

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/20

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

MOKDAD Oumaima Serine & ZADI Selma

Thème

**Extraction par solvant assistée par ultrasons des saponines
à partir des rhizomes de Carduncelle bleue « *Carthamus
caeruleus L.* »**

Soutenu le : 29 / 09 / 2020

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

M. REMINI Hocine

MCB.

Univ. de Bouira

Président

M. MAHDJOUR Malik Mohamed

MCB.

Univ. de Bouira

Examineur

M. DAHMOUNE Farid

MCA.

Univ. de Bouira

Promoteur

M. MOUSSA Hamza

Doctorant

Univ. de Bouira

Co-promoteur

Année Universitaire : 2019/2020

Remerciements

Avant tout, nous commençons par remercier Dieu « **ALLAH** » le tout puissant, de nous avoir donné la volonté, la force et surtout le courage et la patience pour accomplir et effectuer ce modeste travail.

Nous tenons d'abord à adresser nos vifs remerciements, et nos pensées de gratitude à **M. DAHMOUNE Farid** (Maitre de conférences classe A à l'université de Bouira) pour avoir accepté de diriger et d'encadrer ce mémoire, pour sa patience, ses remarques judicieuses. Que ce travail soit en témoignage de notre sincère gratitude et notre respect.

Nos remerciements les plus cordiaux et toutes nos pensées de gratitude à notre Co-promoteur **M. MOUSSA Hamza** qui a codirigé notre projet avec plein de sagesse, de générosité, et de gentillesse pendant toute la période de stage et de rédaction. Toutes nos reconnaissances, nos gratitudes et nos sentiments les plus distingués pour son aide, ses critiques, son soutien, sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter nos réflexions.

Nous remercions **M. REMINI Hocine** (Maitre de conférences classe B à l'université de Bouira) qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence des jurys de notre mémoire, et de l'enrichir par leurs propositions et leurs connaissances. Veuillez accepter nos sentiments de vive reconnaissance et de profond respect.

Nous remercions **M. MAHDJOUR Malik Mohamed** (Maitre de conférences classe B à l'université de Bouira) pour avoir accepté de juger et examiner ce modeste travail. Nous tenons à lui assurer tout notre respect.

Nous remercions particulièrement nos amis et toutes personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation et l'élaboration de ce travail.

Dédicace

Avant tous, je remercie Dieu « ALLAH » le tout puissant

« الحمد لله على كل شيء »

Je dédie ce modeste travail :

Aux êtres les plus chères de ma vie, mes **Parents**, et mes **Grands-parents**, pour tous leurs sacrifices, leurs amours, leurs tendresses, leurs soutiens et leurs prières tout au long de mes études.

À mes chères sœurs « **Nor-hane** » et « **Khouloud** », pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

À mon cher prince, mon frère « **Louai** ».

À toute « **ma famille** » pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire, que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible.

À ma chère amie et binôme « **Selma** » avec qui j'ai partagé tous les moments de tristesse, de stress, de fatigue, mais aussi de la joie, et de fous rires.

Merci d'être toujours là pour moi

Serine

Dédicace

« الحمد لله قبل كل شيء »

J'ai l'honneur de dédie ce modeste travail :

À ma raison de vie « **ma mère** ». Ma chère, sans toi, je ne serais jamais arrivée jusqu'au là, tu n'as jamais hésité à te sacrifier pour ma réussite et mon bonheur. Que dieu t'accorde la longue vie pour qu'à mon tour je puisse te témoigner ma gratitude.

À ma deuxième mère, ma sœur « **Abla** » qui ma encourageait toujours et me soutenait sa présence auprès de moi, à son mari « **KALLI Redwan** » et leur petit enfant « **Abd erraouf** »

À mes très chères frères « **Houcem et Islem** », vous étiez mon support constant depuis mon jeune âge.

À toute ma famille : grande mère et grand père, mes oncles et mes tantes. Tous mes cousins et cousines même qui sont à l'étranger ; je ne pourrai jamais oublier votre amour, soutien et encouragement.

À ma chère amie et binôme « **Serine** » avec qui j'ai partagé tous les moments de tristesse, de stress, de fatigue, mais aussi de la joie, et de fous rires.

À tous ceux que j'aurais oublié de citer mais qui existent au fond de mon cœur et dans ma pensée.

Selma

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1 Etude de la plante *Carthamus caeruleus* L. 3

I.1.1 Classification 3

I.1.2 Description botanique 3

I.1.3 Répartition géographique 4

I.1.4 Composition phytochimique des racines..... 5

I.1.5 Utilisations de *Carthamus caeruleus* L. 6

I.1.5.1 Utilisation traditionnelle 6

I.1.5.2 Utilisations médicinales..... 6

I.2 Saponines 7

I.2.1 Généralités sur les saponines..... 7

I.2.2 Types et structures de saponines 8

I.2.3 Propriétés physicochimiques..... 9

I.2.4 Activités biologiques des saponines..... 9

I.3 Les différentes propriétés biologiques de *Carthamus caeruleus* L... 10

I.3.1 Activité anti-inflammatoire 10

I.3.1.1 Inflammation 10

I.3.1.1.1 Définitions..... 10

I.3.1.1.2 Les étapes..... 11

I.3.1.1.3 Types d'inflammation 11

I.3.1.1.4 Les anti-inflammatoires..... 12

I.3.1.2 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de *Carthamus caeruleus* L. 12

I.3.1.2.1 Test *in vivo* 12

I.3.1.2.2 Test *in vitro* 14

I.3.2 Activité cicatrisante 15

I.3.2.1 La peau 15

I.3.2.2 La cicatrisation..... 16

I.3.2.2.1 Généralités 16

I.3.2.2.2 Processus de cicatrisation 17

I.3.2.3	Evaluation de l'activité cicatrisante de <i>Carthamus caeruleus</i> L.	18
I.3.3	Activité antioxydante	20
I.3.3.1	Radicaux libres d'oxygène et stress oxydatif	20
I.3.3.2	Les antioxydants	21
I.3.3.3	Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante	22
I.3.3.3.1	Méthode de DPPH.....	22
I.3.3.3.2	Méthode de FRAP	22
I.3.3.4	Effet antioxydant de <i>Carthamus caeruleus</i> L.	23
I.3.4	Activité antimicrobienne	23
I.3.4.1	Les antibiotiques.....	23
I.3.4.2	Antimicrobiens d'origine végétale	24
I.3.4.3	Effet antimicrobien de <i>Carthamus caeruleus</i> L.	25
I.4	Extraction assistée par ultrasons	26
I.4.1	Notions sur l'extraction assistée par ultrasons	26
I.4.2	Principe de l'extraction assistée par ultrasons.....	27
I.4.3	Appareillage	28
I.4.4	Mécanisme d'extraction assistée par ultrasons	29
I.4.5	Paramètres influençant l'extraction assistée par ultrasons.....	30
I.4.6	Avantages et inconvénients	30

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1	Matériels	32
II.1.1	Matériel végétal.....	32
II.1.2	Matériels et appareillages utilisés.....	32
II.1.3	Réactifs et produits chimiques	32
II.2	Méthodes	33
II.2.1	Préparation de la poudre végétale	33
II.2.2	Délipidation et dépigmentation	33
II.2.3	Préparation des extraits saponosidiques	33
II.2.3.1	Extraction par solvant assistée par ultrasons	33
II.2.3.2	Extraction liquide-liquide	34
II.2.3.3	Rendement d'extraction des saponines.....	36
II.2.3.4	Solvatation et dissolution des extraits secs.....	36
II.2.4	Détection des saponines	36

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1	Rendement d'extraction	38
--------------	-------------------------------------	----

Table des matières

III.1.1	Matrice et rapport biomasse/solvant.....	39
III.1.2	Interaction solvant-échantillon.....	39
III.1.3	Température.....	39
III.1.4	Solvant.....	40
III.1.5	Temps d'extraction.....	41
III.1.6	Pression acoustique	41
III.1.7	Fréquence	41
III.2	Identification des saponines	42
Conclusion		44
Références bibliographiques		
Annexes		
Résumé		

Liste des abréviations

ABTS : Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

AIS : Anti-inflammatoires stéroïdiens

BHT : Hydroxytoluène butylé

BSA : Bovine Serum Albumin

CMC : Concentration micellaire critique

DPPH : Diphenyl-picrylhydrazyle

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène

FGF: Fibroblast growth factor

FRAP: Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter

IC₅₀: Concentration inhibitrice de 50%

IGF: Insulin-like growth factor-1

IL-1 : Interleukine-1

K₃Fe(CN)₆ : Ferricyanure de potassium

LT5 : Leucotriènes

MEC : Matrice extracellulaire

MMP : Métalloprotéases matricielles

ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity

PAF : Facteur d'activation des plaquettes

PBS: Tampon phosphate salin

PDGF: Platelet-derived growth factor

PGs : Prostaglandines

PRI : Protéines de la Réaction Inflammatoire

ROS: Reactive oxygen species

TGF α et β : Transforming growth factor α et β

TIMP : Inhibiteurs des métalloprotéases matricielles

TNF : Tumor necrosis factors

TRAP: Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter

UAE : Ultrasound-assisted extraction.

Liste des figures

Figure 1: Photographie des différentes parties de <i>Carthamus caeruleus</i> L.	4
Figure 2: Répartition géographique (par pays) de <i>Carthamus caeruleus</i> L. dans le monde sur la base des travaux.....	5
Figure 3: Structure des saponines.....	9
Figure 4: Mécanisme d'action des saponines dans le diabète	10
Figure 5: Photographie de test <i>in vivo</i> de l'activité anti-inflammatoire.....	13
Figure 6: Composition de la peau.	16
Figure 7: Phases de cicatrisation	18
Figure 8: Origine extra et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène	21
Figure 9: Zones d'inhibition données par l'extrait des rhizomes de <i>Carthamus caeruleus</i> L. contre <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Listeria innocua</i>	25
Figure 10: Exemple de domaine d'application des ultrasons en fonction de la fréquence et de la longueur d'onde.	27
Figure 11: L'évolution d'une bulle de cavitation lors de l'extraction par solvant assistée par ultrasons	28
Figure 12: Systèmes d'extraction assistée par ultrasons.....	29
Figure 13: Représentation schématique de mécanisme d'extraction par solvant assistée par ultrasons	30
Figure 14: Lieu de récolte du matériel végétal de <i>Carthamus caeruleus</i> L.	32
Figure 15: Photographie des rhizomes de <i>Carthamus caeruleus</i> L.	33
Figure 16: Photographie des extraits méthanoliques obtenus après extraction par solvant assistée par ultrasons	34
Figure 17: Photographie de l'extraction liquide-liquide des saponines à partir des rhizomes de <i>Carthamus caeruleus</i> L.	35
Figure 18: Schéma récapitulatif du protocole général d'extraction par solvant des saponines à partir des rhizomes de <i>Carthamus caeruleus</i> L.....	37
Figure 19: Photographie des résultats de test d'identification des saponines à partir des rhizomes de <i>Carthamus caeruleus</i> L.....	42

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification de la plante <i>Carthamus caeruleus</i> L.	3
Tableau 2 : Les travaux scientifiques réalisés sur <i>Carthamus caeruleus</i> L.	7
Tableau 3 : Estimation de la sensibilité des souches aux extraits	26
Tableau 4 : Facteurs influençant l'extraction assistée par ultrasons	31
Tableau 5 : Masses des extraits secs de saponines et le rendement d'extraction à partir de rhizomes de <i>Carthamus caeruleus</i> L.	38

INTRODUCTION

Introduction

À travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales pour objectif d'améliorer la santé humaine (**Djabou, 2006**). De nos jours, les vertus thérapeutiques des plantes médicinales présentent un regain d'intérêt grâce à l'amélioration des techniques extractives, et aux progrès des méthodes d'analyse structurales pour la découverte de nouveaux principes actifs (**Saffidine, 2013**).

En effet, il est indéniable que les plantes médicinales soient très abondantes dans la nature, elles sont caractérisées par la diminution des effets indésirables par apport aux médicaments, par une grande efficacité thérapeutique, et la présence d'une composition inoffensive (**Thurzovol et al., 1978**). De plus, elles ont l'aptitude de synthétiser de nombreux composés et constituent donc un immense réservoir de composés d'une grande diversité chimique possédant un large éventail d'activités biologiques (**Haddouchi et al., 2016**).

L'Algérie, et grâce à sa position biogéographique, offre une grande variété de flore (plus de 300 espèces) à intérêt médicinale et aromatique, mais aussi une forte tradition ethno-médicinale qui est toujours en vigueur (**Ababsa et al., 2018**). Parmi les plantes utilisées dans la médecine traditionnelle algérienne, *Carthamus caeruleus* L. C'est une espèce peu commune de bassin méditerranéen dont ces racines sont, depuis longtemps, très utilisées dans le traitement des brûlures et les plaies présentant aussi une diversité moléculaire de métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les coumarines, les leuco-anthocyanes, les tannins, mucilage, et les saponines (**Dahmani et al., 2018**).

Les saponines retiennent l'attention aussi bien pour leur exploitation industrielle en lien avec leur large gamme de propriétés pharmacologiques et biologiques, notamment antivirales, antifongiques, antibactériennes (**Gaci et Lahiani, 2017**), antitumorales, hépatoprotectrices, hémolytiques et anti-inflammatoires. Par conséquent, elles sont considérées comme étant une ressource thérapeutique prometteuse (**Barbosa, 2014**).

Face à ce constat, les objectifs à atteindre dans cette étude sont :

- L'extraction par solvant assistée par ultrasons des saponines à partir des rhizomes de *Carthamus caeruleus* L.
- L'évaluation de différentes activités biologiques de la plante à savoir l'activité anti-inflammatoire, le pouvoir cicatrisant, l'activité anticoagulante et l'activité antioxydante des extraits saponosidiques.

Ce travail s'insère dans un projet de Recherche-Formation Universitaire (PRFU) destiné à la valorisation de la flore algérienne et l'amélioration du patrimoine de la médecine traditionnelle par la recherche de nouveaux composés ou principes actifs à débouchés thérapeutiques.

La présente étude comporte deux grandes parties :

- La première partie, est consacrée pour une synthèse bibliographique sur la plante étudiée et ses activités biologiques, les saponines, et l'extraction assistée par ultrasons, il s'agit de premier chapitre.
- La seconde représente la partie expérimentale qui traitera deux chapitres présentant les matériels et les méthodes utilisés pour l'extraction et l'identification des saponines, ainsi que la discussion des résultats obtenus.

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1 Etude de la plante *Carthamus caeruleus* L.

Le nom *Carthamus* signifie « teinture » et *caeruleus* s'applique aux fleurs « de la couleur du ciel ». Elle fait partie de 14 espèces du genre *Carthamus* de la famille des Astéracées. C'est une plante à fleurs qui a des rapports avec les chardons dont la période de floraison est du mois d'Avril jusqu'au Juillet (Quézel et Santa, 1962).

I.1.1 Classification

Vu qu'elle soit mal connue et de structure compliquée, plusieurs classifications ont été attribuées pour cette plante. Selon Quézel et Santa (1962) *Carthamus caeruleus* L. est classée dans le tableau ci-dessous (tableau 1).

Tableau 1 : Classification de la plante *Carthamus caeruleus* L. (Quézel et Santa, 1962).

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Sous famille	Carduoideae
Genre	<i>Carthamus</i>
Espèce	<i>Carthamus caeruleus</i>

Autres appellations : *Carthamus caeruleus* L., *Carduncellus caeruleus* L.

Noms vernaculaire

- **En arabe** : Merghres Ghers, Kenjdar (کنجدار), Gergaa (قرفاع), Qartum (قرطم), Emar gosgos (عمر قصفص).
- **En anglais** : Blue thistle.
- **En français** : Carduncelle bleue.
- **En berbère** : Amegres, Arvive'n taga, Immerzezig.

I.1.2 Description botanique

Carthamus caeruleus L. est une plante vivace, annuelle ou bisannuelle de 20 à 30 cm d'hauteur (Quézel et Santa, 1962). Les fleurs sont bleues ou bleues violets, en capitules

solitaires au sommet de la tige et des rameaux globuleux ou ovoïdes (**figure 1-a**). Elles ont une corolle tubuleuse que prolongent 5 dents à valeur de courts lobes sommitaux, et des akènes sub-globuleux, glabres et blanchâtres. La tige est ascendante, simple ou très peu rameuse, dressée et velue. Ses feuilles sont glabres ou pubescentes, fortement nervurées à contour ovale ou lancéolé, dont les inférieures sont pétiolées et dentées tandis que les supérieures sont sessiles amplexicaules ou dentées-épineuses (**figure 1-b**) (**Boullard, 2001; Bowles, 2003**). Son rhizome est composé d'une racine principale qui évolue horizontalement et à partir duquel sortent et évoluent verticalement des racines secondaires (**figure 1-c**) (**Belkhiri et Baghiani, 2017**).



Figure 1: Photographie des différentes parties de *Carthamus caeruleus* L. : a) fleurs; b) feuilles; c) rhizomes ou racines (**Gorter, 2014**).

I.1.3 Répartition géographique

C'est une espèce peu commune qu'on peut rencontrer dans les terrains maigres de Provence et de Corse. Elle préfère les lieux secs et ensoleillés du bassin méditerranéen, et est originaire du Sud - Ouest de l'Asie, d'Orient, mais répandue dans le reste de l'Asie, en Afrique du Nord (Algérie, Maroc, Tunisie), en Australie, dans les deux Amériques, ainsi qu'en Europe (**Boullard, 2001**) (**figure 2**). En Algérie, elle se trouve dans les régions côtières méditerranéennes ; Tipaza, Annaba, Bejaia, Boumerdes, Sidi bel-abbés et Bouira ainsi que dans les hauts plateaux comme Sétif (**Baghiani et al., 2010 ; Benhamou et Fazouane, 2013**).

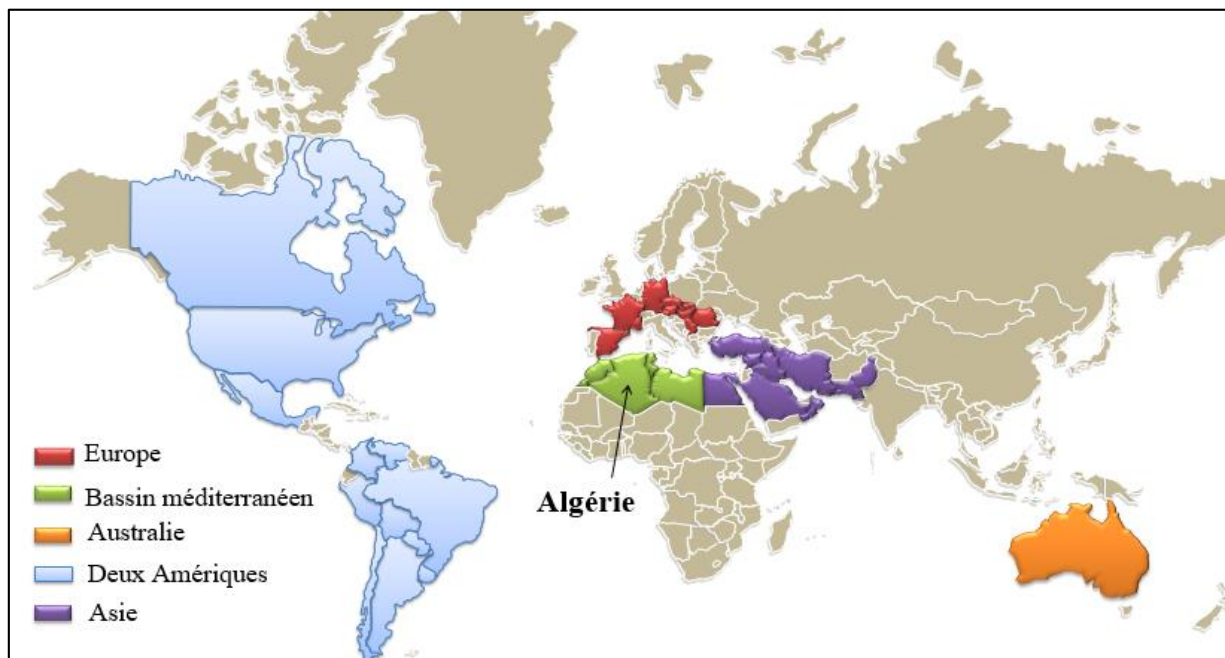


Figure 2: Répartition géographique (par pays) de *Carthamus caeruleus* L. dans le monde sur la base des travaux de (Boullard, 2001 ; Baghiani *et al.*, 2010 ; Benhamou et Fazouane, 2013).

