



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2022

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

**Domaine : SNV**      **Filière : Sciences Biologiques**  
**Spécialité : Biochimie Appliquée**

**Présenté par :**

***CHABI Billal & HAMMAD Besma***

***Thème***

**Evaluation des activités antioxydantes des extraits de *Carthamus caeruleus* L de différentes régions du Nord Algérien**

**Soutenu le : 06/07/2022**

**Devant le jury composé de :**

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>M. BESMAIL Souhila</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Présidente</i>
<i>M. TIGHILET Karim</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>M. DAHMOUNE Farid</i>	<i>Professeur</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>
<i>Mr. MOUSSA Hamza</i>	<i>Doctorant</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Co-pomoteur</i>
<i>M. REMINI Hocine</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Invité</i>

**Année Universitaire : 2021/2022**

## *Remerciement*

*Tout d'abord Nous remercions DIEU le tout puissant de nous avoir donné le courage et la Volonté de terminer ce travail.*

*al-Hamdu li Allah*

*En préambule, nous voulons adresser tous nos remerciements aux personnes avec lesquelles on a pu échanger et qui nous ont aidés pour la rédaction de ce mémoire. Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos profondes gratitude à notre promoteur M. Tighilet Karim et Co-promoteur Moussa Hamza pour leurs suivi, leurs énorme soutien, le temps qu'ils nous ont consacré, on les remercié de nous avoir encadrés, orientés, aidés et conseillés.*

*Nous tenons à remercier l'ensemble du personnel de laboratoire de biochimie du département de biologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre, Université de Bouira , pour leur patience, leurs conseils pleins de sens et pour le suivi et l'intérêt qu'ils ont portaient à notre travail.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté de me rencontrer et de répondre à mes questions durant mes recherches.*

*Enfin, dans l'impossibilité de citer tous les noms, nos sincères remerciements vont à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont permis par leurs conseils et leurs compétences la réalisation de ce mémoire.*



*Dedicaces*

*I would like to start by thanking my God for giving me the power and the courage to continue my studies in this university.*

*I would like to thank my family, my friends and my colleges who helped me and gave me strength, advices, showed the rood in order to see the good and the bad in my life.*

*I would like to thank my worst friend Said for sharing amazing moments and being side by side*

*And last but not least,*

*I would like to thank Me for believing in me, I want to thank me for doing all this hard work, I want to thank me for having no days off, for supporting myself, for keep dreaming and never give up.*

***Billy***

## *Dédicaces*

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut, tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, le respect, la reconnaissance, aussi tous simplement que je dédie ce travail :*

***A ma chère famille :***

*À mon père, **H. Noureddine**, l'homme respectueux et dévoué qui m'a comblé de ses bienfaits et m'a inculqué les principes moraux et mondains d'une vie équilibré, Ton honnêteté, ton ardeur dans le travail, et tes grandes qualités humaines font de toi un exemple à suivre.*

*À ma mère, **M. Noura**, aucune parole ne peut être dite à sa juste valeur pour exprimer mon amour, mon attachement à toi, tu m'as toujours donné de la force, de l'énergie, de l'amour, sachant que tout ce que je pourrais faire ou dire ne pourrait égaler ce que tu m'as donné et fait pour moi.*

*Que se travail soit l'exaucement de tes vœux et les fruits de vos innombrables sacrifices consentis pour mes études et mon éducation. C'est votre réussite avant d'être la mienne, puisse dieu le puissant vous protéger et vous accorder la santé le bonheur et une longue vie.*  
*À mes frères, **H. Zakaria, lamis, lokmane**, et mon ange **Djouri**, vous étiez toujours la source de force, de joie et de tendresse, merci pour tout le soutien moral et physique que vous m'avez contribué pour la réalisation de ce travaux.*

*À ma chère grand-mère, **Z. Fadia**, qui a été toujours la source de tendresse, d'affection.*

*Puisse le seigneur tout puissant vous procurer longue vie, santé et bonheur.*

*A mon cher oncle **H. Boualem** et sa chère épouse, **R. Salima**, une source de tendresse, de joie, je vous dédie ce travail pour exprimer mon amour et mon respect pour vous.*

*A des personnes très chères à mon cœur, **Nesrine, Hiba, Mouna, Faïza, Lydia, Nadia, Houria, Yamina**, Je ne saurais exprimer ma profonde reconnaissance pour le soutien continu dont vous m'avais toujours fait preuve. Vous m'avais toujours encouragé, incité à faire de mon mieux. Je vous dédie ce travail avec mes vœux de réussite, de prospérité et de bonheur.*

***Besma***

## Table des matières

Liste des Abréviations .....	7
Liste des Figures.....	8
Liste des Tableaux.....	10
Introduction .....	1

### Chapitre I: Synthèse bibliographique

I.2. Les plantes médicinales .....	3
I.3. La phytothérapie .....	3
I.4. Importance des plantes médicinales .....	4
I.5. Etude botanique de la plante <i>Carthamus caeruleus</i> L.....	4
I.5. 1. Classification phylogénique .....	5
I.5. 2. Description botanique .....	5
I.5.3. Distribution géographique de Cardoncelle bleue .....	6
I.5.4. Composition phytochimique du cardoncelle bleue .....	7
I.5.5. Usage Traditionnelle de rhizomes de cardoncelle bleue .....	7
I.6. Métabolite primaire et secondaire.....	8
I.6.1. Métabolite primaire.....	8
I.6.2. Métabolites secondaire.....	9
I.6.2.1. Polyphénols.....	9
I.6.2.1.1. Acides phénoliques .....	9
I.6.2.1.2. Flavonoïdes .....	10
I.6.2.1.3. Tanins.....	11
I.6.2.1.4. Lignines.....	11
I.6.2.2. Alcaloïde .....	11
I.6.2.3. Terpénoïdes.....	12
I.6.3 Méthodes d'extraction des métabolites secondaires et primaire.....	12
I.6.3.1. Extraction assistée par ultrasons (EAU).....	12
I.6.4. Effet des facteurs environnementaux sur les molécules bioactives .....	15
I.6.4.1. Les facteurs abiotiques.....	15
I.6.4.2. Les facteurs biotiques.....	17

### Chapitre II : Les radicaux libres et le stress oxydative

II.1. Les radicaux libres.....	19
II.2. Origine des radicaux libres.....	19

II.2.1. Sources exogènes.....	19
II.2.1. Sources endogènes.....	20
II.2.3. Principaux radicaux libres .....	20
<b>II.3. Stress oxydant.....</b>	<b>21</b>
II.3.1. Effets du stress oxydant sur les biomolécules.....	22
II.3.2. Pathologies induites par le stress oxydant et leurs conséquences.....	23
II.3.3. Défense contre le stress oxydant.....	24
<b>II.4. Les Antioxydants .....</b>	<b>24</b>
II.4. 1. Principaux antioxydants.....	25
II.4.2. Mécanisme d'action des antioxydants .....	25

### **Chapitre III : Matériel et méthodes**

III.1. Préparation de l'échantillon .....	27
III.2. Récolte et origine géographique.....	27
III.3. Extraction assistée par ultrasons (EAU) .....	29
III.4. Dosage des concentrations des polyphénols totaux (CPT) .....	29
III.5. Evaluation de l'activité antioxydante in vitro de cardoncelle bleue .....	29
III.5.1. Capacité antioxydante en équivalent Trolox (CAET) .....	30
III 5.2. Activité anti-radicalaire (DPPH•) de cardoncelle bleue .....	30
III.5.3. Test de réduction du Fer (PARF) .....	30
III.5.4. L'activité antioxydante totale (phosphomolybdate d'ammonium).....	31
III.6. Analyse statistique.....	31

### **Chapitre IV : Résultats et Discussion**

IV.1. La teneur en polyphénols totaux .....	33
IV.2. Evaluation de l'activité antioxydante in vitro des extraits méthanoliques de <i>C. Caeruleus</i> L .....	35
IV.2.1. Capacité antioxydante en équivalent Trolox (CAET).....	35
IV.2.2. Activité anti radicalaire des extraits de cardoncelle bleue contre le radical DPPH• .....	36
IV.2.3. Test de Pouvoir anti oxydant par Réduction du Fer (PARF) des extraits de cardoncelle bleue .....	37
IV.2.4. Activité antioxydante totale par le phosphomolybdate d'ammonium des extraits étudiés ..	39
IV.3. Discussion des résultats obtenus .....	40
Conclusion.....	44
Références bibliographiques .....	45

## **Liste des Abréviations**

**AAT** : Activité antioxydante totale

**ANOVA**: Analyse de la variance

**CAET** : Capacité antioxydante en équivalent Trolox

**CPT** : Concentrations des polyphénols totaux

**Da**: Dalton

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

**EAU** : Extraction Assistée par Ultrasons

**ERO**: Espèces Réactives de l'Oxygène

**ERN**: Espèce Réactive d'Azote

**ES**: Espèces Réactives

**FD** : Facteur de Dilution

**GPx** : Glutathion peroxydase

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène

**Mg EAA/g** : Milligramme d'équivalent Acide Ascorbique par gramme

**Mg EAG/g** : Milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme

**PARF** : Pouvoir Antioxydant par Réduction du Fer

**RL**: Radicaux Libre

**RLO** : Radicaux libre d'oxygène

**SOD** : Superoxyde dismutase

**UV**: Ultra Violet

## Liste des Figures

<b>Figure 1:</b> photographie de <i>C. caeruleus</i> L.....	5
<b>Figure 2:</b> Partie racinaire et aérienne de <i>Carthamus caeruleus</i> L.....	6
<b>Figure 3:</b> Photographies montrant les résultats d'un test sur un individu ayant appliqué la crème traditionnelle.....	8
<b>Figure 4:</b> Les dérivés de l'acide benzoïque .....	10
<b>Figure 5:</b> Les dérivés de l'acide cinnamique .....	10
<b>Figure 6:</b> Structure de base des flavonoïdes : diphenyle propanes constitués de deux noyaux aromatiques, liés par trois atomes carboniques .....	11
<b>Figure 7:</b> Structure chimique de l'isoprène .....	12
<b>Figure 8:</b> Schéma du phénomène de cavitation produit par l'EAU.....	13
<b>Figure 9:</b> Pathologie lie au stress oxydatif. ....	23
<b>Figure 10:</b> Schéma récapitulatif des protocoles expérimentaux utilisés.....	26
<b>Figure 11:</b> Carte géographique représente la récolte de la cardoncelle bleue dans différentes régions	27
<b>Figure 12:</b> Ensembles des étapes de lavage et séchage des parties de cardoncelle bleue étudiée .....	28
<b>Figure 13:</b> Les poudres obtenues des rhizomes et des feuilles de <i>C. caeruleus</i> L des quatre régions ..	28
<b>Figure 15:</b> Les Polyphénols des feuilles de <i>C. caeruleus</i> L. de différentes régions, la lettre T, L, K, M sont le nom des régions récoltées. ....	34
<b>Figure 16:</b> Les polyphénols des rhizomes de <i>C. caeruleus</i> L. de différentes régions, la lettre T, L, K, M sont le nom des régions récoltées.....	34
<b>Figure 17:</b> La CAET des rhizomes de <i>C.caeruleus</i> L. ....	35
<b>Figure 18:</b> La CAET des feuilles de <i>C. caeruleus</i> L. de différentes régions.....	36

<b>Figure 19:</b> L'activité antioxydante des rhizomes de <i>C. caeruleus</i> L. de différentes régions en utilisant le test de DPPH•.....	36
<b>Figure 20:</b> L'activité antioxydante des feuilles de <i>C. caeruleus</i> L. de différentes régions en utilisant le test de DPPH•.....	37
<b>Figure 21:</b> Le pouvoir réducteur des feuilles de <i>C. caeruleus</i> L. de différentes régions.....	38
<b>Figure 22 :</b> Le pouvoir réducteur des rhizomes de <i>C. caeruleus</i> L. de différentes régions.....	38
<b>Figure 23:</b> L'AAT des rhizomes de <i>C. caeruleus</i> L. de différentes régions en utilisant le test de phosphomolybdate d'ammonium.....	39
<b>Figure 24:</b> L'AAT des feuilles de <i>C. caeruleus</i> L. de différentes régions en utilisant le test de phosphomolybdate d'ammonium.....	40

**Liste des Tableaux**

**Tableau 1** : Composition phytochimique de *C. caeruleus* L. .... 7

**Tableau 2** : Changement de la photopériode sur le contenu de divers métabolites secondaires..... 15

**Tableau 3** : L'effet de température sur les métabolites secondaires des plantes médicinales présentes dans différentes régions). .... 16

**Tableau 4** : Deux types d'entités oxydantes ou espèces réactives ..... 20

**Tableau 5** : Différents types des antioxydants ..... 25

**Tableau 6** : Les régions des récoltes des rhizomes et des feuilles de cardoncelle bleue..... 27

# *Introduction*

## Introduction

Depuis les temps anciens, l'humanité a essayé de rechercher des médicaments dans la nature, les plantes médicinales et leurs principes actifs étaient un moyen efficace pour soulager les symptômes et même guérir les maladies, ils sont considérés comme l'un des plus importants sources de médicaments, ils existent (Jain 1968). Dans le contexte d'améliorer l'état de santé, les patients des pays développés ont essayé d'utiliser les extraits bruts des plantes médicinales comme source potentielle de molécules naturelles bioactives par plusieurs méthodes d'extractions notamment les extractions conventionnelles et traditionnelles. Ces extractions ont permis de donner plusieurs formes d'extrait telle que les poudres et les liquides a pour but de mesurer leurs activité biologique (antioxydante, antimicrobienne) (Yakhlef, Laroui et al. 2011).

Les plantes médicinales constituent une source importante des molécules bioactives tel que les métabolites secondaires, parmi ces métabolites on trouve les alcaloïdes, les terpénoïdes et les polyphénols, ces derniers sont essentiellement connus par leurs nombreuses activités biologiques, parmi lesquelles : activités antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses et antimicrobienne, ces molécules bioactives ont un rôle très important dans l'élimination des radicaux libres dans l'organisme humaine (Saffidine 2018).

Les radicaux libres étant naturellement produits dans la cellule durant la respiration et le métabolisme, ces espèces sont utiles et bénéfiques en faibles concentrations dans la cellule par l'équilibre entre système peroxydant/antioxydant, leur accumulation excessives dans l'organisme mène au stress oxydatif, ce dernier provoque un dysfonctionnement des macromolécules biologiques (lipides, ADN et protéines) ce qui conduit à l'apparition de plusieurs maladie tel que le cancer, l'hypertension et le diabète (Mouffouk 2019).

Par conséquent, les chercheurs ont essayés de produire de nouveaux agents thérapeutiques à base des plantes médicinales pour prévenir l'apparition de maladies oxydatives, dans ce contexte, *Carthamus caeruleus* L était parmi les plantes médicinales utilisés comme une source riche en molécules bioactives qui présente plusieurs activités biologiques. Notre présent travail de recherche est basé sur l'étude comparative en composés phénoliques et leurs activités antioxydantes entre des différentes régions de récolte de cardoncelle bleue (feuilles et rhizomes). Il est travail est réparti en deux parties :

- L'étude bibliographique de la plante *Carthamus caeruleus L*, les généralités sur les différents phénomènes traités (stress oxydatif, les antioxydants, les radicaux libres), les métabolites secondaires et l'effet des facteurs environnementaux sur les plantes médicinales.
- La deuxième partie est réservée pour l'étude expérimentale on comparant les différentes activités antioxydantes et la teneur en polyphénols entre les plantes récoltées de cardoncelle bleue ya compris les feuilles et les rhizomes.

*Chapitre I : Synthèse  
Bibliographique*

## Chapitre I: Synthèse bibliographique

### I.2. Les plantes médicinales

Depuis plusieurs années et presque dans toutes les cultures, de la civilisation mésopotamienne à nos jours à travers les civilisations chinoise, indienne et arabe. Les plantes médicinales ont toujours occupé une place importante en médecine, l'utilisation de ces derniers connaît un succès croissant, l'histoire a montré que les égyptiens ont constitué la première législation des plantes médicinales en « Pharmacopée » en Chine, L'empereur Chen-Non, fut le premier à étudier la phytothérapie et à dégager de l'expérimentation certains effets thérapeutiques des plantes. En Inde, ces derniers entraient dans la composition de formules magiques, moins destinées directement à soigner qu'à soumettre les forces occultes de la nature (Bounihi 2016).

De nos jours, selon l'Organisation mondiale de la Santé, 80% de la population mondiale dépend principalement de la médecine traditionnelle, la grande majorité des populations se soignent avec des plantes médicinales en dépit de la toxicité des produits chimiques, ceci est dû au coût élevé des médicaments prescrits par la médecine moderne et à l'éloignement et/ou l'insuffisance des centres de santé (Saffidine 2018).

Avec les progrès de la recherche scientifique, il existe plusieurs définitions pour désigner une plante médicinale mais, pour faire simple, le terme désigne une plante ou une partie d'une plante possédant des substances appelées principes actifs, pouvant être utilisés à des fins thérapeutiques sans effets nocifs aux doses recommandées, elles ont un domaine d'application très varié et ils sont très utilisés dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique, parfumerie, agroalimentaire (Djidda and Nait Chalal 2020).

### I.3. La phytothérapie

Le terme de phytothérapie provient du grec *phyton* = plante et *therapeia* = traitement, c'est une médecine traditionnelle ancestrale basée sur l'utilisation des propriétés pharmacologiques naturelles des molécules contenues dans les plantes pour traiter certains troubles fonctionnels et certains états pathologiques de l'organisme (Limonier 2018).

La phytothérapie est passée d'une thérapie basée sur des connaissances empiriques à une thérapie basée sur des données scientifiques vérifiées et contrôlées par l'étude botanique de la plante et de ses principes actifs (Limonier 2018).

