

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie des Populations et des Organismes

Mémoire de fin d'Etudes en Vue d'Obtention du Diplôme de Master en Biologie

Option : Phytothérapie et Santé

Thème

Caractérisation et étude de quelques effets pharmacotoxicologique des extraits de Cardoncelle bleue (*Carthamus cearuleus* L.)

Présenté par :

LARBI ABDESSAMEUD AMINA

Soutenue : Le 09/ 06/2016

Devant le jury :

M^{me} CHERIF H. S.

MCB

USDB1

Présidente

M^{me} BRADIA M.S.

MCA

USDB1

Examinatrice

M^{me} GHANAI R.

MAA

USDB1

Promotrice

2015-2016

RESUME

Notre étude a porté sur certaines propriétés des rhizomes d'une plante appartenant à la famille des Asteraceae : *Carthamus caeruleus* L. ; récoltée dans la région de Tipaza durant le mois d' Avril , connu localement par le nom de «Magress gress».

Un screening phytochimique, une extraction d'huile essentielle ainsi qu'une étude pharmacologique portant sur l'activité antioxydante et la toxicité aigüe ont été réalisés.

Le screening phytochimique des rhizomes de *Carthamus caeruleus* L. a révélé sa richesse en métabolites secondaires à savoir, les glucosides, les anthocyanes, les flavonoïdes les tanins, les alcaloïdes. Les anthocyanes sont absents.

L'extraction des huiles essentielle des rhizomes de *Carthamus caeruleus* par hydrodistillation a donné un rendement en HE de **0.009 %**.

L'étude du pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux par la méthode de DPPH a montré qu'il a une activité non négligeable pour l'extrait aqueux avec une **IC50** égale à **2,51µg/ml** .

Sur le plan toxicologique ,les résultats ont montré que l'infuse préparé à base du rhizome de « *Carthamus caeruleus* L. » est toxique avec une **DL₅₀** égale à **0.5g/kg**.

Mots clefs :

*Carthamus caeruleus*L. , screening phytochimique, activité antioxydante , toxicité aigüe , huile essentielle.

ABSTRACT

Our present study related to some properties of the rhizomes of a plant belonging to the family of the asteraceae : *Carthamus caeruleus* L.; collected in the area of Tipaza during the season of spring, known locally by the name of “Magres sgress”.

A screening phytochimic and extraction of essential oils (HE) as well as a pharmacological study relating to the antioxidant activity and toxicity a study were carried out.

The screening phytochimic of the rhizomes s of *Carthamus caeruleus* L revealed its wealth of secondary metabolites: glucosides, tannins,alkaloids, flavonoïdes and reduct sugar are present ,but the antocyanes are absent .

The hydrodistillation of the rhizomes give a HE yield of **(0.009 %.)**.

The study of the antioxydant capacity using an aqueous extract and an methanolic extract by the method of DPPH showed that the of rhizoms s of *Carthamus caeruleus* L. Presents an antioxidant activity which remains weak (**IC₅₀ = 2.51µm**), compared with that given by the Ascorbic acid.

The toxicological results showed that infuses based on rhizome '*Carthamus caeruleus* L. is toxic wich that the DL50 equal **(0.5g / kg)**.

Key words:

Carthamus caerulusL., screening phytochimic, antioxydant , toxicity.

ملخص

ان دراستنا الحالية تهتم ببعض الخصائص لجذور نبتة تنتمي الى عائلة Asteraceae وهي *Caereulus* *Carthamus* التي قطفت من منطقة تيبازة في ربيع العام الجاري و هي معروفة، بالعامية في الجزائر ب:"مغرس غرس".

لقد تم العمل على التحاليل الفيتوكيميائية و الصيدلانية هذه الاخيرة التي تشمل الخصائص المضادة للاكسدة، وتحاليل السمية.

تثبت تحاليل الفيتوكيمياء لجذور نبتة *Carthamus cereulus* انها غنية جدا بالمركبات

الثانوية: Coumarines, glucosides, Flavonoides, tanins, alcaloides, كما انها خالية تماما من

Anthocuanes

ان استخلاص الزيوت الطيارة من جذور نبتة القرطم بتقنية التقطير بجهاز من نوع (كلفنجر) اعطت مردود (0.09%).

لقد تم قياس النشاط المضاد للاكسدة عن طريق تقنية الجذر الحر لمستخلص مائي لجذور القرطم و التي اعطت نشاط غير **IC50** قدر (2,51 µg/ml) مهمل .

ان تحاليل السمية لجذور نبتة القرطم اثبت انها سامة ومن خلال تجاربنا قدرت جرعة السمية (0.5 مغ/كغ).

الكلمات المفتاحية

Carthamus cearuleus, نبات القرطم ، التحليل الفيتوكيميائي ،الزيوت الطيارة،تحاليل السمية ، النشاط المضاد للأكسدة

DEDICACES

*A mes chers parents, de leur confiance, encouragement et de
leur sacrifice durant toute ma vie*

Je souhaite que ce travail soit le fruit de leurs efforts...

*A mes sœurs de leur soutien, aide et encouragement FATIMA,
SOUHILA, SAFIA, SALIMA ainsi qu'à leurs conjoints à DJAMILA
et IHSENE*

*Et mes frères les plus merveilleux au monde AHMED et MEHDI
ainsi qu'à leurs épouses*

*A ma grand mère que dieux la garde toujours heureuse et en
bonne sante.*

*A mes nièces et mes neveux, de leurs moments de rire et de
joie qui les m'ont oublié les Fatigues.. A toute ma famille*

A mes amis et à tous ceux qui n'ont pas été cité amicalement

A tous ceux qui m'ont marqué ma vie.

AMINA

REMERCIEMENTS

Mes sincères remerciements vont à ma promotrice M^{me} GHANAI R., qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour m'avoir guidée dans mon travail, ses précieux conseils, sa disponibilité, sa gentillesse, ses encouragements, et la confiance à mon égard qui ont contribué au bon déroulement de ce travail.

J'exprime mes sincères remerciements à M^{me} CHERIF H.S., chef d'option qui m'a fait l'honneur d'assurer la présidence du jury.

Mes remerciements et toute ma reconnaissance à BRADIA M.S, d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Mes plus vifs remerciements s'adressent également à l'ensemble du personnel du complexe SAIDAL à Médéa, en particulier M^{me} BEKHTI, NEGABI et M^{rs} : BOUKHATEME, MOURAD, FOUED, ABDELLI.

Je voudrais exprimer mes plus sincères remerciements à M^{me} SELMA responsable de laboratoire du PFE.

Mes remerciements s'adressent également surtout M^{me} RADI N. et M^{rs} BESAAD A. BENJOUDI, ainsi à tous les enseignants que j'ai rencontrés tout au long de ma formation au niveau de la Faculté des Sciences et de la Nature Université de BLIDA.

Enfin, je tenais à exprimer ma sympathie à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

LISTE DES FIGURES

Figure 1:	Tige et feuille de <i>Carthamus caeruleus</i>	8
Figure 2 :	Fleur de <i>Cathamus caeruleus L</i>	8
Figure 3 :	Feuilles séchées portant les graines Graines de <i>Carthamus caeruleusL</i>	8
Figure 4 :	Rhizomes de <i>Cathamus caeruleus L</i>	12
Figure5:	poudre de <i>Carthamus cearuleus</i>	12
Figure 6:	Soxhlet extracteur.....	15
Figure 7:	Forme libre et réduite du DPPH.....	18
Figure 8 :	Teneur en eau des rhizomes frais de <i>Carthamus cearuleus L</i>	22
Figure 9:	Coupe transversale de la tige aérienne de <i>Carthamus cearuleus</i> observée Au microscope photonique GX250	23
Figure 10 :	Coupe transversale du rhizome de <i>Carthamus cearuleus</i> observée au microscope photonique GX250	23
Figure 11 :	Coupe transversale du rhizome de <i>Carthamus cearuleus</i> montrant le canal sécréteur observée au microscope photonique GX250	24
Figure 12 :	Pourcentage d'inhibition de la vitamine C en fonction de différentes concentrations.....	25
Figure 13:	Pourcentage d'inhibition de l'extraits aqueux et methanolique) en fonction de différentes concentrations.....	25
Figure 14:	Nombre de souris morts en fonction des différentes doses (mg/kg).....	28

LISTE DES ABREVIATIONS

DO : Densité optique

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

E A : extrait aqueux

EAG : équivalent d'acide galique

EM : extrait méthanolique

HE : Huile essentielle.

IC50 : Concentration inhibitrice à 50 %

LDL : Lipoprotéine à faible densité

N : nombre de mole

O.N.A.B : Office National d'Aliment du Bétail

LISTE DES TABLEAUX

Tableau -I- :	Caracteristiques du matériel animal utilisé dans l'étude de la Toxicité aigue..	13
Tableau -II- :	Doses administrées pour chaque lot.....	20
Tableau- III -:	Résultats de l'étude phytochimique.....	22
Tableau-IV- :	Les IC ₅₀ de l'acide ascorbique et de nos extraits aqueux et methanolique.....	25
Tableau- V -:	Résultats de l'évaluation de la toxicité des feuilles de <i>Carthamus cearuleus L...</i>	27

TABLE DES MATIERES

Introduction	1
--------------------	---

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Plantes médicinales.....	3
1.1 Définition.....	3
1.2. Intérêt	3
2. Récolte et conservation de plantes médicinales	3
2.1. Cueillette.....	3
2.2. Séchage et conservation	4
3. Les métabolites secondaires	4
4. Présentation de la plante <i>Carthamus caeruleus</i>	8
4.1. Systématique	7
4.2. Origines et habitat	7
4.3. Description morphologique	7
5. Les activités biologiques des plantes médicinales	9
5.1. L'activité anti-oxydante	9
5.2. La toxicité	10

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

1. Matériel	12
1.1. Matériel végétal	12
1.2. Matériel Animal	13
2. Méthodes.....	13
2.1. Echantillonnage et Conservation du matériel végétal	13
2.2. Evaluation de la teneur en eau	13
2.3. Préparation des échantillons	14
2.4. Screening phytochimique	16
2.5. Etude anatomique	17
2.6. Evaluation de l'activité antioxydante	18
2.7. Evaluation de La toxicité aigue <i>in vivo</i>	19

TABLE DES MATIERES

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

1. Détermination du rendement	21
1.1. Teneur en eau	21
1.2. Rendement des huiles essentielles	21
2. Screening chimique	22
3. Etude anatomique	23
4. Évaluation de l'activité antioxydante des deux extraits (méthanolique, aqueux).	25
5. l'évaluation de la toxicité (DL50)	27
Conclusion	30
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies.