I.1.4 Composition phytochimique des racines

Carduncelle bleue est parmi les plantes médicinales, pour cela, ses différentes parties comme les rhizomes sont riches en métabolites secondaires. Ces métabolites sont des molécules organiques, complexes, synthétisées naturellement et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (Lutge *et al.*, 2002 ; Abderrazak et Joël, 2007). Ils exercent un rôle majeur dans l'adaptation des végétaux à leur environnement, et assurent des fonctions clés dans la résistance aux contraintes biotiques (phytopathogènes, herbivores, etc.) et abiotiques (UV, température, etc.) (Bourgaud, 2013). Ils sont divisés principalement en plusieurs catégories en fonction de leur nature biochimique et de leur origine biosynthétique, dont chacune renferme une très grande diversité de composés possédant une très large gamme d'activités en biologie humaine. Parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes, et les composés azotés dont les alcaloïdes, ainsi que la catégorie des hétérosides, celle qui inclut les saponosides/saponines (Bourgaud, 2013).

Les résultats obtenus des tests phytochimiques réalisés par Benhamou et Fazouane (2013) sur les infusés et la poudre végétale de rhizome de *Carthamus caeruleus* L. montrent une présence élevée de métabolites secondaires tels que les saponines, coumarines, alcaloïdes, flavonoïdes et leuco-anthocyanes et absence des tannins, et anthocyanines. Cependant, cette composition n'est pas constante dans la plante car elle peut se varier selon la région dont elle existe, ainsi que le temps de récolte.

De plus, selon **Hamadi et al. (2014)** le rhizome est particulièrement riche en : amidon, stérols à effet hypocholestérolémiant, saponines, acides gras polyinsaturés et mucilages ayant un pouvoir calmant sur les tissus irrités.

I.1.5 Utilisations de *Carthamus caeruleus* L.

I.1.5.1 Utilisation traditionnelle

Carduncelle bleue et plus précisément ses rhizomes sont très utilisés en médecine traditionnelle dans le but de traiter les maladies de la peau en tant qu'un cicatrisant qui contribue à guérir les brûlures et les inflammations articulaires. L'utilisation consistait à préparer une crème à base de ces rhizomes, ensuite l'appliquer directement sur la partie brûlée ou la plaie d'une manière régulière (**Benhamou et Fazouane, 2013**). Des résultats spectaculaires ont été observés.

I.1.5.2 Utilisations médicinales

En corrélation avec leur usage traditionnel, peu d'études ont été menées afin de confirmer les effets thérapeutiques des extraits de rhizome de *Carthamus caeruleus* L. (**tableau 2**). En effet, les activités très répandues ont été démontrées à savoir l'activité antioxydante, antibactérienne, anti-inflammatoire, ainsi que l'activité cicatrisante en cas de brûlures à différents degrés. Ces activités seront détaillées dans la troisième partie de ce chapitre.

Par ailleurs, il est évident que cette plante peut présenter d'autres activités biologiques grâce à sa richesse et son extrême diversité en métabolites secondaires, comme les saponines.

Tableau 2 : Les travaux scientifiques réalisés sur *Carthamus caeruleus* L.

Etudes	Métabolite étudié	Références
Activité antioxydante et propriétés de piégeage de radicaux libres de l'extrait de <i>Carthamus caeruleus</i> L.	Composés phénoliques totaux, flavonoïdes	(Baghiani <i>et al.</i> , 2010)
Etude ethnobotanique, caractérisation phytochimique et effet curatif des rhizomes de <i>Carthamus caeruleus</i> L.	-----	(Benhamou et Fazouane, 2013)
l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'extrait de <i>Carthamus caeruleus</i> .	Polyphénols, huiles essentielles	(Belkhiri et Baghiani, 2017)
Optimisation de l'extraction accélérée par solvant de <i>Carthamus Caeruleus</i> L., évaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire des extraits.	Composés phénoliques	(Toubane <i>et al.</i> , 2017)
Chromatographie en phase gazeuse couplée au caractérisation par spectrométrie de masse, effet anti-inflammatoire, potentiel de cicatrisation des plaies et activité favorisant la pousse des cheveux de <i>Carthamus caeruleus</i> L. (Asteraceae) algérienne.	Composés volatils	(Dahmani <i>et al.</i> , 2018)

I.2 Saponines

I.2.1 Généralités sur les saponines

Les saponosides ou saponines sont des métabolites secondaires hétérosidiques, non-volatils, tensio-actifs, qui sont principalement distribués dans le règne végétal, les animaux marins inférieurs et certaines bactéries. Le nom « saponine » est dérivé du mot latin *sapo*, qui signifie « savon ». En effet, les molécules de saponine permettent de former une mousse stable semblable au savon dans une solution aqueuse (Barbosa, 2014).

Les saponines ont une série de propriétés dues à leur grande diversité structurale, qui comprend certaines caractéristiques en plus des propriétés biologiques, médicales et pharmacologiques. Il convient également de noter les applications dans les industries pharmaceutiques comme matière première pour la synthèse de médicaments stéroïdiens (Barbosa, 2014).

Bien qu'elles présentent une toxicité lorsqu'elles sont administrées par voie intraveineuse, leur toxicité est beaucoup plus faible lorsqu'elles sont administrées par voie orale. Les saponines

sont utilisées depuis les années 1950 comme adjuvants immunologiques dans les formulations de vaccins vétérinaires en raison de leurs propriétés de renforcement du système immunitaire. Leur utilisation dans les vaccins humains a toutefois été limitée par leur complexité et leur toxicité (Barbosa, 2014).

I.2.2 Types et structures de saponines

Ce sont de grosses molécules dont le poids moléculaire est élevé (Barbosa, 2014), chimiquement constituées de deux parties : l'aglycone et le glycone. La partie aglycone est également connue sous le nom de sapogénine (partie hydrophobe), qui est classée en stéroïdes, triterpénoïdes (C30), neutres ou alcaloïdes (C27). Elle est liée par covalence à un ou plusieurs glycones (sucres), qui peuvent être le glucose, le galactose, l'acide glucuronique, la xylose ou le rhamnose (El Barky *et al.*, 2017). Les sucres constituent la partie hydrophile des saponines. Elles peuvent être constituées d'une ou plusieurs chaînes osidiques (linéaires ou ramifiées) à des positions différentes sur l'aglycone (Bruneton, 2009). L'oligosaccharide est fixé en position C3, mais dans certaines saponines, des sucres supplémentaires sont fixés en position C26 ou C28 (El Barky *et al.*, 2017).

Donc structuralement, les saponines peuvent être classées en deux groupes selon la nature de la génine ; saponine stéroïdique et saponine triterpénique.

- A. Saponines à génine stéroïdique ou Saponines stéroïdes** : Elles sont presque exclusivement présentes chez les angiospermes monocotylédones et possèdent un squelette de spirostane avec 27 atomes de carbone qui comporte habituellement six cycles (**figure 3**). Les sapogénines stéroïdiques peuvent avoir une double liaison $\Delta^{5,6}$. Dans certains cas, le groupe hydroxyle en position 26 est engagé dans une liaison glycosidique pour donner un squelette de furostane (Bruneton, 2009).
- B. Saponines à génine triterpénique ou Saponines triterpènes** : Elles sont les plus abondantes, et se trouvent principalement dans les angiospermes dicotylédones. Les saponines triterpènes sont constituées d'un aglycone triterpénoïde formé d'un squelette de 30 atomes de carbone (**figure 3**). Les positions C2, C7, C11, C15, C16, C21 et C22 peuvent porter des groupements hydroxyles qui peuvent être oxydés en cétone. Suite à la nature de la biosynthèse, le groupement hydroxyle en C3 est constant (Bruneton, 2009).

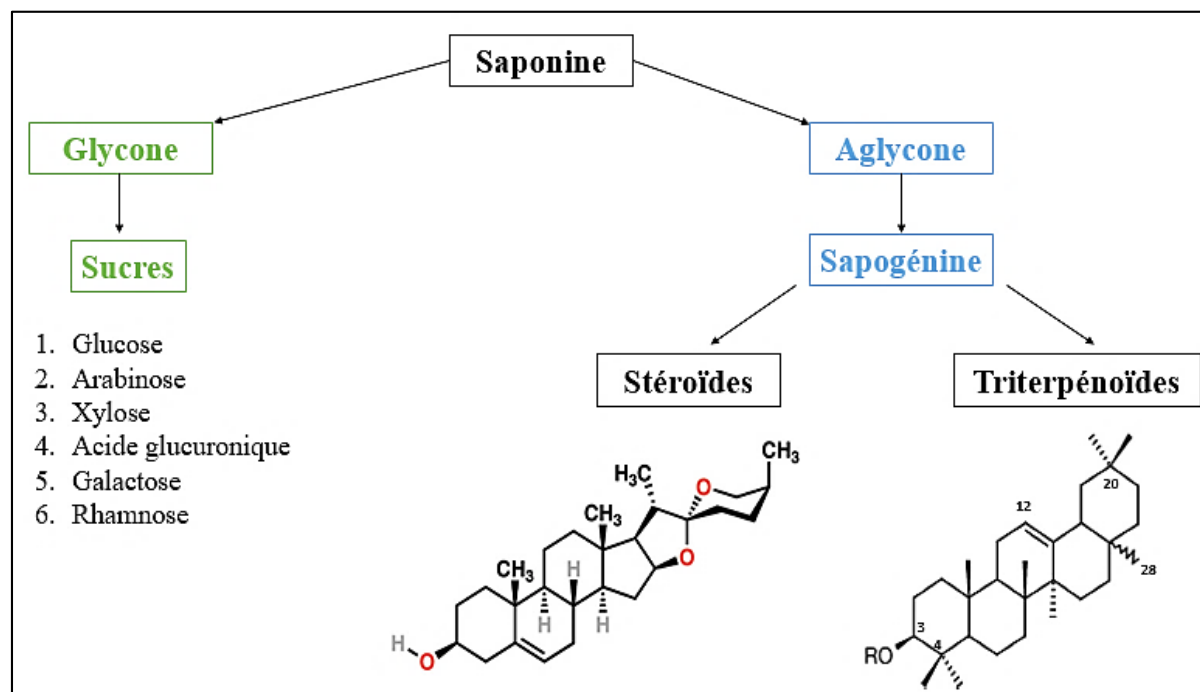


Figure 3: Structure des saponines (El Barky *et al.*, 2017).

I.2.3 Propriétés physicochimiques

En raison de leur structure amphipathique (amphiphile), les saponines sont des composés tensioactifs ayant des propriétés détergentes, mouillantes, émulsifiantes et moussantes. Dans les solutions aqueuses, les agents de surface forment des micelles au-dessus d'une concentration critique appelée concentration micellaire critique (CMC) (Güçlü-Ustündağ et Mazza, 2007).

La solubilité des saponines est également influencée par les propriétés du solvant d'extraction (température d'ébullition, nature et pH). Si l'eau, les alcools (méthanol, éthanol) et les alcools aqueux sont les solvants d'extraction les plus courants pour les saponines, Hostettmann et Marston (1995) ont signalé la solubilité de certaines saponines dans l'éther, le chloroforme, le benzène, l'acétate d'éthyle ou l'acide acétique glacial.

La solubilisation micellaire par les saponines peut être exploitée pour le développement de procédés d'extraction micellaire ou pour affecter la solubilisation d'ingrédients dans des formulations cosmétiques, pharmaceutiques ou alimentaires (Güçlü-Ustündağ et Mazza, 2007).

I.2.4 Activités biologiques des saponines

De nombreux articles ont été publiés sur les activités des saponines, parmi les plus impressionnantes ; antifongiques, antitumorales, antivirales, antiparasitaires, immunomodulatrices, synthèse d'hormones, agissant sur le système cardiovasculaire, agissant sur le système nerveux central et le système endocrinien. Les saponines sont également et largement utilisées dans l'industrie pharmaceutique comme adjuvants pour améliorer l'absorption d'autres médicaments en augmentant la solubilité, ou interférant dans les mécanismes d'absorption

(Güçlü-Ustündağ et Mazza, 2007 ; Barbosa, 2014). Ainsi, l'activité anti-inflammatoire et antiallergique sont connues depuis longtemps. De plus, la capacité des saponines à se complexer avec le cholestérol a donné lieu à un nombre important d'études afin d'évaluer l'utilisation des saponines dans l'alimentation pour réduire le taux de cholestérol sérique, il s'agit de l'activité anti-hypercholestérolémique (Barbosa, 2014).

En plus de ces activités, les saponines ayant une activité antidiabétique en réalisant différents mécanismes représentés dans la (figure 4) qui régulent la glycémie et prévenaient les complications de diabète dues à leur activité antioxydante. La dyslipidémie attribuée au saponines aidera à réduire le risque d'athérosclérose et les maladies cardiovasculaires chez les patients diabétiques (El Barky et al., 2017).

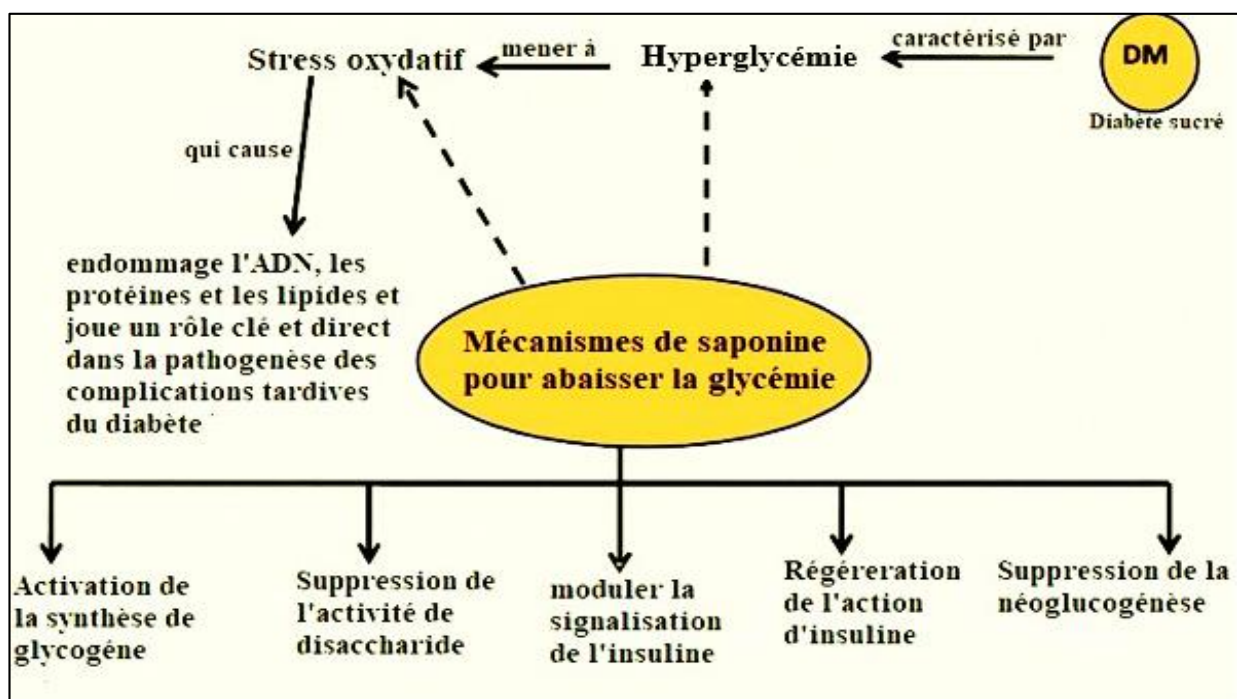


Figure 4: Mécanisme d'action des saponines dans le diabète (El Barky et al., 2017).

I.3 Les différentes propriétés biologiques de *Carthamus caeruleus* L.

I.3.1 Activité anti-inflammatoire

I.3.1.1 Inflammation

I.3.1.1.1 Définitions

L'inflammation est un processus de défense immunitaire de l'organisme en réponse à une agression d'origine exogène (brûlure, infection, allergie, traumatisme) ou endogène (cellules cancéreuses ou pathologies auto-immunes) (Nurtamin et al., 2018), dont la fonction principale est d'éliminer l'agent pathogène, et réparer les lésions tissulaires en favorisant le retour à l'homéostasie et la cicatrisation (Iwalewa et al., 2007 ; Barton, 2008) . Ceci nécessite une libération des médiateurs inflammatoires pour la mobilisation des cellules phagocytaires vers le

site de l'inflammation (Nurtamin *et al.*, 2018), les plus fortement impliqués sont les prostaglandines (PGs), les leucotriènes (LT5), l'histamine, la bradykinine, et plus récemment, le facteur d'activation des plaquettes (PAF) et l'interleukine-1 (Vane & Botting, 1987).

I.3.1.1.2 Les étapes

L'inflammation commence par une réaction de « reconnaissance » faisant intervenir certaines cellules de l'organisme ou des protéines circulantes (Protéines de la Réaction Inflammatoire (PRI), anticorps, protéines du complément...) (Betina-Bencharif, 2014). Elle se développe en différentes phases plus ou moins distinctes et d'importance variable ; congestive, exsudative, proliférative, nécrotique et réparatrice (Engler, 1995).

- **Phase I** : se traduit par les quatre signes cardinaux de l'inflammation aiguë. C'est une vasodilatation artériolaire entraînant un érythème, un dégagement de la chaleur locale, une hyperesthésie, ainsi la peau de la zone enflammée sera rouge. De même une stase du sang dans les vaisseaux capillaires, une augmentation de la perméabilité capillaire, et un afflux des leucocytes par diapédèse (Betina-Bencharif, 2014).
- **Phase II** : est caractérisée par la formation d'un œdème, un phénomène actif lié à l'augmentation de la pression hydrostatique et surtout à l'augmentation de la perméabilité de la paroi vasculaire. Ce liquide plasmatique plus ou moins riche en fibrogène, en albumine, et en globuline passe dans le compartiment interstitiel du derme et remplit les cavités séreuses (plèvre, péritoine synoviale) (Betina-Bencharif, 2014).
- **Phase III** : est caractérisée par la formation du granulome inflammatoire ou tissu de granulation. Sa composition varie en fonction du temps. Les leucocytes affluent, des macrophages et des fibroblastes apparaissent. Le tissu de granulation est un tissu conjonctif jeune, riche en fibroblastes et en capillaires, et pauvre en fibres conjonctives. Ce tissu nouvellement formé peut s'individualiser en granulome (Betina-Bencharif, 2014).
- **Phase IV** : C'est la détersion. Il s'agit de l'élimination des tissus nécrosés des agents pathogènes et du liquide d'exsudat (pinocytose). Elle succède progressivement à la phase vasculo-exsudative, et elle est contemporaine de la phase cellulaire. Si la détersion est incomplète, l'inflammation aiguë va évoluer en inflammation chronique (Betina-Bencharif, 2014). L'étape de réparation et cicatrisation aboutit à une cicatrice (si le tissu lésé ne peut régénérer ex neurone, cellules myocardiques), ou à une restitution intégrale du tissu lésé (agression limitée peu destructrice et brève dans un tissu capable de régénération épithéliale).

I.3.1.1.3 Types d'inflammation

L'inflammation aiguë représente la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours ou semaines), brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-

exsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (CoPath, 2012).

Par contre, l'inflammation chronique est une inflammation qui n'a aucune tendance à la guérison spontanée, et qui évolue en persistant ou en s'aggravant pendant plusieurs mois ou plusieurs années. L'inflammation chronique conduit souvent à une perte des tissus ou des fonctions des organes (Howcroft *et al.*, 2013 ; Park *et al.*, 2014).

I.3.1.1.4 Les anti-inflammatoires

Il existe plusieurs familles ou groupes de médicaments anti-inflammatoires (AI) permettant de lutter contre les maladies inflammatoires. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont les plus utilisés dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et antalgiques ; comme l'ibuprofène, le diclofénac ou l'aspirine. Alors que, les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou glucocorticoïdes sont des molécules synthétiques dérivées des hormones naturelles (cortisone et cortisol) ou héli-synthétisées ayant des propriétés anti-inflammatoires, et immunosuppressives comme la prednisone (Bouhenni et Benkabilia, 2019).

Actuellement, les plantes médicinales font l'objet d'études scientifiques vu leur richesse en composés phytochimiques ayant des propriétés thérapeutiques. Étant donné que les anti-inflammatoires conventionnels ont plus des effets secondaires, il est donc nécessaire de développer des anti-inflammatoires d'origine végétale (naturels) ayant moins ou pas d'effets secondaires, comme ceux de Carduncelle bleue.