Dans ce domaine, les plantes médicinales sont transformées grâce à des techniques (broyage, macération, infusion) en plusieurs formes qui contiennent les substances actives : les tisanes, les sirops, les crèmes et les poudres etc. qui sont à la fin prouvent l'efficacité de ce domaine (Bouzouita 2016). La phytothérapie offre de multiples avantages ou elle évite les effets secondaires grâce aux faibles concentrations et l'usage courant ne provoque que très peu d'effets indésirables.

Il est donc important de préciser que la phytothérapie n'est pas une thérapeutique inoffensive, certaines plantes médicinales sont toxiques, autres plantes contiennent des substances pouvant provoquer des réactions allergiques ou même être à l'origine d'intoxication, ainsi que la connaissance des plantes et le respect de leurs indications sont fondamentaux pour une pratique phytothérapeutique sûre (Bouzouita 2016).

#### **I.4. Importance des plantes médicinales**

La phytothérapie est très certainement la meilleure approche pour prévenir mais aussi pour soigner la majorité de nos maux du quotidien, ces plantes constituent une réponse de choix pour fournir de façon naturelle à l'organisme les substances nécessaires pour maintenir son équilibre vital. De plus, les chercheurs du monde entier s'intéressent à ces végétaux exceptionnels pour définir les liens exacts entre les plantes et leurs vertus ce qui les conduit à conclure que l'effet des plantes médicinales sur la santé humaine varie en fonction de la concentration des principes actifs qu'ils contiennent (Sebai et Boudali 2012).

Ces plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèle pour les composés bioactifs (Sebai et Boudali 2012).

#### **I.5. Etude botanique de la plante *Carthamus caeruleus* L.**

Le genre *Carthamus* comprend environ 18 espèces qui se distribuent de la région méditerranéenne jusqu'en Asie, ce sont des plantes annuelles ou vivaces, le plus souvent très épineuses (Bereksi Reguig 2017). C'est la famille la plus importante des Asteraceae, assez proches des chardons, parmi les espèces les plus communes que l'on retrouve en Algérie on a : *Carthamus caeruleus* L (bouhenni Ikram 2019).

### I.5. 1. Classification phylogénique

La classification botanique est donnée par Saffidine (2018).

**Règne :** Plantae

**Sous règne :** Tracheobionta

**Super division :** Spermatophyta

**Classe :** Magnoliopsida

**Famille :** Asteraceae

**Sous Famille :** Carduoideae

**Genre :** *Carthamus*

**Espèce :** *Carthamus caeruleus* L



**Figure 1:** photographie de *C. caeruleus* L (Belair 2019).

**Etymologie :** *Caeruleus* s'applique aux fleurs « la couleur du ciel ».

**Floraison :** Avril-Juillet

**Habitat :** Champs, terrains incultes, commun partout (Siham 2016).

**Noms vernaculaires :**

**En arabe :** Mers'gousse, Kendjar, Gargaa; **En Kabyle :** Amegres, Thaga elkhla; **En**

**Français :** Cardoncelle bleue, Carthame bleue.

### I.5. 2. Description botanique

*Carthamus caeruleus* L est connue également sous le nom de « Cardoncelle bleue », c'est une herbe annuelle ou bisannuelle vivace, herbacée, à tige dressée et velue, la hauteur de cette plante vivace varie de 20-60 cm, possède au moins 10 feuilles (Siham 2016).

Les feuilles sont coriaces et luisantes, glabres ou pubescentes, les supérieures sont fortement dentées et piquantes, sa période de floraison s'étale de avril à juillet (Abbas, Saeed et al. 2017). En outre les rhizomes de cardoncelle bleue (les organes de réserves) sont composés de racine principale qui évolue horizontalement et des rhizomes secondaires sortent de racine principale évoluent verticalement appelons les tubercules (des tiges souterraine capables de produire des rhizomes extérieures), elles sont traditionnellement utilisées comme crème cicatrisante, ayant pour but de contribuer à guérir les brulures et traiter certains maladies de la peau (Djidda and Nait Chalal 2020). D'autre part, les fleurs sont bleues à corolle tubuleuse, et les fruits sont des akènes (Arroudj Lydia 2017).



**Figure 2:** Partie racinaire et aérienne de *Carthamus caeruleus* L (photographie originale).

### I.5.3. Distribution géographique de Cardoncelle bleue

Le genre *Carthamus* comprend plusieurs espèces dont *C. caeruleus* L est parmi les espèces cultivées, elle se présente dans toutes les régions du monde principalement dans les régions tempérées à l'exception des pôles (Saffidine 2018).

Cette espèce que l'on peut rencontrer dans les terrains maigres du bassin méditerranéen, elle est originaire du sud-ouest de l'Asie mais on peut la trouver au nord de l'Afrique, Amérique et Europe, on la retrouve dans les clairières humides des forêts, les plaines, les bords des ruisseaux, surtout dans les terrains argileux et argilo siliceux, en Algérie, elle se trouve dans les régions côtières méditerranéennes (Tipaza, Annaba, Mostaganem ; Bejaia, Boumerdes, Sidi bel- abbés et Bouira ainsi que dans les hauts plateaux Sétif) (Belabbes 2018).

#### I.5.4. Composition phytochimique du cardoncelle bleue

Selon les études de Ouda, Fatiha et al. 2021, le criblage phytochimique de cardoncelle bleue montre des teneurs élevées en plusieurs composés bioactifs notamment les tannins, les protéines, les stérols et les saponosides ainsi que des teneurs faibles en flavonoïdes et coumarines. :

**Tableau 1** : Composition phytochimique de *C. caeruleus* L (Ouda, Fatiha et al. 2021).

Composé bioactif	Abondance
Tannins	+++
Flavonoïdes	+
Amidon	+
saponosides	+++
Alcaloïdes	-
Glycosides	+++
Mucilages	+++
Coumarines	+
Protéines	+++
Stérols	+++

Les signes suivants indique: (- absence), (+ présence en faible concentration), (++) présence), (+++ présence en concentration élevée).

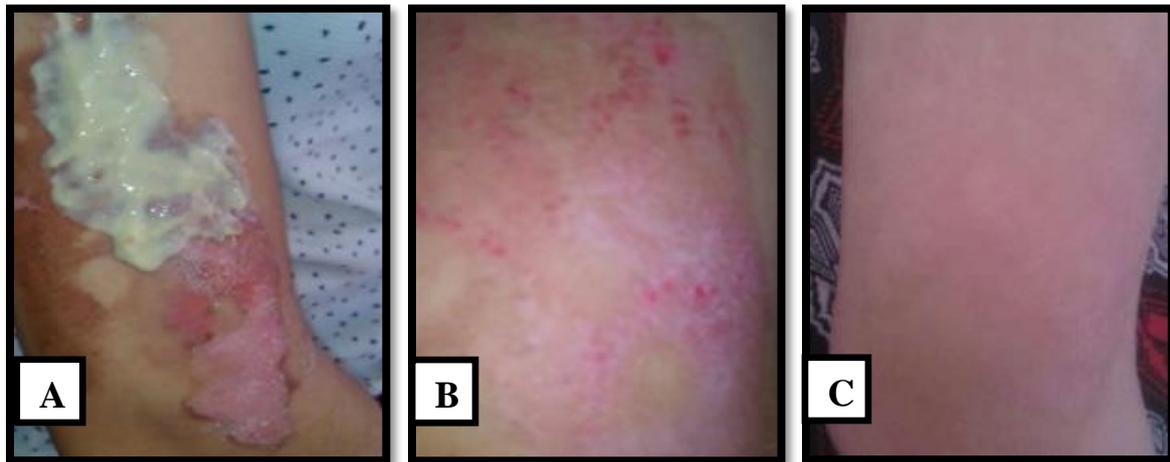
#### I.5.5. Usage Traditionnelle de rhizomes de cardoncelle bleue

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes et leurs effets en fonction de leurs principes actifs, la cardoncelle bleue est très connue dans le nord Algérien notamment en Kabylie, les études ethnobotaniques sur cette plante ont montré que la majorité de la population locale (74,98%) utilisent les rhizomes de cette plante et pas d'autres parties pour la guérison des brûlures de divers degrés (Siham 2016).

Les populations intéressées utilisent les rhizomes de cardoncelle bleue comme crème cicatrisante, soit sous forme de poudre ou de crème préparée dans l'eau, ou dans le lait, la crème obtenue est appliquée directement sur la partie brûlée et des résultats spectaculaires ont été observés chez des personnes traités par cette dernière, elles contribuent à guérir les

brûlures et traiter des maladies de la peau (Djidda and Nait Chalal 2020). En outre *Carthamus caeruleus* L est souvent utilisées contre les inflammations articulaires et s'avèrent très efficaces contre des maladies comme le syndrome du côlon irritable pour les cancéreux (Arroudj Lydia 2017).

L'application traditionnelle de la crème cutanée révèle les photographies suivantes :



**Figure 3:** Photographies montrant les résultats d'un test sur un individu ayant appliqué la crème traditionnelle. A : zone de brûlure ; B : cinquième jour ; C : 15 jours après la brûlure du témoin (Hamadi, Boudif et al. 2014).

Hamadi, Boudif et al. (2014) ont également testé la pommade à base des rhizomes de *Carthamus* sur le bras d'un étudiant. Les photographies prises au niveau de la zone brûlée montrent une régénération progressive du tissu cutané. Après une durée de 15 jours d'application de la crème cicatrisante, la régénération du tissu de la peau était complète. Les mêmes résultats ont été obtenus par (Arroudj Lydia 2017).

## I.6. Métabolite primaire et secondaire

### I.6.1. Métabolite primaire

Métabolites primaires sont des types de métabolites qui exercent une fonction physiologique dans l'organisme, ils sont directement impliqués dans la croissance, le développement et la reproduction normale d'un organisme ou d'une cellule, Ils sont caractérisés par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule, de l'organisme (Vu 2008), les métabolites primaires les plus connues sont:

- Les acides aminés, source primaire de construction des Protéines.
- Les glucides, source d'énergie, paroi cellulaire.

- Les lipides, source d'énergie, membranes cellulaires (Vu 2008).

## I.6.2. Métabolites secondaire

Inversement, les métabolites secondaires ne sont pas directement impliqués dans ces processus physiologiques fondamentaux (indispensables) d'un organisme, mais ils possèdent typiquement une fonction écologique importante (la protection), ils sont importants à la survie de l'espèce, il joue chez celles-ci différents rôles, comme les signaux chimiques permettant à la plante de s'adapter à l'environnement, de moyens de défense contre les herbivores, les pathogènes ou les compétiteurs (Thirumurugan, Cholarajan et al. 2018).

Plus de 2 140 000 métabolites secondaires sont connus et sont généralement classés en fonction de leur grande diversité de structure, de fonction et de biosynthèse, ils sont divisés principalement en trois grandes familles: les poly phénols, les terpènes et les alcaloïdes (Gaci Yasmin 2017).

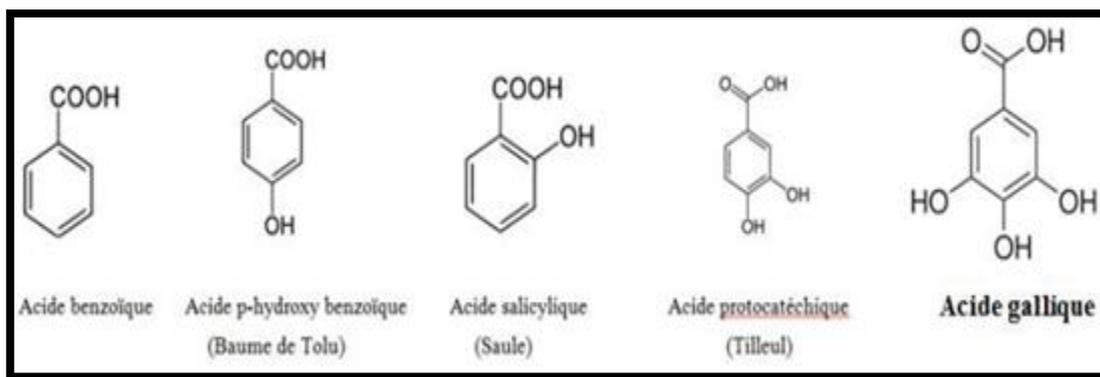
### I.6.2.1. Polyphénols

Les polyphénols constituent un des groupes le plus nombreux et largement distribué des substances dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénolique connues, cependant ils possèdent plusieurs groupement phénoliques avec ou sans d'autres fonctions (hydroxyle, carboxyle, etc....), ils peuvent être subdivisés en plusieurs classes : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les lignines et les tanins (Abbas, Saeed et al. 2017).

#### I.6.2.1.1. Acides phénoliques

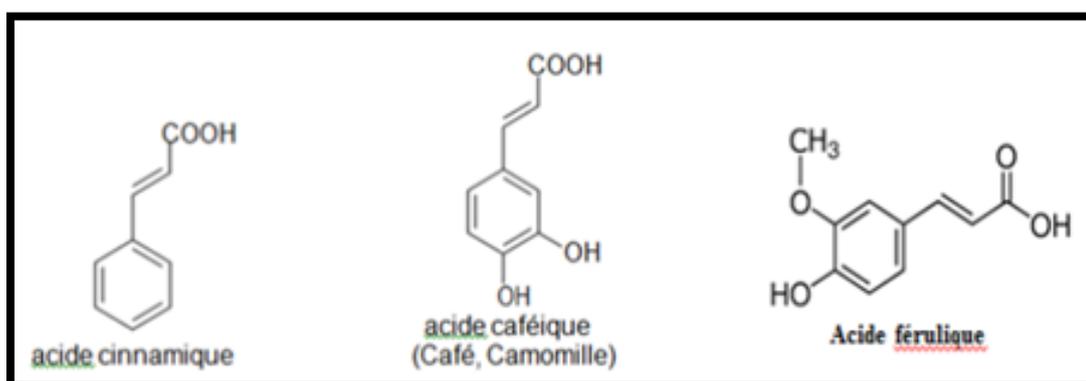
Les acides phénoliques sont les formes les plus simples des composés phénoliques qui possèdent au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ce se sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque ou de l'acide cinnamique (Muanda 2010).

- Les dérivés de l'acide benzoïque ( $C_6 - C_1$ ): Très présent dans le règne végétal soit sous forme libre ou sous forme combinée à l'état d'ester ou d'hétéroside.



**Figure 4:** Les dérivés de l'acide benzoïque (Muanda 2010).

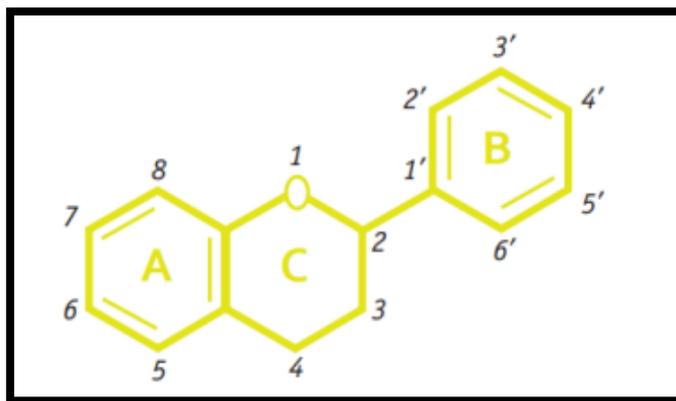
- Les dérivés de l'acide cinnamique ( $C_6 - C_3$ ): ils présentent une distribution très large dans le règne végétal, le plus souvent estérifiés.



**Figure 5:** Les dérivés de l'acide cinnamique (Muanda 2010).

#### I.6.2.1.2. Flavonoïdes

Ce sont des molécules pigmentaires hydrosolubles responsables de la couleur variée des fleurs, des fruits et parfois des feuilles, ils existent plus de 4000 composés identifiés dans le règne végétal, ils présentent une structure chimique commune du diphenylpropane. On distingue différentes structures des flavonoïdes parmi lesquels se trouvent : les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanonols, les flavanes, les flavan - 3-oles, les flavylum, les chalcones, les aurones, les isoflavones, les isoflavonols, les isoflavanes, les ptérocarpanes, les coumaronochromones, les 3-arylcoumarines, les coumestanes et les roténoïdes (Benguerba 2008).



**Figure 6:** Structure de base des flavonoïdes : diphenyle propane constitué de deux noyaux aromatiques, liés par trois atomes carbonés (Benguerba 2008).

#### I.6.2.1.3. Tanins

Ce sont des molécules polaires d'origine végétale ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da, ils existent dans chaque partie de la plante, ils peuvent former des complexes avec les protéines grâce à la présence de plusieurs groupements hydroxyles phénoliques, ils expriment plusieurs activités biologiques tel que l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, antifongique (Aicha 2018).

#### I.6.2.1.4. Lignines

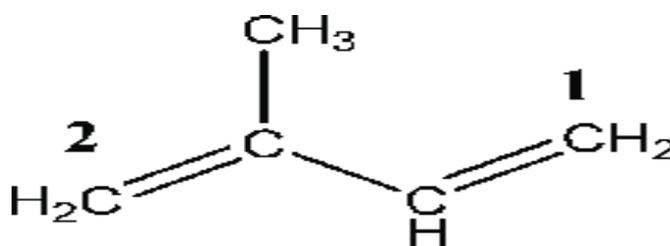
La lignine est un polymère complexe aromatique, hydrophobe, de haut poids moléculaire formé à partir d'unités dérivées de l'acide cinnamique, il présente une formule brute  $(C_6 - C_3)_n$  qui exerce un rôle dans le renforcement des parois végétales et limite fortement la digestibilité des tissus lignifiés (Rakotovelo, Peruch et al. 2019).