Malgré les multiples progrès de la médecine moderne, il y a un net regain d'intérêt vis-à-vis de la phytothérapie. Selon l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), plus de 80 % de la population mondiale ont recours à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de la santé (**Farnsworth et al, 1986**).

*Les principes actifs des plantes sont des composants essentiels d'une grande partie de nos médicaments et produits de soins (**Hans, 2007**).

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Maurice, 1997**).

Beaucoup de métabolites secondaires sont également importants pour notre alimentation (goût, couleur), alors que d'autres comme les alcaloïdes, les flavonoïdes, les anthocyanines, les quinones, et les stéroïdes ont une application thérapeutique dans les domaines pharmaceutiques et biomédicaux et font partie des drogues, colorants, parfums et des insecticides (**Teixeira, 2004**).

L'Algérie, de par son aire géographique et sa diversité climatique riche en flore naturelle, recèle d'une gamme importante de plantes médicinales et aromatiques, faisant partie du grand patrimoine végétal de ce pays (**Baba Aissa, 2000**).

Les plantes traditionnellement utilisées par la population locale de la région de Tipaza montrent plusieurs effets thérapeutiques. Parmi ces dernières, la Cardoncelle bleue « *Carthamus caeruleus L.* ». (**Kuidri F., Larbi abdessameud A., 2013**).

Peu de travaux ont porté sur cette plante malgré ses effets thérapeutiques connues, c'est d'ailleurs ce qui a suscité notre intérêt à investiguer l'espèce « *Carthamus caeruleus L.* » en ce qui concerne la pharmacotoxicologie et la phytochimie.

Introduction

Dans cette optique, nous nous sommes fixés dans le présent travail les objectifs suivants :

- Etude anatomique des organes de la plante pour localisés les sites d'accumulation des métabolites secondaires.
- Identification de certaines substances bioactives élaborées par « *Carthamus caeruleus* L. » par un screening phytochimique.
- extraction et identification des principes actifs de huile essentielle« *Carthamus caeruleus* L. »
- évaluation de l'activité antioxydante de deux extraits (aqueux, méthanolique).
- Evaluation de la toxicité aigue.

1. Plantes médicinales

Au cours des dernières décennies, les recherches scientifiques les plus modernes n'ont fait que confirmer le bien fondé des vertus thérapeutiques de la plupart des plantes médicinales utilisées. **(Carillon, 2000)** Ce savoir traditionnel ancestral transmis de génération en génération est devenu aujourd'hui une mine d'informations extrêmement précieuses pour les recherches d'industrie pharmaceutique. **(Fouché et al, 2000)**

1.1 Définition

On appelle plante médicinale un végétal dont un (ou plusieurs) organe possède des activités pharmacologiques de nature à permettre son emploi en thérapeutique. **(Boullard, 2001)**. Les plantes médicinales ou pharmaceutiques interviennent dans la préparation des médicaments. **(Ramawat et Merillon, 2008)**

1.2. Intérêt

La plupart des espèces végétales contiennent des substances qui peuvent agir à un niveau ou un autre, sur l'organisme humain et animal. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. Elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus. **(Iserin, 2001)**.

2. Récolte et conservation de plantes médicinales

Selon **PIERRE et LYS (2007)**, le calendrier des périodes de récoltes et la conservation peut varier en fonction de la région, des conditions de la végétation et du temps.

2.1..Cueillette

Le choix de l'époque de la récolte dépend de la nature de l'organe récolté et des variations du taux des principes actifs en fonction de la période de végétation. La composition chimique d'une plante varie avec son cycle végétatif. Ces variations peuvent être quantitatives (la teneur en principe actif passe par un maximum et décroît ensuite), ou qualitatives (apparition d'un principe actif et disparition d'un autre au cours de développement).

Les plantes médicinales doivent être cueillies lorsque la teneur en matière active est la plus forte. La cueillette se fait en début de matinée après le lever du soleil ; c'est-à-dire par temps sec après avoir attendu l'évaporation de la rosée. **(Ghestem et al, 2001)**

On récolte les feuilles quand elles sont jeunes, mais totalement développées au plus tard juste avant que les fleurs ne s'épanouissent.

La cueillette des fleurs se fait juste avant l'épanouissement complet ; et les fruits doivent être cueillis bien mûrs, quant aux bourgeons ils se cueillent au printemps.

On déterre les racines quand elles sont assez robustes et complètement développées. D'une façon générale, on récolte au printemps les racines des plantes vivaces et en automne celles des espèces annuelles ou bisannuelles. **(Dellile, 2007 ; Wichtl et Anton, 2003)**.

2.2. Séchage et conservation

Il s'agit d'étaler les végétaux (feuilles, fleurs, semences ou graines) sur les claies de bois très propres et sans odeurs ou sur les papiers. Il est essentiel d'établir une bonne circulation d'air pour éviter les fermentations ou les pourrissements, afin d'obtenir un séchage rapide. **(Dellile, 2007)**

Pour conserver les plantes, il faut s'assurer qu'elles soient parfaitement séchées avant de les stocker, elles doivent être placées dans des récipients secs ou des sacs de papier. **(Thyn, 1998 ; Wichtl et Anton, 2003)** Les plantes doivent être conservées à l'abri de certains agents pouvant entraîner leur altération, et protégées contre l'air, l'humidité, la lumière, les champignons et les insectes. **(Ghestem et al, 2001)**

L'action médicale s'affaiblit lorsque les plantes sont conservées trop longtemps. **(Iserin et al, 2001)**

3. Les métabolites secondaires

- **Les composées phénoliques**

Les polyphénols sont des groupes de molécules de structures variées. **(Richter, 1993)** L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzoïque auquel est directement lié un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une fonction : éther, ester, hétéroside. **(Bruneton, 1999)**

Les composés phénoliques sont synthétisés à partir des métabolites primaires via la voie de l'acide shikimique. **(Bravo, 1999 ; Lugasit et al, 2003)**. Les polyphénols firent les premiers agents antiseptiques et désinfectants largement utilisés. **(Lugasit et al, 2003)**

Les composés phénoliques sont classés en plusieurs principaux groupes qui se distinguent par le nombre d'atomes de carbones constitutifs et la structure du squelette de base. **(Robard et al, 1999 ; Michalak, 2006)** ce sont essentiellement :

- ❖ **Les flavonoïdes** : présents dans la plupart des plantes, ce sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc. **(Murphy, 1999 ; Arnal et al, 2007)**

Environ 2% de tous les composés carbonés produits par les plantes par photosynthèse sont convertis en flavonoïdes ou en composés apparentés. **(Daayf et Lattanzio, 2008)**

- ❖ **Les anthocyanes** : ce sont des pigments végétaux hydrosolubles de couleur rouge, violette ou bleue. **(Arnal et al, 2007 ; Ghestem et al, 2001)** Ils sont issus de

l'hydrolyse des anthocyanidines qui sont des dérivés polyphénoliques. (**Iserin et al,2001**)

- ❖ **Les coumarines** : ce sont des dérivés de phénylpropane (C3-C6) dont les précurseurs sont des acides hydroxycinnamiques. Ils sont présents chez plusieurs espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses : sédatives nerveuses, anticonvulsives, hypotensives, anticoagulantes et antiparasitaires.

Ce sont des molécules aromatiques photosensibilisantes. Leurs activités neurotropes et sanguines les rendront efficaces dans le cas d'insomnies, de stress, de dépression, des asthénies profondes couperose, de varices et d'hémorroïdes. (**Bruneton, 1993 ; Iserin ,2001**).

- ❖ **Les tanins** : c'est un groupe de substances phénoliques, ce sont des polymères capables de tanner le cuir, une propriété connue comme astringence. Ils sont divisés en deux groupes : les hydrolysables et les tanins condensés.

Leur mode d'action antimicrobienne peut être en rapport avec leur capacité de désactiver les adhésions microbiennes, les enzymes et les protéines de transport de l'enveloppe cellulaire. (**Bruneton, 1993**).

- Utilisés par voie interne, les tanins exercent un effet antidiarrhéique.
- Utilisés par voie externe, les tanins imperméabilisent les couches les plus externes de la peau et des muqueuses protégeant ainsi les couches sous-jacentes.

Ils limitent la perte en fluides, empêchent les agressions extérieures et favorisent la régénération des tissus en cas de blessures superficielles ou de brûlures. (**Bruneton, 1999**)

- **Les alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont un groupe chimique contenant de l'azote (N) et sont biologiquement actifs. (**Murphy, 1999**)

Il paraît qu'ils jouent un rôle défensif chez la plante contre les herbivores et les pathogènes. En raison de leur activité biologique puissante, beaucoup d'entre eux ont été exploités comme des produits pharmaceutiques, des stimulants, des narcotiques et des poisons. (**Gozieret al, 2006**) Certains sont des médicaments connus ayant des vertus thérapeutiques avérées. (**Iserinet al, 2001**).

- **Les saponosides (ou saponines)**

Les saponosides, dont le nom dérive du mot savon (**Arnal et Goetz, 2007**), sont des hétérosides à géninestéroïdique ou tri terpénique, caractérisés principalement par leurs propriétés tensioactives. Ces propriétés se traduisent par la formation de mousse par agitation dans l'eau. De plus, la plupart des saponosides présentent des propriétés hémolytiques.

- **Huiles essentielle**

Les huiles essentielles (HE) sont définies comme étant des extraits volatils et odorants, que l'on extrait de certains végétaux. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous produits du métabolisme secondaire. Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance à une branche nouvelle de la phytothérapie : l'Aromathérapie (**Bruneton, 1999**).

Contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, les HE ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales obtenues avec des pressoirs (huile de tournesol, de maïs, d'amande douce, etc.). Il s'agit de la sécrétion naturelle élaborée par le végétal et contenue dans les cellules de la plante, le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, odeur plus ou moins forte dégagée par la plante (**Anton et Lobstein, 2005**).

4. Présentation de la plante *Carthamus caeruleus* L

Le genre *Carthamus* de la famille des Asteraceae, comprend 14 espèces herbacées annuelles ou vivaces dont le *Carthamus caeruleus* L ou *Carduncellus caeruleus* L ou encore *Onomborma caerulea* ou *Carthamus tingitanus*, appelé communément la carduncelle bleue, Blue Thistle en anglais, El korttome en arabe et "MeghresGres" en Algérie.