I.3.1.2 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de *Carthamus caeruleus* L.

Plusieurs études ont rapporté un effet anti-inflammatoire de *Carthamus caeruleus* L. Pour l'évaluation de cette activité, il existe deux types de tests :

I.3.1.2.1 Test *in vivo*

a) Induction de l'inflammation par la carraghénine (œdème patte)

Cette méthode est la plus utilisée pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de *Carthamus caeruleus* L., et qui a pour but de comparer la réduction de l'œdème plantaire induit après l'administration de l'extrait de racine de la plante testé et le produit de référence (Toubane *et al.*, 2017).

- Les groupes de souris de contrôle ont reçu par voie orale la solution préparée de l'extrait (figure 5.a) une heure avant le traitement au carraghénane (carraghénine), alors que le groupe standard ou groupe référence a reçu la solution anti-inflammatoire de référence tel que le Diclofénac sodique (25 mg/ml).

- L'injection sous-cutanée de la suspension de carraghénine fraîchement préparée dans la région de l'aponévrose plantaire de la patte arrière droite de chaque souris (**figure 5.b**) (sans témoin négatif) pour l'induction de l'œdème.

b) Mesure de l'œdème

Le diamètre de la patte est mesuré, à l'aide d'un micromètre ou vernier digital (**figure 5.c**) avant et après induction de l'œdème, à des intervalles d'une heure pendant 4 heures. L'évolution de l'œdème (G_{per}) de la patte est déterminée chaque heure et calculée par :

$$G_{per} (\%) = [(P_s - P_{sc}) / P_s] \times 100 \quad (\text{Toubane et al., 2017})$$

Avec : P_s représente la taille des pattes de model / P_{sc} : la taille des pattes du contrôle

L'activité anti-inflammatoire des extraits de *C. caeruleus* est exprimée en :

$$\text{Activité anti-inflammatoire (\%)} = (1 - D/C) \times 100 \quad (\text{Dahmani et al., 2018})$$

Avec : D : représente la différence en pourcentage de volume de la patte après l'administration de médicaments aux souris et C : la différence de volume en pourcentage des groupes de contrôle.

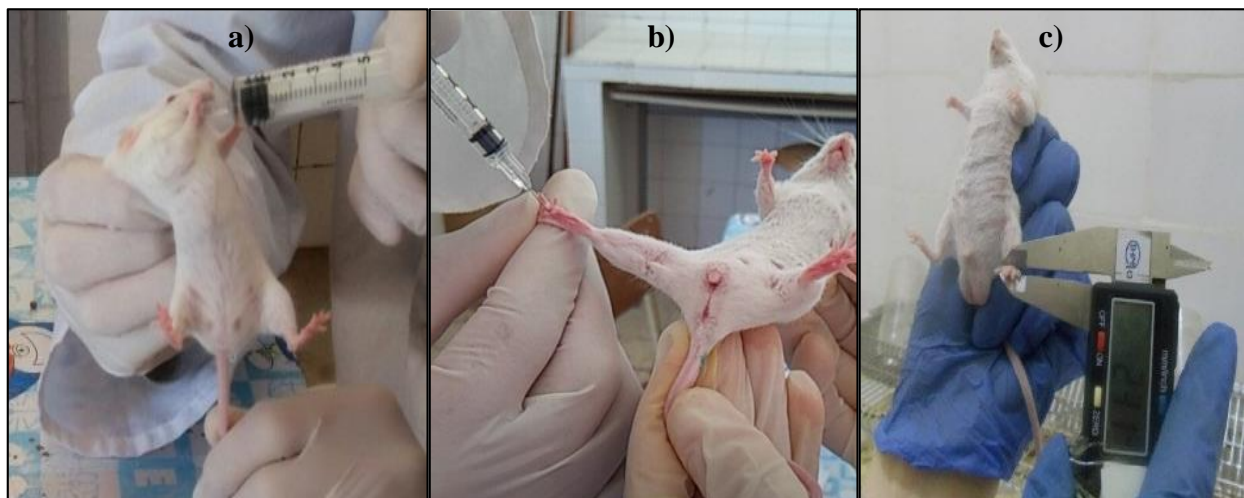


Figure 5: Photographie de test *in vivo* de l'activité anti-inflammatoire : a) Administration orale d'extrait, b) Injection sub-plantaire de la Carraghénine, c) Mesure du diamètre de la patte après gonflement (**Bouhenni et Benkabilia, 2019**).

c) Effet anti-inflammatoire des extraits

L'injection de carraghénine provoque un gonflement de la patte arrière environ 1 heure après l'injection (**Toubane et al., 2017**). Le pourcentage d'augmentation de volume des pattes a été significativement réduit chez les souris traitées après 4 heures de prétraitement avec les extraits de racine de Carduncelle bleue par rapport aux témoins négatifs (**Dahmani et al., 2018**). Une inhibition significative de l'œdème des pattes par ces extraits, qui est similaire ou plus importante que celle du standard (**Toubane et al., 2017**).

La pathogénèse de l'inflammation est soulignée par des médiateurs ou multiprocessus. L'inhibition de l'un de ces médiateurs ou de leur libération peut faire baisser le processus

inflammatoire. Selon **Dahmani et al. (2018)**, plusieurs composés des extraits méthanoliques de *C. caeruleus* ont été trouvés ciblant les prostaglandines, qui sont impliquées dans la phase tardive de l'inflammation aiguë et la perception de la douleur. Ainsi, l'activité anti-inflammatoire des extraits est probablement due à l'inhibition de la libération de ces médiateurs (**Toubane et al., 2017**).

I.3.1.2.2 Test *in vitro*

a) Activité d'anti-dénaturation

Ce test est effectué par plusieurs méthodes. La procédure générale comporte premièrement sur la préparation des extraits de la plante, ainsi que des standards tel que le Diclofénac sodique, ensuite la détermination de la différence entre leurs effets sur la BSA (Bovine Serum Albumin) (**Karthik et al., 2013**).

Le principe est basé sur l'inhibition de la dénaturation du BSA provoquée par la chaleur (72 °C) par l'extrait. Le pourcentage de l'inhibition des précipitations est déterminé après une lecture d'absorbance en utilisant un spectrophotomètre UV-visible à une longueur d'onde bien déterminée (**Karthik et al., 2013**), et calculé par la formule suivante :

$$(\%) \text{ inhibition de dénaturation} = \frac{\text{absorbance de contrôle} - \text{absorbance d'extrait}}{\text{absorbance de contrôle}} \times 100$$

Puisque la dénaturation est une cause d'inflammation bien documentée et après l'obtention des résultats, un pourcentage maximum d'inhibition de la dénaturation des protéines d'albumine (induites par la chaleur) par les extraits que par le standard doit être observé (**Karthik et al., 2013**). Plusieurs médicaments anti-inflammatoires ont montré une capacité dépendante de la dose à inhiber la dénaturation des protéines induite thermiquement (**Grant et al., 1970**), donc, le mécanisme de l'activité anti-inflammatoire des extraits de la plante *C. caeruleus* dépend de la capacité à inhiber la dénaturation des protéines (**Karthik et al., 2013**).

b) Stabilisation de la membrane des globules rouges humains (HRBC)

Ce test est généralement utilisé pour le dépistage *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire des médicaments. Dans ce test, l'hémolyse des érythrocytes induite par la chaleur est largement utilisée comme un outil rapide, simple, économique et sensible pour déterminer la propriété anti-inflammatoire des médicaments ou des extraits de plantes (**Kardile et al., 2016**).

Le principe est basé sur la stabilisation de la membrane des érythrocytes humains par les extraits de plante contre sa dégradation induite par la chaleur.

La membrane érythrocytaire ressemble à la membrane lysosomale, et donc l'effet stabilisateur des anti-inflammatoires sur la membrane des érythrocytes de mammifères et l'inhibition de l'hémolyse peut être corrélée avec son effet stabilisateur sur la membrane lysosomale. Cet effet stabilisateur des médicaments anti-inflammatoires ou des extraits de

plantes sur la membrane érythrocytaire peut être dû à un effet stabilisateur sur certaines protéines de la membrane. Les lysosomes contiennent plusieurs enzymes pouvant être impliquées dans le processus inflammatoire, en se libérant dans le cytosol et endommageant les tissus environnants, déclenchant l'inflammation. Ainsi, l'activité anti-inflammatoire nécessite une stabilisation de la membrane lysosomale et l'inhibition du processus inflammatoire en limitant la libération des enzymes lysosomales (**Kardile et al., 2016**).

I.3.2 Activité cicatrisante

L'un des traumatismes cutanés les plus répandus représentant un véritable problème de la santé publique est les brûlures. La brûlure est une agression de la peau résultant d'une violence ou d'un traumatisme, et pouvant évoluer d'une lésion à une destruction du revêtement cutané ou des tissus sous-jacents (**Mélistopoulos et Levacher, 2012**).

Le soin des plaies est un art aussi ancien que celui de la médecine, mais depuis l'Antiquité, les blessures en particulier les brûlures, peuvent être traitées à l'aide des plantes médicinales (**Benhamou et Fazouane, 2013**). Des études récentes ont montré que les composés secondaires dérivés de ces plantes peuvent servir de nouveaux composés principaux pour améliorer la cicatrisation des blessures. Parmi les herbes ayant un effet sur le processus de guérison, les racines de *Lannea kerstingii* et l'*Aloe vera*, et de *Carthamus caeruleus* L. (**Dahmani et al., 2018**).

I.3.2.1 La peau

La peau, appelée aussi tégument (du latin *tegumentum*, couverture) est l'organe de revêtement le plus lourd et étendu de l'organisme, représentant 7-8% de la masse corporelle avec une épaisseur varie de 1 à 5 mm selon les endroits du corps. De plus, la peau est en effet le siège de nombreuses fonctions : sensorielles tel que la synthèse de vitamine D, métaboliques, d'échanges, de thermorégulation et d'auto-réparation ou cicatrisation (**Mélistopoulos et Levacher, 2012**).

La structure cutanée est une structure hétérogène, composée de trois tissus superposés (**figure 6**), de la superficie vers la profondeur : l'épiderme, le derme, et l'hypoderme, et renferme également des annexes cutanées représentées par les glandes (sébacées et sudoripares) et les phanères (poils et ongles).

- **Epiderme** : est la couche la plus superficielle de la peau, et qui est constituée d'un épithélium pavimenteux, stratifié, kératinisé, et mesure en moyenne 0,1 mm d'épaisseur. Elle est constituée de quatre populations cellulaires différentes : les kératinocytes, les mélanocytes, les cellules de Langerhans et les cellules de Merkel (**Schweizer et al., 2006**).

- **Derme** : est un tissu conjonctif dense qui constitue le support solide de la peau, richement vascularisé et innervé. Il a pour origine le mésoblaste intra-embryonnaire. Son épaisseur moyenne est de 1 à 2 mm (**Méllissopoulos et Levacher, 2012**).
- **Hypoderme** : est la couche la plus profonde de la peau, constituée d'une couche de graisse de réserve (tissu graisseux sous-cutané) rattachée à la partie inférieure du derme par des expansions de fibres de collagène et de fibres élastiques (**Méllissopoulos et Levacher, 2012**). Ces cellules graisseuses sont groupées en un gros amas en forme de coussins (**Banchereau et al., 2000**).

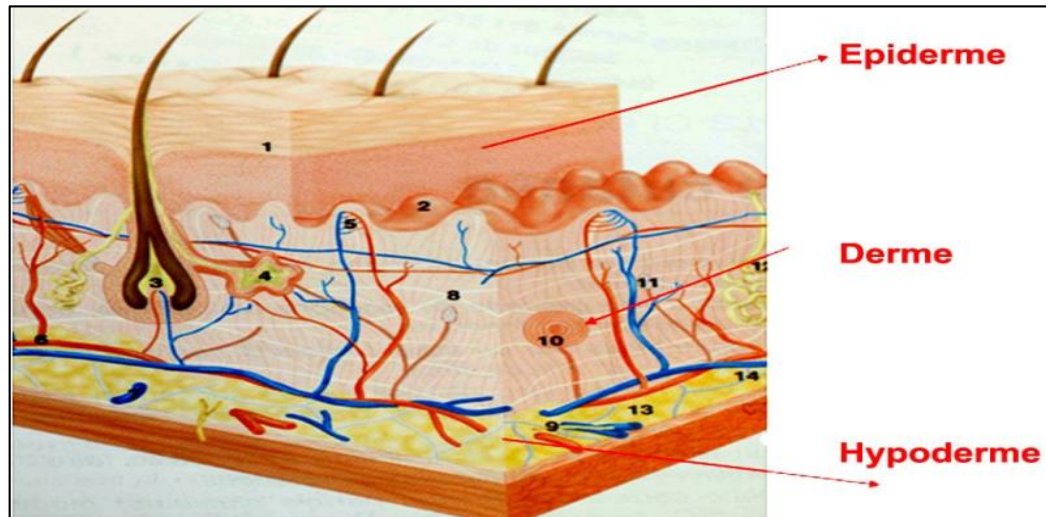


Figure 6: Composition de la peau (**Duteille, 2009**).

I.3.2.2 La cicatrisation

I.3.2.2.1 Généralités

La cicatrisation, un phénomène physiologique naturel permettant la restauration de l'intégrité de la peau après une lésion, suit plusieurs étapes dépendantes les unes des autres (**Bagheri, 2018**). Il s'agit d'un processus dynamique et fortement régulé qui commence immédiatement après la lésion initiale, et durera jusqu'à la fermeture complète de la plaie et la régénération ultérieure du tissu en le rendant fonctionnel (**Turksen, 2018**). Le temps de cicatrisation dépend des facteurs intrinsèques (profondeur de la plaie) et extrinsèques comme l'âge, l'état nutritionnel, infection, l'alitement et les comorbidités.

La cicatrisation est réglée et synchronisée par de nombreux types de cellules, facteurs de croissance (PDGF, FGF, TNF, IGF, et le TGF α et β), composants de la matrice extracellulaire (MEC) et cytokines (**Gambichler et al., 2005**) pour compléter la réparation normale des tissus après une lésion. Ces dernières sont sécrétées par les thrombocytes, les macrophages, les neutrophiles, les lymphocytes, cellules endothéliales et les fibroblastes (**Turksen, 2018**).

I.3.2.2.2 Processus de cicatrisation

Le processus de cicatrisation s'effectue en 4 phases (étapes) principales : l'hémostase, l'inflammation, la prolifération cellulaire et le remodelage (**figure 7**).

a) Phase vasculaire (Hémostase)

Cette étape comprend la vasoconstriction, l'agrégation des plaquettes et l'activation de la coagulation, ainsi des compléments en cascade. Lorsqu'une lésion vasculaire se produit, les cellules endothéliales commencent à fabriquer le facteur von Willebrand (vWF) qui aide les plaquettes de se lier au collagène, ainsi l'activation par la thrombine, le thromboxane ou l'adénosine diphosphate (ADP), et le changement de leur morphologie (dégranulation). Parallèlement, la vasoconstriction commence afin de limiter la perte de sang en formant un bouchon plaquettaire dans le vaisseau par les voies de coagulation (intrinsèque et extrinsèque) qui convertissent la prothrombine en thrombine, entraînant la conversion du fibrinogène en fibrine et la formation d'un caillot fibrino-plaquettaire (**Turksen, 2018**).

b) Inflammation

Ce stade est divisé en deux étapes différentes afin de prévenir l'infection et assurer la détersion. Le stade précoce de l'inflammation est caractérisé par la chimiotaxie des cellules immunitaires. Au cours des premières 24 heures, les neutrophiles se déplacent à travers le caillot de fibrine pour distraire les matières étrangères, les bactéries et les cellules hôtes non fonctionnelles. Ensuite, elles seront éliminées de la zone de la plaie soit par apoptose, ou par phagocytose. Au stade inflammatoire tardif, 48-72 heures après la blessure, plusieurs molécules chimioattractives recrutent des monocytes sur la plaie. Elles sortent du réseau vasculaire et se transforment en macrophages dont la fonction essentielle est d'assurer le nettoyage de la plaie par la phagocytose des cellules apoptotiques, y compris les neutrophiles, les débris tissulaires et les organismes microbiens. Les lymphocytes sont les dernières cellules qui pénètrent le site de la plaie après 72 heures de blessure sous l'influence de l'interleukine-1 (IL-1). Les lymphocytes T jouent un rôle dans la régulation de l'environnement de la plaie (**Turksen, 2018**).

c) Prolifération

Cette étape dure de 2 à 10 jours après la blessure, et fait intervenir les cellules endothéliales et les fibroblastes qui maintiennent les composants de la matrice extracellulaire. Le tissu de granulation « tissu de bourgeon charnu » remplit la zone de la plaie, et les fibres de collagène commencent à se former. L'angiogenèse est induite par l'activité des macrophages et l'hypoxie tissulaire, et atteint son niveau le plus élevé au cinquième jour de la cicatrisation. Dans la dernière partie de cette étape, les facteurs de croissance TGF- β et PDGF vont servir de médiateurs pour la différenciation des fibroblastes en myofibroblastes contractiles pour la contraction des plaies (**Turksen, 2018**). Ces dernières produisent du collagène et des composants

de la MEC formant un pont entre les bords de la plaie permettant la migration des cellules épithéliales après la blessure vers le lieu de la déterision (**Verola, 2006**).

d) Remodelage

La dernière étape de la cicatrisation est le remodelage, qui commence 2 à 3 semaines après la blessure et dure un an ou plus, entraînant le développement d'un épithélium normal, et la maturation du tissu cicatriciel. Ce stade peut être défini comme une diminution de la prolifération et de l'inflammation, une réorganisation de la MEC et une régression des capillaires nouvellement formés. Le remodelage comprend un équilibre entre la synthèse et la dégradation de collagène et d'autres protéines accumulées dans la plaie, dont les métalloprotéases (MMP) et leurs inhibiteurs (TIMP) qui jouent un rôle important. La fibronectine disparaît et l'acide hyaluronique et les glycosaminoglycanes sont remplacés par des protéoglycanes pour obtenir une structure similaire à celle des tissus normaux, et une augmentation progressive de la résistance à la traction de la plaie (**Turksen, 2018**).

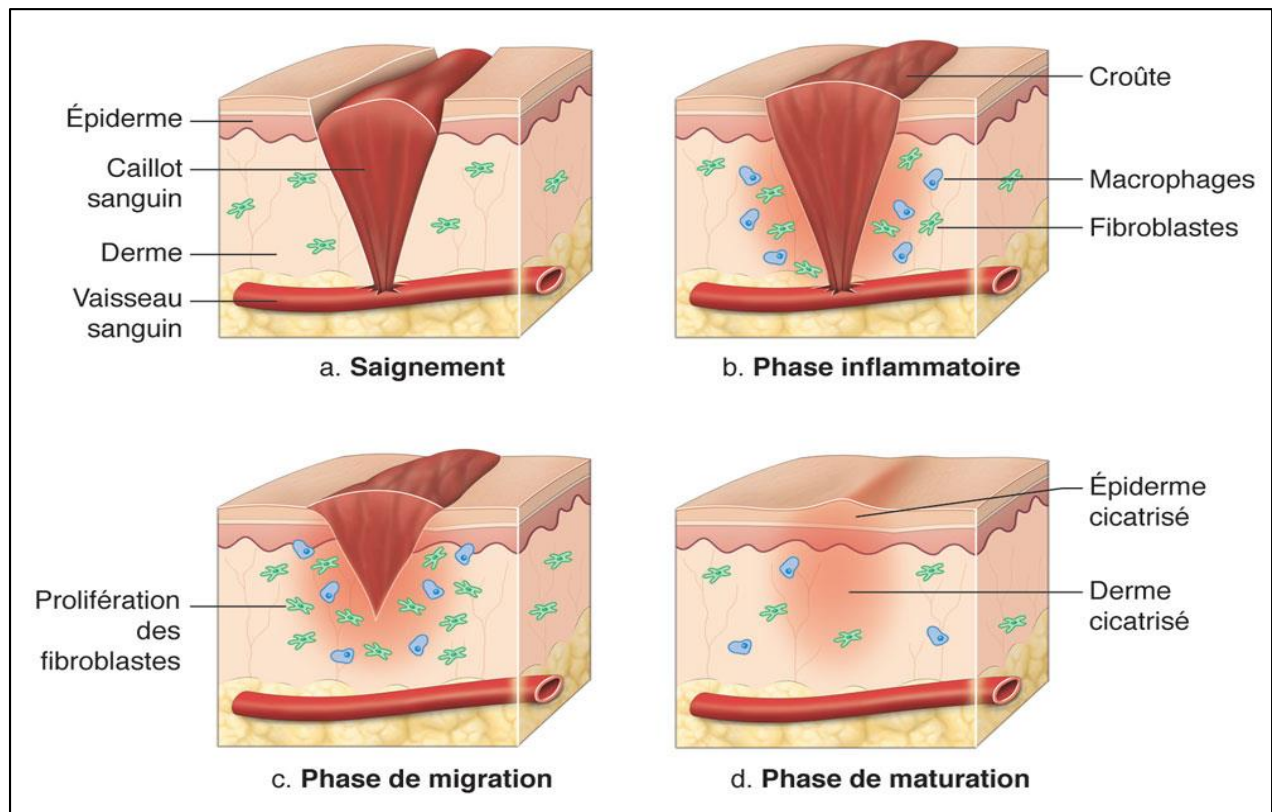


Figure 7: Phases de cicatrisation (**Martinet, 2018**).