#### I.6.2.2. Alcaloïde

Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin, ils présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe, dérivés des acides aminés décarboxylés en amines tels que la tryptophane, la tyrosine etc. et couplés à d'autres squelettes carbonés, caractérisé aussi par une solubilité faible dans l'eau, facilement solubles dans l'alcool et peuvent donner des colorations spécifiques avec certains réactifs chez nombreuses plantes, ils exercent en général de puissante action pharmacologique et se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines, ces substances sont trouvées concentrées dans les vacuoles (Ilihoum, Boukalmouna et al. 2018).

### I.6.2.3. Terpénoïdes

Le terme de terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire soit cyclique soit à chaîne ouverte, construite d'unité isoprénique à 5 atomes de carbone appelé isoprène de formule ( $C_5H_8$ ), ces composés sont majoritairement d'origine végétale appelés hydrocarbures naturels, synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux, ils sont subdivisés selon le nombre d'entité isoprènes en mono terpènes ( $C_{10}H_{16}$ ), en Sesquiterpènes ( $C_{15}H_{24}$ ), en di-terpènes ( $C_{20}H_{32}$ ), et en tétra terpènes ou poly-terpènes ( $C_{40}H_{64}$ ) qui conduisent à la formation des caroténoïdes (Meratate 2016).



**Figure 7:** Structure chimique de l'isoprène (Zeinali, Altarawneh et al. 2016)

### I.6.3 Méthodes d'extraction des métabolites secondaires et primaire

L'extraction solide-liquide est un procédé de transfert de matière entre deux phases, une phase solide, qui contient la substance à extraire et une deuxième phase liquide, le solvant d'extraction. Suite au contact entre le solvant et la matière végétale, les substances ayant une affinité pour le solvant sont solubilisées et passent de la phase solide dans la phase liquide (Dary, Baghdikian et al. 2017). Dans le présent travail, la technique d'extraction de plantes médicinales utilisée était la suivante :

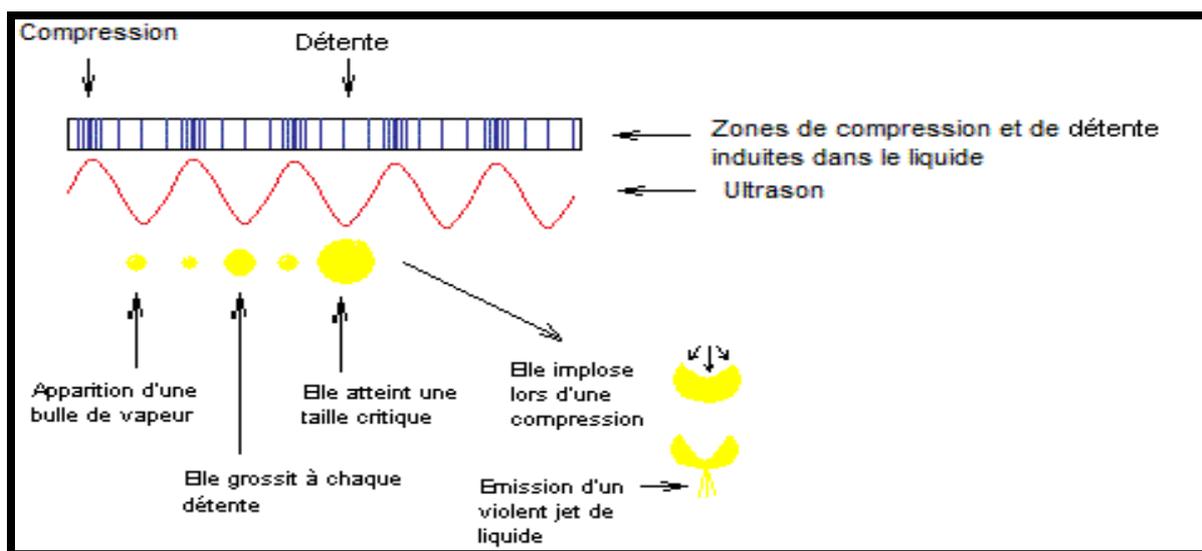
#### I.6.3.1. Extraction assistée par ultrasons (EAU)

C'est une technique émergente qui offre beaucoup de reproductibilité en peu de temps, trois fois plus rapide qu'une extraction simple par solvant (Aliouane 2015). Elle est moderne, simple, efficace, peu coûteuse, et peu consommatrice de solvant et d'énergie (Bouras 2015).

Ce mode d'extraction a pour but d'extraire le maximum de molécules chimiques des feuilles et des rhizomes de *Carthamus caeruleus* L ayant un intérêt thérapeutique, en utilisant un solvant hydro alcoolique ; eau-éthanol 88% (Chebili 2012). Elle utilise des ondes qui sont inaudibles avec des fréquences dans la gamme de 16 KHz–500 MHz, au-dessus de la supérieure de l'audition humaine (Bouras 2015).

Pendant le processus d'EAU, et dans le milieu liquide, la propagation des ondes va générer des cycles successifs de compression (haute pression) et de raréfaction (basse pression) (Naidji 2019). Cette différence de pression va générer des mouvements moléculaires au sein du milieu (Dary, Baghdikian et al. 2017). Dans ces régions de changement de pression, la cavitation se produit et les deux phases provoquent la formation des bulles, ces bulles ont une plus grande surface pendant le cycle de raréfaction (expansion), ces derniers vont croître pendant les phases de raréfaction et diminuer pendant les phases de compression (Dary, Baghdikian et al. 2017). La répétition de ces cycles va conduire à l'implosion des bulles de cavitation, libérant ainsi une grande quantité d'énergie (Khadhraoui 2019).

Les micros cavitations générées par les ultrasons, désorganisent la structure des parois végétales, notamment les zones cristallines cellulosesiques et les ultrasons entraînent de très fortes modifications de la température et de la pression à l'intérieur des bulles, favorisent la diffusion (Louni 2013). Au moment où la dimension critique est atteinte, les bulles implosent comme présenter dans la figure (Meghnem and Sadi 2016).



**Figure 8:** Schéma du phénomène de cavitation produit par l'EAU (Chatel 2018).

L'extraction des substances phytochimiques est appliquée par ce processus en quatre étapes ; dans la première étape, la génération des bulles de cavitations près de la surface de la matrice végétale lors de l'application d'ondes ultrasonores, dans la deuxième étape, les bulles sont effondrés en libérant des micro jets avec pression et température vers la surface, dans la troisième étape, la rupture de la surface de matrice et l'établissement d'un contact direct entre les composants actifs à l'intérieur de la cellule et le solvant, dans la quatrième étape, la libération des composants actifs dans le milieu liquide (Panja 2018).

### **I.6.3.1.1 Paramètres d'extraction**

L'ensemble des paramètres d'extraction notamment ; les caractéristiques des ultrasons (la fréquence et l'intensité), les propriétés du produit (la viscosité et la surface du produit) et de l'environnement, et les conditions ambiantes (la température et la pression) peuvent influencer sur la capacité des ultrasons à provoquer une cavitation (Louni 2013).

#### **a) Solvant d'extraction**

La nature du solvant joue un rôle très important pour pouvoir extraire les molécules d'intérêt, ce dernier doit avoir deux points essentiels : il doit être d'une grande pureté et avoir un faible point d'ébullition pour pouvoir être éliminé facilement en limitant la perte de composés volatils (Bouras 2015). Mais aussi par des paramètres physiques tels que la viscosité, la tension interraciale et la tension de vapeur (Dary, Baghdikian et al. 2017). De préférence, il faut toujours utiliser des solvants ininflammables, non toxiques et non explosifs (Naidji 2019). L'eau et l'éthanol, sont les solvants les plus utilisés pour l'obtention d'extraits d'antioxydants phénoliques

#### **b) Température**

Ce paramètre influence sur les propriétés du solvant, son augmentation induite ; la diminution de la solubilité et la diffusivité dans la solution et la réduction de viscosité, elle produit moins d'énergie de cavitation due à la diminution de la tension superficielle et à l'augmentation de la pression de vapeur, elle peut également affecter la stabilité de certains composés phénoliques (Aliouane 2015). C'est pour cela il est important de choisir une température d'extraction en fonction du composé cible de l'extraction et la contrôler afin d'empêcher la dégradation des composés thermolabiles (Meghnem and Sadi 2016).

### **I.6.3.1.2. Les Avantages d'extraction assistée par ultrasons**

La croissance et le développement de la plante est influence par son environnement, leur survie nécessite la production des métabolites secondaires dans un objectif de protection de la plante contre les agressions extérieurs, les attaques pathogènes et le stress environnementaux, cette production est régulé par plusieurs facteurs biotiques comme les insectes, les champignons, les virus, les bactéries, les nématodes et abiotiques comme la lumière, la température, ainsi que l'eau, la fertilité et la salinité du sol aux quel qu'on peut dire que ces facteurs environnementaux sont décisifs dans la biosynthèse des métabolites secondaires (Li, Kong et al. 2020).

## I.6.4. Effet des facteurs environnementaux sur les molécules bioactives

### I.6.4.1. Les facteurs abiotiques

#### I.6.4.1.1. Lumière

Plusieurs études ont démontré que la durée et l'intensité de la lumière influe la production des métabolites secondaires, par exemple, chez l'espèce *Xanthium*, une courte journée d'exposition à la lumière entraîne une diminution d'environ 40 % des acides caféoylquiniques et même une réduction d'environ le double de la teneur en aglycones flavonoïdes, en outre un ombrage important seulement de 27% de plein soleil peut élever la concentration de camptothécine dans les feuilles de *Camptotheca acuminata* (Yang, Wen et al. 2018).

**Tableau 2 :** Changement de la photopériode sur le contenu de divers métabolites secondaire (Yang, Wen et al. 2018).

Classe de métabolite	Nom du métabolite	Facteur d'environnement	Changement de concentration	Les espèces Végétales
Phénols	Acides caféoylquiniques	Petite journée de lumière	Diminuer	<i>X. pensylvanicum</i>
	Pélagonidine	Petite journée de lumière	Diminuer	<i>P.contorta</i>
	Catéchines	Longue journée de lumière	Augmenter	<i>I.batatas</i>

#### I.6.4.1.2. Température

C'est un facteur très important qui pourrait presque améliorer tous les métabolites secondaires des espèces végétales, des températures plus élevées et plus basses que la température optimale ont un effet négatif sur la croissance et le développement des plantes et un effet positif sur la production des métabolites secondaires, par exemple la concentration totale d'acides phénoliques et d'iso flavonoïdes (Génistéine, daidzéine et génistine) dans les

rhizomes de soja de l'espèce *Glycine max* a augmenté après le traitement à basse température pendant 24 h (Yang, Wen et al. 2018).

**Tableau 3** : L'effet de température sur les sur les métabolites secondaires des plantes médicinales présentes dans différente régions (Pant, Pandey et al. 2021).

Pays	Végétaux	Partie utilisé	Métabolite secondaire	Facteur	Concentration
Allemagne	<i>Duboisia myoporoides R. Br.</i>	Plante entière	Alcaloïde	Température	Augmenter
Brésil	<i>Tithonia diversifolia (Hemsl.) A. Gray</i>	Feuille et tige	Phénol	Température	Augmenter
Iran	<i>Silybum marianum (L.) Gaertn</i>	rhizomes	Silymarine	Température	Diminuer

#### I.6.4.1.3. Stress hydrique

Les stress provoqués par un déficit en eau constituent une menace permanente pour la survie des plantes néanmoins beaucoup d'autre elles produisent des modifications morphologiques et physiologiques qui leur permettent de survivre. Dans ce contexte, plusieurs études ont montré que la teneur en flavonoïdes et en composés phénoliques est élevée dans des conditions de stress hydrique sévère chez les plantes par exemple chez *Artemisia annua* et *Hypericum brasiliense*, la teneur en composés phénoliques (acide botulinique, quercétine, et rutine) a augmenté chez cette plantes en cas de stress hydrique (Al Naser 2018).

#### I.6.4.1.4. Stress salin

La production des métabolites secondaires chez les végétaux est influence par le stress de salinité, une concentration élevée de sel dans le sol provoque un déséquilibre nutritionnel, diminue la photosynthèse, le développement de la plante et l'absorption des nutriments, par exemple la quantité des flavonoïdes chez *Carthamus tinctorius* L est augmentée sous différentes concentrations de Na Cl (50, 100 et 150 mM), la concentration de phénol dans *Plantago ovale forsk* augmente sous différents stress de salinité (25, 50, 100, 200 et 300 mM NaCl) (Pant, Pandey et al. 2021).

#### I.6.4.1.5. Stress lié au CO<sub>2</sub>

Le dioxyde de carbone est considéré comme un facteur important qui touche le développement, la croissance et l'adaptation de la plante dans son environnement ce qui affecte la production des métabolites secondaires, depuis les années 1900, sa concentration a augmenté rapidement de 270 parties par million (ppm) à 407,4 ppm (AK-BHD 2021). Par exemple une étude sur l'espèce *Centella asiatica* L a été faite sous des niveaux de concentration de dioxyde de carbone à 400 et 800  $\mu\text{Mol/mol}$ , une production élevée en flavonoïde a été observée (Siavash Moghaddam, Ibrahim et al. 2017). Une autre étude sur *Hibiscus sabdariffa* L. var. UKMR-2 a augmenté le taux de CO<sub>2</sub> de 400 à 800  $\mu\text{mol.mol}^{-1}$  et a montré une augmentation de la concentration totale en phénol (Ali, Zain et al. 2019).

#### I.6.4.1.6. Rayonnement ultraviolet

Des études en été ont été faites pour prouver que la synthèse et l'accumulation des métabolites secondaires sont strictement contrôlées et influencées par le rayonnement ultraviolet dans les plantes médicinales, par exemple le rayonnement UV visible induit la production des radicaux libres ce qui favorise la synthèse des métabolites secondaires tels que les alcaloïdes et les flavonoïdes absorbant les UV visible (Takshak and Agrawal 2014).

Une autre étude démontre que le niveau de transcription des gènes régulé par les métabolites secondaires est affecté par les rayonnements UV visible par exemple la concentration de flavonols quercétine-4-O-mono glucoside est augmentée avec la dose de UV visible B induisant une augmentation de l'activité des enzymes liées aux polyphénols (phénylalanine ammonialyase et peroxydase) chez *Asparagus officinalis* L (Dudareva, Martin et al. 2003).

#### I.6.4.2. Les facteurs biotiques

Au cours des attaques pathogènes par plusieurs agents biologiques, la plante a développé un système de défense, dans leurs habitats contre insectes, herbivores et plusieurs micro-organismes (par exemple, bactéries, champignons filamenteux et protozoaires), qui établissent de nombreuses interactions avec la plante (Gouvea, Gobbo-Neto et al. 2012).

Les métabolites secondaires produits lors d'une agression sont classés en 03 grands groupes : phytoalexines, phytoanticipines et molécules de signalisation comme l'acide salicylique (Cheynier, Comte et al. 2013). Les phytoalexines sont des composés issus à partir

de phénylpropanoïdes ainsi que de terpénoïde et de polyéthylène, ils sont synthétisés après l'attaque par les microorganismes, les phytoanticipines sont synthétisées dans les plantes avant les attaques des pathogènes, l'acide salicylique est un produit phénolique considéré comme un agent régulateur de la réponse immunitaire qui déclenche une cascade de réponse et signalisation cellulaire, certaines plantes présentent des huiles essentielles, durant l'attaque, elle change la composition et la quantité de ces huiles comme les terpènes (Borges, Minatel et al. 2017).

*Chapitre II :*  
*Les radicaux libres et*  
*le stress oxydatif*

## Chapitre II : Les radicaux libres et le stress oxydative

### II.1. Les radicaux libres

Un radical libre (RL) est une espèce chimique, atome ou molécule, possède un électron célibataire sur sa couche périphérique, extrêmement instable, ce qui leur confère un fort degré de réactivité, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour apparier son électron (Ilihoum, Boukalmouna et al. 2018).

Cependant, la production contrôlée de radicaux apparaît comme un mécanisme essentiel de la signalisation cellulaire qui participe au maintien de l'homéostasie de la cellule, par ailleurs, ils ont été longtemps considérés comme nuisibles, responsables de potentiels dommages à l'ADN, aux protéines et aux lipides (Amari, Bouzouina et al. 2014).

Ces espèces chimiques (ERO) ne sont pas seulement des radicaux destructeurs capables d'attaquer les constituants cellulaires, ce sont également des acteurs majeurs de la régulation métabolique et cellulaire de l'organisme (Favier 2003).

### II.2. Origine des radicaux libres

Lors du métabolisme normal, la réduction tétravalente de l'oxygène en eau se fait en plusieurs étapes successives qui donnent naissance à des intermédiaires potentiellement réduits, appelés radicaux primaires ou espèces réactives de l'oxygène (ERO), car ces entités radicalaires et moléculaires sont beaucoup plus réactives que l'oxygène qui leur a donné naissance (Afonso, Champy et al. 2007).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, les radicaux primaires sont l'ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie (Migdal and Serres 2011). Les autres radicaux libres, qui dits secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule.

Les radicaux libres sont produits continuellement à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule eucaryote par divers mécanismes. On parle donc de deux sources exogènes et endogènes :

#### II.2.1. Sources exogènes

Il provient des facteurs environnementaux, pollutions diverses, produits chimiques ainsi que des contaminations par des métaux lourds ou certaines carences nutritionnelles, tabac, ozone, polluants alimentaires (engrais, additifs), graisses saturées des aliments, excès

de sucres, alcool, drogues, exposition prolongée au soleil et des ultras violet (Ilihoum, Boukalmouna et al. 2018).