4.1. Systématique

Selon , **APG III 2009**, la plante appartient au :

Règne : *Plantae*

Clade : *Angiospermes*

Clade : *Dicotylédones vraies*

Clade : *Asterideés*

Clade : *Campanulidées*

Ordre : *Asterales*

Famille : *Astéraceae*

Sous -famille : *Carduoideae*

Tribus : *Cardueae*

Sous -tribus : *Centaureirnie*

Genre : *Carthamus*

Nom binomial : *Carthamus caeruleus* L

4.2. Origines et habitat

C'est une espèce peu commune que l'on peut rencontrer dans les terrains maigres de Provence et de Corse. Elle préfère les lieux secs et ensoleillés du bassin méditerranéen, elle est originaire du Sud-Ouest de l'Asie (**Mioulane, 2004**), elle est répandue dans le reste de l'Asie, en Afrique du Nord, en Australie, les deux Amériques ainsi qu'en Europe. (**Boullard, 2001**)

En Algérie, elle se trouve dans les régions côtières méditerranéennes (Tipaza), Annaba, Bejaïa et Boumerdes, Sidi belabbes ainsi que dans les hauts plateaux (Sétif).

4.3. Description morphologique

La carduncelle bleue plante vivace, atteignant plus de 60cm de haut.

- Fleurs sont toutes tubuleuses, réunies en capitules terminaux solitaires, mesurant environ 03 cm de diamètre, pourvus de bractées foliacées dentées épineuses à poiles laineux ; bractées plus ou moins oblongues et à nervures apparentes, les internes à

sommet frangé brun pourpre. La Corolle est bleu clair, profondément dentée contenant 5 étamines à anthères foncées formant un tube autour du style longuement saillant (Beinton, 1985 in Zoukh ,2011.) . (Fig.2)

- Fruit de *Carthamus caeruleus* L ce sont des akènes nettement plus courts à aigrette de 1 cm (Quenzel et Santa, 1963) . (Fig.3)
- tiges souvent simples, anguleuses et poilues.
- Feuilles alternes vert foncé, de contour lancéolé, les inférieures, réduits, à bords dentés épineux, pétiolées, alors que les supérieures sont sessiles amplexicaules ou dentées-épineuse, souvent embarrassantes.(Mioulane, 2004) (Fig.1).

Les Carthames mériteraient d orner les jardins, plutôt que les fossés où ils dressent leurs têtes globuleuses attirant l'attention par l'élégance de leur port et la beauté de leurs fleurs azurées *Cearuleus* s'applique aux fleurs « de la couleur du ciel» (Beinton, 1985 in Zoukh ,2011.)



Figure 1: tige et feuille *Carthamus caeruleus* L.(Anonyme,2013).



**Figure 2 : fleur *Cathamus caeruleus*
(anonyme,2013).**



**Figure 3 : fleurs séchées portant les graines
(anonyme,2013).**

5. Les activités biologiques des plantes médicinales

La découverte des processus de synthèse organique et la naissance de l'industrie pharmaceutique avec l'usage des activités biologiques des plantes médicinales en médecine ces derniers qui sont considérées comme un véritable réservoir de molécules de base irremplaçables.

5.1. L'activité anti-oxydante

➤ Définition

Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques (**Halliwell,1995**).

Selon **Gunstone et Norris.,(1993)**,un antioxydant est « toute substances qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat »c est une molécule qui est capable de neutraliser les formes actives de l'oxygène et permet de maintenir au niveau de la cellule et l'organisme des niveaux non cytotoxiques de radicaux libres

Selon d'autres auteurs (**Singh et al., 2005**),Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques, se sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres

➤ Les antioxydants d'origine végétale

Plusieurs plantes utilisées en médecine traditionnelle sont douées de propriétés anti-oxydantes remarquables. Les fruits et les légumes contiennent une grande variété d'antioxydants comme la vitamine C, la vitamine E, les caroténoïdes, les oligoéléments et surtout les polyphénols (**Defraigne et Pincemail, 2008**).

❖ Vitamine E

La vitamine E est le nom commun utilisé pour les molécules possédant des activités biologiques identiques à celles de la famille des tocophérols. La forme naturelle de la vitamine E inclut quatre tocophérols isomères α , β , γ , δ , avec une activité anti-oxydante variable (**Singh et al., 2005**).

❖ Vitamine C

La vitamine C (acide ascorbique) n'est pas synthétisée par l'organisme. Elle est hydrosoluble à la concentration physiologique. La vitamine C empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'oxygène (neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myéloperoxydase) (**Singh et al., 2005**).

❖ Les caroténoïdes

Sont des pigments végétaux lipophiles, précurseurs de la vitamine A (**Singh et al., 2005**).

❖ Les flavonoïdes

Peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant (**Lahouel et al., 2006**).

5.2. La toxicité**➤ Toxicité des plantes**

La fréquence des intoxications par des plantes toxiques est mal connue de nombreuses intoxications sont dues à des plantes « médicinales » ingérées en trop grande quantité.

Nous avons classé les intoxications par les plantes toxiques selon les effets cliniques principaux qu'elles entraînent.. La toxicologie des végétaux est complexe, compte tenu de la grande diversité des plantes , Elle dépend :

- ❖ du type de contact entre la plante et l'homme c'est soit un contact par ;
 - ingestion qui peut avoir différentes motivations (accidentelle surtout chez les jeunes enfants, liée à des habitudes alimentaires, en rapport avec la médecine traditionnelle, ou liée à une recherche volontaire d'intoxication dans un but de suicide ou d'homicide),
 - cutané en rapport avec la présence dans la sève ou suc de la plante d'une substance toxique irritante.
- ❖ de la nature des produits toxiques il s'agit soit :
 - d'hétérosides (hétérosides stéroïdiques cardiotoxiques ou saponosides, hétérosides cyanogénétiques).
 - d'alcaloïdes.
 - d'acide oxalique.
 - de protides (phytotoxines, acides aminés).

Certaines plantes toxiques contiennent plusieurs produits toxiques à l'origine de symptomatologies complexes, Pour chaque plante toxique sont étudiés : la description succincte de la plante, la ou les substances toxiques, la partie ou les parties toxiques et les principaux symptômes de l'intoxication. (**Aubry ,2012**).

➤ **Toxicité des médicaments à base de plantes**

L'évaluation de la toxicité est importante lorsque elle est utilisée comme médicament dans le cadre de l'aromathérapie, les risques de la toxicité aigues sont liée en particulier à la neurotoxicose qui contiennent des cétones (thuyone pinocampaphone) et certains monoterpènes qui sont également toxiques à fortes doses tels le camphre et le menthol. Cependant quelques informations sur certaines toxicités sont décrites par la littérature : toxicité par ingestion et toxicité dermique. **(Catier et Roux,2007).**

Ce travail vise l'étude de quelques effets pharmacotoxicologique de *Carthamus cearuleus*,L. La partie pratique a été réalisé durant le mois de juillet de l'année 2015, au niveau des laboratoires de :

- pharmacotoxicologie et d'analyse physicochimique de Saïdal à MEDEA,
- laboratoire de projets fin d'études (PFE) du département de Biologie de l'Université Saad Dahleb (USDB) (préparation des deux extrais aqueux et methanolique).

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Le présent travail a porté sur l'étude des rhizomes du *Carthamus cearuleus* L .La plante étudiée a été récoltée dans la région Ahmar El-Aïn, située à l'Ouest de la wilaya de Tipaza en période de printemps(avril) de l'année 2015.



**Figure 4 : Rhizomes du *Carthamus cearuleus* L.
(Originale, 2015).**



**Figure 5 : Poudre des rhizomes de *Carthamus cearuleus*
(Originale, 2015).**

1.2. Matériel Animal

Pour l'étude de la toxicité aigue nous avons utilisé le matériel animal cité dans le tableau -I-

Tableau -I- : caractéristiques du matériel animal utilisé dans l'étude de la toxicité aigue

Animal utilisé	Sexe	Alimentation	Boisson	Nombre	Conditions d'hébergement	poide
Souris albinos	Femelle	Granulés "O.N.A.B"	Eau de robinet	20 souris	Température : 20 à 25° Humidité : 50% Eclairage : 10heures	19 à 20 g

O.N.A.B : Office National d'Aliment du Bétail

2. Méthodes

2.1. Echantillonnage et Conservation du matériel végétal

La partie souterraine de la plante fraîchement récoltée est lavée à l'eau de robinet découpée en fragments et laissée sécher à l'ombre dans un endroit sec et bien aéré.

2.2. Evaluation de la teneur en eau

La teneur en eau, a été déterminée par le procédé de dessiccation à une température de 105° C dans une étuve isotherme ventilée à la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'un poids constant (**Linden et Lorient, 1994**).

$$T\% = \frac{X - Y}{X} \times 100\%$$

X : Poids de l'échantillon (mg).

Y : Poids de l'échantillon après déshydratation (mg).

T% : Teneur en eau exprimé en pourcentage (%).

2.3. Préparation des échantillons

❖ Préparation de la poudre

Les rhizomes récoltés, ont été découpés, et pilés dans un mortier propre puis finement broyées. La poudre ainsi obtenue est conservée à l'abri de la lumière dans des flacons en verre .

❖ Préparation de l'infuse à 10%

100 ml d'eau distillée bouillante sont rajoutés à 10g de poudre végétale des rhizomes de *Carthamus caeruleus* L, puis laissés macérer pendant 15 minutes. La solution obtenue est filtrée on ajoute par la suite de l'eau distillé jusqu' au 100 ml d'eau distillée. (**Konkon et al, 2006**).

❖ **Préparation de l'extrait méthanoïque (par soxhlet)** Pour la récupération de la fraction polaire, l'extracteur soxhlet est un montage spécifique conçu pour l'extraction conteneur solide-liquide L'avantage de ce type d'extraction est que le solvant condensé, s'accumule dans un réservoir à siphon, ce qui augmente la durée de contact entre le solvant et le produit à extraire

- 1) la poudre de la plante (50g) est introduite dans la cartouche en papier filtre, cette dernière sera placée dans le soxhlet surmonté d'un réfrigérant (**Fig.6**)
- 2) verser 500ml de méthanol dans le ballon et porté le soxlet à l'ébullition.
- 3) le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute résidus.
- 4) Après une douzaine de siphonages, le solvant s'enrichi en substances solubles.
- 5) Une concentration avec un évaporateur rotatif permet l'obtention de la fraction polaire dans le ballon.
- 6) Les ballons contenant les résidus secs sont pesés avant et après extraction afin de déterminer la teneur respective de la fraction. (**william, 2007**).



Figure 6 : Soxhlet extracteur

❖ **Extraction de l'huile essentielle**

L'opération consiste à introduire 100g de la masse végétale séchée (rhizome) dans un grand ballon en verre ; nous avons ajouté une quantité suffisante d'eau (2 tiers de ballon). Le mélange est porté à l'ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau. L'huile essentielle de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière. L'HE ainsi obtenue est récupérée puis traitée par un déshydratant, le sulfate de sodium, pour éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue. L'opération d'extraction dure trois à quatre heures (AFNOR, 2000).

