REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Oran 1 – Ahmed Ben Bella

N° d'ordre :.....

Faculté de Médecine

Département de Pharmacie

THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES MEDICALES

Mme Zitouni épouse Nourine Saida Hanane

Maître Assistante en Pharmacognosie

Etude Phytochimique et Pharmacodynamique des Extraits Bioactifs D'*Echinops spinosissimus* Turra

Soutenue publiquement le.....

Devant le jury composé de :

Mme Serradj A.	Professeur, Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella	**Président**
Mme Boughandjioua-Amoura N.	Professeur, Université de Badji Mokhtar Annaba	**Examinateur**
Mme Benhammou-Belyagoubi N.	Professeur, Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen	**Examinateur**
Mme Kambouche N.	Professeur, Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella	**Examinateur**
Mme Boudia F.	Maître de Conférences A, Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella	**Examinateur**
Mr Toumi H.	Professeur, Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella	**Rapporteur**

Année universitaire : 2020-2021

A la mémoire de mes grands parents

A la mémoire de ma tante et de mon oncle disparus trop tôt

A mes très chers parents

A mon époux khaled pour son soutien indéfectible

A mes adorables enfants Rawane et Omar

A mes sœurs, A mon frère, A mes neveux et nièces

Je dédie ce travail,

Hanane

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier vivement Pr Amina Serradj, chef de service de dermatologie et Professeur à la faculté de médecine de l'université Oran 1, qui a eu la bienveillance d'accepter de présider le jury de cette thèse.

Mes chaleureux remerciements vont a mesdames les professeurs N. Amoura-Boughandjioua , Professeur en Pharmacognosie à la faculté de médecine de l'université de Annaba, N. kambouche, Professeur en chimie des substances naturelles à l'université oran 1, N.Benhammou-Belyagoubi , Professeur en phytochimie à l'université des sciences de la nature et de vie de l'université de Tlemcen ainsi que F.Boudia , Maitre de conférences A en pharmacologie à la faculté de médecine de l'université Oran 1, pour l'honneur qu'elles m'ont fait en acceptant d'examiner et de juger cette thèse.

Mes chaleureux remerciements et ma profonde gratitude vont à mon maître et mon directeur de thèse, Pr Houari Toumi, chef de service de pharmacovigilance de l'EHUO et Professeur en Pharmacologie à la faculté de médecine de l'université Oran 1, pour la confiance qu'il m'a témoignée en acceptant la direction scientifique de mes travaux. Je lui serais éternellement redevable pour ses encouragements, son accompagnement et de m'avoir fait bénéficier tout au long de ce travail de sa grande compétence, de sa rigueur intellectuelle, et de son dynamisme.

Mes remerciements et ma reconnaissance vont également à professeur Fawzia Bekkara Attik et plus particulièrement à Professeur Nabila Benhammou pour le temps qu'elle m'a consacré , de m'avoir accueilli au sein de son équipe de recherche et d'avoir accepté de diriger et encadrer les travaux portant sur les activités biologiques de la plante. Mes sentiments sont réitérés pour tous les membres du laboratoire des produits naturels de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Tlemcen.

Je tiens à adresser mes vifs remerciements à Madame Le Professeur Nadia Kambouche pour son aide, son accompagnement, sa disponibilité et sa gentillesse.

Toujours sur cette note, je remercie tous mes collègues du service de pharmacovigilance et de l'établissement hospitalier universitaire 1er novembre EHUO à savoir Professeur Fatma Boudia pour ses encouragement, ses conseils et sa gentillesse, Mme Zouaoui Yasmine , Mr Ali Khalfa, Dr Nadjet Mekaouche, Dr Habiba Fetati, sans oublier ceux de la

faculté de médecine d'Oran et de Tlemcen , particulièrement Dr Omar Douahi, Dr Nassima Lachgueur ,Dr Abdelali Belhachem , Dr Hayat Nador , , Dr Faouzia Chenafi, , Dr Siham Chabane Sari , Mlle Chahinez Zaoui ,Pr Kamel Dali Yahia, Pr Adil Selka, Dr Nassima El Yebedri, pour leur aide et leur soutien.

Mes remerciements s'adressent également à Madame la doyenne de la faculté de médecine de l'université Oran 1 ainsi qu'à tout le personnel de la Faculté de Médecine d'Oran 1 , à Professeur Dellaoui Yahia chef de département de pharmacie de la faculté de médecine d'oran 1 ,à Mme Khalfa Fatiha, chef de service de la recherche et des thèses ; Mme Beneddine Hada, secrétaire du conseil scientifique et Mme Benkahla Fatima, chef de service de la bibliothèque et enfin le personnel technique et à leur tête Monsieur Assassi Said, ingénieur du laboratoire de botanique médicale de la faculté de médecine pour son aide inestimable.

Merci du fond du cœur à tous ceux que j'ai oublié de citer et qui ont collaboré de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Je termine par remercier « Allah » le tout puissant qui m'a donné volonté, force, patience, courage et santé pour réaliser ce travail.