### II.2.1. Sources endogènes

La formation des radicaux libres est à l'origine de l'oxygène d'où leur appellation : espèces réactives oxygénées (ERO), les enzymes pro-oxydantes, incluant la NADPH-oxydase, la NO-synthase ou la chaîne du cytochrome P450 peuvent générer des RLO, lors du transport des électrons dans la chaîne respiratoire des cellules aérobies, une réduction incomplète de l'O<sup>2</sup> peut apparaître pour 1 à 2% de l'oxygène moléculaire conduisant à la formation de RLO, surtout l'anion superoxyde O<sub>2</sub><sup>-</sup> (Ilihoum, Boukalmouna et al. 2018).

### II.2.3. Principaux radicaux libres

Les espèces réactives (ER) ou bien les entités oxydantes à l'origine sont des radicaux libres issus de l'oxygène moléculaire, elles représentent la plus importante classe d'espèces réactives générées dans les organismes vivants à cause de l'importance du métabolisme aérobie (Migdal and Serres 2011).

Ces atomes ou groupes d'atomes possédant sur leurs couches ultrapériphériques un ou plusieurs électrons non appariés célibataires qui ne sont pas compensés ce qui provoque des dérèglements dans leur champs magnétiques, c'est ce qui fait ces espèces très instables, puis elles vont tenter de récupérer des électrons sur d'autres molécules comme les substrats biologiques, en les oxydant (Valko, Rhodes et al. 2006).

Il existe majoritairement deux grandes familles d'espèces réactives: les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactives d'azote ERN (Belkhiri 2018).

**Tableau 4 :** Deux types d'entités oxydantes ou espèces réactives (Rao, Kalva et al. 2011).

Espèces radicalaires		Espèces non radicalaires	
Nom	Symbole	Nom	Symbole
Anion superoxyde	O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>	Acide hypochlorique	HOCl
Monoxyde d'azote	NO <sup>•</sup>	Oxygene singulet	<sup>1</sup> O <sub>2</sub>
Radical alkoxyde	RO <sup>•</sup>	Peroxide d'hydrogene	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Radical hydroxyle	OH <sup>•</sup>	Peroxyde organique	ROOH
Radical peroxyde	ROO <sup>•</sup>	Peroxydinitrite	ONOO <sup>-</sup>

D'autre part les ERO produits d'une manière endogène proviennent essentiellement du métabolisme mitochondrial, du peroxysome et du réticulum endoplasmique, les plus couramment rencontrées sont : le radical hydroxyle (O<sub>H</sub><sup>•</sup>), le radical superoxyde (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), le

peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et l'oxyde nitrique ( $NO^*$ ), (le symbole  $\bullet$  indique la présence d'un électron célibataire) (Bounedjah, Hamon et al. 2012).

Elles sont beaucoup plus toxiques que ne l'est l'oxygène lui-même c'est d'où elle vient l'appellation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), cependant le phénomène de stress oxydant est l'origine de dysfonctionnement des systèmes de régulation de l'oxygène et de ces métabolites dont l'importance dans de nombreuses pathologies est maintenant largement démontrée (Gardès-Albert, Bonnefont-Rousselot et al. 2003).

### II.3. Stress oxydant

Le stress oxydant est défini selon Selye 1950: « Il s'agit de réponses de l'organisme aux facteurs d'agressions physiologiques et psychologiques qui nécessitent la mise en jeu de processus d'adaptations », d'autre part, c'est le déséquilibre entre la génération des espèces réactives d'oxygène et la capacité des corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatif (Knasmüller, Nersesyan et al. 2008).

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et la destruction par des systèmes de défenses anti oxydantes donc c'est un déséquilibre de la balance antioxydants/pro-oxydant, l'organisme se trouve alors dans un état de «Stress oxydant » conduisant à de nombreuses pathologies (Ilihoum, Boukalmouna et al. 2018).

Les ERO sont présentes dans la cellule à des doses raisonnables : leur concentration est régulée par l'équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par les systèmes antioxydants (Valko, Rhodes et al. 2006), cependant cette homéostasie redox peut être rompue, soit par une production excessive d'ERO (comme dans le vieillissement ou l'athérosclérose), soit par une diminution des capacités antioxydants (comme chez les personnes souffrant d'obésité et les fumeurs) (Gardès-Albert, Bonnefont-Rousselot et al. 2003). Un tel déséquilibre peut être provoqué de façon régulée par l'activation de systèmes de production d'ERO. La réponse antioxydante est alors efficace pour compenser cette production et le déséquilibre est transitoire (Rao, Kalva et al. 2011).

Le stress oxydant apparaît donc comme un mécanisme ubiquitaire dans lequel de nombreuses réactions physiologiques et pathologiques mettent en évidence une composante radicalaire (Migdal and Serres 2011).

### II.3.1. Effets du stress oxydant sur les biomolécules

Lorsqu'un déséquilibre de niveau des ERO et les antioxydants qui s'apparaisse par l'augmentation de façon anormale la production de ces ERO dans notre organisme. Étant donné que ces ERO sont hautement réactifs, ils induisent à une oxydation de plusieurs molécules biologiques de l'organisme par la transformation de la cellule de l'état normal à un état de « stress oxydatif ». Cette perturbation touche les biomolécules comme les lipides, les protéines, les glucides et l'ADN en provoquant un dysfonctionnement et altération de transports cellulaire, la machinerie enzymatique, l'inhibition de synthèse des protéines et des endommagement à l'ADN (Sharma, Jha et al. 2012).

Les membranes cellulaires sont composées par des acides gras polyinsaturés assurant la fluidité, ces acides contiennent des doubles liaisons sensibles à l'attaque par les  $O_{H*}$  qui réagissent avec l'oxygène pour former un radical pyroxyde  $L_{OO*}$  qui subit un réarrangement. Ensuite, une peroxydation lipidique accrue se produit dans les membranes cellulaires et organites, cette peroxydation perturbe la fluidité membranaire qui conduit inévitablement à la mort cellulaire (Haleng, Pincemail et al. 2007).

De plus, Les ERO présentent un radical hydroxyle capable de couper les liaisons glucidiques en dénaturant les molécules de sucres tels que le glucose, le mannose et le saccharose et faire une liaison avec les protéines provoquant des épaisissements membranaires, ils peuvent provoquer aussi une fragmentation des polymères de glucides comme l'acide hyaluronique. (Pasquier 1995). Par ailleurs, plusieurs espèces radicalaires ( $O_{H*}$ ,  $H_2O_2$ ,  $O^{2-}$ ) réagissent avec différents acides aminés des chaînes de protéines telles que les acides aminés aromatiques le tryptophane, la tyrosine et les acides aminés contenant du soufre tels que la méthionine et la cystéine, cette altération conduit à la formation de liaisons croisées protéine-protéine, entraînant la dénaturation et la perte de fonctionnement des protéines, la perte d'activité enzymatique (Phaniendra, Jestadi et al. 2015).

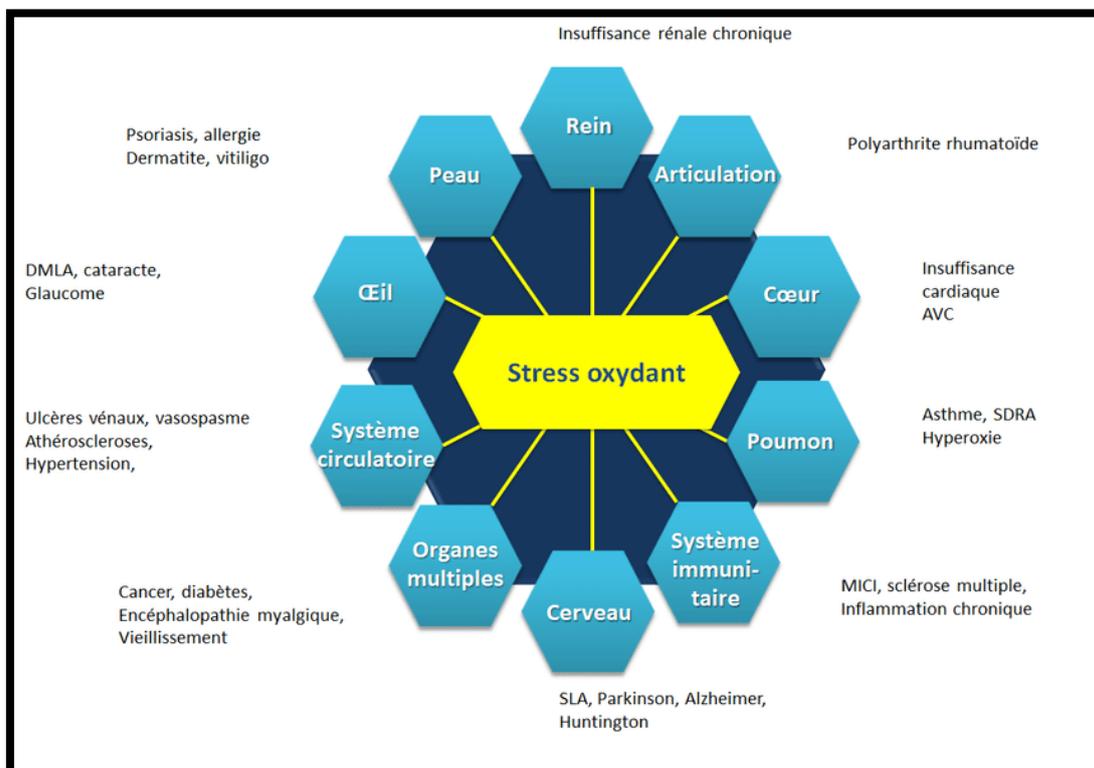
En outre, les ERO peuvent altérer l'ADN mitochondrial et nucléaire, celui-ci est aussi très sensible à l'attaque du radical hydroxyle qui oxyde les constituants de l'ADN tels que les bases puriques et pyrimidiques, le squelette de sucre désoxyribose provoquant des cassures dans la structure de l'ADN et conduisant ainsi la mutagenèse, la cancérogenèse et la mort cellulaires (Bensakhria 2018).

### II.3.2. Pathologies induites par le stress oxydant et leurs conséquences

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (Oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (Bounedjah 2014).

L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique (Bounedjah, Hamon et al. 2012), et la plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydants et augmente la production mitochondriale de radicaux libres (Valko, Rhodes et al. 2006)

Le stress oxydant est aussi l'un des facteurs potentialisant dans l'apparition des maladies plurifactorielles qui sont dues à de nombreux facteurs génétiques et de environnementaux (Favier 2003). Il touche l'ensemble des tissus, des organes et des métabolismes, de ce fait il participe à un grand nombre de pathologies tels que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Favier 2006). Il existe aussi des maladies où le stress oxydant fait partie des facteurs déclencheurs :



**Figure 9:** Pathologie lie au stress oxydatif (Cassagnes 2015).

### II.3.3. Défense contre le stress oxydant

Le stress oxydant étant à l'origine de nombreuses maladies, il semble logique de chercher à le supprimer. Tout d'abord, le stress oxydant est souvent à l'origine des premières anomalies responsables de modifications irréversibles de molécules et de cellules, et ces anomalies se produisent plusieurs années avant l'apparition des signes de la maladie qui sont irréversibles (Migdal and Serres 2011).

On peut envisager sous le titre « d'antioxydants » au sens large, l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de d'inhiber les espèces actives de l'oxygène, par conséquent l'augmentation de l'apport nutritionnel en antioxydants visera donc essentiellement à prévenir ces maladies (Favier 2003).

Enfin, les antioxydants pourront être utilisés pour diminuer la toxicité des médicaments, souvent générateurs de radicaux oxygénés dans leur métabolisme.

### II.4. Les Antioxydants

Comme leur nom l'indique, les antioxydants protègent l'organisme contre l'oxydation. Ces derniers sont définis d'après Slinkard and Singleton (1977) comme des molécules qui diminuent ou empêchent l'oxydation d'autres substances chimiques qui fait partie d'une réaction d'oxydoréduction, qui transfère des électrons d'une substance vers un agent oxydant, les radicaux libres seront produits par cette oxydation vont entraîner par la suite des réactions en chaîne destructrices, par ailleurs, les antioxydants sont capables d'arrêter ces réactions en chaîne en s'oxydant avec les radicaux libres et en inhibant ainsi leur action (Slinkard and Singleton 1977).

Les antioxydants sont aussi définis comme des substances présentes dans les aliments et qui diminuant de façon significative les effets néfastes des espèces réactives de l'oxygène, des espèces oxygénées azotées, ou des deux, ils agissent sur les fonctions physiologiques de l'homme, et considérés comme des substances dont le rôle premier est de prévenir la dégradation induite par la réaction des radicaux libres (Amari, Bouzouina et al. 2014).

Favier 2003 les définit comme des composés qui sont capables de piéger les radicaux libres en captant l'électron célibataire, en les transformant en molécules ou en ions stables. Par conséquent, ils vont réduire le stress oxydatif et leurs paramètres de dommages cellulaires, ils sont classés en antioxydants endogènes qui peuvent être enzymatiques et non enzymatiques et en antioxydants exogènes (Belkhiri 2018).

### II.4. 1. Principaux antioxydants

Selon Djebblahi 2021, il y avait deux sources d'antioxydants: la première est exogène vient par l'alimentation essentiellement comme les fruits et les légumes (antioxydants non enzymatiques), la deuxième est endogène représentée par des enzymes fabriquer par l'organisme (antioxydants enzymatiques).

**Tableau 5 :** Différents types des antioxydants (Ilihoum, Boukalmouna et al. 2018).

<b>Antioxydants endogènes (enzymatiques)</b>	<b>Antioxydants exogènes (non enzymatiques)</b>
<b>Catalase (CAT)</b>	Vitamine C, Vitamine E
<b>Superoxyde dismutase (SOD)</b>	Caroténoïdes
<b>Glutathion peroxydase (GPx)</b>	Composés phénoliques, flavonoïdes
<b>Glutathion réductase (GRx)</b>	Sélénium, zinc, tannins

### II.4.2. Mécanisme d'action des antioxydants

Les antioxydants sont des molécules qui bloquent l'auto-oxydation en inhibant la formation des radicaux libres par plusieurs mécanismes qui incluant :

- Capture des espèces qui initient la peroxydation.
- Chélate les ions métalliques de sorte qu'ils sont incapables de générer des espèces réactives ou de décomposer les peroxydes lipidiques.
- Eteindre l'O<sup>2-</sup> empêchant la formation de peroxydes.
- Briser la réaction en chaîne auto-oxydante et/ou réduire les concentrations localisées d'O<sup>2</sup> (Vaya and Aviram 2001).

D'une façon général, les antioxydants sont des agents de prévention, exemple de dérivés du phénol, un effet d'oxydation des molécules est provient d'une structure de donneur d'atome d'hydrogènes / d'électrons aromatiques, leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire, les antioxydants peuvent capter ou piéger les radicaux libres pour former des produits non radicalaires, d'autres réagissent avec un radical d'acides gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras, c'est le

blocage de la chaîne de peroxydation, ils peuvent aussi absorber l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur (Samiya).

*Chapitre III :*  
*Matériel et méthodes*

## Chapitre III : Matériel et méthodes

Cette partie présente l'ensemble des réactifs, du matériel et des méthodes analytiques utilisés au cours de notre étude.

Ce travail est réalisé au niveau du laboratoire de biochimie (Département de biologie, Université de Bouira), afin d'effectuer une étude comparative de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits des rhizomes et des feuilles de Mers'gousse « مروسقس » *Carthamus caeruleus* L, que nous l'avons amenée de quatre régions climatiques différentes et éloignées les unes des autres d'Algérie (Mostaganem, Lakhdaria, Soug El Khmis, Tizi Ouzou), et pour comparer aussi la différence d'effet de cette activité et savoir si les facteurs environnementaux et climatiques affectent en général l'activité de cette plante. Elle s'est déroulée entre Avril et mai 2022. Le Protocole de notre expérience est schématisée dans la figure suivante :

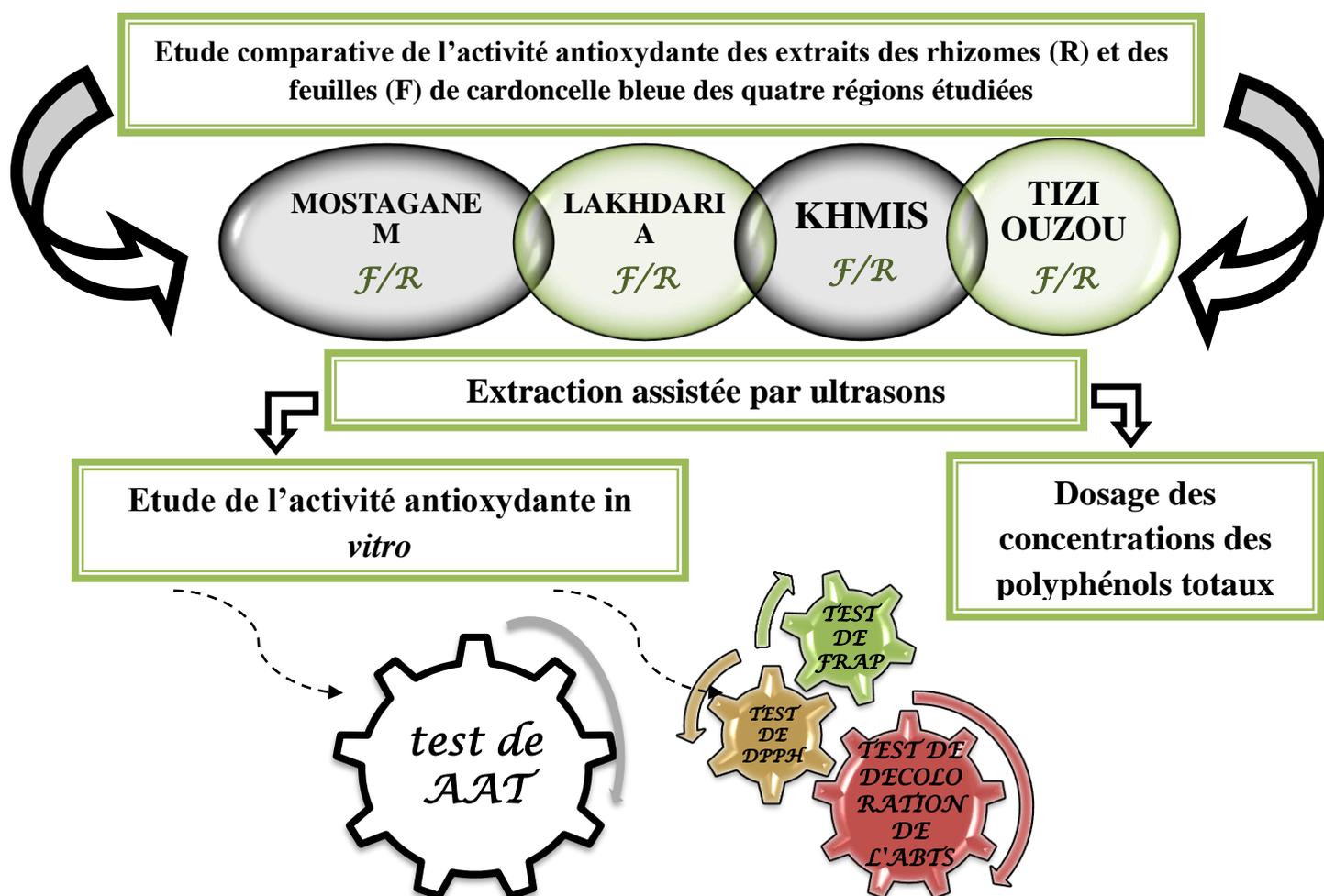


Figure 10: Schéma récapitulatif des protocoles expérimentaux utilisés.