I.3.2.3 Evaluation de l'activité cicatrisante de *Carthamus caeruleus* L.

a. Préparation des crèmes

Une crème traditionnelle est préparée à partir des rhizomes frais de *Carthamus caeruleus* L. qui sont nettoyés, pelés et coupés en petits morceaux et bouillis dans l'eau pendant 12 heures. Ensuite, les refroidir et filtrer pour obtenir une crème prête à l'emploi (**Benhamou et Fazouane,**

2013). Une autre crème à préparer est à la base des extraits issus de rhizomes de la plante mélangés avec de la vaseline (Gaci et Lahiani, 2017). Ces préparations sont conservées dans des boîtes en plastique hermétiquement fermées afin d'éviter toute contamination, et assurer l'intégrité thérapeutique.

b. Evaluation de l'activité curative

➤ Principe

Le principe est basé sur la contraction des plaies et des brûlures, ainsi que la pousse des cheveux après traitement par la crème à base des rhizomes de Carduncelle bleue. La procédure générale comporte sur l'induction de la plaie et de la brûlure (2ème degré) dans la région d'intérêt « région dorsolombaire » des souris, et sur laquelle les pommades de *Carthamus caeruleus* L. et de référence sont appliquées par voie topique (Bensegueni *et al.*, 2007 ; Dahmani *et al.*, 2018).

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

- Suivi de l'évolution pondérale des animaux mis en expérimentation.
- Evaluation de la cicatrisation des plaies incisionnelles par le calcul de la surface de la plaie, et les pourcentages de réduction de la surface des plaies traitées avec le produit de référence et celles traitées avec la crème traditionnelle et la crème d'essai (Benhamou et Fazouane, 2013).

$$\text{Pourcentage de contraction de la plaie} = (\text{zone cicatrisée}/\text{surface totale}) \times 100$$

➤ Effet cicatrisant

Selon Dahmani *et al.* (2018), les pourcentages de contraction de la plaie des différents lots indiquent une élévation chaque jour. La cicatrisation la plus rapide et la plus complète de la contraction de la plaie a été observée chez les animaux traités avec la pommade de Carduncelle bleue, par rapport au produit de référence (Madécassol) et au contrôle négatif. Par ailleurs, Benhamou et Fazouane (2013) ont indiqué qu'une préparation traditionnelle des rhizomes de *Carthamus caeruleus* L. avec du lait a un effet de guérison des plaies et des brûlures plus puissant que la pommade pharmaceutique « Madécassol » pour les plaies et « Biafine » pour les brûlures.

D'après leurs résultats, l'effet cicatrisant de la crème traditionnelle, et de leurs extraits de *Carthamus caeruleus* L. s'avère plus efficace que celui du produit de référence (Madécassol). Ce dernier est à base de saponosides (madécassoside) extraits d'une plante médicinale appelée *Centella asiatica*. La majorité des études pharmacologiques ont montré que le madécassoside stimule et régule la production de collagène indispensable à la cicatrisation des plaies

(Brinkhaus *et al.*, 2000). Cela permet de supposer que les saponosides existants dans *Carthamus caeruleus* L. augmentent peut-être l'action des cellules responsables de la synthèse du collagène et la répartition de la destruction tissulaire, et stimulent le système pileux, dont le mécanisme d'action responsable n'est pas établi et reste un support prometteur à confirmer par les futurs travaux.

I.3.3 Activité antioxydante

I.3.3.1 Radicaux libres d'oxygène et stress oxydatif

L'oxygène (O₂) est un composé indispensable aux processus vitaux, à la respiration cellulaire et à la vie en général, mais qui peut présenter, dans certaines circonstances, une forte toxicité. Il peut, en effet, lors des réactions radicalaires entraîner des dommages cellulaires importants par la formation des radicaux libres très réactifs : superoxyde, perhydroxyle, hydroxyle, peroxyde et peroxyde d'hydrogène qui sont regroupés sous le terme d'Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) ou Reactive Oxygen Species (ROS) en anglais (Rochette, 2008).

Les radicaux libres sont des éléments chimiques, capables d'avoir une existence indépendante (libre), en contenant un ou plusieurs électrons non appariés sur un orbitale (Goudable et Favier, 1997). Dans les circonstances quotidiennes normales, de faibles niveaux d'ERO sont indispensables en tant que médiateurs dans de nombreux processus cellulaires, notamment la différenciation, la progression du cycle cellulaire ou l'arrêt de la croissance, l'apoptose et l'immunité (Hristozov *et al.*, 2001). Mais dans certaines situations, et en raison d'une surproduction radicalaire (tabac, alcool, pollution et certaines pathologies comme le diabète, le cancer, le SIDA, l'inflammation et les pathologies cardiovasculaires) ou d'une diminution des capacités antioxydantes, un état redox de la cellule appelé « stress oxydant » apparaît (figure 8). Ce dernier est défini par l'incapacité de l'organisme à se défendre contre les espèces réactives de l'oxygène suite un déséquilibre entre la production de ces espèces, et les capacités de défense antioxydantes (Benhaoua, 2016).

Le stress oxydant peut entraîner des dysfonctionnements métaboliques graves, et des lésions des macromolécules biologiques et favoriser la survenue de pathologies (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies dégénératives), ainsi qu'un vieillissement prématuré (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

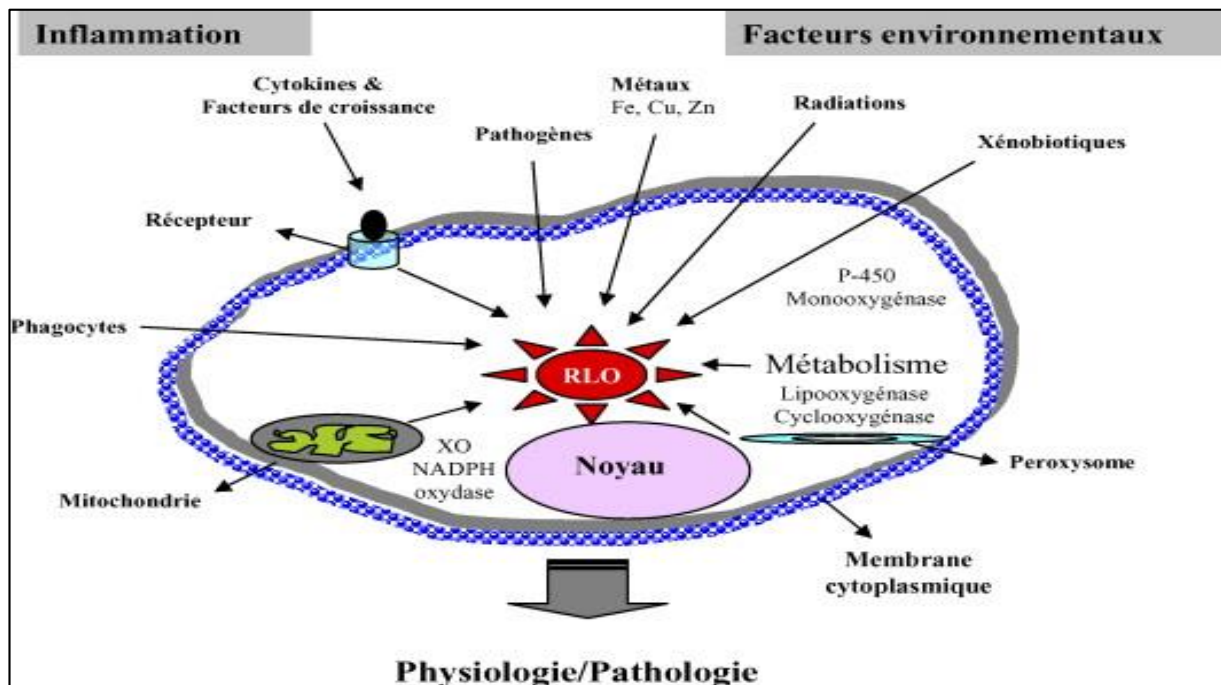


Figure 8: Origine extra et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène (Afonso *et al.*, 2007).

I.3.3.2 Les antioxydants

Un antioxydant est défini comme étant une espèce chimique qui présente, à des faibles concentrations par rapport à un substrat oxydant, la capacité à ralentir ou inhiber l'oxydation de ce dernier (lipides ou autres molécules), et le transformer en un composé plus stable (Rached, 2009). Il peut agir en supprimant les ERO, ou en empêchant leur formation, ou encore en réparant les dommages causés par ceux-ci (Dahmani, 2019).

Un bon antioxydant se devra de respecter quelques critères (Martin *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.

Les antioxydants peuvent être réparties en deux groupes selon leur mode d'action ; les antioxydants enzymatiques qui sont synthétisés dans l'organisme, et les antioxydants non enzymatiques qui sont des piègeurs de radicaux libres dont la plupart sont apportés par l'alimentation, et qui sont essentiellement dérivés du règne végétal (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

I.3.3.3 Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage de différents radicaux, comme les peroxydes ROO• par les méthodes ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter), les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter), ou les radicaux ABTS• (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique), ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH• (diphényl-picrylhydrazyle) (Popovici *et al.*, 2010).

I.3.3.3.1 Méthode de DPPH

Le composé chimique 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (a, a-diphényl-bpicrylhydrazyle, DPPH) fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques (Popovici *et al.*, 2010). C'est un radical libre stable qui en raison de la délocalisation d'électron, présente une couleur violette foncée, et qui donne une absorption maximale à une longueur d'onde de 517 nm (Dahmani, 2019).

Le test est basé sur la mesure de la capacité de réduction des antioxydants envers DPPH• par spectrophotométrie UV-visible (Prior *et al.*, 2005). En effet, en présence de molécules dites antioxydantes, le DPPH• est transformé en sa forme réduite (diphényle picryl-hydrazine : de couleur jaune), ce qui conduit à une diminution de l'absorbance. La décoloration du DPPH• est directement proportionnelle à la capacité des molécules bioactives à le réduire (Saffidine, 2015).

Plusieurs facteurs influent sur le potentiel antioxydant et la cinétique de réduction, notamment les conditions de la réaction ; temps, rapport Antioxydant/DPPH•, type de solvants et pH (Popovici *et al.*, 2010).

Ce test est simple, rapide et n'a besoin que d'un spectrophotomètre UV-Visible pour s'effectuer. Mais aussi, qu'il n'est pas un test quantitatif ; il permet de comparer différents extraits entre eux selon leur capacité à piéger le DPPH• (Popovici *et al.*, 2010).

I.3.3.3.2 Méthode de FRAP

Cette méthode est basée sur la réaction chimique de réduction du Fe³⁺ présent dans le complexe K₃Fe(CN)₆ en Fe²⁺ (fer ferreux) en raison de la présence des réducteurs dans les extraits de plante (Dahmani, 2019). Ceci se traduit par le virage de la couleur jaune du ferricyanure de potassium vers la couleur bleue verte dont l'intensité est en fonction du pouvoir réducteur. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Benhaoua, 2016).

Le test FRAP est un essai simple, rapide et reproductible, peu coûteux, robuste et ne nécessite aucun équipement spécialisé. Cependant, les résultats peuvent varier énormément en

fonction de l'échelle de temps de l'analyse. Ainsi, FRAP ne mesure en fait que la capacité de réduction basée sur l'ion ferrique, qui n'est pas pertinente à l'activité antioxydante mécaniquement et physiologiquement (**Prior et al., 2005**).

I.3.3.4 Effet antioxydant de *Carthamus caeruleus* L.

Dans l'étude de **Baghiani et al. (2010)** portée sur les polyphénols et les flavonoïdes extraits de racines de Carduncelle bleue, ils ont trouvé que l'extrait de ces derniers est un inhibiteur efficace de la xanthine oxydase, et possède des propriétés de piégeage de radicaux libres en raison de sa teneur élevée en acides phénoliques et en flavonoïdes.

Une autre étude de **Saffidine (2015)** sur les activités antioxydantes des extraits organiques et aqueux issus de *Carthamus caeruleus* L., dans laquelle, il s'est avéré que les fractions utilisées ont la capacité de piéger le radical DPPH• avec une IC₅₀ de $6,18 \pm 0,05$ et $9,6 \pm 0,26$ µg/ml pour les fractions AcF « acétate d'éthyle feuille » et AqF « extrait aqueuse feuille », une activité supérieure à celle du standard de référence Hydroxytoluène butylé (BHT).

I.3.4 Activité antimicrobienne

Les plantes médicinales (comme *Carthamus caeruleus* L.) constituent une source de substances bioactives pour traiter aussi bien les maladies infectieuses dans de nombreux pays du monde. En effet, grâce à leur capacité intrinsèque à résister aux microorganismes pathogènes et la large gamme d'agents antimicrobiens naturels qu'elles possèdent, les chercheurs sont menés à étudier leurs mécanismes d'action, et d'isolement des composés actifs afin de les exploiter autant qu'une bonne alternative aux médicaments chimiques pour le traitement de diverses maladies infectieuses et pour faire face aux phénomènes de résistance aux germes (**Saffidine, 2013**).

Le mot antimicrobien est issu des termes grecs, anti, signifiant « contre » et bios, « vie ». C'est toute substance qui tue ou inhibe la croissance des microorganismes dont les bactéries, les champignons, les virus ou les parasites (**Chevalier et Dutil, 2012**).

I.3.4.1 Les antibiotiques

Le terme « antibiotique » peut être restreint à la désignation d'une substance destinée à agir sur les bactéries indésirables principalement chez les humains, et sert à inactiver ou tuer ces microorganismes. De nombreuses molécules antibiotiques ont été synthétisées ou modifiées en laboratoire quelle qu'en soit l'origine, dont deux caractéristiques importantes sont nécessaires : c'est d'être efficace à faible dose, et d'avoir une toxicité spécifiquement dirigée envers un groupe de microorganismes, donc, être non toxique pour les cellules de l'hôte (**Chevalier et Dutil, 2012**).

Le mode d'action des antibiotiques est connu car ils sont développés en fonction de leur cible, c'est à dire de l'effet destructeur désiré (Pibiri, 2005). On les classe d'ailleurs selon leur mécanisme de destruction de la cellule bactérienne :

- a) Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne.
- b) Antibiotiques inhibant la synthèse de la membrane cytoplasmique.
- c) Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique.
- d) Antibiotiques inhibiteurs du métabolisme des acides nucléiques et de la synthèse de L'ADN.
- e) Antibiotiques agissant par inhibition compétitive.

I.3.4.2 Antimicrobiens d'origine végétale

L'effet médicinal bénéfique des matières végétales résulte essentiellement des produits secondaires présents dans la plante, et n'est généralement pas attribué à un seul composé mais à une combinaison de métabolites (Cowan, 1999).

Les plantes ont une capacité illimitée à synthétiser des métabolites secondaires aromatiques, dont la plupart sont des phénols ou leurs dérivés oxygénés. Les sous-classes importantes de ce groupe de composés comprennent les phénols, les acides phénoliques, les quinones, les flavones, les flavonoïdes, flavonols, tanins et coumarines. Ces groupes de composés présentent un effet antimicrobien et servent de mécanisme de défense des plantes contre les microorganismes pathogènes (Das *et al.*, 2010).

- **Les flavones, les flavonoïdes et les flavonols** : ils sont avérés *in vitro* d'être des substances antimicrobiennes efficaces contre un large éventail de microorganismes, dont l'activité est probablement due à leur capacité à se complexer avec des protéines extracellulaires, et avec des parois cellulaires bactériennes (Cowan, 1999).
- **Les tanins** : leur mode d'action antimicrobien est peut-être lié à leur capacité à inactiver les adhésines microbiennes, les enzymes, les protéines de transport, et de l'enveloppe cellulaire. Par exemple, de faibles concentrations en tannin modifient la morphologie des tubes germinatifs de *Crinipellis pernicioso*. (Cowan, 1999).
- **Les huiles essentielles** : possèdent également de fortes propriétés antimicrobiennes. Il a été signalé tôt que 60% des dérivés d'huiles essentielles examinées à ce jour étaient inhibiteurs des champignons, tandis que 30% inhibent des bactéries. L'eugénol est un représentant bien caractérisé, trouvé dans l'huile de clou de girofle, qui est considéré comme bactériostatique contre les champignons et les bactéries (Cowan, 1999).

- **Les quinones** : ont la capacité de se complexer de manière irréversible avec les acides aminés nucléophiles dans les protéines, ce qui conduit souvent à l'inactivation de la protéine, et à une perte de fonction (Cowan, 1999).

I.3.4.3 Effet antimicrobien de *Carthamus caeruleus* L.

L'étude réalisée par Saffidine (2013) a été menée sur les racines et les feuilles de *Carthamus caeruleus* L., afin d'évaluer leurs activités antimicrobiennes. Les tests de sensibilité aux antimicrobiens ont été réalisés en utilisant des extraits à partir des deux parties de la plante, des souches bactériennes de référence (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*), et différentes souches d'origine clinique (comme *Klebsiella pneumonia* et *Candida albicans*, etc). L'activité antibactérienne est évaluée *in vitro* en utilisant la méthode de diffusion des disques et la méthode des microdilutions. L'activité antifongique *in vitro* a été testée contre des champignons pathogènes humains (*Candida albicans*) et champignons phytopathogènes.

Une autre étude menée par Arroudj et Zitoune (2017), portant sur l'évaluation des activités biologiques de *Carthamus caeruleus* L., a également évalué l'activité antimicrobienne de cette plante en utilisant les mêmes souches et la méthode de la précédente étude.

Les résultats de Saffidine (2013) ; Arroudj et Zitoune (2017) ont montré différentes zones d'inhibition (figure 9) avec différents diamètres selon la souche et l'extrait utilisé. Ceci a indiqué une puissante activité *in vitro* d'extrait de racines et de feuilles contre les souches de bactéries Gram négatives et Gram positives, ainsi que contre les champignons pathogènes. Il a été constaté aussi que les extraits de racines étaient plus actifs que les extraits de feuilles contre les microorganismes testés.

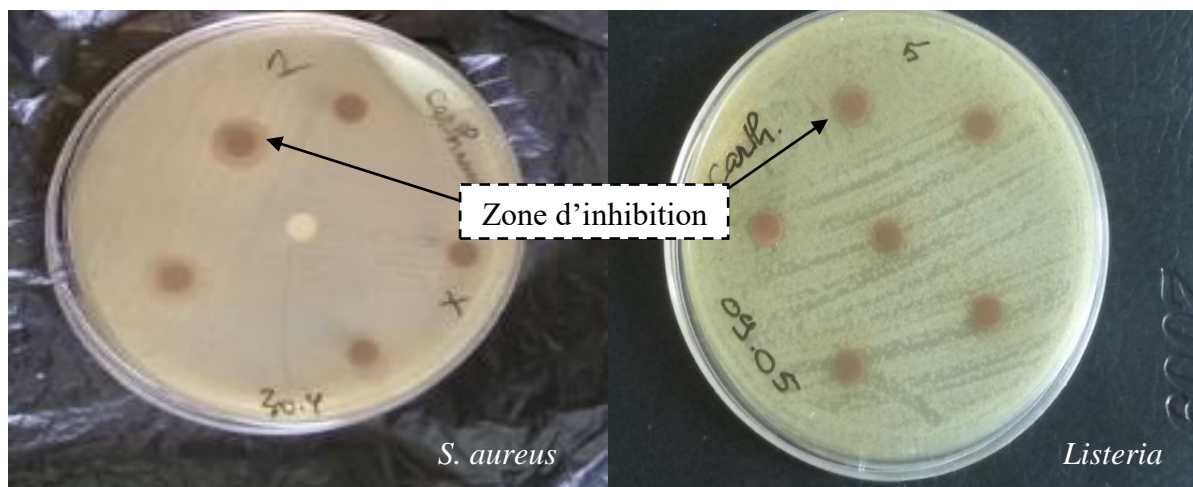


Figure 9: Zones d'inhibition données par l'extrait des rhizomes de *Carthamus caeruleus* L. contre *Staphylococcus aureus* et *Listeria innocua* (Arroudj et Zitoune, 2017).