❖ **Rendement :**

Le rendement de l'HE extraite est le rapport entre le poids l'HE et le poids de la biomasse végétale, il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule ci-dessous :

$$R = (P_h / P_v) \times 100$$

R : Rendement en huile essentielle en %.

P_h : Poids de l'huile essentielle en gramme.

P_v : Poids de la biomasse végétale en gramme (**Carre., 1953**)

2.4. Screening phytochimique

L'étude phytochimique consiste à réaliser des réactions de caractérisation qui visent à connaître les différents types de métabolites secondaires présents dans les rhizomes de *Carthamus caeruleus* L

➤ Identification des composants

❖ Les flavonoïdes ((**Paris et al. 1969**))

Mettre 10g de la poudre sèche dans 150 ml d Hcl concentré (37%) dilué à 1% pendant 24h, filtrer et procéder au test suivant ; prendre 10 ml de filtrat ; le milieu rendu basique par l ajout de 5 ml du NH₄OH concentré (30%). Un test positif est révèlé par l apparition d'une couleur jaune dans les parties supérieures du tube à essai.

❖ Les alcaloïdes (**Sarkar et al ; 2007**).

Les alcaloïdes ont été caractérisés à partir des réactifs de Mayer ou Wagner .10ml d'extrait sont évaporés jusqu'à l'obtention d'un volume de 0.2ml, sur lequel 1.5ml de HCL à 2%) sont ajoutés .Après agitation de la solution acide ,1 à 2 gouttes de réactifs Mayer ou Wagner sont ajoutés .L'apparition d'un précipité blanc jaunâtre ou brun indique la présence d'alcaloïdes

❖ Les tannis (**Trease et Evans, 1987**).

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant à 1ml d extrait aqueux de 10% à 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl₃diluée 10%. L'apparition d'une coloration verte foncée ou bleu vert indique la présence des tanins.

❖ L'anthocyanine (**Bruneton, 1999**)

Prendre 5ml d'extrait de 10% mélangé avec 4 ml d'hydroxyde d'ammoniac(NH₄OH) concentré (30%).l apparition d'une coloration rouge indique la présence des anthocyanines.

❖ Les glucosides (**Bruneton, 1999**).

Mélanger 2g de poudre de plante avec quelques gouttes d'acides sulfurique (H₂SO₄) concentré (96%), le mélange prendra une couleur rouge bleue

❖ **saponosides (Bruneton, 1999).**

la présence est révélée en introduisant 5ml d'HCl à 2N dans une fiole à laquelle sont rajoutées 2 à 3 gouttes d'infusé.

❖ **Sucre réducteur (Trease et Evans, 1987).**

2 ml de l'extrait aqueux ,2ml de solution Fehling (A+B) placé dans un tube porté à Ébullition .l'apparition de précipité rouge indique la présence

2.5. Etude anatomique

L'objectif de cette étude est de chercher des spécificités morphologiques et anatomiques de la plante et localiser éventuellement les sites de métabolites secondaires.

Pour la description anatomique, nous avons effectué des coupes transversales (à main levée) de la tige et du rhizome par la technique de double coloration selon le protocole suivant :

- 1) Trempage des coupes dans de l'eau de javel pendant 15 à 20 minutes afin de vider les cellules.
- 2) Rinçage à l'eau de robinet pendant 5 à 10minutes pour éliminer l'excès de l'eau de javel.
- 3) Trempage des coupes dans l'acide acétique pendant 1 à 3 minutes, Rinçage à l'eau de robinet pendant 5 à 10 minutes.
- 4) Trempage dans le vert de méthyle (1^{er} colorant) pendant 20minutes.
- 5) Rinçage à l'eau de robinet pendant 5 à 10minutes.
- 6) Trempage dans le rouge de Congo (2^{ème} colorant) pendant 5 minutes.
- 7) Rinçage à l'eau de robinet pendant 5 à 10minutes.
- 8) La coupe est mise sur une lame et couverte d'une lamelle pour l'observation au microscope photonique.

2.6. Evaluation de l'activité antioxydante

Méthode de réduction du radical libre DPPH :

❖ Principe

Le DPPH est un radical stable et il présente en solution une absorption caractéristique à 517 nm qui lui confère une coloration violette. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit par un capteur de radicaux libres (Fig.7). On peut résumer cette réaction par l'équation suivante :



Figure 7: Forme libre et réduite du DPPH

Où: (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphényle picryl hydrazine (jaune) .

❖ Mode opératoire (Musa,2008.)

- 25µl des solutions, aqueux testé à différentes concentrations (0,5, 1, 2, 3, 4 ,5 µg/ml) et une solution méthanolique aussi testé à différente concentration (0,8,2,4,4,5,6,7,2,8,8µg/ml) chaque une des solution sont mélangées avec 975 µl d'une solution méthanolique de DPPH (0,004 %).
- L'inhibition du radical libre DPPH par la vitamine C a été également analysée pour des concentrations (0,2, 0,4, 0,6, 0,8 ,1 µg/ml) à des fins comparatives.
- Après une période d'incubation de 30 minutes à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 517 nm
- Après incubation de 30 min en obscurité à la température ambiante, les absorbances sont mesurées à 517 nm contre le blanc correspondant.

❖ Expression des résultats

La cinétique des réactions des deux extraits et de la vitamine C avec le DPPH• a été inscrite à chaque concentration examinée. Les concentrations des deux extraits (aqueux et méthanolique) et en vitamine C, en fonction des pourcentages du DPPH inhibés ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir l'index IC50.

Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH•

• Détermination du pourcentage d'inhibition :

Selon *Sharififaretal.* L'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I%) est calculée de la manière suivante :

$$I\% = \frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{blanc}}}$$

Avec :

Ablanc : Absorbance du blanc (contenant tous les réactifs excepté le composé d'essai,

Aéchantillon : Absorbance du composé d'essai.

2.7. Evaluation de La toxicité aigue *in vivo*

❖ Principe

La DL50 est la dose responsable statistiquement de la mort de 50% des animaux d'expérience (*Stora, 2013*). La méthode expérimentale consiste à administrer à des lots d'animaux des doses croissantes de la substance. Le but est de mettre en évidence un pourcentage de mortalité variant entre 0% pour une dose non létale, et 100% pour la dose tuant toutes les souris du lot. Les lots sont constitués d'une façon homogène, chaque lot correspond à une dose et tous les animaux d'un lot reçoivent la même dose.

L'observation des effets toxiques sur les animaux ainsi que le calcul de nombre de mortalité se fait quotidiennement durant les 14 jours ayant suivi l'administration (*Stora, 2013*).

❖ Mode opératoire

Selon le protocole adapté par Saidal, Nous avons utilisé pour ce test 25 souris de poids corporel de 19 ± 1 g. Les souris ont été réparties en 05 lots à raison de 5 souris par lot. Le volume administré pour chaque souris (20g) est de 0.5 ml par gavage à l'aide d'une sonde gastrique d'extraits aqueux de chaque dose (g/kg) de *Carthamus cearuleus* (**Tableau II**)

Les souris sont mises en observation pendant 14 jours, avec distribution d'aliment et de l'eau potable.

Tableau –II- : les doses administrées pour chaque lot

Lots de souris	Lot témoin	Lot1	Lot2	Lot3	Lot4
Dose (g/kg)	Eau distille	0.25	0.5	1	2

❖ Détermination de la DL50

Dans le cas où l'extrait aqueux présente une toxicité, nous déterminons alors sa DL50 qui est exprimée en mg/kg de poids corporels.

Nous avons utilisé la méthode de **Miller et Trainer(1994)** dont le but est de tracer une droite qui exprime le pourcentage de mortalité en fonction la dose administrée, afin de déterminer graphiquement la concentration de l'extrait susceptible de provoquer la mort de 50 % des animaux traités.

1. Détermination du rendement

Pour connaître le rendement des huiles essentielles dans la matière fraîche on doit déterminer la teneur en eau des rhizomes.

1.1. Teneur en eau

Nous avons utilisé la méthode pondérale pour déterminer la teneur en eau des rhizomes c'est la détermination de la perte de masse par dessiccation à l'étuve.

Les résultats obtenus ont révélé une teneur en eau égale à **64%** (figure 08), ces résultats montrent que le rhizome *Carthamus cearuleus L* est riche en eau car l'eau présente les deux tiers (2/3) de la partie de la plante utilisée.

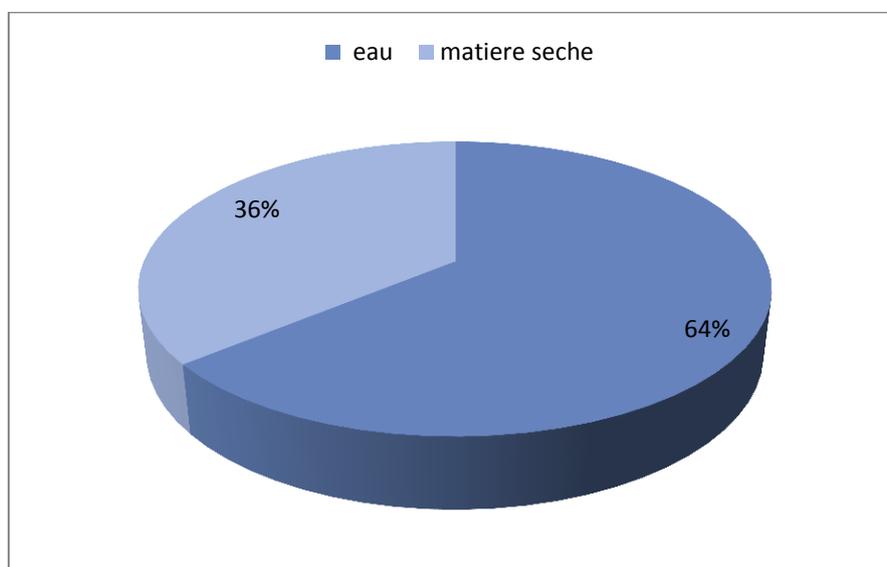


Figure 08: teneur en eau des rhizomes de *Carthamus cearuleus L*.

1.2. Rendement en huile essentielle

L'extraction de huile essentielle à partir des rhizomes du *C. cearuleus L*. a été effectuée par une hydrodistillation de type clevenger. Le rendement calculé par rapport au poids totale (100g) révèle que la teneur en HE est très faible (**0.09%**) et les résultats obtenue par **Zoukh M.,2011** et **Belkhiri M.2009** ; donnent des rendement de (**0.016%**) et(**0.03**) respectivement (**figure 09**) .