### III.1. Préparation de l'échantillon

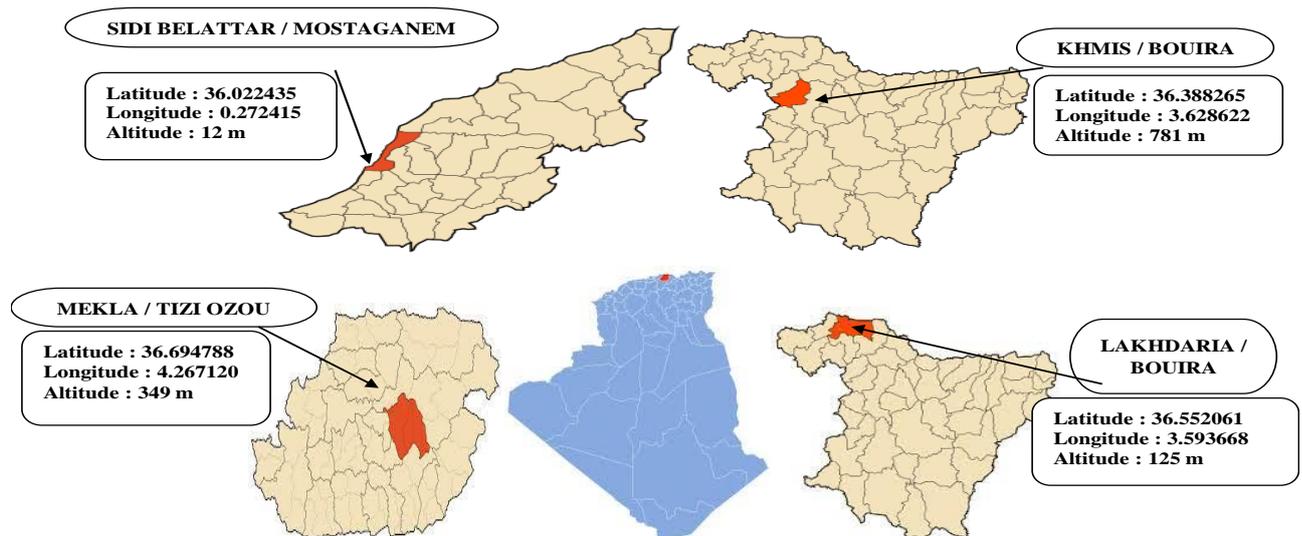
### III.2. Récolte et origine géographique

La Cardoncelle bleue (*Carthamus caeruleus* L) a été recueillies dans les quatre régions suivantes, Mostaganem, Lakhdaria, Khmis et Tizi-Ouzou en Mars 2022. La récolte a été durant la période de floraison, dans son habitat naturel. La situation climatique des régions de la récolte est tracée dans le tableau ci-dessus.

**Tableau 6 :** Les régions des récoltes des rhizomes et des feuilles de cardoncelle bleue.

Région de récolte / Wilaya	Date de récolte	Prévisions météo dans la matinée
<b>Khmis (Kh)/ Bouira</b>	18/03/2022 à 07 : 30 AM	Très nuageux 
<b>Lakhdaria (L) / Bouira</b>	16/03/2022 à 06 : 20 AM	Partiellement nuageux 
<b>Sidi Belattar /Mostaganem (M)</b>	16/03/2022 à 08 : 45 AM	Précipitation 
<b>Mekla / Tizi Ouzou (T)</b>	17/03/2022 à 08 : 00 AM	Pluie légère 

De plus, la localisation géographique des régions de la récolte de rhizome et des feuilles de Cardoncelle bleue est tracée dans la figure 11.



**Figure 11:** Carte géographique représente la récolte de la cardoncelle bleue dans différentes régions

Après la récolte, les deux parties feuilles et rhizomes de *C. caeruleus* L, récolté dans les quatre régions mentionnées dans la figure 11, étaient bien nettoyées avec l'eau courante dans le but d'éliminer toutes les poussières et les impuretés. Après elles étaient lavées avec l'eau distillés, puis séchées à une température de 40 °C à l'étuve jusqu'à la stabilisation de poids (élimination d'eau) des matrices végétales étudiées (figure 12).



**Figure 12:** Ensembles des étapes de lavage et séchage des parties de cardoncelle bleue étudiée (photographie originale)

Les feuilles et les rhizomes séchés ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique en poudre fine pour permettre une meilleure extraction. Après les poudres obtenues par broyage sont tamisées afin d'obtenir des poudres avec des diamètres des particules de 200  $\mu\text{m}$  (figure 13). Ces dernières ont été ensuite conservées dans des flacons en verre couvertes avec du papier aluminium à l'abri de la lumière afin d'éviter la photo-oxydation des substances bioactives de la plante étudiée.



**Figure 13:** Les poudres obtenues des rhizomes et des feuilles de *C. caeruleus* L des quatre régions (photographie original).

### III.3. Extraction assistée par ultrasons (EAU)

L'extraction assistée par ultrasons a été réalisée selon les conditions d'extractions optimales obtenues par Moussa, Dahmoune et al. (2022). pour but d'extraire les composés phénolique totaux des feuilles et des rhizomes de *Carthamus caeruleus* L des régions étudiées. Dans cette étude, 1 g de poudre de chaque partie de région a été mélangé avec 23 ml du solvant (Méthanol 88%), l'extraction a été réalisé dans un bain à ultrasons pendant 26 min à une température de 50 °C. Par la suite, Les extraits méthanoliques obtenues étaient récupérés et filtrés avec un papier Wattman (N° 02) (figure 14). Après la filtration les extraits des rhizomes et des feuilles de Cardoncelle bleue ont été récupérées dans des flacons en verre ombrées, et conservées à 4 °C.

### III.4. Dosage des concentrations des polyphénols totaux (CPT)

Les teneurs en composés phénolique totaux des extraits hydro-méthanoliques des feuilles et des rhizomes de *C.caeruleus* L ont été déterminé par une méthode spectrophotométrique en utilisant le protocole décrit par Georgé, Brat et al. (2005). Brièvement, 125 µL des différentes concentrations des extraits (feuilles (1/40) et rhizomes (1/5) ont été mélangées avec 625 uL de réactif de Folin-Ciocalteu dilué (1/10), après deux minutes d'incubation à l'abri de la lumière, 500 µL d'une solution de carbonate de sodium (7,5%) ont été ajouté. L'absorbance a été mesurée après 30 min d'incubation à l'obscurité à 760 nm.

L'acide gallique comme un standard ( $y = 12,089X + 0,0034$ ,  $R^2=0,99$ ) a été utilisé pour exprimer la teneur en polyphénols des extraits de cardoncelle bleue en mg EAG/g de poudre sèche, (Moussa, Dahmoune et al. 2022). Cette dernière a été calculée selon l'équation suivante :

$$\text{CPT(mg EAG/g)} = \frac{\text{C(mg / mL)} \times \text{V(mL)} \times \text{FD}}{\text{m(g)}}$$

Où **C(mg/mL)** est la concentration de CPT issu de la courbe du témoin de l'acide Gallique, **V (mL)** est le volume de solvant d'extraction, **FD** est le facteur de dilution, **m (g)** est la masse de poudre sèche des feuilles et des rhizomes de cardoncelle bleue.

### III.5. Evaluation de l'activité antioxydante in vitro de cardoncelle bleue

Afin d'évaluer l'activité antioxydante de *Carthamus caeruleus* L, différents tests ont été effectués y compris la capacité antioxydante en équivalent Trolox (CAET), l'activité anti-

radicalaire par les tests de piégeage du DPPH<sup>•</sup> (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) et de l'ABTS<sup>•</sup>, et l'activité antioxydante total par le test de phosphomolybdate d'ammonium.

### III.5.1. Capacité antioxydante en équivalent Trolox (CAET)

La capacité antioxydante en équivalent Trolox des extraits des rhizomes et feuilles de cardoncelle bleue des différentes régions a été réalisée selon le protocole décrit par Dahmoune, Spigno et al. (2014). Brièvement, 75 µL des différentes concentrations des extraits dilués ont été mélangés avec 1425 µL de solution d'ABTS<sup>•</sup> (7 mM d'ABTS et 2,45 mM persulfate de potassium) diluée à une absorbance de  $0,705 \pm 0,02$  à 734 nm. Après 6 min d'incubation à une température ambiante dans l'obscurité, CAET a été mesurée à 734 nm. La capacité antioxydante en équivalent Trolox a été exprimée en mmol ET/g de poudre sèche, en utilisant le standard de TROLOX (0,05 - 0,5 mM), pour tracer la courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en mmol ET/g de poudre sèche selon l'équation suivante :

$$\text{CAET}(\text{mmol ET/g}) = \frac{\text{C}(\text{mmol/L}) \times \text{V}(\text{L}) \times \text{FD}}{\text{m}(\text{g})}$$

Où **C**(mmol/L) est la concentration de CAET issu de la courbe du TROLOX, **V** (L) est le volume d'extraction, **FD** est le facteur de dilution, **m** (g) est la masse de poudre sèche des feuilles et des rhizomes de cardoncelle bleue.

### III 5.2. Activité anti-radicalaire (DPPH<sup>•</sup>) de cardoncelle bleue

L'activité anti-radicalaire des extraits de cardoncelle bleue a été réalisée selon la méthode décrite par Dahmoune, Remini et al. (2015). 1000 µL de solution du DPPH préparée (60 µM) dans le méthanol ont été ajoutée à 100 µL de des extraits des feuilles (1/70 v/v) et des rhizomes (1/3 v/v). Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante la décoloration de la solution par rapport au contrôle contenant 1000 µL de solution de DPPH<sup>•</sup> et 100 µL of méthanol 88 % est mesurée à 517 nm. L'activité anti-radicalaire est estimée en utilisant l'équation suivante :

$$\text{AA}(\%) = \frac{\text{Absorbance de contrôle} - \text{Absorbance de l'extrait}}{\text{Absorbance de contrôle}}$$

### III.5.3. Test de réduction du Fer (PARF)

Le pouvoir réducteur du fer FRAP utilisée pour la mesure de la puissance des substances des extraits à réduire le fer ferrique Fe<sup>3+</sup> en fer ferreux Fe<sup>2+</sup>, cette méthode a été déterminé selon la méthode de Oyaizu (1986). 100µL des extraits méthanoliques des feuilles

(1/70) et des rhizomes (1/5) ont été mélangé à 900  $\mu\text{L}$  de solution contient un tampon d'acétate (0.3mol/l) avec pH de 3,6, TPTZ (10 mmol/l) (2.4.6-Tri (2-pyridyl)-s-triazine) préparé dans HCl de 0.04 mol/l, et  $\text{FeCl}_3$  à 0.02 mol/l (solubilisé dans l' $\text{H}_2\text{O}$ ). Après 4 min d'incubation l'obscurité, l'absorbance des extraits a été calculé à 593 nm, où le pouvoir réducteur des extraits est proportionnel à l'absorbance.

#### III.5.4. L'activité antioxydante totale (phosphomolybdate d'ammonium)

L'activité antioxydante totale des extraits méthanoliques de rhizomes et des feuilles de Cardoncelle bleue récoltées dans différente régions a été réalisée par le test de phosphomolybdate d'ammonium selon le protocole de Prieto, Pineda et al. (1999).

Brièvement, 200  $\mu\text{L}$  de différente extraits méthanoliques de feuilles (1/40) et de rhizomes (1/5) ont été ajoutés à 2 mL du réactif préparer en mélangeant des volumes égaux de chaque réactif préparé séparément compris l'acide sulfurique (0.6 M), phosphate de sodium (28mM) et molybdate d'ammonium (4 mM), les tubes ont été fermés et incubés à 95°C pendant 90 minutes. Après refroidissement à température ambiante, l'absorbance de la solution est mesurée à 695 nm contre un blanc avec en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible. L'activité antioxydante totale (AAT) a été exprimée en mg EAA/g de poudre sèche, en utilisant l'acide ascorbique comme un standard ( $Y = 3.41x - 0.04, R^2 = 0.99$ ) (Moussa, Dahmoune et al. 2022). Cette dernière a été calculée selon l'équation suivante :

$$\text{AAT (mg EAA/g)} = \frac{\text{C(mg / mL)} \times \text{V(mL)} \times \text{FD}}{\text{m(g)}}$$

Où **C(mg / mL)** est la concentration de l'Acide Ascorbique issu de la courbe précédente, **V (L)** est le volume d'extraction, **FD** est le facteur de dilution, **m (g)** est la masse de poudre sèche des feuilles et des rhizomes de cardoncelle bleue.

#### III.6. Analyse statistique

Le logiciel Graph Pad prisme 8.0.2 (263) a été utilisé pour tracer la courbe standard et les graphiques de l'activité antioxydante. Les résultats de différentes expériences sont exprimés en moyenne  $\pm$  Ecart-type. Les droites d'étalonnage sont calculées par la méthode de la régression linéaire. La différence significative entre les différents extraits d'une part et entre l'extrait est déterminée par l'analyse de variance à un facteur (ANOVA) suivie par le test de Tukey pour les comparaisons multiples avec un risque d'erreur  $\alpha$  fixé à 5 % en utilisant le logiciel JMP 13 Pro sas.

# *Chapitre IV : Résultats et Discussion*

## Chapitre IV : Résultats et Discussion

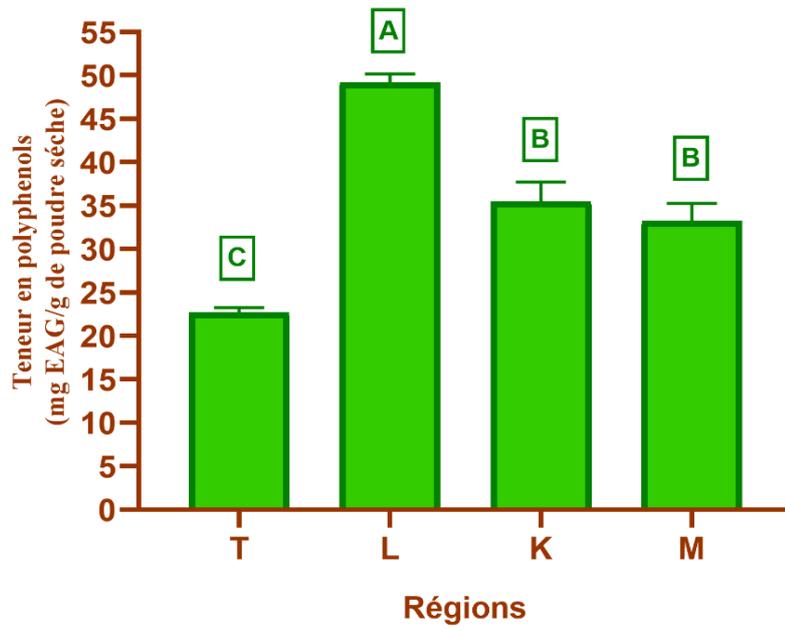
### IV.1. La teneur en polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux a été estimée par la méthode de Folin- Ciocalteu pour chaque extrait des rhizomes et des feuilles de cardoncelle bleue de chaque région de récolte. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g de poudre sèche (mg EAG/g). D'après les résultats obtenus (Figure 15 et 16), il y avait une variabilité significative dans les concentrations en polyphénols totaux dans les extraits des feuilles et des rhizomes des différentes régions.