TABLE DES MATIERES

Dédicaces

Remerciements

Résumés

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale 1

Chapitre 1

I-Introduction 6

II-Monographie d' Echinops spinosissimus Turra. 6

II-1-Dénomination 6

II-2-Description botanique de la plante 7

II-3-Répartition géographique de la plante 8

II-4-Les données en Médecine traditionnelle 10

II-5-Activités pharmacologiques 15

II-5-1-Activités antibactériennes et antifongiques 15

II-5-2-Activité anti-protozoaire 15

II-5-3-Activité antioxydante et hépato-protectrice 17

II-5-4-Action anti-inflammatoire 19

II-5-5-Activité anti-hémolytique 20

II-5-6-Activité hypocholestérolémiante 20

II-5-7-Effets sur le système reproducteur 20

II-6-Données phytochimiques 22

II-6-1- Thiophenes 22

II-6-2-Terpenoides 23

II-6-3-Flavonoides et autres composés phénoliques 24

II-6-4-Alcaloides 24

II-6-5-Huiles essentielles et composés lipidiques 25

III- Conclusion 35

Chapitre 2

I-Introduction 36
II-Anatomie et fonction de la peau 36
II-1-Epiderme 37
II-2- Derme 38
II-3-Hypoderme 38
II-4- Les annexes cutanées 39
II-4- 1- Les glandes cutanées 39
II-4- 2-Les phanères 40
III-Physiopathologie de la plaie 41
III-1-Phase Inflammatoire 41
III-2-Phase de Prolifération 42
III-3- Phase de Remodelage ou de différenciation cellulaire 43
IV- Plaies aiguës et chroniques 43
V- Facteurs intervenant dans la gestion de la cicatrisation des plaies 46
VI- Rôle des plantes médicinales dans la cicatrisation 47
VII-Conclusion 50

Partie pratique

I. Introduction 51
II-Materiels et methodes 52
II-1-Materiels 52
II-1-1-Matériel Végétal 52
II-1-1-1-Critères de choix de la plante étudiée 52
II-1-1-2-Récolte du matériel végétal 53
II-1-1-3-Situation géographique et Bioclimat des stations de récolte 54
II-1-2-Matériel Animal 55
II-1-2-1-Le choix de la race, du sexe et du modèle d'évaluation de la cicatrisation 55
II-1-3-Microorganismes 56
II-1-4-Réactifs chimiques, solvants et appareillage 56
II.2. Methodes 57
II.2.1.Méthode ethnobotanique 57
II.2.1.1. Type d'étude 57
II.2.1.2. Le questionnaire 57

II.2.1.3. Identification des échantillons 58
II.2.1.4. traitement des données de l'enquête 58
II.2.2.Préparation des échantillons 58
II.2.2.1.Le séchage et broyage 59
II.2.2.2.Caractères organoleptiques de la drogue 59
II.2.2.3. Technique d'observation des caractères microscopiques des poudres végétales 59
II.2.3.Préparation des extraits 59
II.2.4.Criblage ou screening préliminaire des classes phytochimiques majoritaires 60
II.2.4.1.Préparation des extraits 61
II.2.4.2.Les Réactions de Caractérisation 62
II.2.5.Analyses quantitatives des extraits 65
II.2.5.1. Dosage des polyphénols totaux 65
II.2.5.2. Dosage des flavonoïdes totaux 66
II.2.5.3. Dosage des tannins condensés 67
II.2.5.4.Identification des composés phénoliques et des alcaloïdes par HPLC-PDA-ESI-MS 67
II.2.6. Evaluation des Activités Biologiques 68
II.2.6.1. Etude de l'activité antioxydante des extraits 68
II.2.6.1. 1. Activité antioxydante totale (TAC) 68
II.2.6.1. 2. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) 69
II.2.6.2. Activité antibactérienne 70
II.2.6.3. Evaluation de l'activité cicatrisante 72
II.2.6.3.1. Animaux et lots expérimentaux 72
II.2.6.3.2. Formulation des onguents 73
II.2.6.3.3.Induction des plaies 74
II.2.6.3.4.Paramétres biophysiques des plaies 75
A-Etude planimétrique/ taux de contraction 75
B-Temps d'épithélialisation 76
II.2.6.3.5.Etude histopathologique 76
II.2.7. Analyses statistiques 77
III. Résultats et discussion 78
III-1-Enquête ethnobotanique 78
III-1-1-Utilisation traditionnelle de l'Echinops spinosissimus Turra L. dans le 78
Nord-ouest et Sud -ouest d'Algérie. 78

