades, S.D., Meng, H., Li, X., Lahens, N.F., 2018. Cyclooxygenase-2, Asymmetric Dimethylarginine and the Cardiovascular Hazard from NSAIDs. *Circulation, CIRCULATIONAHA*. 118.033540.
- Rodríguez-Roque, M.J., de Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., Cano, M.P., Elez-Martínez, P., Martín-Belloso, O., 2015. Impact of food matrix and processing on the in vitro bioaccessibility of vitamin C, phenolic compounds, and hydrophilic antioxidant activity from fruit juice-based beverages. *Journal of Functional Foods* 14, 33-43.
- Rognoni, E., Watt, F.M., 2018. Skin cell heterogeneity in development, wound healing, and cancer. *Trends in cell biology*.
- Roh, S.-S., Kim, C.D., Lee, M.-H., Hwang, S.-L., Rang, M.-J., Yoon, Y.-K., 2002. The hair growth promoting effect of *Sophora flavescens* extract and its molecular regulation. *Journal of dermatological science* 30, 43-49.
- Romero-Cerecero, O., Islas-Garduño, A.L., Zamilpa, A., Tortoriello, J., 2017. Effectiveness of *Ageratina pichinchensis* Extract in Patients with Vulvovaginal Candidiasis. A Randomized, Double-Blind, and Controlled Pilot Study. *Phytotherapy research* 31, 885-890.

Références bibliographiques

- Rompolas, P., Deschene, E.R., Zito, G., Gonzalez, D.G., Saotome, I., Haberman, A.M., Greco, V., 2012. Live imaging of stem cell and progeny behaviour in physiological hair-follicle regeneration. *Nature* 487, 496.
- Rowan, M.P., Cancio, L.C., Elster, E.A., Burmeister, D.M., Rose, L.F., Natesan, S., Chan, R.K., Christy, R.J., Chung, K.K., 2015. Burn wound healing and treatment: review and advancements. *Critical care* 19, 243.
- Roy, B., 2013. *Multicriteria methodology for decision aiding*. Springer Science & Business Media.
- Roy, R., Thakur, M., Dixit, V., 2008. Hair growth promoting activity of *Eclipta alba* in male albino rats. *Archives of dermatological research* 300, 357-364.
- Saffidine, K., 2018. Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *carthamus caeruleus* L. et de *plantago major* L.
- Salvador, J.-P., Tassies, D., Reverter, J.-C., Marco, M.-P., 2018. Enzyme-linked immunosorbent assays for therapeutic drug monitoring coumarin oral anticoagulants in plasma. *Analytica chimica acta* 1028, 59-65.
- Saxena, A., Saxena, A., Singh, J., Bhushan, S., 2010. Natural antioxidants synergistically enhance the anticancer potential of AP9-cd, a novel lignan composition from *Cedrus deodara* in human leukemia HL-60 cells. *Chemico-biological interactions* 188, 580-590.
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L., 2005. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical reviews in food science and nutrition* 45, 287-306.
- Scalbert, A., Morand, C., Manach, C., Rémésy, C., 2002. Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 56, 276-282.
- Schnittert, J., Bansal, R., Storm, G., Prakash, J., 2018. Integrins in wound healing, fibrosis and tumor stroma: High potential targets for therapeutics and drug delivery. *Advanced drug delivery reviews* 129, 37-53.
- Schofield, P., Mbugua, D., Pell, A., 2001. Analysis of condensed tannins: a review. *Animal feed science and technology* 91, 21-40.
- Selihi, Z., Berraho, M., El Achhab, Y., Nejari, C., Lyoussi, B., 2015. Phytothérapie et complications dégénératives du diabète de type 2: quelle relation? *Médecine des maladies Métaboliques* 9, 792-797.
- Skoula, M., Abidi, C., Kokkalou, E., 1996. Essential oil variation of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* growing wild in Crete (Greece). *Biochemical Systematics and Ecology* 24, 255-260.
- Soehnlein, O., Steffens, S., Hidalgo, A., Weber, C., 2017. Neutrophils as protagonists and targets in chronic inflammation. *Nature Reviews Immunology* 17, 248.
- Soliman, A.M., Das, S., Abd Ghafar, N., Teoh, S.L., 2018. Role of MicroRNA in Proliferation Phase of Wound Healing. *Frontiers in genetics* 9, 38.
- Srinivasa Rao, B., Chandrasekaran, C., Srikanth, H., Sasikumar, M., Edwin Jothie, R., Haseena, B., Bharathi, B., Selvam, R., Prashanth, D.S., 2018. Mutagenicity and Acute Oral Toxicity Test for Herbal Poultry Feed Supplements. *Journal of toxicology* 2018.
- Stagos, D., Balabanos, D., Savva, S., Skaperda, Z., Priftis, A., Kerasioti, E., Mikropoulou, E.V., Vougianniopoulou, K., Mitakou, S., Halabalaki, M., 2018. Extracts from the Mediterranean Food Plants *Carthamus lanatus*, *Cichorium intybus*, and *Cichorium spinosum* Enhanced GSH Levels and Increased Nrf2 Expression in Human Endothelial Cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2018.
- Stević, T., Stanković, S., Šavikin, K., Gođevac, D., Dimkić, I., Soković, M., Berić, T., 2017. Chemical composition and inhibitory activity of selected essential oils against fungi isolated from Medicinal plants. *Lekovite sirovine* 34, 69-80.
- Suleyman, H., Demircan, B., Karagoz, Y., 2007. Anti-inflammatory and side effects of cyclo-oxygenase inhibitors. *Pharmacological reports* 59, 247.
- Sülsen, V.P., Lizarraga, E., Mamadalieva, N.Z., Lago, J.H.G., 2017. Potential of Terpenoids and Flavonoids from Asteraceae as Anti-Inflammatory, Antitumor, and Antiparasitic Agents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2017.