Il est à noter que notre rendement est plus faible que ceux trouvé dans les deux autres études citées.

Le rendement en huiles essentielles dépend de nombreux facteurs à savoir le stade de croissance, le pédoclimatique et la technique d'extraction, la différence de rendement en

huile essentielle est probablement due soit à la période de la récolte de la plante ou bien aux conditions environnementales de la plante vu que l'échantillonnage n'a pas été réalisé sur le même site ni durant la même période. (Zoukh M.2009).

2. Screening chimique

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le **tableau -III-**

Tableau- III - : Résultats de l'étude photochimique

Substances	Résultats
Anthocyanes	–
Tanins	+++
Sucre réducteurs	+++
Saponosides	++
Flavonoïdes	+++
Alcaloïdes	+++
Glucosides	+++

+++ : Fortement positif.

++ : Moyennement positif.

_ : Négatif.

Les résultats obtenus montrent clairement la présence, des glucosides, sucre réducteurs, des tanins, des flavonoïdes et des alcaloïdes. Les saponosides sont aussi présents mais avec une teneur plus faible. Les anthocyanes sont absents totalement.

Nous avons comparé les résultats du présent travail avec ceux obtenus par **Aissaoui et al (2011)** réalisé au CRD sur le broyat des rhizomes de *Carthamus caeruleus* L. leurs résultats sont similaires aux nôtres avec une différence de présence de leucoanthocyane, la quinone libre et mucilage.

3. Etude anatomique

Cette étude a pour but de localiser les sites d'accumulation des métabolites secondaires au niveau cellulaire. Les résultats de l'observation microscopique des coupes histologique (tiges et rhizomes) sont présentés dans les figures suivantes :

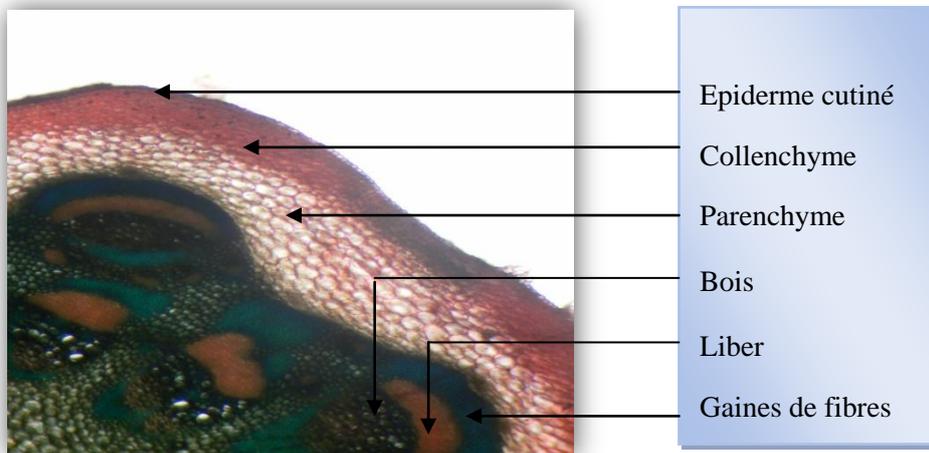


Figure09 :coupe transversale de la tige aérienne de *Carthamus cearuleus* observée au microscope photoniqueGX250.

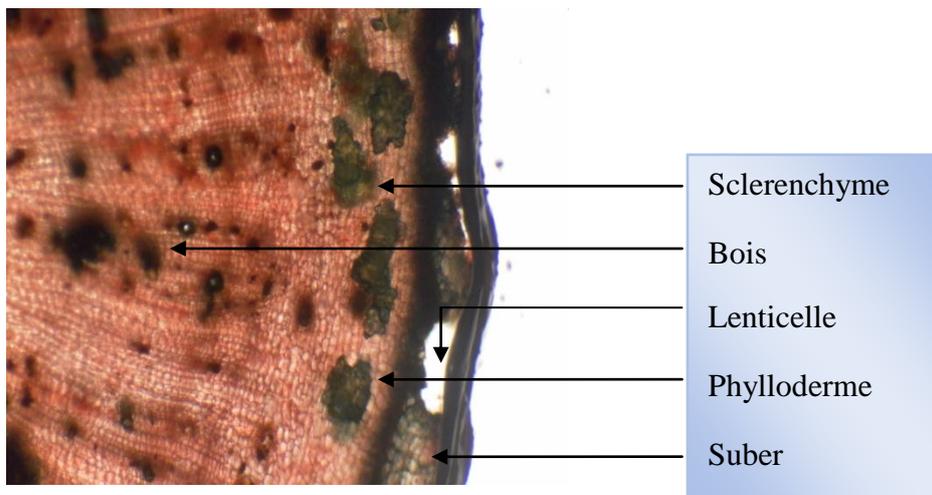


Figure 10 :coupe transversale du rhizome de *Carthamus cearuleus* observée photoniqueGX250

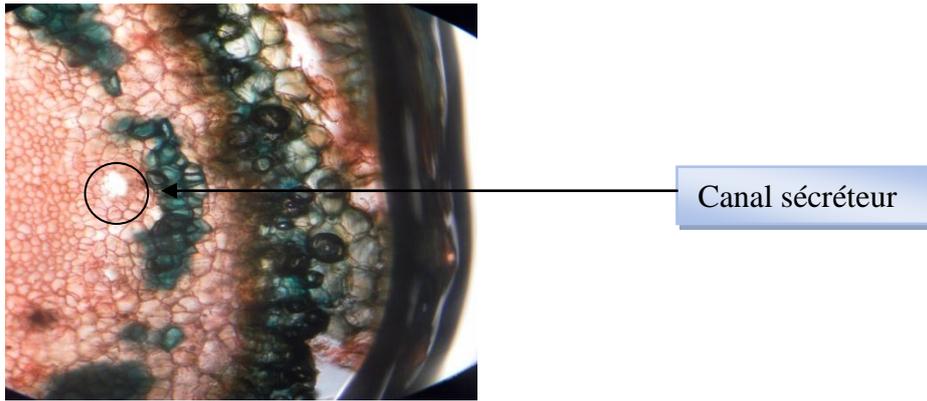


Figure 11: coupe transversale du rhizome de *carthamus cearuleus* montrant le canal sécréteur observée au microscope photonique **GX250**

L'observation au microscope photonique de la tige aérienne de *C. cearuleus* a révélé la présence de collenchyme, parenchyme, bois, liber, fibres de sclérenchymes.

L'étude microscopique au niveau de rhizomes de *C. cearuleus* montre l'existence de sclérenchyme, bois, lenticelle, phyloderme, suber et on trouve aussi au niveau de tissu médullaire.

4. Évaluation de l'activité antioxydant des deux extraits (méthanolique, aqueux)

❖ Réduction du radical libre DPPH

L'activité anti-oxydante de l'extrait aqueux et méthanolique des racines de *Carthamus cearuleus* L. vis à vis du radical DPPH à été évaluée par spectrophotomètre en suivant la réduction de radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à la longueur d'onde 517nm.

l'acide ascorbique (Vit C) qui est utilisé comme standard, Les résultats de l'activité réductrice de la vit c et nos extrait (aqueux , méthanolique) sont illustrés dans les **Fig. 12,13 et annexe .**

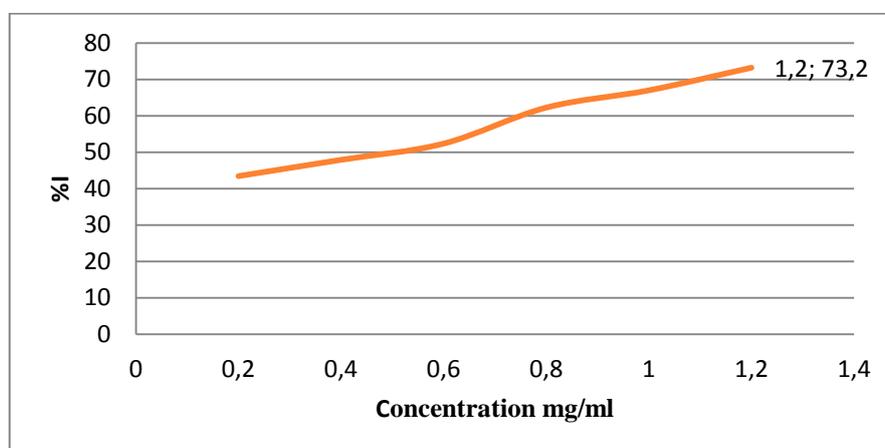


Figure 12 : Pourcentage d'inhibition de la vitamine C en fonction de Différentes concentrations.

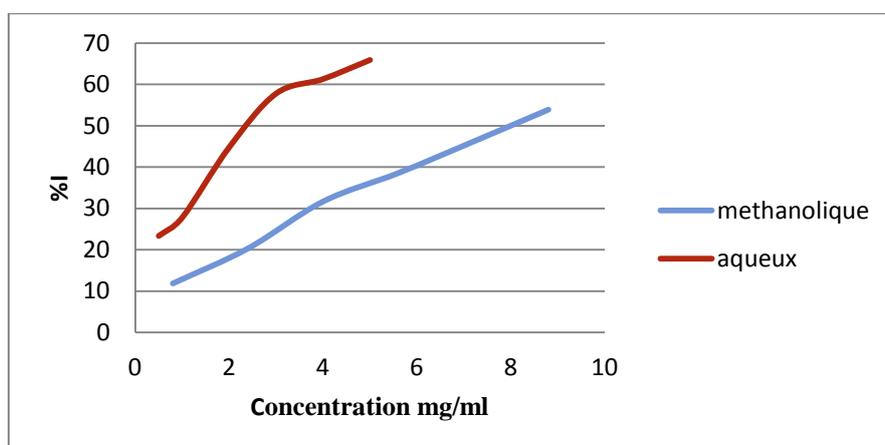


Figure 13 : Pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux et méthanolique en fonction de Différentes concentrations.

- pour une concentration **1 mg/ml** de la vitamine C a un pouvoir d'inhibition avec **66.78%(Fig.14)**

- Pour une concentration de **5 mg/ml** de l'EA a révélé un pouvoir d'inhibition de **65,89%(Fig.15).**

-pour une concentration de **8.8 mg/ml** de l'EM a révélé un pouvoir d'inhibition de **53.88%(FIG.15).**

Les résultats obtenus montrent que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour l'extrait aqueux et methanolique sont inférieurs à celui de la vitamine C pour toutes les concentrations utilisées.