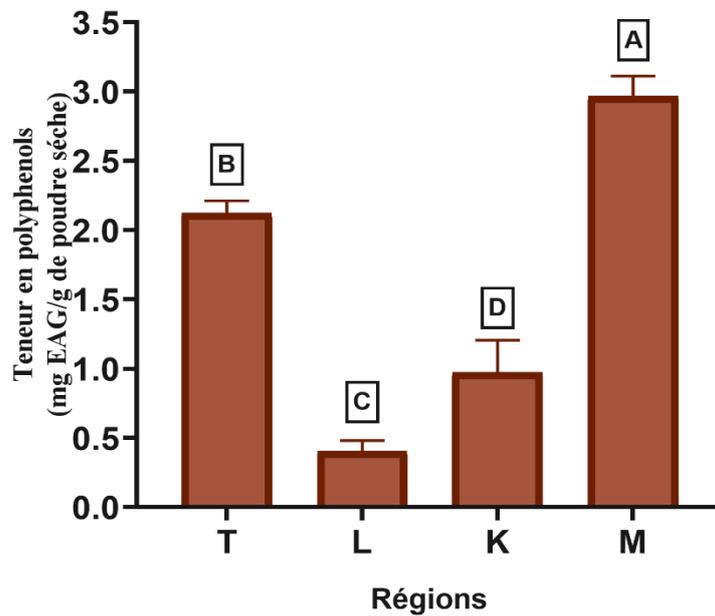
D'après la figure 15, les feuilles de cardoncelle bleue des régions étudiées (T, L, Kh, M) présentent des concentrations très élevées en polyphénols avec une variation importante entre les régions. L'extrait de Lakhdaria montre une concentration élevée des polyphénols (50 mg EAG/g de poudre sèche) par rapport à les autres extraits de Khmis, Mostaganem, et Tizi par opposition, l'extrait de Tizi montre une faible concentration en polyphénols (22 mg EAG/g de poudre sèche), De plus, les concentration en polyphénols des extraits de Khmis et Mostaganem ne montrent aucune différence significative.

Contrairement aux rhizomes (Figure 16), l'extrait de Lakhdaria contient une faible concentration de polyphénols (inférieure à 0,5 mg EAG/g de poudre sèche), et l'extrait de Mostaganem contient teneur maximal en polyphénols (3 mg EAG/g de poudre sèche), suivi par Tizi (2,1 mg EAG/g de poudre sèche), et Khmis (0,9 mg EAG/g de poudre sèche), qui représente une valeur en polyphénols faible à celle de l'extrait de Mostaganem.

Dans toutes les régions étudiées, la concentration des polyphénols des rhizomes sont très faibles par rapport aux extraits méthanoliques des feuilles, avec une différence de 40 mg EAG/g de poudre sèche. En résumé, quantitativement et qualitativement, les feuilles de *Carthamus caeruleus* L. constituent une source substantielle d'antioxydants.



**Figure 14:** Les Polyphénols des feuilles de *C. caeruleus* L. de différentes régions, la lettre T, L, K, M sont le nom des régions récoltées.



**Figure 15:** Les polyphénols des rhizomes de *C. caeruleus* L. de différentes régions, la lettre T, L, K, M sont le nom des régions récoltées.

## IV.2. Evaluation de l'activité antioxydante in vitro des extraits méthanoliques de *C. Caeruleus* L

### IV.2.1. Capacité antioxydante en équivalent Trolox (CAET)

Le cation radical stable d'ABTS est oxydée par l'ajout de potassium persulfate qui lui donne une coloration bleu-vert, la présence des antioxydants neutralise le radical et provoque une décoloration du milieu, par l'apport d'hydrogène ou d'électron au radical (Brand-Williams, Cuvelier et al. 1995).

D'après les résultats observés dans la figure 17, on déduit une variation de l'activité antioxydante des différents extraits des rhizomes contre le radical ABTS, une forte activité (26 mmol ET/g) est aperçue chez les rhizomes de la région de Tizi Ouzou par rapport à d'autres régions étudiés. En outre, dans la région de Bouira, l'extrait des rhizomes de Khmis montre une activité très faible (12 mmol ET/g), par rapport a celle de l'extrait de Lakhdaria qui présente une valeur de (22 mmol ET/g).

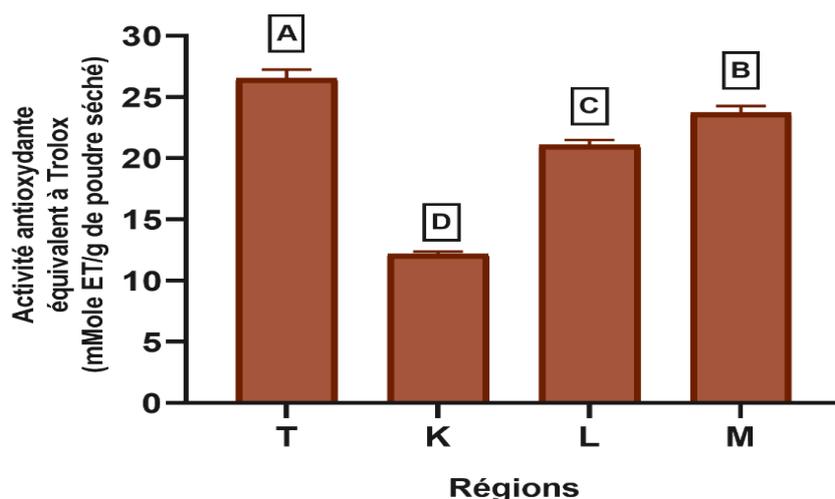
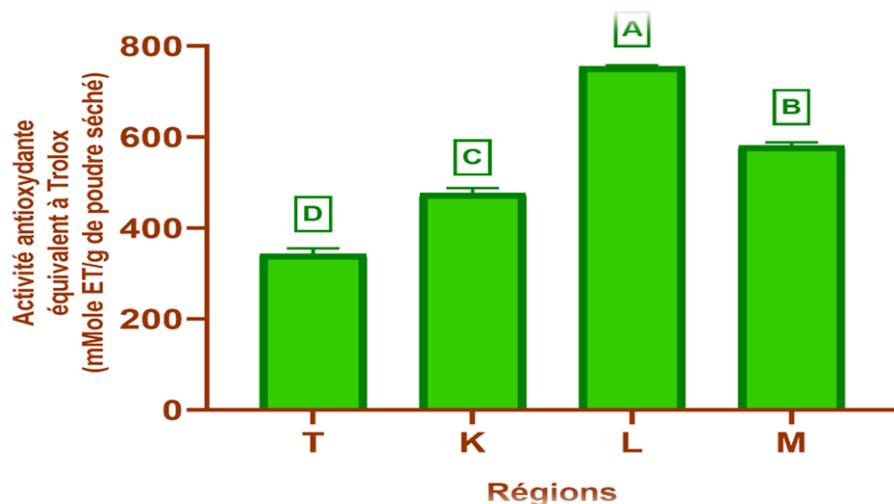


Figure 16: La CAET des rhizomes de *C.caeruleus* L.

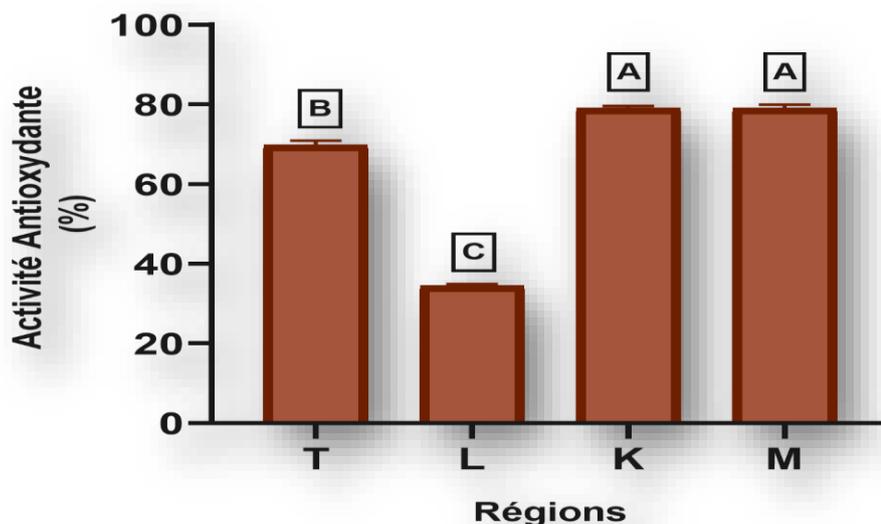
Parallèlement on déduit une variation très significative de l'activité antioxydante des différents extraits des feuilles contre le radical ABTS (figure 18), une forte activité (700 mmol ET/g) est aperçue chez les feuilles de la région de Lakhdaria par rapport à d'autres régions étudiés. De plus, la région de Tizi Ouzou montre la plus faible activité (350 mmol ET/g) contre ce radical. Notamment, l'extrait des feuilles de Mostaganem montre une activité intéressante (500 mmol ET/g), et similaire a celle de l'extrait de Khmis qui présente une valeur de (450 mmol ET/g).



**Figure 17:** La CAET des feuilles de *C. caeruleus* L. de différentes régions.

#### IV.2.2. Activité anti radicalaire des extraits de cardoncelle bleue contre le radical DPPH•

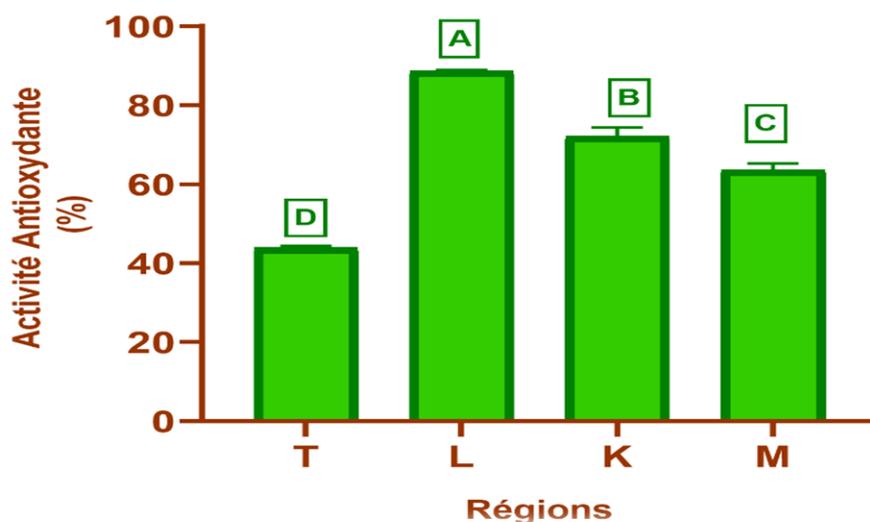
La méthode de piégeage du radical libre DPPH• est utilisée pour comparer le pouvoir antioxydant des extraits méthanoliques des rhizomes et des feuilles de *C. caeruleus* L (figures 19 et 20). Selon les résultats obtenus dans la figure 19, les extraits des rhizomes ont marqués une activité anti-radicalaire importante (78 %) dans les deux régions de Khmis et Mostaganem qui ne montre aucune différence significative entre eux. De plus, il ya une différence hautement significative entre les deux régions de Tizi Ouzou et Lakhdaria qui présentent une activité anti-radicalaire de 70 % et 30 % respectivement.



**Figure 18:** L'activité antioxydante des rhizomes de *C. caeruleus* L. de différentes régions en utilisant le test de DPPH•.

D'autre part, les résultats obtenus dans la figure 20 montrent l'activité anti-radicalaire des extraits des feuilles de cardoncelle bleue. Tous les extraits des régions étudiés présentent une différence significative dans lesquels les extraits de Lakhdaria, Khmis, Mostaganem et Tizi Ouzou possèdent une activité anti-radicalaire de 85 %, 70 %, 65 %, et 42 % respectivement.

L'extrait de la région de Lakhdaria possède le pourcentage d'inhibition le plus élevé contrairement à l'extrait de la région de Tizi Ouzou qui présente l'activité la plus faible de piégeage du radical DPPH•.



**Figure 19:** L'activité antioxydante des feuilles de *C. caeruleus* L. de différentes régions en utilisant le test de DPPH•.

#### IV.2.3. Test de Pouvoir anti oxydant par Réduction du Fer (PARF) des extraits de cardoncelle bleue

D'après les résultats obtenus dans les figures 21 et 22 qui représentent le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des feuilles (1/70) et des rhizomes (1/5) des différentes régions, il y avait une variabilité très significative des absorbances des extraits des feuilles et des rhizomes des différentes régions (la meilleure absorbance exprime la meilleure activité et montre le meilleur pouvoir réducteur). D'après la figure 21, l'extrait des feuilles de Lakhdaria montre une meilleure absorbance (Abs = 0.90), suivi par Khmis (Abs = 0.79) et Mostaganem (Abs = 0.68), l'extrait de Tizi contient la plus faible absorbance (Abs = 0.45).

La figure 22 montre le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des rhizomes de cardoncelle bleue dans lequel l'extrait de Mostaganem montre une meilleure absorbance A=1.02, suivi par Tizi A=0.90 et Khmis A=0.78, l'extrait de Lakhdaria contient la plus faible

absorbance  $A=0.60$ . Dans toutes les régions étudiées, le pouvoir réducteur des extraits de feuilles est élevé par rapport aux extraits méthanoliques des rhizomes, ces résultats montrent que la qualité et la quantité des antioxydants résident dans les feuilles est très importante en comparaison avec les rhizomes.

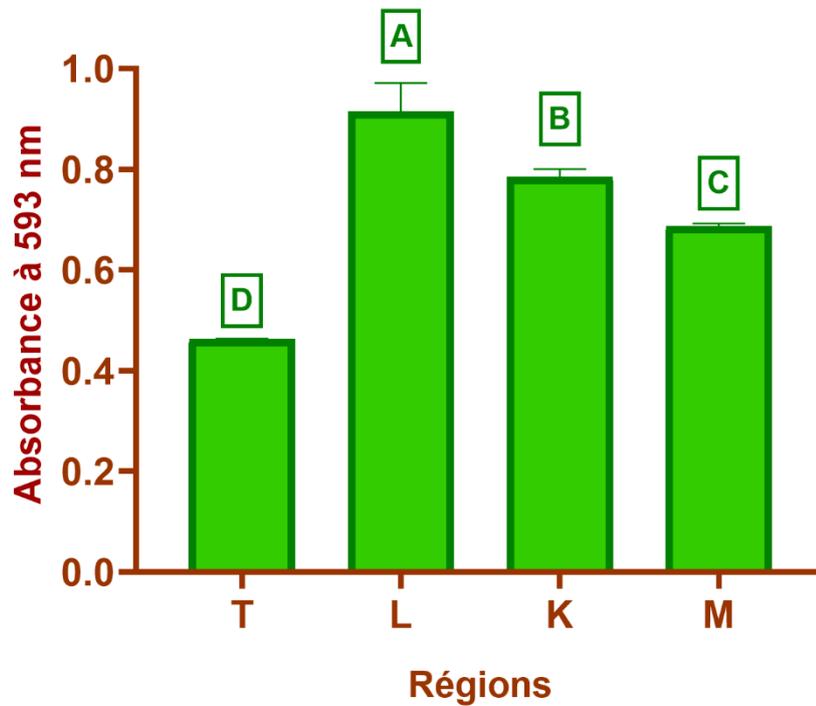


Figure 20: Le pouvoir réducteur des feuilles de *C. caeruleus* L. de différentes régions.

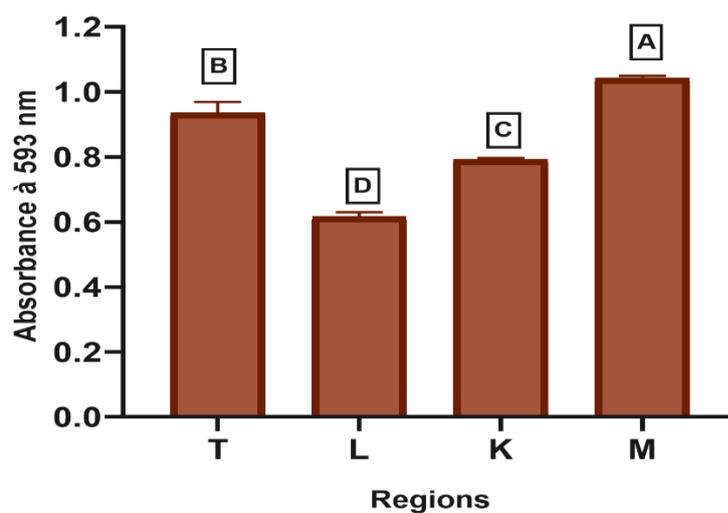
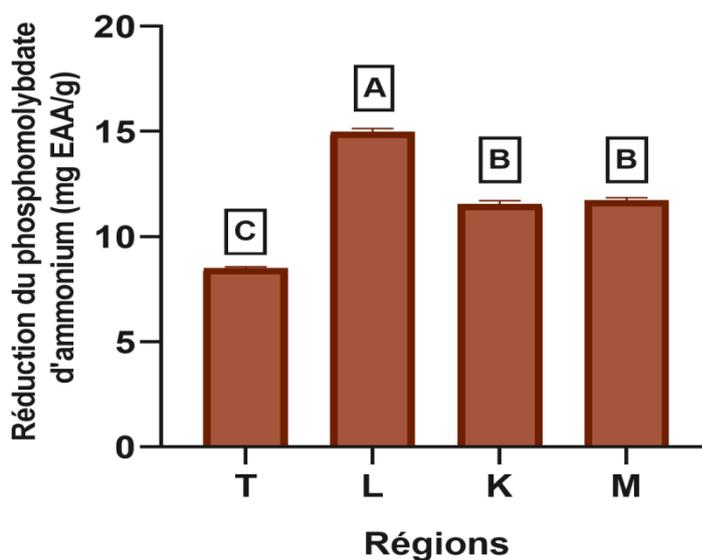


Figure 21 : Le pouvoir réducteur des rhizomes de *C. caeruleus* L. de différentes régions.