D'après les résultats, on peut classer la sensibilité aux différents extraits selon le diamètre des zones d'inhibition représenté dans le tableau ci-dessous (tableau 3) :

Tableau 3 : Estimation de la sensibilité des souches aux extraits (Moreira *et al.*, 2005).

Diamètre (mm)	Activité antimicrobienne	Souche
< 7	Nulle	Résistante
[7 à 14]	Faible	Sensible
[15 à 19]	Moyenne	Très sensible

I.4 Extraction assistée par ultrasons

Les techniques d'extraction des métabolites secondaires, comme exemple les saponines, se divisent en deux : techniques classiques dont la macération, la digestion, l'infusion, la décoction, et la percolation, et techniques modernes ou innovantes, dont l'ultrasons, micro-ondes, ou hybride. Les différences entre ces techniques sont la conception des réacteurs, les solvants utilisés, la durée et la température des processus (Esclapez *et al.*, 2011).

I.4.1 Notions sur l'extraction assistée par ultrasons

L'extraction assistée par ultrasons (Ultrasound-assisted extraction (UAE) en anglais) est une nouvelle technologie propre et écologique qui a été largement utilisée comme méthode d'extraction efficace dans les industries alimentaires et pharmaceutiques (Esclapez *et al.*, 2011), afin de récupérer de diverses molécules et biomatériaux, notamment les polysaccharides, les huiles essentielles, les protéines, les produits chimiques fins et les molécules bioactives d'importance commerciale (Tiwari, 2015).

Les ondes sonores sont divisées en trois catégories :

- Les ondes audibles qui se situent dans la gamme de sensibilité de l'oreille de l'homme (10 Hz-20 kHz).
- Les ondes infrasoniques ayant des fréquences inférieures à la gamme audible (<16 Hz).
- Les ondes ultrasonores dont les fréquences sont supérieures à la gamme audible (>20 kHz) et moins que les fréquences micro-ondes (jusqu'à 10 MHz) (Tiwari, 2015).

Les ultrasons sont des ondes vibratoires acoustiques et sont à l'origine de sons inaudibles pour l'humain, car leurs fréquences sont en majorité supérieures au seuil d'audibilité de notre oreille (0,02 kHz à 20 kHz) (Gélébart, 2016). En fonction de la fréquence, le domaine d'application des ultrasons se diffère en catégories dont acoustique sous-marine, nettoyage, contrôle non destructif par ultrasons (CND), etc (figure 10).

Dans la catégorie des ultrasons de puissance (20 kHz), deux niveaux sont distingués : ceux de basses fréquences, allant de 16 à 100 kHz, et ceux de hautes fréquences, allant de 100 kHz à 1000 kHz. En milieu solide, les ultrasons de puissance vont produire des échauffements et une

vibration du milieu, alors qu'en milieu liquide, ils produiront essentiellement un phénomène de cavitation (Chemat, 2014).

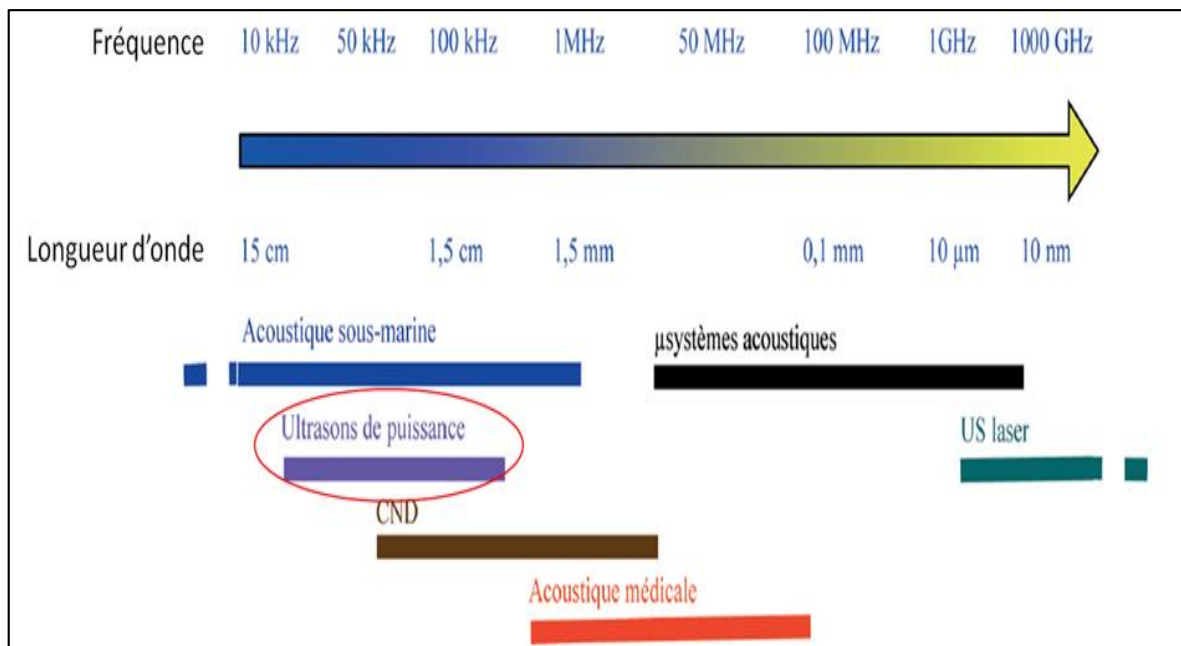


Figure 10: Exemple de domaine d'application des ultrasons en fonction de la fréquence et de la longueur d'onde (Gélébart, 2016).

Divers phénomènes physiques et chimiques sont responsables de l'effet ultrasonore, dont l'agitation, les vibrations, la pression, les ondes de choc, les forces de cisaillement, les microjets, la compression et la raréfaction, le flux acoustique, et la cavitation (Tiwari, 2015).

I.4.2 Principe de l'extraction assistée par ultrasons

Lorsque les ultrasons se propagent à travers un milieu donné, ils induisent une série de compressions et de raréfactions dans les molécules du milieu irradié par ces ultrasons. Ce phénomène est connu sous le nom de « cavitation acoustique ». La cavitation est définie comme une perturbation du milieu liquide sous l'effet de contraintes excessives (Tiwari, 2015).

Dans le domaine des ultrasons, la cavitation acoustique désigne généralement la formation, la croissance rapide (expansion) durant les cycles compression/raréfaction jusqu'à l'atteinte de leur taille critique (figure 11) et l'implosion se produisant lors de la propagation d'une onde ultrasonore dans un milieu liquide (Chemat *et al.*, 2017).

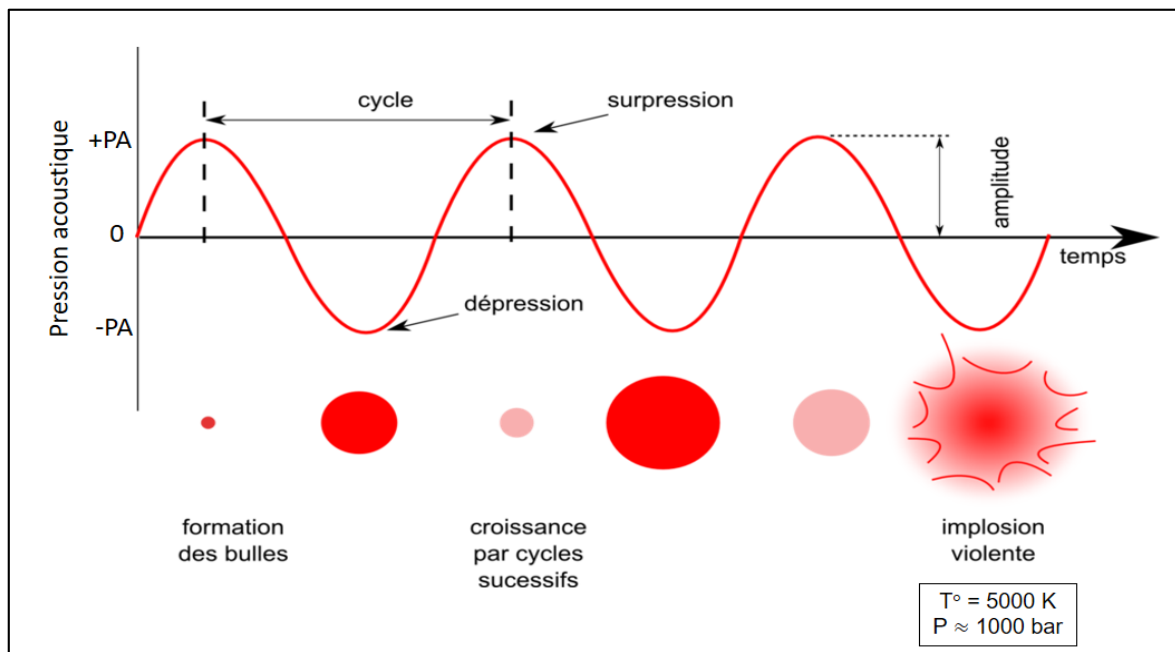


Figure 11: L'évolution d'une bulle de cavitation lors de l'extraction par solvant assistée par ultrasons (Gélébart, 2016).

I.4.3 Appareillage

Le dispositif est constitué d'un générateur électronique de puissance et de transducteurs piézoélectriques. Ces transducteurs sont reliés entre eux et sont à l'origine des ondes ultrasonores permettant de convertir l'énergie électrique en énergie mécanique. Cette vibration mécanique est alors transmise dans le milieu liquide sous forme d'onde ultrasonore (Lambert et Chambéry, 2015). Il existe deux différents systèmes d'extraction :

a) Système d'extraction par sonde (contact direct)

Il s'effectue par le biais d'un sonificateur à sonde ultrasonore se composant de quatre parties distinctes qui sont (a) le générateur, (b) le convertisseur ultrasonore, (c) la sonde d'amplification et (d) la sonde ultrasonore (Chemat *et al.*, 2017), et représentées dans la (figure 12.c).

b) Système d'extraction par bain ultrasonique

Ce type d'appareillage génère des fréquences comprises entre 20 et 60 kHz à de faibles intensités acoustiques, généralement comprises entre 1 et 5 W.cm⁻². Les transducteurs peuvent être placés de chaque côté du récipient d'extraction, de sorte que les ondes ultrasonores seront transmises à travers la paroi extérieure du récipient d'extraction. Le principal avantage de cette disposition est que les transducteurs ne sont pas en contact direct avec l'échantillon, mais que des pertes importantes d'énergie acoustique se produisent dans la cuve et aux alentours (figure 12.a, b) (Tiwari, 2015).

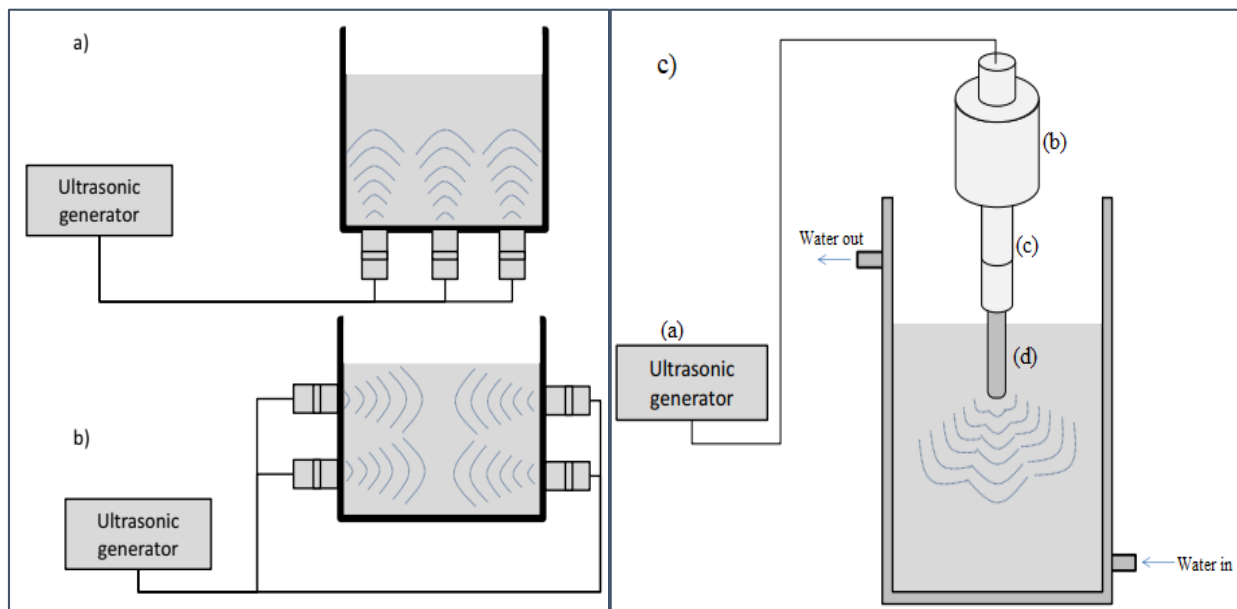


Figure 12: Systèmes d'extraction assistée par ultrasons : (a, b) Bains à ultrasons ; c) sonde ultrasonore (Tiwari, 2015).

I.4.4 Mécanisme d'extraction assistée par ultrasons

La technique d'extraction par ultrasons repose sur le phénomène de cavitation engendré par les pressions acoustiques. En effet, lorsque des ultrasons se propagent à travers un liquide, les oscillations des molécules provoquent la formation des zones de compression et de décompression créées par les ultrasons de puissance à basses fréquences (Tiwari, 2015). Ces variations de pression créent une pression acoustique. Une fois que la pression du milieu (pression acoustique et pression hydrostatique) descend en bas de la pression de vapeur du liquide, un jet de bulles se crée, dite bulles de cavitation. Pendant les phases de décompression, certaines sont relativement stables, mais d'autres se dilatent jusqu'à atteindre une taille instable et s'effondrent violemment à la surface de la membrane végétale générant des températures d'environ 5000 K et des pressions de l'ordre de 50 MPa lors des phases de compression, augmentant ainsi le transfert de matière mais aussi la cinétique de l'extraction (Chemat *et al.*, 2017).

En présence de matériel biologique, les bulles de cavitation qui implosent à proximité de cellules entraînent des microjets générant plusieurs effets (Chemat *et al.*, 2017), à savoir la rupture par cisaillement, la perturbation cellulaire et l'amincissement des membranes cellulaires. Cette sonolyse facilite l'extraction de molécules d'intérêts en entraînant une pénétration accrue du solvant dans les cellules et permettant de libérer le contenu intracellulaire (figure 13) (Gélébart, 2016). Les ondes ultrasonores facilitent également l'hydratation et le gonflement de la matrice grâce à un élargissement des pores qui augmente la diffusion du solvant dans la matrice et accroît le transfert de masse (Tiwari, 2015).

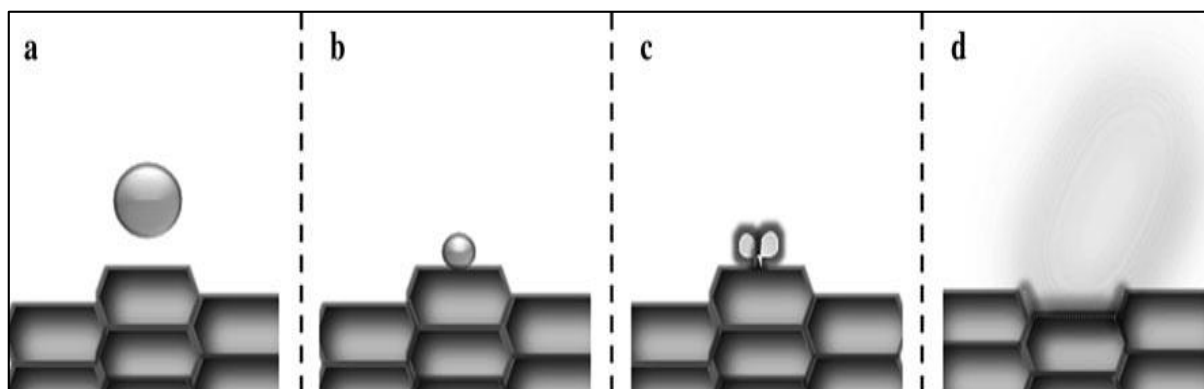


Figure 13: Représentation schématique de mécanisme d'extraction par solvant assistée par ultrasons (Esclapez *et al.*, 2011).

I.4.5 Paramètres influençant l'extraction assistée par ultrasons

Les effets sonochimiques des ultrasons dans un liquide sont attribués aux phénomènes de cavitation acoustique (Chemat *et al.*, 2017). La capacité des ultrasons à provoquer cette cavitation dépend de leurs caractéristiques, des propriétés du milieu et des conditions ambiantes (Tiwari, 2015). Ainsi, pour une meilleure application des ultrasons, il est nécessaire de prendre en compte l'influence de ces variables (tableau 4), les principales étant la puissance ultrasonique appliquée, la fréquence, la température, le temps d'extraction, et l'interaction solvant-échantillon (Chemat *et al.*, 2017).

I.4.6 Avantages et inconvénients

a) Avantages

- Diminuer les temps d'extraction et les quantités de solvants utilisés, tout en augmentant les rendements d'extraction et en gardant une température basse dans le milieu (Chemat, 2014).
- Les molécules thermolabiles sont ainsi préservées.
- Peut être utilisée avec des échantillons solides ou liquides, et pour extraire des composés organiques ou inorganiques.
- Faciliter l'extraction des composés à solubiliser via la lyse de la paroi cellulaire (Gélébart, 2016).

b) Inconvénients

- Problème de répétabilité et de reproductibilité lors de l'utilisation de sonde à ultrasons.
- Risque de générer les radicaux libres.
- Nécessite certaines compétences pour la mise en œuvre (Gélébart, 2016)

Tableau 4 : Facteurs influençant l'extraction assistée par ultrasons (Tiwari, 2015)

<i>Facteurs externes</i>	<i>Effets</i>
Amplitude, intensité ou puissance ultrasonore	<ul style="list-style-type: none"> - Une grande amplitude provoque l'érosion des sondes, améliore l'agitation, et réduit la formation de cavitation. - Une forte intensité peut favoriser la dégradation des composés extraits.
Fréquence	<ul style="list-style-type: none"> - Les fréquences utilisées limitent la formation de bulles de cavitation qui doivent être sélectionnées en fonction de l'intensité des ultrasons pour obtenir la cavitation souhaitée. - Des rendements d'extraction plus élevés sont signalés dans la gamme de basses fréquences (20-40 kHz).
Température d'extraction	<ul style="list-style-type: none"> - La température élevée favorise la perturbation de l'interaction entre le solvant et la matrice, ainsi qu'elle améliore les taux de diffusion des solvants. - La basse température favorise la cavitation.
Temps d'extraction	<ul style="list-style-type: none"> - Une longue durée d'extraction améliore les rendements d'extraction, et peut induire des modifications indésirables dans le composé extrait.
Propriétés du solvant	<ul style="list-style-type: none"> - Un solvant visqueux réduit la cavitation, ainsi que la pression de vapeur et la tension superficielle. - Le solvant volatil peut s'évaporer si l'extraction est effectuée à une température plus élevée pendant une longue durée. - Le composé cible doit forcément être soluble et polaire dans le solvant d'extraction.
Matrice	<ul style="list-style-type: none"> - Taille des particules. - Interaction solvant-matrice. - Rapport entre le solvant et la matrice.

CHAPITRE II : MATÉRIELS ET MÉTHODES

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1 Matériels

II.1.1 Matériel végétal

Les racines ou autrement dit « les rhizomes » de la Carduncelle bleue représentent la matière végétale. Ces rhizomes ont été fraîchement récoltés au mois de Février 2020 dans la région de *Aïn Bessem* (Wilaya de Bouira) (**figure 14**).