❖ Détermination d'IC50

L'IC50 est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant, requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande

Les valeurs d'IC50 pour les deux extraits (EA, EM) de *Carthamus cearuleus* et la vitamine C sont indiqués dans le **Tableau VI.**

Tableau –VI- : Les IC₅₀ l'acide ascorbique et de nos extrait (aqueux et methanolique)

Extrait	Acide ascorbique	Extrait aqueux	Extrait methanolique
IC ₅₀ (µg/ml)	0.4	2.51	8.04

L'extrait aqueux de *Carthamus cearuleus* pouvait ramener le radical libre stable (DPPH) (colore en jaune)avec un IC50 de **2.51µg/ml** montrant une activité antioxydante supérieur à celle de l'extrait methanolique avec IC50 de **08.04µg/ml**

le rhizome *Carthamus cearuleus* a une activité antioxydante non négligeable.

Selon **Belkhiri , (2011)**, l'espèce de Sétif le dosage de polyphynols totaux après extraction l'activité antioxydante est liée à la présence de polyphénols dans l'extrait aqueux de *C.cearuleus* qui montre le rôle principal des polyphenols comme réducteurs des radicaux libres de racines de *Carthamus cearuleus*.

D'après ce même auteur l'activité antioxydante est due à la présence de quelques polyphénols et flavonoïdes tel que l'acide gallique, quercétine, rutine, acide ascorbique.

Selon **Zoukh,(2009)** , le α -Santalol et M-caryophyllène oxyde sont des composés majoritaires d'huile essentielle *Carthamus cearuleus* avec un pourcentage de **08.21%** de chacun .

Ce n'est pas uniquement les composés majoritaires des HE qui sont responsables de cette activité antioxydante, mais il peut y avoir aussi d'autres composés minoritaires qui peuvent interagir d'une façon synergique ou antagoniste pour créer un système efficace vis-à-vis des radicaux libres (**Lu et Sing, 2006**).

5. l'évaluation de la toxicité DL50 (dose-effet)

Après 14 jours de suivi de 25 souris (20g) sur lesquelles nous avons réalisé le test toxicologique, les résultats du test toxicité des rhizomes de *C. cearuleus* sont regroupés dans le **Tableau –V-** et la **Fig.16**.

Tableau V : Résultats de l'évaluation de la toxicité des rhizomes de *Carthamus cearuleus*

Lots de souris	Lot témoin	Lot 01	Lot 02	Lot 03	Lot 04
Dose de l'infusé (g/kg)	Eau distille	0,25	0,5	1	02
Nombre de souris morts	0	1	3	4	5
Pourcentage de mortalité	0%	20%	60%	80%	100%

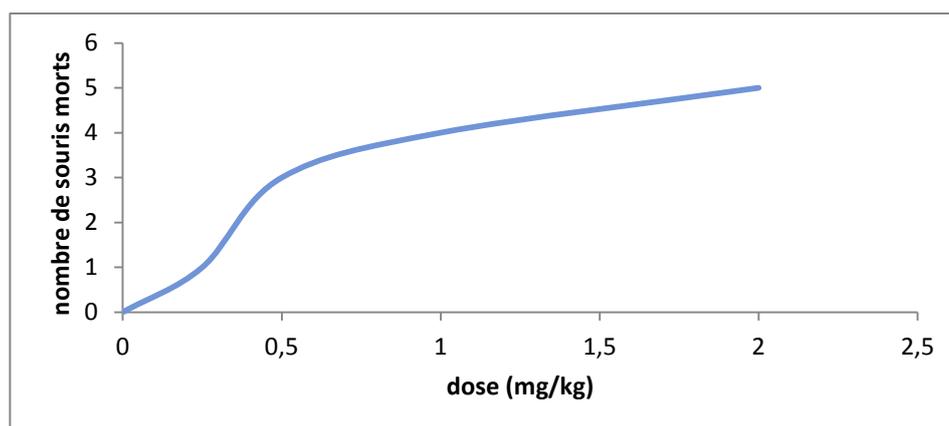


Figure 16 : nombre de souris morts en fonction des différentes doses (mg/kg).

D'après les résultats de la **Fig.16**, nous pouvons conclure ce qui suit :

- La dose minimale (**250mg/kg**) provoque la mort d'une souris avec (20 %).
- La dose maximale (**2000 mg/kg**) provoque la mort de l'ensemble des souris testés avec (100 %).
- les doses entre la dose minimale et maximale provoquent la mort de 03 souris en moyen avec (60%)

Ces résultats montrent la toxicité de rhizomes du *C.cearuleus* à la dose **2g/kg** du poids corporel de souris.

La DL 50 qui est la dose létale pour 50% des souris (03souris) traitées est égale à **(0.5g/kg), (Fig.16)**.

Nos résultats ont bien montré une toxicité à la dose **(0.5g/kg.)**

d'après **Dahmani et al,(2016)**,Le suivi du traitement des doses croissantes d'extraits des rhizomes *Carthamus caeruleus* bruts de 100 mg/Kg à 250 mg/kg de poids corporel n'a montré aucun signe clinique de mortalité, Seulement, un phénomène de satiété (anorexie, apaiser) a été observé à la dose de **250 mg/Kg**.

Selon le même auteur, il indique que une multitude de substances bioactifs de *C.cearuelus* ne présentant pas de toxicité subaiguë mais il suggère une certaine sécurité d'emploi de ces substances végétales dans le traitement traditionnel des brûlures à différents degrés. Le screening phytochimique des rhizomes de la plante médicinale *Carthamus caeruleus* montre une diversité de biomolécules remarquables caractérisées par une forte teneur en tanins, en

flavonoïdes, en saponosides, et les alcaloïdes ces derniers peuvent provoqués une toxicité de la plante.

Mais on estime que la survie des souris dans les doses minimales serait due à la présence des tanins qui sont considérés comme des anti- poisons des alcaloïdes.

CONCLUSION

Dans le but de la valorisation de la flore Algérienne nous nous sommes intéressés à une plante connue traditionnellement pour ses vertus thérapeutiques « *Carthamus caeruleus* L ».

Un screening phytochimique basé sur des tests spécifiques a permis de caractériser les flavonoïdes, les tanins, les glucosides, les saponosides et les alcaloïdes. Ces métabolites secondaires ont de grandes valeurs thérapeutiques.

Les résultats de l'activité anti-oxydante (DPPH) ont indiqué que l'extrait aqueux possède une activité anti-oxydante non négligeable avec une **IC₅₀** de **(2,51 mg/ml)**.

Sur le plan toxicologique nos résultats ont montré que les rhizomes « *Carthamus caeruleus* L. » sont toxiques à la dose **(2g/kg)** de l'infuse préparé et la **DL₅₀** égale à **(0.5g/kg)**.

A la lumière de ces résultats, il en résulte que les rhizomes de « *Carthamus caeruleus* L. » présente une activité antioxydante en accord avec l'efficacité qui lui est reconnue dans la littérature.

Cependant et malgré leurs effets thérapeutiques, Le rhizomes de *Carthamus caeruleus* L. » est toxique, la plante doit être utilisée avec la plus grande prudence

En somme, plusieurs interrogations, se posent, notamment l'identification des molécules à l'origine de l'activité antioxydante et la toxicité aigue observée chez les souris de même que leurs mécanismes d'action.

En Perspectives, il sera judicieux d'effectuer d'autres études approfondies qui se résumant dans les points suivants :