Références bibliographiques

- Suri, C., McClain, J., Thurston, G., McDonald, D.M., Zhou, H., Oldmixon, E.H., Sato, T.N., Yancopoulos, G.D., 1998. Increased vascularization in mice overexpressing angiopoietin-1. *Science* 282, 468-471.
- Swidnicka-Siergiejko, A., Gomez-Chou, S., Cruz-Monserrate, Z., Deng, D., Liu, Y., Huang, H., Ji, B., Azizian, N., Daniluk, J., Lu, W., 2017. Chronic inflammation initiates multiple forms of K-Ras-independent mouse pancreatic cancer in the absence of TP53. *Oncogene* 36, 3149.
- Tamri, P., Hemmati, A., Boroujerdnia, M.G., 2014. Wound healing properties of quince seed mucilage: in vivo evaluation in rabbit full-thickness wound model. *International Journal of Surgery* 12, 843-847.
- Tetz, L.M., Aronoff, D.M., Loch-Caruso, R., 2015. Mono-ethylhexyl phthalate stimulates prostaglandin secretion in human placental macrophages and THP-1 cells. *Reproductive Biology and Endocrinology* 13, 56.
- Thiagarajah, J.R., Chang, J., Goettel, J.A., Verkman, A.S., Lencer, W.I., 2017. Aquaporin-3 mediates hydrogen peroxide-dependent responses to environmental stress in colonic epithelia. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114, 568-573.
- Tian, B., Patrikeev, I., Ochoa, L., Vargas, G., Belanger, K.K., Litvinov, J., Boldogh, I., Ameredes, B.T., Motamedi, M., Brasier, A.R., 2017. NF- κ B mediates mesenchymal transition, remodeling, and pulmonary fibrosis in response to chronic inflammation by viral RNA patterns. *American journal of respiratory cell and molecular biology* 56, 506-520.
- Tohge, T., R Fernie, A., 2017. An overview of compounds derived from the shikimate and phenylpropanoid pathways and their medicinal importance. *Mini reviews in medicinal chemistry* 17, 1013-1027.
- Toubane, A., Rezzoug, S.A., Besombes, C., Daoud, K., 2017. Optimization of Accelerated Solvent Extraction of *Carthamus Caeruleus* L. Evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activity of extracts. *Industrial crops and products* 97, 620-631.
- Umesh, C., Jamsheer, A., Prasad, M., 2018. THE ROLE OF FLAVONOIDS IN DRUG DISCOVERY-REVIEW ON POTENTIAL APPLICATIONS.
- Untergehrer, M., Kiermaier, J., Reintjes, S., Heilmann, J., Jürgenliemk, G., 2018. Identification of phase-II metabolites from human serum samples after oral intake of a willow bark extract. *Phytomedicine*.
- Usman, H., Kaigama, A.U., Ibisagba, O.O., Fulata, A.M., Ahmed, I.A., 2018. Phytoconstituents evaluation and antimicrobial efficacy of the crude flavonoids and saponins rootbark extracts of *Terminalia avicennioides* and *Ficus polita*. *Journal of Herbmед Pharmacology* 7, 106-111.
- Valant-Vetschera, K.M., Roitman, J.N., Wollenweber, E., 2003. Chemodiversity of exudate flavonoids in some members of the Lamiaceae. *Biochemical systematics and ecology* 31, 1279-1289.
- Valko, M., Jomova, K., Rhodes, C.J., Kuča, K., Musílek, K., 2016. Redox-and non-redox-metal-induced formation of free radicals and their role in human disease. *Archives of toxicology* 90, 1-37.
- Villeneuve, F., Vergnet, A.-M., 1988. Etude des flavanes d'une essence tropicale "Eperua falcata Aubl". *Bulletin de la Société Botanique de France. Actualités Botaniques* 135, 19-24.
- Vogt, T., 2010. Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular plant* 3, 2-20.
- Von Hundelshausen, P., Agten, S.M., Eckardt, V., Blanchet, X., Schmitt, M.M., Ippel, H., Neideck, C., Bidzhekov, K., Leberzammer, J., Wichapong, K., 2017. Chemokine interactome mapping enables tailored intervention in acute and chronic inflammation. *Science translational medicine* 9, eaah6650.
- Waksmundzka-Hajnos, M., Sherma, J., 2010. High performance liquid chromatography in phytochemical analysis. CRC press.
- Wallace, H.A., Bhimji, S.S., 2017. Wound, Healing, Phases.
- Wang, E.C.E., 2018. Hair Growth Is Induced by Blockade of Macrophage-derived Oncostatin M and Downstream Jak-stat5 Signaling in Hair Follicle Stem Cells.
- Wang, J., Cheng, Y., Wu, R., Jiang, D., Bai, B., Tan, D., Yan, T., Sun, X., Zhang, Q., Wu, Z., 2016. Antibacterial activity of juglone against *Staphylococcus aureus*: from apparent to proteomic. *International journal of molecular sciences* 17, 965.