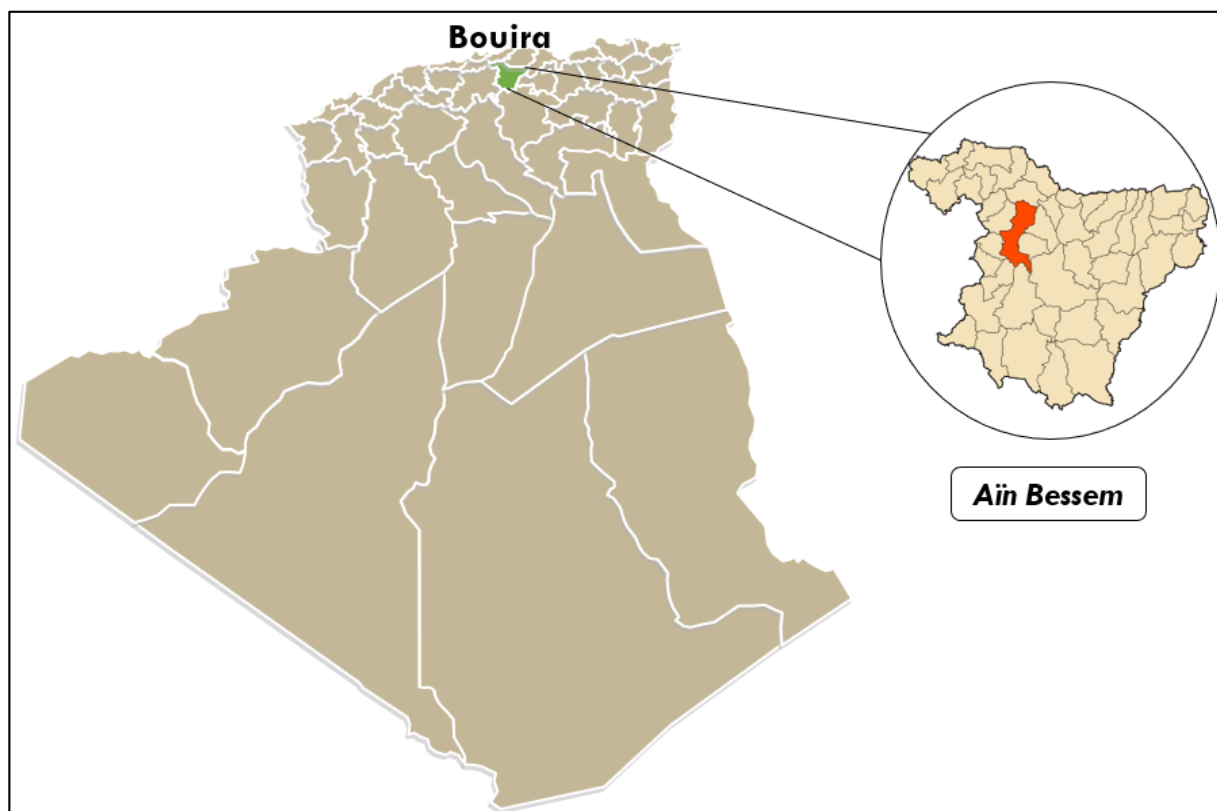


Figure 14: Lieu de récolte du matériel végétal de *Carthamus caeruleus* L.

II.1.2 Matériels et appareillages utilisés

Les matériels et les équipements utilisés dans cette étude sont regroupés et représentés dans le tableau 1 dans (**Annexe N°1**) et la figure 1 dans (**Annexe N°2**).

II.1.3 Réactifs et produits chimiques

Les réactifs et les produits chimiques utilisés dans cette étude sont de qualités analytiques et les suivants : méthanol absolu, chloroforme (CHCl_3), hexane, eau distillée, *n*-butanol saturé et insaturé ($\text{C}_4\text{H}_9\text{OH}$), chlorure de sodium (NaCl) et de potassium (KCl) fournis par Scharlau, phosphate de potassium monobasique (KH_2PO_4) et phosphate de sodium dibasique ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) fournis par Sigma, hydroxyde de sodium (NaOH) 0,1N.

II.2 Méthodes

II.2.1 Préparation de la poudre végétale

Les racines de la plante *Carthamus caeruleus* L. récoltées ont été nettoyées et lavées plusieurs fois par l'eau distillée pour les débarrasser de la poussière. Ensuite, coupées en rondelle de 1 à 2 mm de diamètre (**figure 15.A**), et séchées dans une étuve ventilée à 40 °C jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Après séchage, les racines ont été finement broyées par le biais d'un broyeur électrique de laboratoire afin d'obtenir une poudre fine. La poudre des rhizomes ainsi obtenue (**figure 15.B**) a été tamisée avec un tamis de 500 µm, puis conservée dans des flacons en verre hermétiquement fermés, à l'abri de l'humidité et de la lumière.



Figure 15: Photographie des rhizomes de *Carthamus caeruleus* L. : coupés en rondelle (A), en poudre (B).

II.2.2 Délipidation et dépigmentation

L'extraction des saponines de rhizomes de Carduncelle bleue a été précédée d'une étape de délipidation et dépigmentation afin d'éliminer les substances contaminants les saponines, en entraînant les graisses ainsi que les substances lipophiles et les pigments. Cela a été fait par une extraction au Soxhlet. En effet, 20 g de la poudre des rhizomes placés dans une cartouche de cellulose ont été délipidés par 200 ml d'hexane sous reflux à l'aide de l'appareil de Soxhlet pendant 3 heures. La poudre récupérée a été séchée à l'air libre afin d'obtenir la poudre d'intérêt ; poudre dégraissée et dépigmentée.

II.2.3 Préparation des extraits saponosidiques

Pour extraire les saponines de la poudre dégraissée du rhizome de *Carthamus caeruleus* L., nous avons opté un protocole subdivisé en 3 parties suivantes :

II.2.3.1 Extraction par solvant assistée par ultrasons

La teneur totale en saponines de la poudre dégraissée a été extraite par ultrasons dans les conditions optimales suivantes :

- ✓ Temps d'extraction (min) : 24 minutes.

- ✓ Température d'extraction (°C) : 50 °C.
- ✓ Rapport poudre/solvant (g/ml) : 1/24,5 g/ml.
- ✓ Concentration en méthanol (%) : 78 % de méthanol (v/v).

Une masse de 4 g de la poudre délipidée a été dissoute dans 98 ml de méthanol (78%). La solution obtenue a été par la suite placée dans un bain à ultrasons à une température de 50 °C pendant 24 minutes. Cette opération a été répétée 3 fois (3 essais) pour avoir 3 extraits méthanoliques. Les extraits obtenus ont été filtrés sur un papier filtre de Whatman n°4. Les filtrats obtenus ont été concentrés à l'étuve ventilée à 40 °C jusqu'à ce que le solvant méthanol soit évaporé dont le volume final de l'extrait aqueux est 22 ml (**figure 16.a**). Les extraits aqueux ont été centrifugés à 3000 tours/minute pendant 10 minutes pour éliminer les culots (**figure 16.b**) contenant les matières insolubles dans l'eau et récupérer les surnageants.

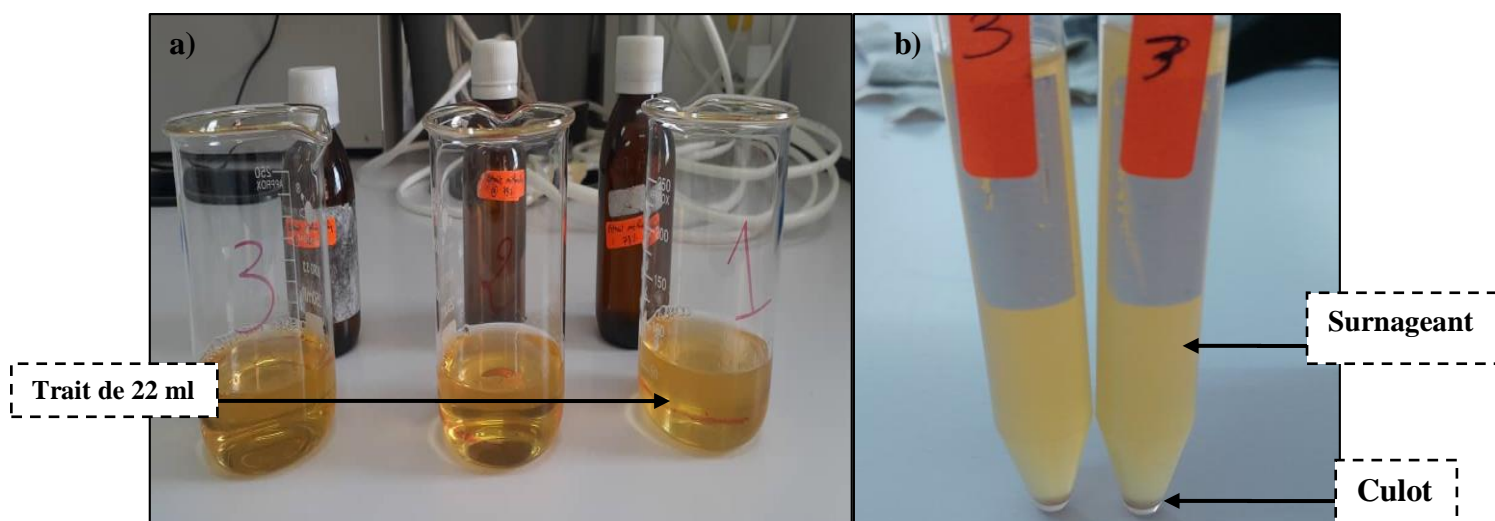


Figure 16: Photographie des extraits méthanoliques obtenus après extraction par solvant assistée par ultrasons : a) avant la concentration ; b) l'extrait méthanolique 3 après centrifugation.

II.2.3.2 Extraction liquide-liquide

Cette étape est considérée comme une étape de purification et d'isolement des saponines. L'extraction liquide-liquide a été réalisée pour les trois surnageants récupérés (extraits aqueux) en utilisant deux solvants d'extraction, il s'agit de chloroforme et *n*-butanol saturé. Le volume de solvant à ajouter pour l'extraction était équivalent à celui des surnageants (22 ml pour l'extrait 01, 20 ml pour l'extrait 02 et 25 ml pour l'extrait 03).

➤ Préparation de *n*-butanol saturé (C₄H₉OH)

Le *n*-butanol a été préparé dans l'ampoule à décanter en ajoutant 100 ml de butanol insaturé avec 100 ml d'eau distillée, suivie d'une agitation et dégazage de l'ampoule. Ensuite, les phases ont été séparées puis récupérées en enlevant le bouchon. La phase organique (phase supérieure) a été récupérée par la suite dans un flacon en éliminant la phase aqueuse (la plus dense).

a) Extraction par le chloroforme

- Le volume de la solution à extraire ainsi que celui de chloroforme ont été introduits dans une ampoule à décanter. Après avoir fermé, elle a été agitée et dégazée, ensuite déposée sur le support et laisser décanter les phases (se séparer).
- La phase aqueuse la moins dense a été récupérée dans un flacon en enlevant le bouchon et éliminant la phase organique la plus dense, il s'agit de chloroforme (**figure 17.a**).

NB : ces étapes ont été répétées trois fois, et à chaque fois la phase organique est éliminée et la phase aqueuse est récupérée.

b) Extraction par le *n*-butanol saturé

- Les extraits aqueux obtenus précédemment et le *n*-butanol saturé ont été introduits dans l'ampoule à décanter (bouchée).
- Après agitation et dégazage, les extraits aqueux ont été récupérés pour une deuxième extraction, tandis que les extraits butanoliques ont été récupérés dans un flacon.
- Après la deuxième extraction, les extraits butanoliques obtenus (phases supérieures) ont été récupérés (**figure 17.b**) dans le flacon précédent, alors que les extraits aqueux ont été récupérés dans un autre flacon.
- Les extraits obtenus ont été versés dans des boîtes de pétri pesées précédemment à vide. Ces dernières ont été mises dans l'étuve ventilée à 40 °C jusqu'à l'évaporation totale de *n*-butanol saturé.

NB : pour chaque extrait on a mis 3 boîtes de Pétri.

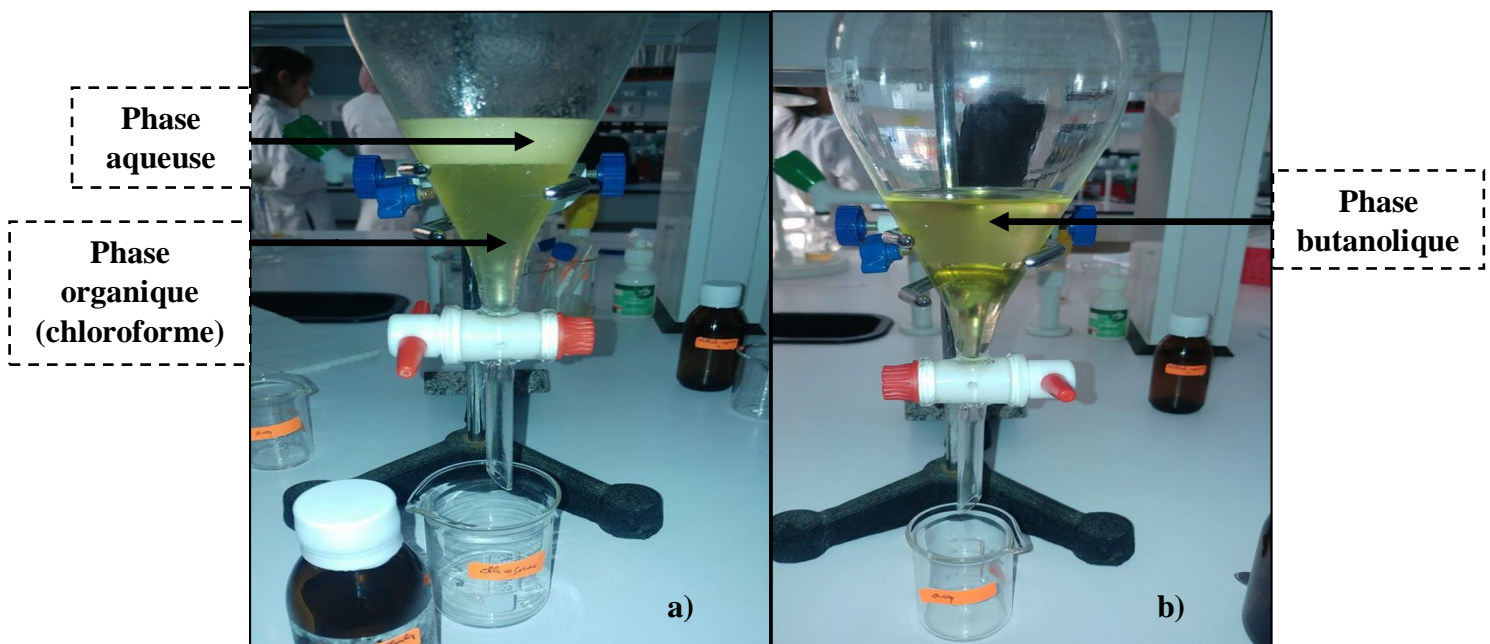


Figure 17: Photographie de l'extraction liquide-liquide des saponines à partir des rhizomes de *Carthamus caeruleus* L.: (a) extraction par chloroforme ; (b) extraction par *n*-butanol.

II.2.3.3 Rendement d'extraction des saponines

Après l'évaporation complète de *n*-butanol, les boîtes de pétri ont été récupérées et pesées chacune seule. Le rendement d'extraction des saponines a été calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = \left(\frac{M_1 - M_0}{M_s} \right) \times 100$$

Avec :

R (%) : Rendement d'extraction (%), **M₀** : Masse de la boîte vide (g), **M₁** : Masse de la boîte après évaporation (g), **M_s** : Masse de la matière sèche (g).

II.2.3.4 Solvataion et dissolution des extraits secs

Pour la réalisation de cette étape, nous avons préparé une solution de PBS. En effet, il s'agit d'un mélange de 0,8181 g de NaCl, 0,0201 g de KCl, 0,0204 g de KH₂PO₄, et 0,1441 g de Na₂HPO₄.2H₂O, dissous dans 100 ml d'eau distillé. Ensuite, le pH a été ajusté jusqu'à 7,4 par le NaOH à 0,1N.

Les extraits secs obtenus ont été dissous et solubilisés avec différentes solutions dont la concentration est 10 mg/ml :

- Extrait 01 a été solubilisé avec le méthanol (78%).
- Extrait 02 a été solubilisé avec le PBS.
- Extrait 03 a été solubilisé avec l'eau distillée.

Après solubilisation, les extraits obtenus ont été versés dans des flacons ambrés en verre puis conservés par congélation.

II.2.4 Détection des saponines

Pour confirmer la présence des saponines dans nos extraits, nous avons opté le test de détection décrit par **OMS (1998)** avec quelques modifications. Un volume de 2 ml de chaque extrait butanolique a été introduit dans un tube à essai et dilué avec 5 ml de l'eau distillée. Par la suite, les tubes ont été agités vigoureusement pendant 15 secondes dans le sens de la longueur puis laisser reposer environ 5 à 20 minutes.

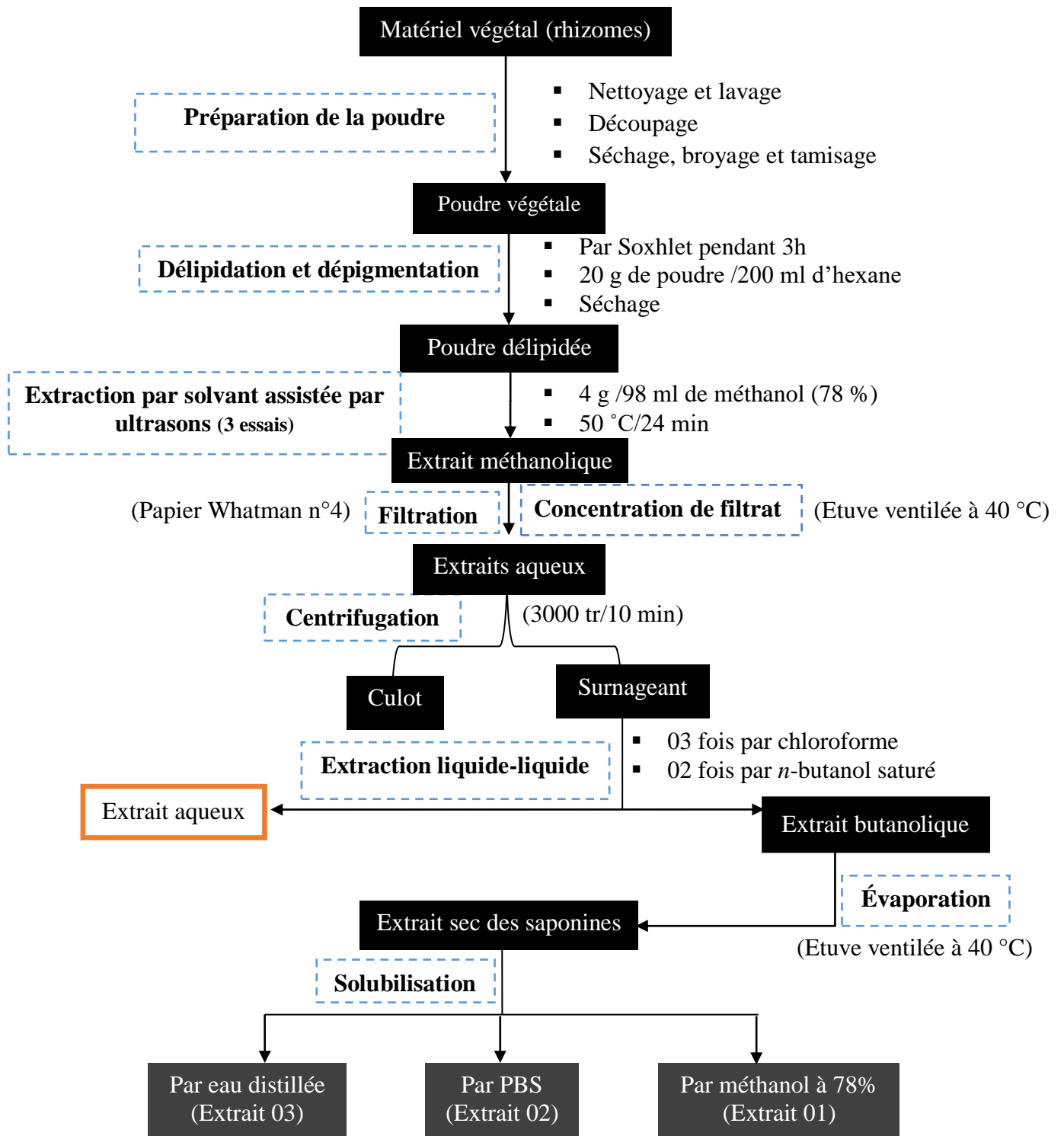


Figure 18 : Schéma récapitulatif du protocole général d'extraction par solvant des saponines à partir des rhizomes de *Carthamus caeruleus* L.

CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

Chapitre III : Résultats et discussion

Ce chapitre est consacré à la présentation et la discussion des résultats d'extraction des saponines à partir de la poudre des rhizomes de *Carthamus caeruleus* L. par ultrasons en suivant notre protocole, et d'identification des saponines dans nos extraits.

III.1 Rendement d'extraction

Le rendement des extraits saponosidiques obtenus après évaporation a été déterminé par rapport à 4 g de la poudre végétale (matière sèche) pour chaque extrait. Le poids des extraits secs de saponines a été calculé en faisant la différence entre le poids des boîtes après évaporation et celui des boîtes vides. Les résultats sont représentés dans le tableau ci-dessous (**tableau 5**).

Tableau 5 : Masses des extraits secs de saponines et le rendement d'extraction à partir de rhizomes de *Carthamus caeruleus* L.

	Masse de l'extrait sec (g)	Rendement (%)	Rendement (Moyenne ± écart-type) (%)
Extrait 1	0,13	3,25	
Extrait 2	0,09	2,25	3,42 ± 1,258
Extrait 3	0,19	4,75	

D'après les résultats obtenus représentés dans le **tableau 5**, il ressort que le rendement d'extraction est de $3,42 \pm 1,258\%$ de saponine dans 4 g de la poudre végétale.

Les résultats rapportés par **Gaci et Lahiani (2017)** concernant le rendement d'extraction des saponines à partir des rhizomes de *Carthamus caeruleus* L. était de 0,44%, valeur très inférieure à nos résultats de la présente étude.

Arroudj et Zitoune (2017) rapportent dans leur étude sur l'évaluation des activités biologiques de *Carthamus caeruleus* L. que le rendement d'extraction des extraits éthanoliques par Soxhlet était de $3,17 \pm 0,17\%$ et qui est proche à celui obtenu par **Ferhat et Belhadi (2016)** avec 3,1%, mais inférieur à celui obtenu dans notre travail ($3,42 \pm 1,258\%$). Une étude phytochimique menée par **Laurençon (2013)** sur *Solidago virgaurea*, une plante de la famille des Astéracées a démontré que le taux de saponines dans la matière sèche varie entre 0 et $4,36 \pm 0,52\%$ selon la population considérée confortant ainsi nos résultats.

Cependant, il est difficile de comparer nos résultats avec ceux de la bibliographie, car le rendement d'extraction varie en fonction de la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée, de l'espèce et l'origine géographique de la plante, des conditions climatiques, de la durée du stockage et la période de récolte. De plus, d'autres paramètres peuvent influencer le rendement d'extraction, dont :

III.1.1 Matrice et rapport biomasse/solvant

Le prétraitement, la conservation et le stockage de la matrice est important et peut avoir un impact sur l'efficacité d'extraction (**Esclapez et al., 2011**). Ainsi, les rendements d'extraction peuvent également varier en raison de la structure, des différences de composition de la matière végétale qui entraîneront différents degrés d'impacts des effets de cavitation (**Chemat et al., 2017**).

De plus, les extractions par ultrasons dépendent de ratio matière première/solvant ; au fur et à mesure que ce ratio augmentait, les rendements augmentaient.

En effet, les résultats obtenus par l'étude de **Gaete-Garretón et al. (2011)** portant sur l'extraction améliorée par ultrasons des principes bioactifs de *Quillaja saponaria* Molina, confirment cette relation de dépendance entre ce rapport et la quantité de saponines extraites, dont une concentration de (78%) a été obtenue pour un ratio 1/15. Cette dernière a été plus élevée à celles obtenues pour les autres ratios utilisés (1/6 et 1/10). Il a été rapporté que cet effet est peut-être produit car le faible rapport matière première / solvant favorise la cavitation et l'exposition des matières au champ de cavitation.

Pour les extractions assistées par ultrasons, un autre paramètre entre en jeu et peut limiter l'effet du ratio et l'efficacité de l'extraction, il s'agit de champ d'action et la distance critique de la propagation des ondes ultrasoniques dans le milieu liquide. Ainsi, un grand ratio solvant/biomasse équivaut à une grande distance qui sépare la biomasse du champ d'action des ultrasons (**Nait Sidi Ahmed, 2012**).

III.1.2 Interaction solvant-échantillon

Il convient d'examiner attentivement le choix d'un solvant approprié, car le solvant optimal pour les extractions traditionnelles n'est peut-être pas le meilleur pour l'extraction assistée par ultrasons. Le choix du solvant est généralement basé sur l'obtention d'une affinité moléculaire élevée entre le solvant et le soluté, mais les facteurs affectant la cavitation, tels que la pression de vapeur du solvant ou la tension de surface, doivent également être pris en compte. À des pressions de vapeur élevées, le solvant volatilisé pénètre plus facilement dans les bulles de cavitation, amortissant leur effondrement. Le rendement d'extraction peut également être influencé par la taille des particules, car l'extraction est liée à la surface exposée et à la longueur du trajet que les molécules doivent parcourir (**Esclapez et al., 2011**).

III.1.3 Température

Habituellement, l'augmentation de la température conduit à une augmentation du rendement d'extraction. Dans le cas des extractions assistées par ultrasons, certains auteurs, certains auteurs comme **Schooley et Reynolds (1998)** rapportent un effet bénéfique de l'élévation de la température de 20 °C à 70 °C par rapport à d'autres extractions, ceci conforte

l'effet de la température de notre travail (50 °C). Ils ont trouvé que la teneur en gypénoside (saponine) extraits des racines de ginseng « *Panax ginseng* » augmente à une température plus élevée. Cet effet a été justifié par une augmentation du nombre de bulles de cavitation et une plus grande surface de contact solide-solvant, des améliorations de la diffusivité du solvant, et de la solubilité des composés d'intérêt. Cependant, cet effet est diminué lorsque la température est proche du point d'ébullition du solvant (**Chemat *et al.*, 2017**). Ainsi que d'autres rapportent un effet bénéfique de la basse température (inférieure à 30 °C), comme celle d'extraction par ultrasons des saponines *Quillaja saponaria* qui a été constamment maintenue à 20 °C avec un bon rendement d'extraction (**Gaete-Garretón *et al.*, 2011**).

De plus, la cavitation peut être réduite à des températures d'extraction plus élevées car les vides sont remplis de vapeurs de solvants, ce qui entraîne un effondrement moins violent (**Chemat *et al.*, 2017**). Ainsi, à basse température, la pression de vapeur du solvant est faible et permet aux bulles de cavitation de s'effondrer violemment (**Tiwari, 2015**). Par conséquent, un contrôle de la température est nécessaire pour éviter la dégradation des composés thermolabiles.

III.1.4 Solvant

Le choix du solvant dans l'extraction assistée par ultrasons est déterminé par la solubilité des métabolites cibles mais aussi par des paramètres physiques tels que la viscosité, la tension de surface et la pression de vapeur du solvant. Ces paramètres physiques vont affecter le phénomène de cavitation acoustique (**Chemat *et al.*, 2017**).

Une augmentation de la viscosité ou la tension superficielle, induit une augmentation de ces interactions moléculaires, ce qui augmente considérablement le seuil de cavitation. En effet, plus la viscosité de solvant augmente, plus la résistance de l'échantillon au mouvement du dispositif à ultrasons augmente. Il est donc conseillé d'utiliser une intensité (ou une amplitude) élevée afin d'obtenir les vibrations mécaniques nécessaires entraînant la cavitation. Un solvant à faible pression de vapeur est préférable aux extractions assistées par ultrasons, car l'effondrement de la bulle de cavitation est plus intense que pour les solvants à forte pression de vapeur (**Chemat *et al.*, 2017**).

En effet, La différence de polarité des solvants utilisés permet l'extraction d'une large gamme de métabolites secondaires ; les solvants polaires montrent un meilleur rendement d'extraction par rapport aux solvants moins polaires (**Chemat *et al.*, 2017**).

Selon l'étude menée par **Saffidine (2015)** sur les flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus L.* et de *Plantago major L.*, il a été constaté qu'en comparant un mélange hydro-éthanolique, et un mélange méthanol-eau, ce dernier s'est avéré d'être un très bon solvant et facilite l'évaporation pour les extraits de racine de *Carthamus caeruleus L.*

D'autre étude de **Wu et al. (2001)** sur l'extraction de saponine du ginseng assistée par ultrasons et par Soxhlet à l'aide de *n*-butanol saturé en eau a donné des rendements en ginsénosides plus élevés que le méthanol pur et le méthanol à 10%, ceci conforte l'utilisation de *n*-butanol saturé dans notre travail afin de récupérer les saponines de *C. caeruleus*.

III.1.5 Temps d'extraction

Le temps de contact entre les deux phases est aussi l'un des paramètres importants et influençant sur le rendement d'extraction. En effet, selon les résultats de **Rakotoarison Vony (2019)** sur l'optimisation des extractions de saponines à partir des feuilles de *Clidemia hirta L.D.Don*, il s'est avéré que le rendement d'extraction s'est amélioré en prolongeant la durée d'extraction à 50 minutes.

De plus, l'étude de **Gaete-Garretón et al. (2011)** portant sur l'extraction améliorée par ultrasons des principes bioactifs de *Quillaja saponaria Molina* a constaté que les rendements d'extraction des saponines ont augmenté d'une manière significative avec une période de sonication de 10 à 30 min, ce qui conforte avec l'utilisation de 24 minutes comme temps d'extraction des saponines de *C. caeruleus* dans notre étude.

Il est nécessaire de maîtriser ce paramètre car il est étroitement lié à la cinétique de l'extraction. La connaissance de la cinétique permettra d'arrêter l'extraction lorsque le rendement souhaité est atteint et de ne pas continuer l'opération au-delà (**Chemat et al., 2017**).

III.1.6 Pression acoustique

Le phénomène de cavitation est favorisé lorsque la pression acoustique est élevée. En effet, il existe une relation directe entre l'intensité des ultrasons, l'amplitude des ondes sonores et la pression acoustique. De ce fait, plus l'amplitude des ondes acoustiques est grande, plus l'intensité des ultrasons sera élevée, plus facilement la cavitation pourra se faire et meilleure sera la cinétique de l'extraction par ultrasons (**Nait Sidi Ahmed, 2012**).

D'après les résultats de l'étude de **Gaete-Garretón et al. (2011)** citée précédemment, l'amélioration de processus d'extraction a été constatée lorsqu'une augmentation de la puissance acoustique jusqu'à 30 W a été appliquée. Hors que pour une puissance inférieure à 5 W, aucune amélioration de cavitation n'a été remarquée.

III.1.7 Fréquence

Plus la fréquence est basse, plus la bulle de cavitation est grande. Ainsi, les fréquences plus basses des ultrasons de haute puissance (environ 20 kHz) permettent d'obtenir des implosions de bulles plus violentes et, par conséquent, sont plus efficaces dans les processus d'extraction. L'effet de fréquence peut être lié non seulement à la taille de la bulle de cavitation mais aussi à son influence sur les résistances externes et internes au transfert de masse (**Esclapez et al., 2011**).

III.2 Identification des saponines

Les résultats de la détection et l'identification de la présence des saponines sont représentés dans la figure ci-dessous (**figure 19**).

Selon **OMS (1998)** ; **Haddouchi et al. (2016)**, le test est positif, si la hauteur de la mousse est supérieure à 1 cm. Ce qui conforme à nos résultats obtenus dans la présente étude dans laquelle l'apparition d'une mousse persistante est clairement constatée. Ceci révèle la présence de saponines qui sont caractérisées par leurs propriétés tensioactives.

Les résultats de la présente étude sont en accord avec ceux trouvés par **Benhamou et Fazouane (2013)** ; **Dahmani et al. (2018)** ayant signalés dans leurs études sur les tests phytochimiques réalisés sur les extraits de rhizomes de *Carthamus caeruleus* L. (récoltés à Boumerdes et à Tizi-Ouzou, respectivement) la richesse de ces derniers en saponosides et d'autres métabolites secondaires.

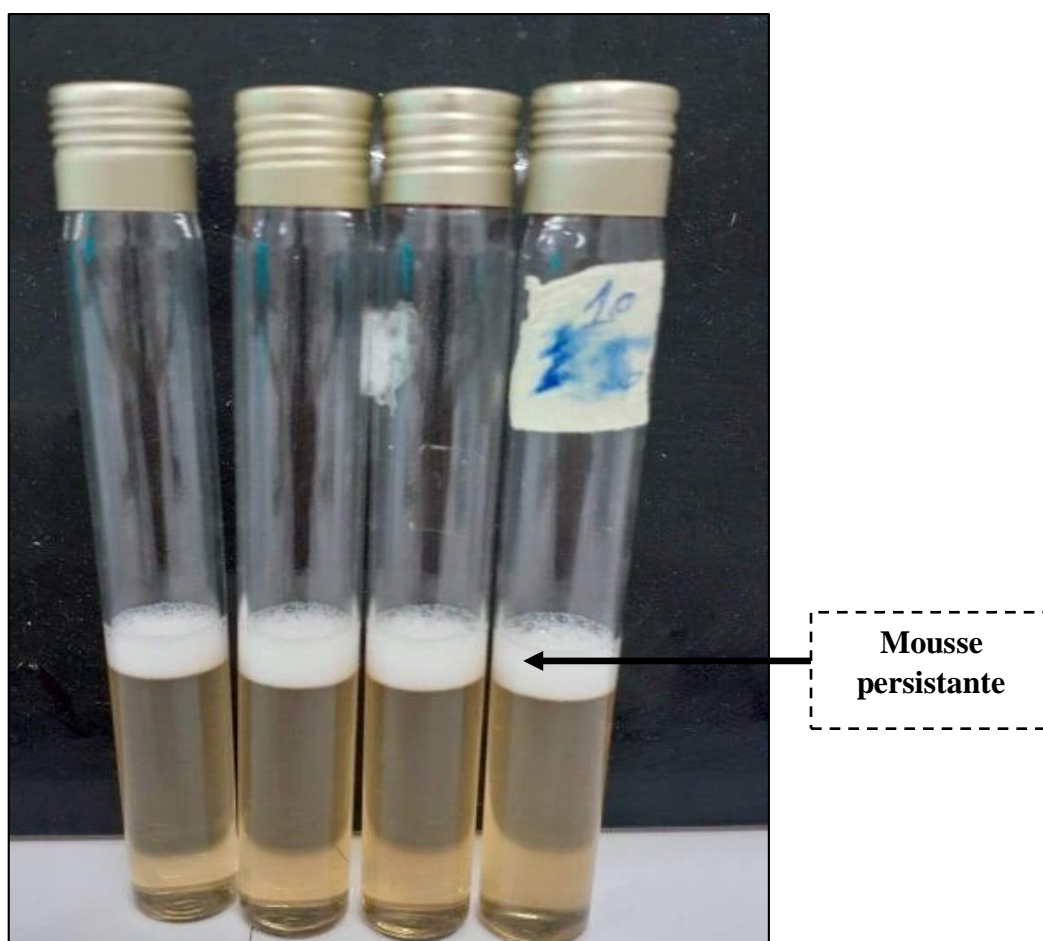


Figure 19 : Photographie des résultats de test d'identification des saponines à partir des rhizomes de *Carthamus caeruleus* L.

En plus de ces expériences réalisées, il était prévu d'évaluer différentes activités biologiques de *Carthamus caeruleus* L. tel que l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, de même l'activité cicatrisante et anticoagulante en utilisant nos extraits contenant les saponines. Ceci a pour but de prouver les vertus médicinales importantes de cette plante rapportés dans la littérature, ainsi pour valoriser l'utilisation des saponines autant que métabolites secondaires présentant plusieurs activités impressionnantes mentionnées auparavant dans le chapitre I, mais qui ne sont pas encore étudiées pour *Carthamus caeruleus* L.

Malheureusement, nous avons réalisé qu'environ 20% de notre objectif vu la pandémie de COVID-19 qui a obstrué le monde, et à cause de laquelle nous n'avons pas pu continuer et finaliser nos travaux.

CONCLUSION

Conclusion

Les végétaux notamment les plantes médicinales ont sans doute une importance particulière comme source de molécules bioactives ayant une grande valeur pharmaceutique et des propriétés thérapeutiques pour la santé humaine. Parmi ces plantes, *Carthamus caeruleus* L. qui est très utilisée en médecine traditionnelle algérienne vis-à-vis de plusieurs maladies pour leurs vertus thérapeutiques, principalement dans les cas de brûlures.

À cet effet, notre étude avait pour objectif d'extraire les saponines à partir des rhizomes de *Carthamus caeruleus* L. et d'évaluer *in vitro* leur pouvoir anti-inflammatoire, anticoagulant, antioxydant, et *in vivo* l'effet cicatrisant de pommades préparées à base des extraits saponosidiques. Malheureusement en raison de COVID-19, seulement l'objectif d'extraction est atteint et qui nous avons pu le réaliser en utilisant une technologie verte.

Dans cette étude les extraits saponosidiques de rhizome de *Carthamus caeruleus* L. ont été obtenus après une série d'extraction ; par solvant assistée par ultrasons au méthanol à 78%, suivie d'une extraction liquide-liquide par le chloroforme, et *n*-butanol saturé, un bon solvant d'extraction des saponines.

En effet, les extraits obtenus ont montré la présence d'une mousse persistante exprimant la présence des saponines après le test d'identification. De plus, notre plante a montré un rendement de $3,42 \pm 1,258\%$ de saponine dans 4 g de poudre végétale.

Les résultats obtenus dans cette étude sont intéressants mais insuffisants. Pour cela, des expériences et des études complémentaires sont nécessaires afin d'évaluer les activités de *Carthamus caeruleus* L. sur les extraits de saponines qui ne sont pas encore étudiées et réalisées, de valoriser leurs utilisations autant que métabolites secondaires présentant plusieurs activités impressionnantes, et de les exploiter comme un traitement éventuel et alternatif dans l'avenir.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

A

Ababsa, Z., Kara Ali, W., Abdli, N., Akkal, S., Medjroub, K. (2018). Chemical Characterization and Biological Study of the Species *Senecio Cineraria*. *World Journal of Environmental Biosciences*, 7(3), 112-121.

Abderrazak, M., et Joël, R. (2007). La botanique de A à Z. *Dunod. Paris*. 177p.

Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, R., Collin, P., Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue Du Rhumatisme - REV RHUM*, 74(7), 636-643.

Arroudj, L., et Zitoune, C. (2017). *Evaluation des activités biologiques d'une plante médicinale locale Carthamus caeruleus.L*. Mémoire de Master en pharmacologie moléculaire. Béjaia: Université A. MIRA de Béjaia, 38p.

B

Bagheri, H. (2018). Médicaments et cicatrisation. *Revue Francophone de Cicatrisation*, 2(2), 22-25.

Baghiani, A., Boumerfeg, S., Belkhiri, F., Khenouf, S., Charef, N., Harzallah, D., Arrar, L., Mosaad Attia, A-W. (2010). Antioxidant and radical scavenging properties of *Carthamus caeruleus* L extracts grow wild in Algeria flora. *Comunicata Scientiae*, 1(2), 12 .136-8

Banchereau, J., Briere, F., Caux, C., Davoust, J., Lebecque, S., Liu, Y. J., Pulendran, B., K.Palucka, K. (2000). Immunobiology of dendritic cells. *Annual review of immunology*, 18, 767-811.

Barbosa, A. P. (2014). An overview on the biological and pharmacological activities of saponins. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(8), 47-50.

Barton, G. M. (2008). A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *The Journal of clinical investigation [en ligne]*, 118(2), 413-420. Disponible sur : <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2214713/>> (consulté le 15/08/2020).

Belkhiri, F., et Baghiani, A. (2017). *Plantes médicinales Activités antioxydantes et antibactériennes: Etude de cas :Tamus communis et Carthamus caeruleus*. Sétif : Editions universitaires europeennes EUE, 148 p.

Benhamou, A., et Fazouane, F. (2013). Ethnobotanical study, phytochemical characterization and healing effect of *Carthamus coeruleus* L. rhizomes. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 3(1), 61-68.

Benhaoua, Sihem. (2016). *Activité antioxydante et analyse chimique des acides gras et des insaponifiables de Carthamus caeruleus*. Mémoire de Master en chimie. Tlemcen : Université Abou Beker Belkaid, 45 p.