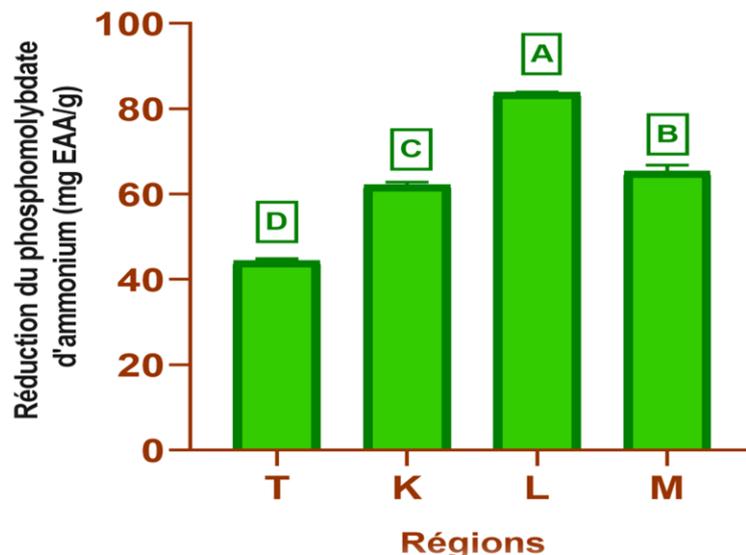
#### IV.2.4. Activité antioxydante totale par le phosphomolybdate d'ammonium des extraits étudiés

La méthode du phosphomolybdate permet la détection de l'activité antioxydante totale par l'apparition du couleur vert, il est basé sur la réduction de  $\text{Mo}^{+6}$  à  $\text{Mo}^{+5}$  (Baig et al. 2011), et les résultats sont décrits dans les figures 23 et 24.

D'après les figures 23 et 24, on constate qu'il existe une même tendance dans l'activité antioxydante totale des extraits des feuilles et des rhizomes de cardoncelle bleue, dans lequel l'extrait de Lakhdaria exprime la meilleur activité par rapport aux d'autres extraits. L'extrait de la région Tizi montre la plus faible activité. En comparant les deux parties de la plante, les extraits de feuilles illustre une activité totale par rapport aux extraits des rhizomes.



**Figure 22:** L'AAT des rhizomes de *C. caeruleus* L. de différentes régions en utilisant le test de phosphomolybdate d'ammonium.



**Figure 23:** L'AAT des feuilles de *C. caeruleus* L. de différentes régions en utilisant le test de phosphomolybdate d'ammonium.

### IV.3. Discussion des résultats obtenus

La différence de l'activité antioxydante (ABTS, DPPH•, PARF, AAT) et de la concentration des polyphénols des extraits des différentes régions chez *Carthamus caeruleus* L est expliquée par l'influence de différentes variables environnementales sur la production et l'accumulation des polyphénols et leurs activités antioxydantes chez la cardoncelle bleue.

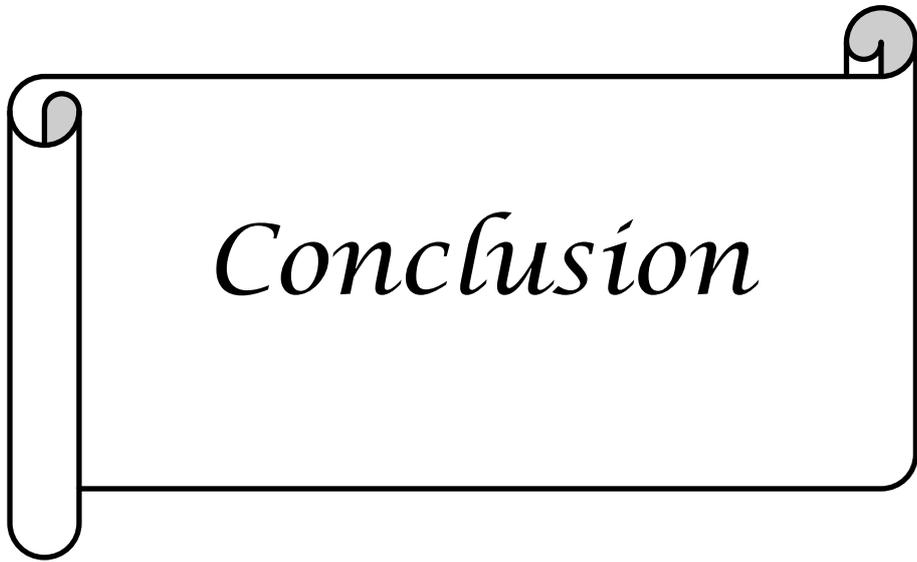
Plusieurs études ont fournis de nombreuses preuves pour démontrer les réponses diversifiées et changeantes de divers métabolites secondaires de plantes à différents stress environnementaux chez *Juniperus horizontalis*, la teneur en composés terpéniques est réduite lorsque le milieu est enrichi en éléments minéraux (Said-Al Ahl, Hasnaa et al. 2009). L'étude de Al Naser (2018) a appliqué de différents facteurs environnementaux sur *Inula Montana* tels que l'irrigation avec différents volumes en NaCl de concentration 50 mM, limitation de l'éclairage de 80% par un filet d'ombrage, les teneurs variables en eau et fertilisation du sol. Cette étude est réalisée sur quatre plantes récoltés de l'espèce *Inula Montana* pendant 15 jours, les résultats obtenus ont montré que les plantes de la même espèce cultivées dans un environnement différent ont une concentration et activité différente d'un métabolite secondaire particulier (Al Naser 2018). D'autres études notamment Wasli, Zaouia et al. (2022) ont fait des cultures en plein champ sur des feuilles de carthame soumises à une lumière optimale ( $250 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) ou à une condition de faible intensité lumineuse ( $125 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), les résultats obtenus ont montrés une augmentation de teneur des

polyphénols et des flavonoïdes ainsi que les activités antioxydantes sont améliorés (Wasli, Zaouia et al. 2022). D'autre part, des hautes températures ont un effet positif sur l'accumulation des produits phénolique (Toor, Savage et al. 2006), l'augmentation de celle-ci peut être due a la réponse au stress induit par la température (Toor, Savage et al. 2006)). Asami, Hong et al. (2003) ont suggéré qu'un stress abiotique et biotique pendant une plantation organique peut augmenter le contenu de polyphénols.

D'autre part, la différence de capacité antioxydante des extraits des plantes à piéger les radicaux libres pourrait être expliquée par la variation en composés phytochimique et son changement lors des stades de croissance des plantes. Szöllösi and Varga (2002) ont trouvés que les plantes médicinales collectées dans les mois de floraison qui correspond au juin et juillet, ont enregistré une forte activité due à l'accumulation des acides phénoliques qui peut expliquer les résultats obtenus dans cette étude.

De plus, la structure chimique de ces composés est éminente pour l'activité anti radicalaire des produits phénolique, elle est dépendante au nombre des groupements hydroxyles et l'effet stérique (Leja, Mareczek et al. 2007) qui affecte la structure chimique, ainsi que la position de la fonction hydroxyle et la substitution nucléophile, la stabilisation des radicaux phénoxyles résultantes influence ce pouvoir (Mathiesen, Malterud et al. 1997).

Ce qui est plus intéressant, c'est que le stress environnemental peut sélectivement améliorer le contenu de plusieurs métabolites secondaires dans les plantes soit en augmentant la concentration/activité biologique soit en les diminuant dans les feuilles et les rhizomes. On peut donc déduire que la synthèse de certains molécules bioactifs telles que les polyphénols peut être altérée par divers facteurs environnementaux (Wasli, Zaouia et al. 2022). Ce qui suggère que cette relation n'est pas seulement spécifique à la cardoncelle bleue, mais également liée à des facteurs abiotiques telles que la température, le dioxyde de carbone, l'altitude, la lumière et le sol (Verma and Shukla 2015) et à des facteurs biotiques notamment les insectes, les herbivores et plusieurs micro-organismes (par exemple, bactéries, champignons filamenteux et protozoaires) (Ashraf, Iqbal et al. 2018). L'ensemble de ces facteurs interagissent entre eux et sur la cardoncelle bleue pour produire des variables teneur en polyphénols et d'autres métabolites ayant pour but de protéger et d'aide la cardoncelle à s'adapter.



*Conclusion*

### Conclusion

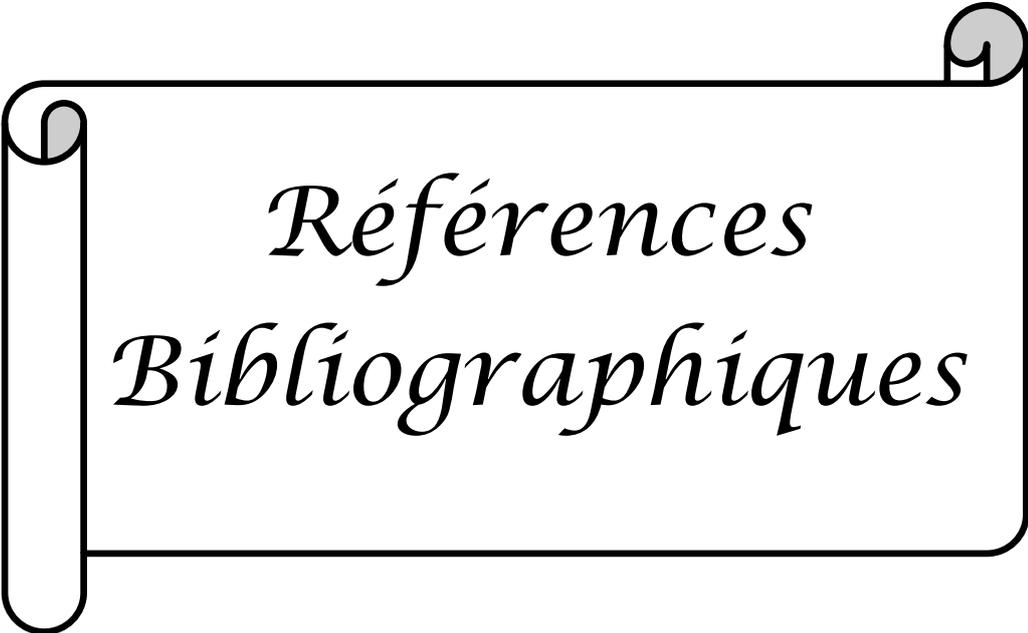
Les bénéfices attribués aux plantes médicinales dans les traitements traditionnels datent de longtemps, elles sont actuellement sujettes à des recherches approfondies pour l'identification des bioactifs pharmacologiques et l'établissement d'un lien concret pour leurs effets thérapeutiques.

Le choix porté sur l'espèce étudiée, *Carthamus caeruleus* L est justifié par son utilisation en pharmacopée traditionnelle, pour sa capacité à cicatrifier les brûlures et les plaies par les populations locales, et principalement pour son pouvoir antioxydant. Dans le but d'extraire des molécules à intérêt thérapeutique, nous nous sommes intéressés à valoriser cette plante répandue en Algérie : *Carthamus caeruleus* L. En effet, les bactéries, les champignons et essentiellement les radicaux libres sont à l'origine de réels problèmes de santé publique à cause de leur implication dans de nombreuses maladies. D'après les recherches bibliographiques répertoriées, la plante étudiée possède un potentiel antioxydant très important et pourrait être exploitée comme une source d'agents antioxydants naturels pour traiter les maladies pathologiques liées au stress oxydant. L'analyse de l'activité antioxydante *in vitro* par différents tests a montré une activité anti radicalaire importante de l'extrait poly phénolique. Les résultats de ces tests ont révélé une capacité antioxydante variable entre les extraits méthanoliques des quatre plantes. Dans ce contexte, le présent travail a contribué à l'extraction de principes actifs de *Carthamus caeruleus* par la méthode d'extraction assistée aux ultrasons. Quantitativement et qualitativement, les feuilles de *Carthamus caeruleus* L constituent une source substantielle d'antioxydants.

En perspectives, il serait vital d'apporter des informations supplémentaires sur les caractères avantageux de la *C.caeruleus* L d'une façon palpable et perceptible, avant de s'en servir dans la médecine actuelle et les traitements des maladies.

D'autres facettes intéressantes et utiles à explorer et étudier serait

- ✓ Réaliser des expériences *in vitro* ainsi que *in vivo* pour s'assurer sur l'absence de manifestation de la toxicité chez l'homme.
- ✓ L'identification des métabolites secondaires responsables de l'activité antioxydante trouvés chez la cardoncelle bleue afin de les isoler pour l'incorporer dans des démarches thérapeutiques éventuelles.



*Références  
Bibliographiques*

Références bibliographiques

A

- Abbas, M., F. Saeed, et al. (2017).** "Natural polyphenols: An overview." International Journal of Food Properties 20 (8): 1689-1699.
- Afonso, V., R. Champy, et al. (2007).** "Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales." Revue du rhumatisme 74 (7): 636-643.
- Aicha, M. (2018).** "Caractérisation phytochimique et évaluation des activités biologiques de *Cleome arabica*."
- Ak-bhd, M. (2021).** "WMO Greenhouse gas bulletin." World Meteorological Organization: Geneva, Switzerland.
- Al Naser, O. (2018).** Effet des conditions environnementales sur les caractéristiques morpho-physiologiques et la teneur en métabolites secondaires chez *Inula montana*: une plante de la médecine traditionnelle Provençale, Université d'Avignon.
- Ali, S. A. M., C. R. C. M. Zain, et al. (2019).** "Influence of elevated CO<sub>2</sub> on the growth and phenolic constituents production in *Hibiscus sabdariffa* var. UKMR-2." Jurnal Teknologi 81 (3).
- Aliouane, F. (2015).** Etude de l'extraction du limonène à partir des écorces d'orange, UMMTO.
- Amari, N. O., M. Bouzouina, et al. (2014).** "Phytochemical screening and antioxidant capacity of the aerial parts of *Thymelaea hirsuta* L." Asian Pacific journal of tropical disease 4 (2): 104-109.
- Arroudj Lydia, Z. C. (2017).** "Evaluation des activités biologiques d'une plante médicinale locale *Carthamus caeruleus* L."
- Asami, D. K., Y.-J. Hong, et al. (2003).** "Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices." Journal of agricultural and food chemistry 51 (5): 1237-1241.
- Ashraf, M. A., M. Iqbal, et al. (2018).** "Environmental stress and secondary metabolites in plants: an overview." Plant metabolites and regulation under environmental stress: 153-167.

B

- Belabbes, R. (2018).** Recherche de nouveaux principes actifs présents dans cinq plantes de la famille des Astéracées, Corte.
- Belair, G. d. (2019, 17.04.2016).** "l'herbier de Gérard de Belair." from <http://gdebelair.com/index.html>.
- Belkhiri, F. (2018).** Activité antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales: *salvia verbenaca* et *Lepidium sativum*.
- Benguerba, A. (2008).** "Etude phytochimique et de la phase butanolique de l'espèce *inula crithmoides* L."
- Bensakhria, A. (2018).** "Le stress oxydatif." Toxicologie générale: 70-86.
- Bereksi Reguig, Y. (2017).** "Interactions Entre L'huile Essentielle De *Thymus Capitatus*, *Mentha Piperita* Et *Carthamus Caeruleus* L, Et De Leur Composants Majoritaires: Effet Du Synergisme Ou D'antagonisme Sur L'activité Antioxydante." Tlemcen University, Algeria.
- Borges, C. V., I. O. Minatel, et al. (2017).** Medicinal plants: Influence of environmental factors on the content of secondary metabolites. Medicinal plants and environmental challenges, Springer: 259-277.
- bouhenni Ikram, B. I. (2019).** Evaluation d'activité anti-inflammatoire du *Carthamus caeruleus* L « Etude in vivo –chez les souris NMRI », Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.
- Boundedjah, O. (2014).** Mécanismes d'assemblage des granules de stress dans des conditions de stress oxydatif et osmotique, Evry-Val d'Essonne.
- Boundedjah, O., L. Hamon, et al. (2012).** "Macromolecular crowding regulates assembly of mRNA stress granules after osmotic stress: new role for compatible osmolytes." Journal of Biological Chemistry 287 (4): 2446-2458.
- Bounihi, A. (2016).** Criblage phytochimique, Étude toxicologique et valorisation pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentha rotundifolia* (Lamiacées).
- Bouras, M. (2015).** Etude comparative et optimisation de prétraitements des écorces de bois pour l'extraction des composés phénoliques, Compiègne.
- Bouzouita, K. (2016).** Phytovigilance: enquête auprès des pharmaciens officinaux d'Oujda.
- Brand-Williams, W., M.-E. Cuvelier, et al. (1995).** "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity." LWT-Food science and Technology 28 (1): 25-30.

C

- Cassagnes, L.-E. (2015).** Cycle redox quinone-quinone réductase 2 et conséquences sur la production d'espèces oxygénées réactives dans le contexte cellulaire, Université Paul Sabatier-Toulouse III.
- Chatel, G. (2018).** Milieux et méthodes d'activation non-conventionnels en chimie verte: réactivités, mécanismes et applications en chimie fine et pour la valorisation de biomasses végétales et de déchets, COMUE Université Grenoble Alpes.
- Chebili, S. (2012).** Extraction et caractérisation des alcaloïdes quinolizidiniques de *Cytisus triflorus* l'Hérit et l'étude de leurs activités antimicrobienne et antioxydante, Université de Boumerdès-M'hamed Bougara.
- Cheyrier, V., G. Comte, et al. (2013).** "Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology." Plant Physiology and Biochemistry **72**: 1-20.