Références bibliographiques

- Wang, Y., Chen, P., Tang, C., Wang, Y., Li, Y., Zhang, H., 2014. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of extract and two isolated flavonoids of *Carthamus tinctorius* L. *Journal of ethnopharmacology* 151, 944-950.
- Warner, T.D., Mitchell, J.A., 2002. Cyclooxygenase-3 (COX-3): filling in the gaps toward a COX continuum? *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99, 13371-13373.
- Wilfred, V., Nicholson, R., 2006. *Phenolic compound biochemistry*. Springer.
- Williamson, G., 2017. The role of polyphenols in modern nutrition. *Nutrition bulletin* 42, 226-235.
- Winter, C.A., Risley, E.A., Nuss, G.W., 1962. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. *Proceedings of the society for experimental biology and medicine* 111, 544-547.
- Wirtz, S., Popp, V., Kindermann, M., Gerlach, K., Weigmann, B., Fichtner-Feigl, S., Neurath, M.F., 2017. Chemically induced mouse models of acute and chronic intestinal inflammation. *Nature protocols* 12, 1295.
- Wong, S.P., Leong, L.P., Koh, J.H.W., 2006. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food chemistry* 99, 775-783.
- Worwood, V.A., 2016. *The Complete Book of Essential Oils and Aromatherapy, Revised and Expanded: Over 800 Natural, Nontoxic, and Fragrant Recipes to Create Health, Beauty, and Safe Home and Work Environments*. New World Library.
- Yvonne, O., Driss, F., Dang, P.M.-C., Elbim, C., Gougerot-Pocidalo, M.-A., Pasquier, C., El-Benna, J., 2004. Antioxidant effect of hydroxytyrosol, a polyphenol from olive oil: scavenging of hydrogen peroxide but not superoxide anion produced by human neutrophils. *Biochemical Pharmacology* 68, 2003-2008.
- Zhang, H., Tsao, R., 2016. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science* 8, 33-42.
- Zhang, N.-n., Park, D.K., Park, H.-J., 2013. Hair growth-promoting activity of hot water extract of *Thuja orientalis*. *BMC complementary and alternative medicine* 13, 9.
- Zhang, W., Liu, A., Li, Y., Zhao, X., Lv, S., Zhu, W., Jin, Y., 2012. Anticancer activity and mechanism of juglone on human cervical carcinoma HeLa cells. *Canadian journal of physiology and pharmacology* 90, 1553-1558.
- Zhao, J., Wang, J., Chen, Y., Agarwal, R., 1999. Anti-tumor-promoting activity of a polyphenolic fraction isolated from grape seeds in the mouse skin two-stage initiation–promotion protocol and identification of procyanidin B5-3'-gallate as the most effective antioxidant constituent. *Carcinogenesis* 20, 1737-1745.
- Zhao, R., Liang, H., Clarke, E., Jackson, C., Xue, M., 2016. Inflammation in chronic wounds. *International journal of molecular sciences* 17, 2085.
- Zheng, G., Zhan, J., Luo, J., Cheng, X., 2018. Effect of alprostadil on wound healing of scalded rats and the mechanism. *Zhonghua shao shang za zhi= Zhonghua shaoshang zazhi= Chinese journal of burns* 34, 380-385.
- Zhong, S., Sandhu, A., Edirisinghe, I., Freeman, B.B., 2017. Characterization of Wild Blueberry Polyphenols Bioavailability and Kinetic Profile over 24-hour Period in Human Subjects. *The FASEB Journal* 31, 148.145-148.145.
- Zhou, N., Fan, W., Li, M., 2009. Angiogenin is expressed in human dermal papilla cells and stimulates hair growth. *Archives of dermatological research* 301, 139-149.
- Zidorn, C., 2018. Seasonal variation of natural products in European trees. *Phytochemistry Reviews* 17, 923-935.
- Złotek, U., Mikulska, S., Nagajek, M., Świeca, M., 2016. The effect of different solvents and number of extraction steps on the polyphenol content and antioxidant capacity of basil leaves (*Ocimum basilicum* L.) extracts. *Saudi journal of biological sciences* 23, 628-633.
- Zubair, A., Shahrom, A., Swarhib, M., Nurliza, A., 2018. Determination of age of skin wound by measuring collagen type I and III using picosirius polarization method. *International Journal of Medical Toxicology & Legal Medicine* 21, 1-5.