- Etude ethnobotanique pour évaluer et valoriser la plante.
- Isolement, identification, dosage et caractérisation des composés actifs dans les différents extraits par des méthodes plus spécifiques, tel que HPLC et CG/MC.
- Compléter l'étude anatomique par une étude cyto-histo-chimique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **AFNOR. 2000**, « Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles ». AFNOR, Paris, P 661-663.
- **AISSAOUI G., AMARI M., DERIAS S., 2010**, effet du séchage par énergie solaire sur la composition phytochimique de *Carthamus cearuleus* et évaluation des activités antimicrobiennes et cicatrisantes de ses extraits. thèse de Master, Université de Boumerdes, faculté des sciences, Département biologie, option : génie de la biochimie appliquée. Thème : P-50.
- **ANONYME. « Pharmacopée européenne » 2002**, 4ème édition, Strasbourg : Conseil de l'Europe
- **ANTON R. ET LOBSTEIN A. (2005)** - Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles, Tec et Doc, Lavoisier, Paris, P522.
- **ARNAL-SCHNEBELEN B., GOETZ P ET PARIS M.2007**. Santé référence, phytothérapie : la santé par les plantes. sélection du reader's Digest. Vidal Canada. 448.
- **AUBRY PIERRE, 2012**, Intoxications par les plantes toxiques dans les zones tropicales et inter tropicales, texte rédigé le 23 février 2012, P1.
- **BABA AISSA F., 2000** : Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales, d'Orient et d'occident. EDAS-Librairie Modernes- Rouïba. P254 .
- **BELKHERI F. 2011**, Activité et antimicrobienne et antioxydantes des extraits de *Tamus communis* et *Carthamus cearuleus* ?thèse de Magister, Université de Sétif FERHET ABBES facultés des sciences, Département de biologie, option : Microbiologie appliquée ., P60, 62, 66.
- **BOULARD B. 2001**. Dictionnaire des plantes médicinales du monde : Réalités & croyances" ESTEM, Paris. P660.
- **BOURAS S., (2010)** : Elaboration d'un catalogue de référence des épidermes des principales plantes spontanées broutées par le dromadaire au Sahara septentrional algérien (cas d'El oud, Ouargla et Ghardaïa).mémoire de fin d'étude ,Université KASDI MERBAH .OUARGLA ,P 97.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **BOUZOUTA N., KACHOURI F., BEN HALIMA M ET CHAABOUNI M-M.** 2008. Composition chimique et l'activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Société chimique de Tunisie*. 10 :P119-125.
- **BRAVO L. 1998.** polyphénols :Chemistry, dietary sources, métabolisme and nutritional signifiante, *nutrition review*. P56, 317
- **BRUNETON J. 1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Tech & Doc.3^{ème} Edition.Paris. P309-353.
- **BRUNETON J., (1993).** Pharmacognosie phytochimie, plante médicinales. 2^{ème} édition .Tec & Doc. Lavoisier. Paris. P915.
- **BRUNETON J., (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} édition. Tec & doc. Lavoisier. Paris,P1120.
- **BESSAS A., 2008.** Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le Sud Algérien. *Biologie et Médecine*, 1-3, Algérie.
- **CAREE P. 1953,** Précis de technologie et de chimie industrielle. Ed. Ballière JB. et fils, P238.
- **CARILLON E. 2000.** La phytothérapie face à l'évolution médicinale .Ed. phyto.P10-15.
- **DAAYF F ET LATTANZIO V. 2008.** Recent Advances in polyphenol research, *Blackwell Publishing Ltd*. United Kingdom and USA, VI,P393
- **DAHMANI M.M., ARAB K. LAOUFI R.,2016,** screening phytochimique des constituants bioactives de *Carthamus caeruleus* L. (*Asteraceae*) : évaluation des effets toxicologiques Laboratoire De Valorisation et Conservation Des Ressources Biologiques (VALCOR), Colloque , Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université M'Hamed Bougara, Boumerdes 35000, Algérie.
- **DELLILE L. 2007.** Les plantes médicinales d'Alger.Ed. Berti. Alger. P204,216.
- **FOUCHE GP.,MARQUET A. ET HAMBUCKERS A. 2000.** Les plantes médicinales : De la plante aux médicaments.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **FARNSWORTH N. R., AKERELE O., BINGEL A. S. et SOEJARTO D. GUO Z. (1986)** ,Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé. ,P159-164.
- **GHESTEM A., SEGUIN E., PARIS A ET ORECCHIONI A.M .2001.**Le préparateur en pharmacie : Botanique – pharmacognosie- phytothérapie- Homéopathie. Ed. Tech &Doc. Paris. P273.
- **GHESTEM A., SEGUIN E., PARIS A ET ORECCHIONI A.M .2001.**Le préparateur en pharmacie : Botanique – pharmacognosie- phytothérapie- Homéopathie. Ed. Tech &Doc. Paris. P273.
- **HALLIWELL,B ,(1993).** DNA damage by oxygen-received species: its mechanism and measurement using chromatographic methods. in Molecular biology of Free radicals Scavenger system.cold spring Harbor Laboratory Press.New York.P47-67
- **HANS W. K. (2007)** - 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition, P 6-7.
- **ISERIN P. 2001.** Encyclopédie des plantes médicinales. Ed. Larousse. Paris. P335.
- **KONKON, N.G., SIMAGA, D., ADJOUNGOUA, A.L., N'GUESSAN, K.E., ZIRIHI, G.N. ET KONE, B.D. (2006) :**" Etude pytochimique de *Mitrgyna inermis* (Wild) OKTZE (Rubiaceae), plante à feuille antidiabétique". Pharm. Méd. Trad. Afr., XIV:P73-80.
- **KUIDRI F. ,LARBI ABDESSAMEUD A.,2013,** contribution à la caractérisation et l' études des propriétés anti-inflammatoire antimicrobienne et cicatrisante de *Cathamus Cearuleus L.* thèse d'ingénieur , Université de Blida, facultés agro-vétérinaire de , Département de biologie , option :biotechnologie végétale : P-36.
- **LAHOUEL M., AMADAH S., ZELLAGUI A., TOUIL A., RHOUATI S., BENAYACHE F., LEGHOUCHI E., A BOUSSEBOUA H., 2006.** The interaction of new plant flavonoids with rat liver mitochondria: relation between the anti and prooxydant effet and flavonoids concentration: P347-355.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **LHULLIER A., (2007).** Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de Doctorat. Toulouse, P201.
- **LINDEN G., LORIENT D. ,1994** «Biochimie Agro-indusrielle. Ed. Masson, Paris.
- **LOPEZ-GONZALEZ, G. (1989)** : Acerca de la clasificación natural del género *Carthamus* L., s.l. Anales del Jardín Botánico de Madrid. 47: P11–34
- **LU F., FOO L.Y. 2001,** Antioxidant activity of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *FoodChemistry*, , P197-202.
- **LUGASIT A., HOVARIJ., SAGI K. AND BIRO L. 2003.** The role of antioxydant of the flavonoïdesLuteolin. *Mini reviews In Medicinal chemestry9* :P31-59
- **MAURICE N., 1997.** L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe siècle. Ed. Lavoisier, Paris: P12-14
- **MICHALAK A. 2006.** Phenolic compounds and their antioxydant activity in plants Growing under heavy Metal stress-Polish..*Journal of Environ Stud*,P523-530 .
- **MIOULANE, P. (2004).** Encyclopédie universelle des 15000 plantes et fleurs de Jardin. Larousse.ISBN
- **MURPHY COWAN M.1999.** Plants products as antimicrobial agents", *Clinical Micribiologie Reviews, Americain Society for Microbiologie*, V12, N° 4,P564-582.
- **MUSA A.A. ,** « Activité antioxydante et antibactérienne d *Commiphora kerstingii* angl Extrait d'écorce de souches »,research *Journal phytothérapie*,2,(2008),P106-111.
- **PARIS R.R., MOYSE H. 1969** «Matière médicale. Collection de précis de pharmacie. Edition Masson. 2^{ème} édition. Tome II, Paris» P518
- **PIERRE M. & LYS M., 2007.** Secrets de plantes pour se soigner naturellement. Edit Artemis: P 464 .

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **QUENZEL P., SANTA S. 1963.** Nouvelle Flore d'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Tome I et II. P1160-1170.
- **RAMAWAT K-G ET MERILLON J-M. 2008.** Bioactive molecules and medicinals plants. *Springer-Verlag*. Berlin. P379.
- **REBZANI F., HANNICHE N., 2013.** Etude comparative de rendement et des effets antimicrobien et anti-inflammatoire de l'huile essentielles de laurier noble provenant de deux régions d'Algérie. Mémoire d'ingénieur. Université Saad Dahleb-Blida. P55.
- **Richter G. 1993.** Métabolisme des végétaux (physiologie et biochimie). Ed. Press polytechnique et universitaire. Romandes. P321.
- **ROBARD K.,PRENZLER P-D.,TUEKER G., SWATSITANG P ET GLOVER W. 1999.** Antioxydant properties of phenolic compounds *Trend in plant science*.2 P 152-159.
- **ROUX DANIELLE ET CATIER ODILE, 2007.**«Cahiers du préparateur en pharmacie Botanique pharmacognosie, phytothérapie, collection porphyre 3^e édition, Wolters Kluwer. France» P 141.
- **SARKAR .S.D. NAHAR .L.2007** ; Chemistry for pharmacy students general; Organic and natural product chemistry. John Weley & Sons Ltd; England; P 383; 302-369.
- **SING R. 2006,** Marimuthu P., De Heluani C.S, Catalan Ceser A.N. Antioxidant and biocidal Activities of *Carum nigrum* (seed) Essential oil, Oleoresin, and Their Selected Components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, P54, 174-181.
- **SINGH U., DEVARAJ S., JIALAL I., 2005.** Vitamin E, oxidative stress, and inflammation *Annual Review of Nutrition*,P 25, 151-175.
- **STORA D, 2013,** «Pharmacologie et thérapeutique, validation des UE 2^e édition LAMARRE. France »P240.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **TEIXEIRA DE SILVA J. A., 2004.** Mining the essential oils of the Anthemideae. Biotechno, P706-720.
- **THYN M. 1998.** Les plantes médicinales, leur utilisation pour la santé de l'homme et des plantes. Mouvement de culture Bio-dynamique. France.P 175.
- **WICHTL M. ET ANTON R. 2003.** Plantes thérapeutiques, traditions, pratiques officinales, sciences et thérapeutiques".Ed. Tech&Doc. 2^{ème} édition. Paris.P692.
- **WILLIAM G. HOPKINS, 2003** «Physiologie végétale, édition de Boeck, Bruxelles» P532.
- **WILLIAM, B.J(2007),,** “The original of the soxhlet extractor”, Journal of Chemical Education, Volume 84, n°12, Canada, p-1913.
- **ZOUKH MERIEM,2009,** investigation ethnopharmacologique de la wilaya de Médéa et mise en activité antimicrobienne de l *Atemisia herba alba* ,*Carthamus cearuleus*, *Ruta montana* et *Thymus serpyllum*. thèse de Magister, Université Médéa Yahia Feres, institut des sciences de l'ingénieur, Département de génie des procédés, option : génie des procédés pharmaceutiques. Thème : P-30. 532p.

Annexe -I-



Résultats du screening



**Résultats de l'activité
antioxydante (réduction du DPPH).**



La balance



La balance analytique



Sonde de gavage des souris



Alimentation des animaux

Annexe -I-



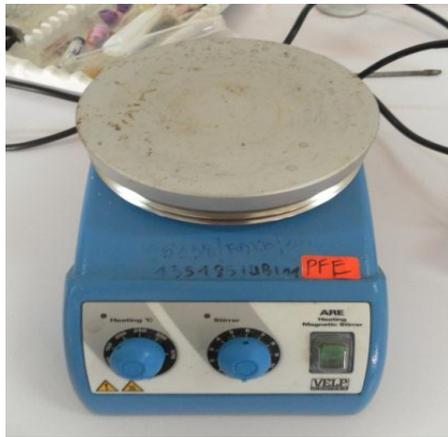
Etuve



Autoclave



Distillateur



Agitateur



Souris albinos



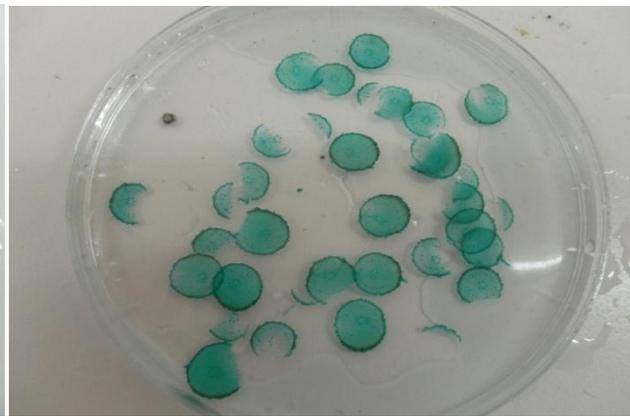
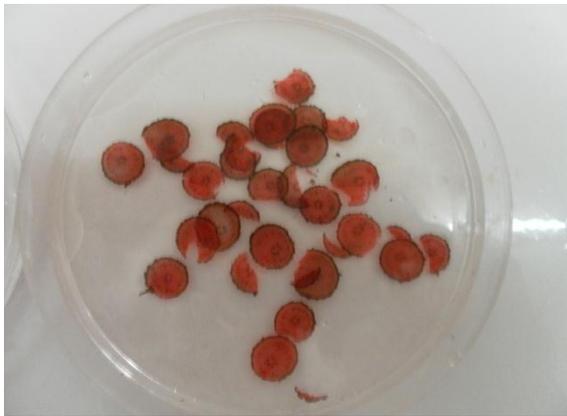
Annexe -I-



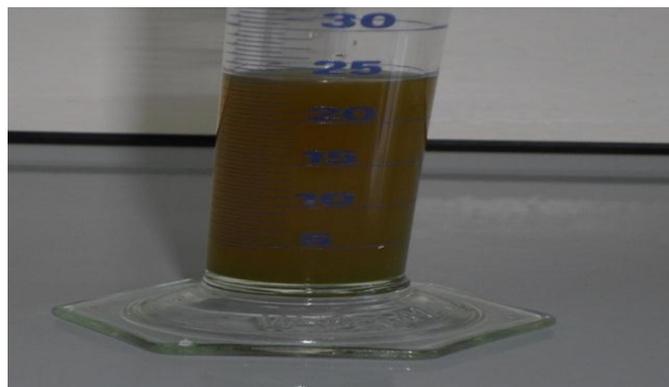
Gavage de l'extrait aqueux.