D

- Dahmoune, F., H. Remini, et al. (2015).** "Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from *P. lentiscus* L. leaves: Comparative study of artificial neural network (ANN) versus degree of experiment for prediction ability of phenolic compounds recovery." Industrial Crops and Products **77**: 251-261.
- Dahmoune, F., G. Spigno, et al. (2014).** "*Pistacia lentiscus* leaves as a source of phenolic compounds: Microwave-assisted extraction optimized and compared with ultrasound-assisted and conventional solvent extraction." Industrial Crops and Products **61**: 31-40.
- Dary, C., B. Baghdikian, et al. (2017).** "Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive alkaloids from *Stephania cambodica* using response surface methodology." Comptes Rendus Chimie **20** (11-12): 996-1005.
- Djeblahi, M. (2021).** Evaluation in vitro des activités antioxydante, antidiabétique et anti-Alzheimer des extraits naturels d'une plante de la famille des Apiaceae, Université Mohamed Boudiaf-M'sila.
- Djidda, A. and L. Nait Chalal (2020).** Extraction de biomolécules actives à partir d'une plante médicinale: *Carthamus caeruleus* L., Université Mouloud Mammeri.
- Dudareva, N., D. Martin, et al. (2003).** "Biosynthesis in Snapdragon: function and expression of three terpene synthase genes of a new terpene synthase subfamily." Plant Cell **15**: 1227-1241.

F

- Favier, A. (2003).** "Le stress oxydant." L'actualité chimique **108** (10): 863-832.

**Favier, A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. Annales pharmaceutiques françaises, Elsevier.

### G

**Gaci Yasmin, L. 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. Master, Boumerdas.

**Gardès-Albert, M., D. Bonnefont-Rousselot, et al. (2003).** "Espèces réactives de l'oxygène." L'actualité chimique: 91.

**Georgé, S., P. Brat, et al. (2005).** "Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products." Journal of agricultural and food chemistry 53 (5): 1370-1373.

**Gouvea, D. R., L. Gobbo-Neto, et al. (2012).** "The influence of biotic and abiotic factors on the production of secondary metabolites in medicinal plants." Plant bioactives and drug discovery: principles, practice, and perspectives 17: 419.

### H

**Haleng, J., J. Pincemail, et al. (2007).** "Le stress oxydant." Revue médicale de Liège 62 (10): 628-638.

**Hamadi, F., K. Boudif, et al. (2014).** "Caractérisation d'une préparation semi-solide traditionnelle antibrûlure." Phytothérapie 12(3): 149-155.

### I

**Ilihoun, R., I. Boukalmouna, et al. (2018).** "Comparaison des activités biologiques des feuilles et racines de *Thymelaea hirsuta*."

### J

**Jain, S. K. (1968).** Medicinal plants, National Book Trust, India.

### K

**Khadhraoui, B. (2019).** éco-extraction assistée par ultrasons des plantes médicinales: mécanisme (s), intensification et industrialisation, Avignon.

**Knasmüller, S., A. Nersesyan, et al. (2008).** "Use of conventional and-omics based methods for health claims of dietary antioxidants: a critical overview." British Journal of Nutrition 99 (E-S1): ES3-ES52.

### L

**Leja, M., A. Mareczek, et al. (2007).** "Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species." Food Chemistry 100 (1): 237-240.

**Li, Y., D. Kong, et al. (2020).** "The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants." Plant Physiology and Biochemistry **148**: 80-89.

**Limonier, A.-S. (2018).** "La phytothérapie de demain: les plantes médicinales au cœur de la pharmacie."

**Louni, M. (2013).** Extraction, caractérisation physico-chimique et microbiologique de l'huile essentielle de clou de girofle, UMMTO.

#### M

**Mathiesen, L., K. E. Malterud, et al. (1997).** "Hydrogen bond formation as basis for radical scavenging activity: a structure–activity study of C-methylated dihydrochalcones from *Myrica gale* and structurally related acetophenones." Free radical biology and medicine **22** (1-2): 307-311.

**Meghnem, R. and A. C. Sadi (2016).** Extraction de l'huile essentielle à partir du déchet d'agrume (Orange).

**Meratate, F. (2016).** Détermination structurale et évaluation biologique des substances naturelles bioactives, Université de m'sila.

**Migdal, C. and M. Serres (2011).** "Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant." médecine/sciences **27** (4): 405-412.

**Mouffouk, C. (2019).** Évaluation des activités biologiques et étude de la composition chimique de la plante Scabiosa stellata L., Université de Batna 2.

**Moussa, H., F. Dahmoune, et al. (2022).** "Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic-saponin content from *Carthamus caeruleus* L. rhizome and predictive model based on support vector regression optimized by dragonfly algorithm." Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems: 104493.

**Muanda, F. N. (2010).** "Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques." Université Paul Verlaine-Metz: 238.

#### N

**Naidji, B. (2019).** Influence de la pression sur le phénomène de cavitation en milieu liquide ionique sous irradiation ultrasonore basse fréquence, Université Bourgogne Franche-Comté.

#### O

**Oyaizu, M. (1986).** "Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine." The Japanese journal of nutrition and dietetics 44 (6): 307-315.

**P**

**Panja, P. (2018).** "Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials." Current Opinion in Food Science 23: 173-182.

**Pant, P., S. Pandey, et al. (2021).** "The influence of environmental conditions on secondary metabolites in medicinal plants: a literature review." Chemistry & Biodiversity 18 (11): e2100345.

**Pasquier, C. (1995).** "Stress oxydatif et inflammation." Revue française des laboratoires 1995(276): 87-92.

**Phaniendra, A., D. B. Jestadi, et al. (2015).** "Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases." Indian journal of clinical biochemistry 30 (1): 11-26.

**Prieto, P., M. Pineda, et al. (1999).** "Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E." Analytical biochemistry 269(2): 337-341.

**R**

**Rakotovelo, A., F. Peruch, et al. (2019).** "Lignine: structure, production et valorisation chimique." Edition TI ref. article: in 235: 33.

**Rao, P. S., S. Kalva, et al. (2011).** "Free radicals and tissue damage: Role of antioxidants." Free radicals and antioxidants 1 (4): 2-7.

**S**

**Saffidine, K. (2018).** Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *carthamus caeruleus* L. et de *plantago major* L.

**Said-Al Ahl, H., S. Hasnaa, et al. (2009).** "Effect of potassium humate and nitrogen fertilizer on herb and essential oil of oregano under different irrigation intervals." Journal of Applied Sciences 2(3): 319-323.

**Samiya, B.** "Etude phytochimique et activité biologique des parties aériennes (feuilles, fleurs et brindilles) de *Thymelaea hirsuta*."

**Sebai, M. and M. Boudali (2012).** "La phytothérapie entre la confiance et la méfiance." Mémoire professionnel infirmier de la sante publique. Institut de formation paramédical CHETTIA (Algérie).

**Selye, H. (1950).** "Stress and the general adaptation syndrome." British medical journal 1(4667): 1383.

**Sharma, P., A. B. Jha, et al. (2012).** "Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions." Journal of botany 2012.

**Siavash Moghaddam, S., R. Ibrahim, et al. (2017).** "Effects of gamma stress and carbon dioxide on eight bioactive flavonoids and photosynthetic efficiency in *Centella asiatica*." Journal of Plant Growth Regulation 36 (4): 957-969.

**Siham, B. (2016).** "Activité antioxydante et analyse chimique des acides gras et des insaponifiables de *Carthamus caeruleus* L."

**Slinkard, K. and V. L. Singleton (1977).** "Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods." American journal of enology and viticulture 28 (1): 49-55.

**Szöllősi, R. and I. S. I. Varga (2002).** "Total antioxidant power in some species of Labiatae: Adaptation of FRAP method." Acta Biologica Szegediensis 46 (3-4): 125-127.

#### T

**Takshak, S. and S. á. Agrawal (2014).** "Secondary metabolites and phenylpropanoid pathway enzymes as influenced under supplemental ultraviolet-B radiation in *Withania somnifera* Dunal, an indigenous medicinal plant." Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 140 : 332-343.

**Thirumurugan, D., A. Cholarajan, et al. (2018).** "An introductory chapter: secondary metabolites." Second metab—sources Appl: 1-21.

**Toor, R. K., G. P. Savage, et al. (2006).** "Influence of different types of fertilisers on the major antioxidant components of tomatoes." Journal of Food Composition and Analysis 19 (1): 20-27.

#### V

**Valko, M., C. Rhodes, et al. (2006).** "Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer." Chemico-biological interactions 160 (1): 1-40.

**Vaya, J. and M. Aviram (2001).** "Nutritional antioxidants mechanisms of action, analyses of activities and medical applications." Current Medicinal Chemistry-Immunology, Endocrine & Metabolic Agents 1(1): 99-117.

**Verma, N. and S. Shukla (2015).** "Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites." Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants 2 (4): 105-113.

**Vinatoru, M. and T. J. Mason (2018).** "Ultrasons dans le traitement des aliments."

**Vu, T. D. (2008).** Effects of biotic and abiotic environmental parameters for *Datura innoxia* Mill. tropane alkaloid in soilless cultures

Effet de l'environnement sur la croissance et l'accumulation de métabolites secondaires chez *Datura innoxia* Mill. cultivé en conditions hors sol ; impact des facteurs biotiques et abiotiques, Institut National Polytechnique de Lorraine.

**W**

**Wasli, H., S. Zaouia, et al. (2022).** "Responses of *Carthamus tinctorius* at Two Development Stages to Low Light Intensity (LLI): Changes on Phenolic Metabolites and Related Antioxidant Activities." Journal of Stress Physiology & Biochemistry 18 (2): 72-83.

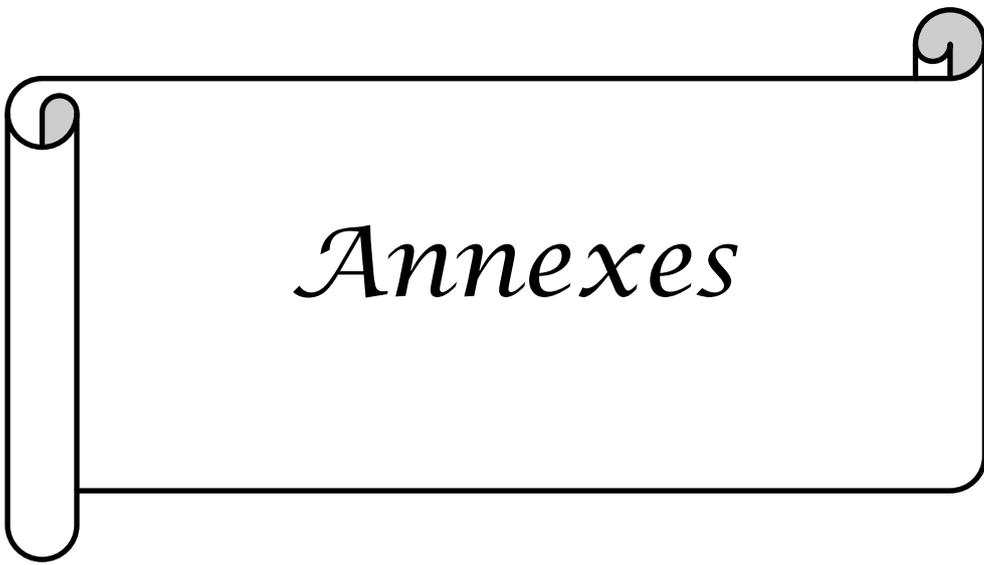
**Y**

**Yakhlef, G., S. Laroui, et al. (2011).** "Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle." Phytothérapie 9 (4): 209-218.

**Yang, L., K.-S. Wen, et al. (2018).** "Response of plant secondary metabolites to environmental factors." Molecules 23 (4): 762.

**Z**

**Zeinali, N., M. Altarawneh, et al. (2016).** "New mechanistic insights: Why do plants produce isoprene?" Acs Omega 1 (2): 220-225.



*Annexes*

## I. Réactifs chimiques et appareillage

### 1.1. L'appareillage

L'appareillage utilisé durant les expériences est représenté dans le tableau ci-dessous

<b>Appareils</b>	<b>Références</b>
<b>Ultrasons</b>	JP SELECTA S A, 611898, Spain
<b>Bain marie</b>	MEMMERT WNB22, L519.0937, Germany
<b>Vortex</b>	Nahita, C84181, 50681500
<b>Etuve</b>	MEMMERT, B319.0656, Germany
<b>Balance électronique</b>	OHAUS, px85, B937268868, USA
<b>Réfrigérateur</b>	Christ, D-37520, 22645, Germany
<b>Autoclave</b>	Wise Clave, Wac-80, S/N.0400930108R001, Korea
<b>Broyeur électrique</b>	Moulinex, AR110510, France
<b>Agitateur magnétique</b>	Stuart, SB162, R600002574, PRC
<b>Spectrophotomètre UV-visible</b>	Optima, SP-3000nano, 5T5701-143132-00, Japan

## I.2. Produits chimiques

Différents réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans les expériences. Le tableau ci-dessous représente ses derniers :

<b>réactifs chimiques et solvants</b>	<b>Formule chimique</b>
<b>Méthanol 88%</b>	$\text{CH}_3\text{OH}$
<b>DPPH</b>	$\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$
<b>ABTS</b>	$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}_4$
<b>Potassium persulfate</b>	$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$
<b>Phosphate de sodium monobasique monohydraté</b>	$\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$
<b>Phosphate de sodium dibasique dodecahydraté</b>	$\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{12H}_2\text{O}$
<b>Ferricyanure de potassium</b>	$\text{C}_6\text{N}_6\text{FeK}_3$
<b>Acide trichloroacétique</b>	$\text{C}_2\text{HC}_l_3\text{O}_2$
<b>Chlorure de fer</b>	$\text{FeCl}_3$
<b>L'acide sulfurique</b>	$\text{H}_2\text{SO}_4$
<b>Phosphate de sodium</b>	$\text{Na}_3\text{PO}_4$
<b>Molybdate d'ammonium tetrahydraté</b>	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$

## Résumé

*Carthamus caeruleus* L a été largement utilisé pour traiter plusieurs pathologies dues au stress oxydatif. Ce travail s'intéresse à la comparaison des composés phénoliques totaux et la capacité antioxydante des rhizomes et des feuilles de *Carthamus caeruleus* des quatre régions d'Algérie (Mostaganem, Tizi-Ouzou, Khemis, Lakhdaria). Les composés phénoliques totaux ont été extraits par l'extraction assistée par ultrasons (EAU) en utilisant le méthanol à 88 % comme solvant d'extraction. La capacité antioxydante des extraits obtenus de différentes régions a été évaluée en utilisant le test de décoloration de DPPH•, ABTS•, pouvoir réducteur (PARF) et de l'activité antioxydante totale (AAT) en utilisant phosphomolybdate d'ammonium. D'après les résultats obtenus, l'extrait de feuilles de Lakhdaria a montré une forte concentration en polyphénols (50 mg EAG/g), et une capacité antioxydante supérieure aux autres régions sélectionnées (700 mmol ET/g). De plus, l'extrait de rhizome de Mostaganem a montré une concentration élevée en composés phénoliques (3 mg EAG/g), une capacité antioxydante contre le radical DPPH• (78 %) et un pouvoir réducteur ferrique, tandis que l'extrait de rhizome de Tizi-Ouzou a montré une capacité antioxydante élevée contre l'ABTS• (26 mmol ET/g), et l'extrait de rhizome de Lakhdaria a présenté une AAT élevée par rapport aux autres extraits. De plus, les extraits de feuilles ont montré des composés phénoliques totaux et une capacité antioxydante plus élevés que les extraits des rhizomes de différentes régions étudiées. Selon les résultats obtenus, les facteurs environnementaux de différentes régions affectent de manière significative la biosynthèse des composés phénoliques et antioxydants de *Carthamus caeruleus*.

**Mots-clés :** Extraction assistée par ultrasons, *Carthamus caeruleus*, polyphénols, Activité antioxydante.

### الملخص :

تم استخدام *Carthamus caeruleus* على نطاق واسع لعلاج العديد من الأمراض الناتجة عن الإجهاد التأكسدي. يركز هذا العمل على مقارنة مجموع المركبات الفينولية والقدرة المضادة للأكسدة لجذور وأوراق قرطاس كيرولويوس من أربع مناطق في الجزائر (مستغانم ، تيزي وزو ، الخميس ، الأخضرية). تم استخلاص المركبات الفينولية الكلية عن طريق الاستخلاص بمساعدة الموجات فوق الصوتية باستخدام ميثانول 88 ٪ كمذيب استخلاص. تم تقييم القدرة المضادة للأكسدة للمستخلصات التي تم الحصول عليها من مناطق مختلفة باستخدام •DPPH ، •ABTS ، قوة مضادات الأكسدة الرجعية PARF و نشاط مضادات الأكسدة الكلية (AAT) باستخدام فوسفوموليبيدات الأمونيوم وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها ، أظهر مستخلص أوراق الأخضرية تركيزاً عالياً من مادة البوليفينول (50 mg EAG/g)، وقدرة مضادة للأكسدة تفوق المناطق المختارة الأخرى (700 mmol ET/g). بالإضافة إلى ذلك ، أظهر مستخلص جذور مستغانم تركيزاً عالياً من المركبات الفينولية (3 mg EAG/g)، وقدرة مضادة للأكسدة ضد •DPPH (78 %) وقوة الاختزال الجذري والحديدي بينما أظهر مستخلص جذور تيزي وزو قدرة عالية من مضادات الأكسدة ABTS (26 mmol ET/g) . وأظهر مستخلص جذور الأخضرية نسبة عالية من AAT مقارنة بالمستخلصات الأخرى. علاوة على ذلك ، أظهرت مستخلصات الأوراق وجود مركبات الفينولية الكلية وقدرة مضادة للأكسدة أعلى من مستخلصات جذور من مناطق مختلفة تمت دراستها. وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها ، فإن العوامل البيئية للمناطق المختلفة تؤثر بشكل كبير على التخليق الحيوي للمركبات الفينولية ومضادات الأكسدة في *Carthamus caeruleus*.

**الكلمات المفتاحية :** الاستخلاص بمساعدة الموجات فوق الصوتية ، القرطاس البارد ، البوليفينول ، الفعالية المضادة

للأكسدة.