Références bibliographiques

Annexes

Annexes

Annexe 1

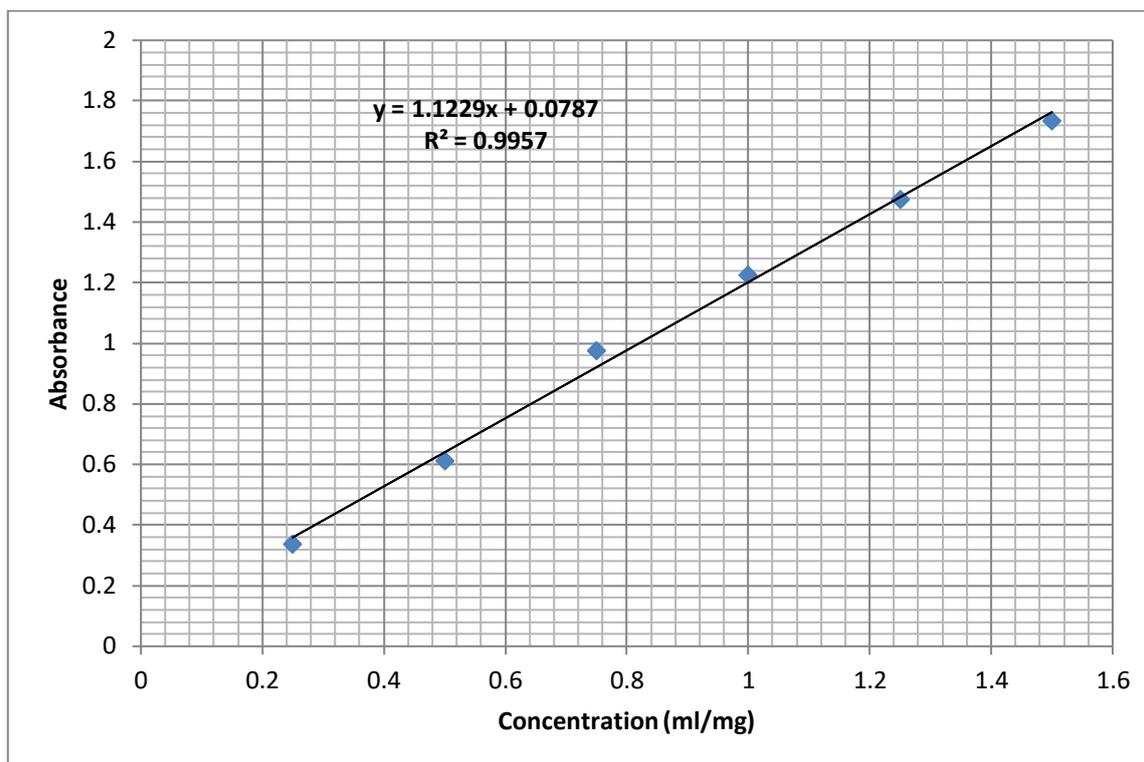


Figure 1 : la courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Tableau 1 : poids des pattes des souris avant après traitement