Bensegueni, A., Belkhiri, A., Boulebda, N., Keck, G. (2007). Evaluation de l'activité cicatrisante d'un onguent traditionnel de la région de Constantine sur les plaies d'excision chez le rat. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, (26), 83-87.

Betina-Bencharif, S. (2014). *Isolement et caractérisation de saponosides extraits de deux plantes médicinales : Cyclamen africanum, Zygophyllum cornutum et évaluation de leur activité anti-inflammatoire*. Thèse de doctorat en biotechnologie végétale. France : Université de Constantine 1 et Université de Bourgogne, 201 p.

Bouhenni, I., et Benkabilia, I. (2019). *Evaluation d'activité anti-inflammatoire du Carthamus caeruleus L « Etude in vivo –chez les souris NMRI »*. Diplôme de master en biologie. Mostaganem : Université Abdelhamid Ibn Badis, 45 p.

Boullard, B. (2001). *Plantes médicinales du monde: Réalités et Croyances*. Estem, 636 p.

Bourgau, F. (2013). Les questions et travaux de recherche nécessaires au développement de la filière ; exemple de l'apport des sciences cognitives à la productions/valorisation des métabolites secondaires d'intérêt, 99(3), 5 p.

Bowles, E. J. (2003). *The Chemistry of aromatherapeutic oils. Crowns Nest NSW*. Australia: Allen & Unwin, 200p.

Brinkhaus, B., Lindner, M., Schuppan, D., Hahn, E. G. (2000). Chemical, pharmacological and clinical profile of the East Asian medical plant Centella asiatica. *Phytomedicine*, 7(5), 427-448.

Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4ème éd)*. Paris : Lavoisier, 1269 p.

C

Chemat, Farid. (2014). *Eco-extraction du végétal: Procédés innovants et solvants alternatifs*. Paris : Dunod, 336 p.

Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrason Sonochem*, 34, 540-560.

Chevalier, P., Dutil, L. (2012). L'usage des substances antimicrobiennes en production animale: position des experts et des gouvernements. *Quebec: Institut National de Santé Publique du Québec*, 45 p.

CoPath, C. F. d. P. (2012). *La réaction inflammatoire. Les inflammations [en ligne]*. (mise à jour le 16/05/2012) Disponible sur : <http://campus.cerimes.fr/anatomie-pathologique/enseignement/anapath_3/site/html/1.html> (consulté le 10/08/2020).

Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-570.

D

Dahmani, Mohammed Mahdi. (2019). *Evaluation de l'activité biologique des polyphénols de Carthamus caeruleus L (Asteraceae)*. Thèse de doctorat en Biochimie et Microbiologie appliquées. Boumerdes : Université de M'hamed Boughera-Boumerdes, 81 p.

Dahmani, M. M., Laoufi, R., Selama, O., Arab, K. (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 pharmacology*, 50(3), 123-129.

Das, K., Tiwari, R., Shrivastava, D. (2010). Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agents: current methods and future trends. *Journal of medicinal plants research*, 4(2), 104-111.

Deore, S. L., Khadabadi, S. S., Chittam, K. P., Bhujade, P. G., Nagpurkar, Y. R., Chanekar, P. D., et Jain, R. G. (2009). Properties and pharmacological applications of saponins. *Pharmacologyonline*, 2, 61-84.

Djabou , Nassim. (2006). *Sambucus Nigra L., une plante de la pharmacopée traditionnelle Nord africaine*. Thèse de magistère en chimie. Tlemcen : Université AbouBekr Belkaid, Tlemcen, 143p.

Duteille, F. (2009) . *La cicatrisation [en ligne]*. (mise à jour le 01/06/2009) Disponible sur : <<http://campus.cerimes.fr/chirurgie-generale/enseignement/cicatrisation/site/html/3.html>> (consulté le 17/08/2020).

E

El Barky, A., Hussein, S., Alm-Eldeen, A.-E., Hafez, A., Tarekmostafa, Mohamed, T. (2017). Saponins and their potential role in diabetes mellitus. *Diabetes Manag*, 7(1), 148-158.

Engler, R. (1995). Protéines de la réaction inflammatoire. *Revue Française des Laboratoires*, 1995(276), 93-99.

Esclapez, M. D., García-Pérez, J. V., Mulet, A., Cárcel, J. A. (2011). Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Products. *Food Engineering Reviews*, 3(2), 108-120.

F

Ferhat, A., et Belhadi, M. (2016). *Evaluation de l'activité cicatrisante et de l'effet anti-inflammatoire de Carthamus caeruleus L*. Mémoire de master en Biologie des Populations et des Organismes. Boumerdes : Université M'hamed Bougara –Boumerdes, 48 p.

G

Gaci, Y., et Lahiani, S. (2017). *Evaluation de l'activité antimicrobienne et cicatrisante d'extraits de deux plantes de la Région de kabylie: Pulicaria odora L et Carthamus caeruleus L*. Mémoire de master en Biologie. Boumerdes : Université M'hamed Bougara Boumerdes, 50 p.

Gaete-Garretón, L., Vargas-Hernández, Y., Cares-Pacheco, M. G., Sainz, J., Alarcón, J. (2011). Ultrasonically enhanced extraction of bioactive principles from *Quillaja Saponaria* Molina. *Ultrasonics*, 51(5), 581-585.

Gambichler, T., Moussa, G., Sand, M., Sand, D., Altmeyer, P., Hoffmann, K. (2005). Applications of optical coherence tomography in dermatology *Journal of dermatological science*, 40(2), 85-94.

Gélébart, B. (2016). *Optimisation de l'extraction, en réacteur «batch», de biomasse énergétique à l'aide d'émulsions ultrasoniques de solvants verts*. Mémoire de maîtrise en génie chimique. Canada : Université de Sherbrooke (Québec), 101 p.

Gorter, A. (2014). *Carduncellus caeruleus* (L.) Less. [photo] **In** : *eFlore*. Disponible sur : < <https://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn--44700illustrations> > (consulté le 06/08/2020).

Goudable, J., Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 11(2), 115-120.

Grant, N. H., Alburn, H. E., Kryzanasuskas, C. (1970). Stabilization of serum albumin by anti-inflammatory drugs. *Biochemical pharmacology*, 19(3), 715-722.

Güçlü-Ustündağ, O., Mazza, G. (2007). Saponins: properties, applications and processing. [Review]. *Critical reviews in food science and nutrition*, 47(3), 231-258.

H

Haddouchi, F., Chaouche, T., Halla, N. (2016). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*, 1-9.

Hamadi, F., Boudif, K., Gougam, H., Djouab, A., Allane, T., Benmounah, A., Benamara, S. (2014). Caractérisation d'une préparation semi-solide traditionnelle antibrûlure. *Phytothérapie*, 12(3), 149-155.

Hostettmann, K., Marston, A. (1995). *Saponins* (1 ed.). New York : Cambridge University Press, 25(4), 562 p.

Howcroft, T. K., Campisi, J., Louis, G. B., Smith, M. T., Wise, B., Wyss-Coray, T., Augustine, A. D., McElhaney, J. E., Kohanski, R., Sierra, F. (2013). The role of inflammation in age-related disease. *Aging*, 5(1), 84-93.

Hristozov, D., Gadjeva, V., Vlaykova, T., Dimitrov, G. (2001). Evaluation of oxidative stress in patients with cancer. *Archives of physiology and biochemistry*, 109(4), 331-336.

I

Iwalewa, E. O., McGaw, L., Naidoo, V., Eloff, J. (2007). Inflammation: the foundation of diseases and disorders. A review of phytomedicines of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions. *African Journal of Biotechnology*, 6(25), 2868-2885.

K

Kardile, M., Mahajan, U., Shaikh, H., Goyal, S., Patil, C. (2016). Membrane stabilization assay for anti-inflammatory activity yields false positive results for samples containing traces of ethanol and methanol. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 5(3), 493-497.

Karthik, K., Kumar, B. R. P., Venu, P. R., Kumar, S. K., Rathor, R. S. B.(2013). Evaluation of anti-inflammatory activity of canthium parviflorum by in-vitro method. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology* 1(5), 729-730.

Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolique* 20(4), 165-177.

L

Lambert, C., et Chambéry, C. H. (2015). Les ultrasons. *Association française de Stérilisation [en ligne]*. 14-16. Disponible sur : <http://www.sssh.ch/uploads/media/f0115_lambert_F.pdf> (consulté le 20/06/2020).

Laurençon, L .(2013) .*Contribution à l'étude phytochimique de Solidago virgaurea : application dans le domaine bucco-dentaire et étude de la variabilité phytochimique pour la création d'une filière*. Thèse de doctorat en chimie. Nice : École doctorale Sciences fondamentales et appliquées (Nice).

Lutge, U., Kluge, M., Bauer, G. (2002). *Botanique 3ème Ed: Technique et documentation*. Paris : Lavoisier, 211p.

M

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.

Martinet, Cyrille (2018). Phase de cicatrisation. **In** : *Bien débiter - Plaies cicatrisation et pansements*. Elsevier Health Sciences. Disponible sur : <<https://www.elsevier.com/fr-fr/connect/ifsiiinfirmier/plaies,-cicatrisation-et-pansements>> (consulté le 20/09/2020).

Méllissopoulos, A., Levacher, C. (2012). *La peau-Structure et physiologie* (2e ed.). Paris : Lavoisier, 265 p.

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(5), 565-570.

N

Nait Sidi Ahmed, A. (2012). *Mise en place d'un procédé d'extraction et de pré-purification de molécules bioactives à partir d'une culture énergétique « Salix miyabeana SX67»*. Mémoire de maîtrise en génie chimique . Canada : Université de Sherbrooke Québec, 71 p.

Nurtamin, T., Sudayasa, I. P., et Tien, T. (2018). In vitro anti-inflammatory activities of ethanolic extract elephantopus scaber leaves. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia [en ligne]*, 9(1), 46-52. Disponible sur: <www.researchgate.net/publication/324842793_In_Vitro_Anti-Inflammatory_Activities_of_Ethanolic_Extract_Elephantopus_Scaber_Leaves> (consulté le 02/07/2020).

O

OMS. (1998). Quality control methods for medicinal plant materials. *World Health Organization Geneva*, 123 p.

P

Park, M. H., Kim, D. H., Lee, E. K., Kim, N. D., Im, D. S., Lee, J., Yu, B. P., Chung, H. Y. (2014). Age-related inflammation and insulin resistance: a review of their intricate interdependency. *Archives of pharmacal research*, 37(12), 1507-1514.

Pibiri, M.-C. (2005). *Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles*. Thèse de doctorat en science. Lausanne : Ecole polytechnique fédérale de Lausanne, 151 p.

Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B. (2010). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4, 25-39.

Prior, R. L., Wu, X., Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290-4302.

Q

Quézel, P. et Santa, S. (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Paris : Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique, 1170 p.

R

Rached, W. (2009). *Evaluation de potentiel antioxydant de plantes médicinales et analyse phytochimique*. Mémoire de magister en biologie. Oran : université d'Oran ES-Sénia, 95 p.

Rakotoarison Vony, T. (2019). *Optimisations des extractions de saponines à partir des feuilles de Clidemia hirta L.D. Don famille des Melastomatacees et étude de leurs propriétés tensioactives*. Mémoire de master en chimie. Université d'Antananarivo, 54 p.

Rochette, L. (2008). Stress oxydant et sepsis. *Reanimation*, 17(6), 1-4.

S

Saffidine, K. (2015). *Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de Carthamus caeruleus L et de Plantago major L*. Thèse de doctorat en Sciences, Sétif : Université Ferhat Abbas, 89 p.

Saffidine , K., F,Sahli ., Zerroug, M M. (2013). Antimicrobial activity of an Algerian medicinal plant:*Carthamus caeruleus L.* *Pharmacognosy Communications*, 3(4), 71-76.

Schooley, J., Reynolds, L. B. (1998). *Effet des méthodes de production sur la qualité des racines de ginseng. Ontario [en ligne]*. (mise à jour le 28 aout 2020) Disponible sur : <<http://www.omafra.gov.on.ca/french/crops/facts/98-068.htm>> (consulté le 29/08/2020).

Schweizer, J., Bowden, P. E., Coulombe, P. A., Langbein, L., Lane, E. B., Magin, T. M., Maltais, L., Omary, M. B., Parry, D. A., Rogers, M. A. Wright, M. W. (2006). New consensus nomenclature for mammalian keratins. *The Journal of cell biology*, 174(2), 169-174.

T

Thurzovol, L., Kresanelk, I., Marecek, S., Mika, K. (1978). Les plantes de santé qui poussent autour de nous. France : Elsevier Séquoia, 260 p.

Tiwari, B. K. (2015). Ultrasound: A clean, green extraction technology. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71, 100-109.

Toubane, A., Rezzoug, S. A., Besombes, C., et 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.

Turksen, K. (2018). *Wound Healing: Stem Cells Repair and Restorations, Basic and Clinical Aspects*. USA : Wiley-Blackwell, 296 p.

V

Vane, J., et Botting, R. (1987). Inflammation and the mechanism of action of anti-inflammatory drugs. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 1(2), 89-96.

Verola, O. (2006). *Aspects anatomo-pathologiques de la cicatrisation [en ligne]*. (mise à jour : 2006) Disponible sur : <<http://www.cicatrisation.info/notions-de-base/histologie-de-la-cicatrisation.html>> (consulté le 20/08/2020).

W

Wu, J., Lin, L., et Chau, F.-t. (2001). Ultrasound-assisted extraction of ginseng saponins from ginseng roots and cultured ginseng cells. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8(4), 347-352.

ANNEXES

Annexe N°1

Tableau 1 : Matériels et appareillages utilisés.

Matériels	
Verreries	Autres
<ul style="list-style-type: none"> - Ampoule à décanter - Bêchers - Boîtes de Pétri - Eprouvette graduée - Erlenmeyer - Flacons 	<ul style="list-style-type: none"> - Micropipette réglable - Papier aluminium - Papier filtre Whatman n°4 - Pissette - Spatule - Tubes coniques
Appareillages	
Appareil	Marque
<ul style="list-style-type: none"> - Soxhlet - Etuve ventilée - Centrifugeuse - Bain à ultrasons - Balance analytique - pH mètre de paillasse 	<ul style="list-style-type: none"> - BEHROTEST (R104S) - Venticell - EZ Swing 3K - JP Selecta (Ultrasons-HD, 40 kHz) - OHAUS (pionner) - Mettler Toledo (FiveEasy F20-Standard)

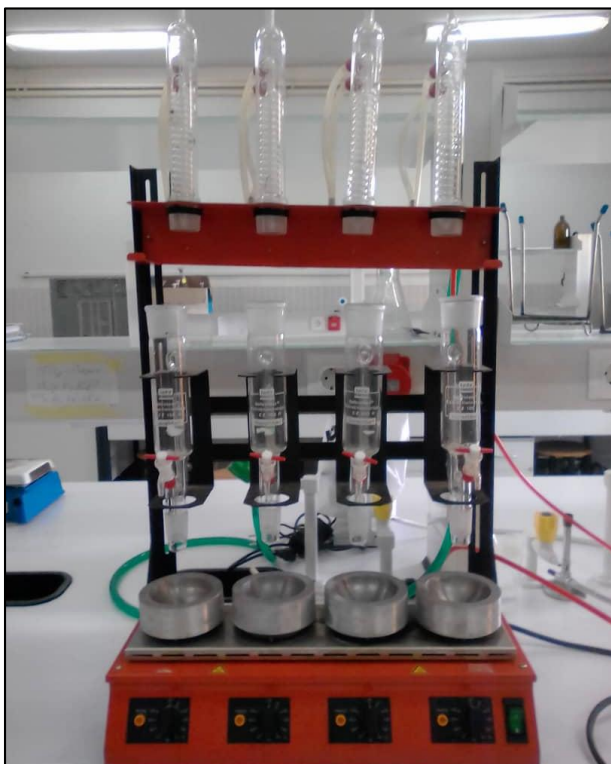
Annexe N°2



Centrifugeuse



Bain à ultrasons



Appareil de Soxhlet



Etuve ventilée



pH mètre de paillasse

Figure 1 : Photographies des appareillages utilisés.

Résumé

Les racines ou autrement dit les rhizomes de *Carthamus caeruleus* L. ont été utilisées par la population du nord de l'Algérie pour traiter plusieurs états pathologiques, notamment la cicatrisation des plaies et la pousse des cheveux. Les criblages phytochimiques effectués sur ces racines ont montré une richesse en métabolites secondaires tel que les saponines. Le présent travail s'intéresse à l'extraction des saponines à partir des rhizomes de Carduncelle bleue, afin d'évaluer certaines activités biologiques attribuées à cette plante, à savoir l'activité anti-inflammatoire, anticoagulante, antioxydante, le potentiel de cicatrisation des plaies et l'activité favorisant la pousse des cheveux. Les saponines ont été extraites en utilisant une extraction par solvant assistée par ultrasons au méthanol (78%), suivie d'une extraction liquide-liquide au chloroforme et au *n*-butanol. La présence des saponines a été détectée par le test de la mousse, et l'évaluation des activités biologiques n'a pas été réalisée à cause de l'arrêt de travail suite à la pandémie mondiale COVID-19. Le rendement d'extraction a été de $3,42 \pm 1,258\%$ de saponine dans 4 g de poudre végétale, tandis que le résultat de test d'identification des saponines a été caractérisé par l'apparition d'une mousse persistante, stable et superficielle de 1 cm de hauteur. D'après la littérature et nos résultats, *Carthamus caeruleus* L. pourrait être évalué comme un point de départ pour des investigations ultérieures.

Mots clés : *Carthamus caeruleus* L., Carduncelle bleue, rhizomes, saponine, activités biologiques, Extraction assistée par ultrasons.

Abstract

Blue thistle roots have been used by the Northern Algerian population to treat several pathological conditions, including wound healing and hair growth. The phytochemical screening carried out on these roots showed a richness of secondary metabolites such as saponins. This work is interested in the extraction of saponins from the roots of *Carthamus caeruleus* L., to evaluate certain biological activities attributed to this plant, like the anti-inflammatory, anticoagulant, antioxidant activity, the wound-healing potential, and hair growth promoting. The saponins were extracted using ultrasonic-assisted extraction (UAE) in methanol (78%), followed by liquid-liquid extraction with chloroform then *n*-butanol. The presence of saponins was detected by the foam test, and the evaluation of biological activities was not carried out due to the international pandemic COVID-19. The extraction yield was $3.42 \pm 1.258\%$ in 4 g of powder, while the result of the saponin identification test was characterized by the appearance of a persistent, stable and superficial foam with a high of 1 cm. According to the literature and our results, Blue thistle could be evaluated as a starting point for further investigations.

Keywords: *Carthamus caeruleus* L., Blue thistle, roots, saponin, biological activities, Ultrasound-assisted extraction (UAE).

المخلص

تستخدم جذور القرمط الأزرق في شمال الجزائر كعلاج للعديد من الحالات المرضية، بما في ذلك التئام الجروح ونمو الشعر. أظهرت نتائج الفحص الكيميائي النباتي الذي تم إجراؤه على هذه الجذور ثراءً في المستقلبات الثانوية خاصة الصابونين. يرتكز هذا العمل على استخراج الصابونين من جذور القرمط الأزرق، بهدف تقييم بعض الأنشطة البيولوجية المنسوبة لها، كالمضاد للالتهاب، المضاد للتخثر، المضاد للأكسدة، وإمكانية التئام الجروح وتعزيز نمو الشعر. تم استخلاص الصابونين باستخدام الموجات فوق الصوتية مع الميثانول (78%)، ومن ثم استخلاص سائل-سائل باستخدام الكلوروفورم والبيوتانول. تم الكشف عن وجود الصابونين في المستخلصات المتحصل عليها بواسطة اختبار الرغوة، بينما لم تتمكن من اتمام مرحلة تقييم الأنشطة عقب توقف العالم عن العمل إثر انتشار جائحة الكورونا. قدر ناتج عملية الاستخلاص بنسبة $3,42 \pm 1,258\%$ في 4 غرام من مسحوق الجذور، بينما تميزت نتيجة اختبار تحديد الصابونين بظهور رغوة ثابتة وسطحية بارتفاع 1 سم. وفقاً للدراسات المنجزة ونتائجنا، يمكن تقييم القرمط الأزرق كنقطة انطلاق لمزيد من التحقيقات والدراسات في المستقبل.

الكلمات المفتاحية: القرمط الأزرق، جذور، الصابونين، أنشطة بيولوجية، استخلاص بالموجات فوق الصوتية.