Recolte des rhizomes de Cc



**Coloration des coupes histologique des rhizomes par la technique
De double coloration**



Extrait aqueux des rhizomes de *Carthamus cerealeus*

Annexe -I-

Appareillages	Verreries et autres	Réactifs et solutions
<ul style="list-style-type: none"> - Agitateur magnétique. -Agitateur Vortex. - Bain marie -Balance analytique -Balance hydrostatique -Bec bunsen - Centrifugeuse -Etuve -Etuve d'incubation - Hotte -Mixeur - Plaque chauffante -Réfrigérant -Spectrophotomètre - Support - Thermomètre 	<ul style="list-style-type: none"> - Béchers - Boîtes de pétri -Burettes. - Cristalliseur - Disques en papier -Entonnoir - Eprouvette -Flacon ombré - Fioles jaugées -Milieux de culture. -Papier filtre -Pince de laboratoire -Pipettes -Pipettes graduées -Poire -Seringue. -Spatule -Tubes à essai stériles 	<ul style="list-style-type: none"> -Acétate de plomb. -Acétate de sodium. - acide acétique. -Acide ascorbique. -Acide chlorhydrique (HCl). -Acide sulfurique -Acide trichloroacétique. -Alcool chlorhydrique. -Alcool isoamylique. -Ammoniaque. - Carraghénine -Chloroforme. -Chlorure de fer. -Eau distillée. -Eau de javel -Eau physiologique -Ethanol -Ether -Ferricyanure de potassium. -Hydroxyde de potassium (KOH). -Magnésium (Mg^{+2}) -Phosphate -Propanol. -Sulfate de sodium. -Réactif de Drangendorff -Réactif de Sitasny -Réactif Valser-Mayer

ANNEXE-II-

Tableau : les résultat de analyse de composition chimique de l' huile essentielle de *Carthamus cearuleus* (zoukh,2009).

constituant	Pourcentage %
α-santalol	8.21
M-caryophyllene oxide	8.21
caryophyllene	3.46
1,6,10-Dodicatriene	3.16
thymol	0.5
α-pinene	0.15
β-pinene	0.047
camphore	0.19
camphene	0.078
1,4.cyclohexadiene	0.21
bicyclo(3.1.1)hept-2-en-6-one	0.14
fenchone	0.082
spathuléol	0.082
β-myecene	0.32
9-oxabicyclo(6.1.0)nonane	0.26
R-caryophyllene-oxide	0.32
1-heptadecene	0.32
1-hexadecene	1.45
benzene,1-methyl-3	0.27
3H-3a,7methanoazulenazulene	0.069
phénol,2-methyl-5-	1.31

ANNEXE-II-

Tableau : Absorbance (DO) et pourcentage d'inhibition de vit c et les deux extraits

Concentration n mg /ml	Acide ascorbique		Concentration n mg /ml	Extrait aqueux		Concentration n mg /ml	Extrait methanolique	
	DO	% d'inhibition		DO	% d'inhibition		DO	% d'inhibition
0.2	0.418	43.43	0.5	0.438	23.34	0.8	0.463	11.84
0.4	0.385	47.90	1	0.413	27.77	2.4	0.418	20.31
0.6	0.352	52.36	2	0.315	44.77	4	0.358	31.66
0.8	0.279	62.24	3	0.221	57.77	5.6	0.322	38.53
1	0.244	66.98	4	0.221	61.28	7.2	0.28 2	46.15
1.2	0.198	73.20	5	0.205	65.89	8.8	0.24 2	53.88

Tableau :la teneur en eau du Carthamus cearuleus

Matière	Poids(g)	Pourcentage %
Fraiche	207	64
Sèche	74	36

Tableau : le rendement de l'huile essentielle de Carthamus cearuleus

Region	%
2009 Medea	0.016
2011 Setif	0.029
2015 tipaza	0.009

ANNEXE-II-

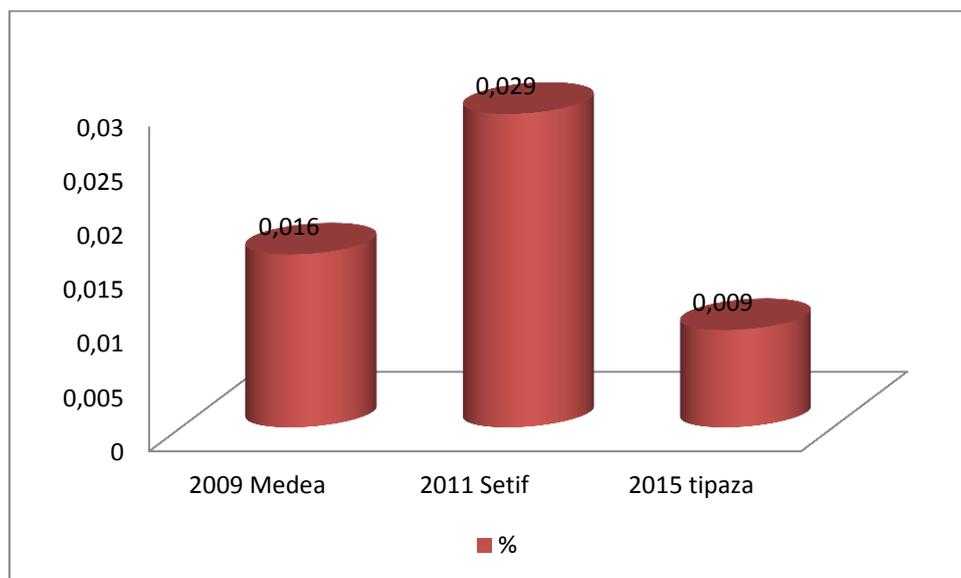


Figure : Rendement en huiles essentielle du *Carthamus cerealis* L.dans trois régions en Algérie (Tipaza, Medea, Setif).

Analyse chromatographique CG/MS

Cette analyse n'a a été effectué vu de la faible teneur et l'aspect volatile de l'huile essentielle.

Selon **Zoukh,(2011)**, les résultats de la composition chimique de l'huile essentielle de *C.cearuleus* analysées par CG/SM montrent la présence 4 constituants majeurs de (**Santalol,**

M-caryophyllene oxyde, Caryophyllene et, 1, 6,10-Dodicatriene avec des valeurs en % de **8.21, 8.1, 3.46 et 3,16** respectivement et 19 autres constituants minoritaires(**figure 09 et annexe**).

Selon **Ghestem et al (2001)**, La composition chimique d'une plante varie avec son cycle végétatif, Ces variations peuvent être quantitatives traduites par la teneur en principe actif qui passe par un maximum et décroît ensuite, ou qualitatives par l'apparition d'un principe actif et disparition d'un autre au cours du développement.

ANNEXE-II-

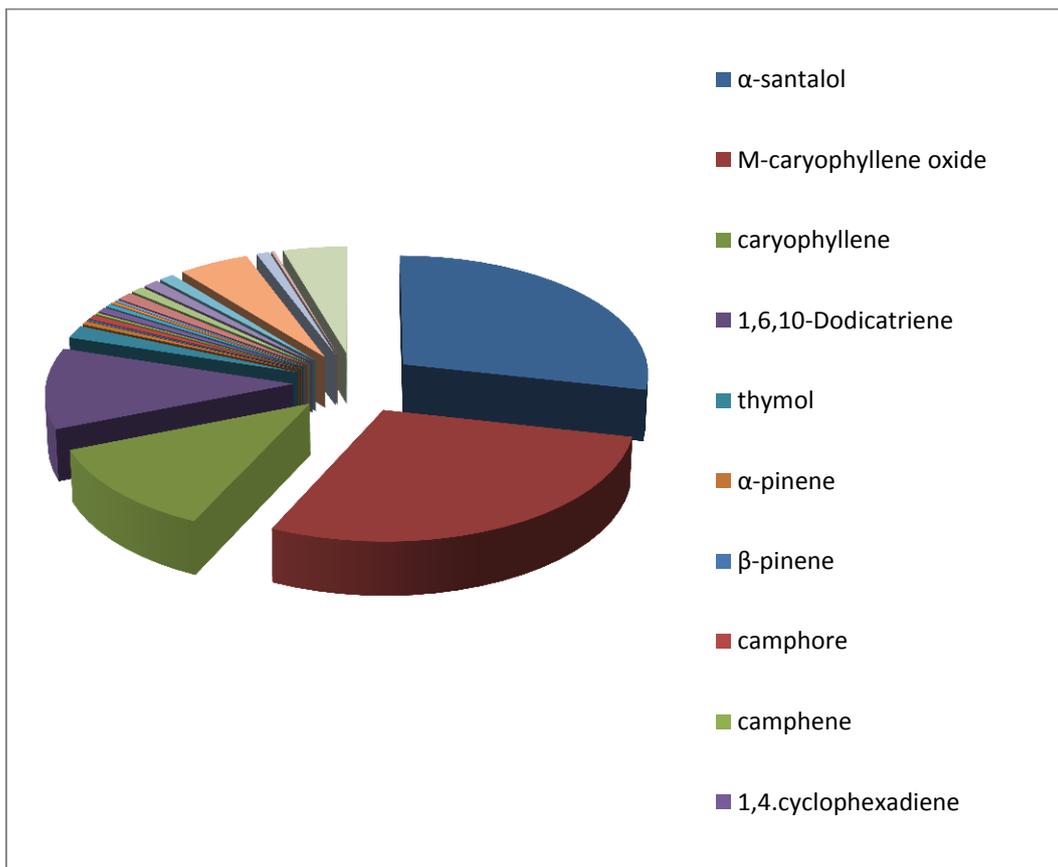


Figure : les différents constituants majeurs d'huile essentielle du *Carthamus cearuleus*
L.(Zoukh, 2009)