Souris	Patte	NaCl (2.5ml/kg)	Extrait	Indométacine (8mg/ voie oral)	carragénine
1	G	0.1522	0.1622	0.1661	0.025 ml/patte
	D	0.1918	0.1682	0.1731	
2	G	0.1408	0.1457	0.1643	
	D	0.1835	0.1503	0.1731	
3	G	0.1367	0.1615	0.1388	
	D	0.1725	0.1669	0.1476	
4	G	0.1591	0.1506	0.1683	
	D	0.2026	0.1709	0.1714	
5	G	0.1406	0.1548	0.1614	
	D	0.1821	0.1598	0.1705	
6	G	0.1481	0.1480	0.1418	
	D	0.1864	0.1497	0.1530	

Annexes

Annexe 2

Substances	Résultat Positif	<i>Carthamus caeruleus</i>
Senosides	Rouge Orangée	
		++++
Amidon	Bleu Violet	
		+/-
Quinones Libres	Rouge	
		+++
Saponosides	Précipité Blanc	
		++++
Alcaloïdes	Précipité Rouge	
		-

Annexes

Substances	Résultat Positif	<i>Carthamus caeruleus</i>
Glucosides	Rouge Brique Puis	
	Violette	++++
Mucilage	Précipité Floconneux	
		++++
Irridoïdes	Bleu	
		-
Coumarines	Formation D'un	
	Trouble	++++

Figure 2: Screening phytochimique des racines de *Carthamus caeruleus*

Annexe

Annexe 4

Bruts			Dilutions		
					
<i>Micrococcus sp</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Micrococcus sp</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>
					
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptocoque pneumonia</i>	<i>Aspergillus sp</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptocoque pneumonia</i>	

Figure 10 : activité antimicrobienne de l'extrait de *Carthamus caeruleus*

Liste des communications et des publications

Communications

Deux communications internationales ont fait l'objet de ce travail :

1. 1^{er} Colloque International d'Ecophysiologie Animale et Biodiversité 2016 (USTHB).
Intitulée : Screening phytochimique des constituants bioactifs de *Carthamus caeruleus* L.
(Asteraceae) : Evaluation des effets toxicologiques.

Auteurs : Dahmani M.M., Laoufi R, Arab K.

2. The first international congress of biotechnology for sustainable development (UMBB)

Intitulée : Pharmaceutical interests of *Carthamus caeruleus* L. (Asteraceae)

Auteurs: Dahmani M.M., Arab K.

Publications

Ce travail a fait l'objet d'une publication internationale :

Mohammed Mahdi Dahmani, Razika Laoufi, Okba Selama, Karim Arab. (2018). Gas chromatography coupled to mass spectrometry characterization, anti-inflammatory effect, wound-healing potential, and hair growth-promoting activity of Algerian *Carthamus caeruleus* L (Asteraceae). *Indian journal of Pharmacological*. 50 (3) 123–129. (Impact factor : 0.902)

الملخص

يهدف هذا العمل إلى تعزيز الفوائد الطبية لجذور *Carthamus caeruleus* من خلال التحليل الكيميائي النباتي وتقييم الأنشطة البيولوجية لجذورها. وكشفت دراسة التحليل الكيميائي النباتي عن المستقلبات الرئيسية، وخاصة البوليفينول. كشف تحليل مستخلص البوليفينول بواسطة CG/MS لأول مرة عن الثراء والتنوع الجزيئي لنبتة *Carthamus caeruleus*. أظهر تقييم مضادات الأكسدة في المختبر بواسطة طرق قياس الألوان (DPPH، FRAP و H_2O_2) أن مستخلص البوليفينول من النبات المدروس لديه قدرة عالية مضادة للأكسدة. يختلف تأثير مستخلص النبتة الطبية تبعاً لطبيعة السلالة و المستخلص الذي تم اختباره. في الجسم الحي، لا يُظهر مستخلص الفينولي لجذور *Carthamus caeruleus* أي سمية بتركيزات تتراوح بين 100 مغ / كغ و 250 ملغ / كغ. بالإضافة إلى ذلك، تم وصف نشاطها مضادة للالتهاب. وأخيراً، أظهر مسحوق جذور *Carthamus caeruleus* أنه يسرع إلتئام الجرح بنسبة عالية جداً بالنسبة إلى الدواء المرجعي Madycassol® خلال نفس فترة العلاج. كما يساعد *Carthamus caeruleus* في تعزيز نمو الشعر في النموذج الحيواني. أكدت الدراسة الحالية فعالية النبتة المدروسة وتوفر دليلاً بيولوجياً قابلاً للقياس على خصائصه المضادة للأكسدة، المضادة للميكروبات، المضادة للالتهابات، إلتئام الجروح وتنشيط نمو الشعر.

الكلمات المفتاحية: *Carthamus caeruleus*، CG / MS، إلتئام الجروح، بوليفينول، نمو الشعر.