III-2-Identification botanique et caractères organoleptiques 89
III-2-1-Macroscopiquement 89
III-2-2-Microscopiquement 93
III-2-2-1-La Racine 93
III-2-2-2-La Feuille 94
III-2-2-3-la Fleur 94
III-3-Rendements des extractions 102
III-4-Screening phytochimique 104
III-5-Dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins 106
III-6-Profils chromatographiques des extraits par HPLC-PDA-ESI-MS 109
III-6-1-Polyphénols 109
III-6-2-Alcaloides 116
III-7-Activités biologiques 121
III-7-1-Activité antioxydante 121
III-7-1-1-TAC méthode 122
III-7-1-2-DPPH méthode 122
III-7-2-Activité antibactérienne 127
III-7-2-1-Méthode de diffusion sur gélose agar 127
III-7-2-2-Determination des CMI 127
III-7-3-Activité cicatrisante 135
III-7-3-1-étude planimétrique 135
III-7-3-2-Etude Histopathologique 140
III-7-3-3- Corrélation entre phytoconstituants, activités biologiques et propriétés cicatrisantes 142
IV-Conclusion……146
Conclusion générale 151
Réferences bibliographiques 157
Annexe 1 : Fiche enquête ethnobotanique en français 182
Annexe 2 : Fiche enquête ethnobotanique en arabe 185
Annexe 3 : Composition et préparation des Réactifs 187

Liste des abréviations

ALAT: Alanine Aminotransférase

ASAT : Aspartate Aminotransférase

BFGF : Basal Fibroblast Growth Factor

CCl4 : Tétrachlorure de Carbone

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DPPH : 2,2-Diphényl-1- Picrylhydrazyl

***E.spinosissimus* :** *Echinops spinosissimus*

FRAP :Ferric reducing antioxydant power

GPx : Glutathion Peroxydase

HPLC-PDA-ESI-MS : High Performance Liquid Chromatography Photo Diode Array Mass Spectrometry.

IC50 : Inhibition Concentration 50

IL-10 : Interleukine-10

MEO : Methanolic Extract Ointment.

MMPs : Métalloprotéases Matricielles

ORL : Sphère Oto-Rhino-Laryngologie

SOD : Superoxyde Dismutase

TCMI : Traditional Chinese Médicinal Injection

Liste des tableaux

Tableau 1 : Etudes ethnobotaniques sur l'espèce *E.spinosus* L (Asteraceae)…….. 12

Tableau 2 : Les principaux métabolites secondaires établis dans l'espèce *E.spinosissimus* Turra…….. 27

Tableau 3 : Les caractéristiques des trois couches de la peau humaine…….. 39

Tableau 4 : Aspects, couleurs et rendements des extraits bruts obtenus après extraction au soxhlet avec des solvants de polarité croissante……. 102

Tableau 5 : Résultats du screening phytochimique préliminaire des Racines d'*E.spinosissimus* Turra Provenant des deux régions nord et sud d'Algérie…….. 104

Tableau 6 : Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensées dans les extraits de racine d'*E.spinosissimus* Turra……. 106

Tableau 7: Identification de la composition en polyphénols de l'extrait méthanolique de la racine d'E. spinosissimus Turra par HPLC-PDA-ESI-MS…….... 111

Tableau 8 : Identification de la composition en alcaloïdes de l'extrait méthanolique Sud de la racine d' *E. spinosissimus* Turra par HPLC-PDA-ESI-MS. 117

Tableau 9 : Identification de la composition en alcaloides de l'extrait méthanolique de la racine d' *E. spinosissimus* Turra par HPLC-PDA-ESI-MS…….. 117

Tableau 10 : Estimation quantitative de la capacité antioxydante totale et des concentrations IC_{50} de la méthode au DPPH……... 121

Tableau 11 : Activités antibactériennes des extraits d'*E.spinosissimus* Turra …….... 127

Tableau 12 : Valeurs des CMI (mg/ml) des extraits d'*E.spinosissimus* Turra sur trois espèces bactériennes……. 129

Tableau 13: Effet du traitement topique de l'extrait méthanolique d'*E.spinosissimus* Turra sur les paramétres planimétriques des plaies d'excision pendant 16 jours …….. 139

Liste des figures

Figure 1 : Caractéres botaniques d'*E.spinosissimus* Turra (Mostaganem, avril 2018)…….. 9

Figure 2 : Répartition du genre Echinops dans le monde……..... 10

Figure 3 : Représentation schématique de la structure de la peau humaine……. 40

Figure 4 : La phase inflammatoire de la cicatrisation……... 45

Figure 5 : Les phases de prolifération et de remodelage du processus cicatriciel…… 45

Figure 6 : Situation géographique de la station nord-ouest de récolte d'*E.spinosissimus* Turra (Asteraceae)…… 53

Figure 7 : Situation géographique de la station sud-ouest de récolte d'*E.spinosissimus* Turra (Asteraceae)…… 54

Figure 8 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH ……... 69

Figure 9 : Répartition des herboristes en fonction de la connaissance du nom vernaculaire arabe (Oran, Mostaganem, Aïn Safra 2018)……. 81

Figure 10 : Répartition des noms vernaculaires utilisés par les herboristes (Oran, Mostaganem, Aïn Safra 2018)…… 81

Figure 11 : Répartition des herboristes en fonction de la forme d'utilisation (fraiche ou sèche) (Oran, Mostaganem, Aïn Safra 2018)…….. 82

Figure 12 : Répartition des herboristes en fonction de la période de récolte/ceuillette(Oran, Mostaganem, Aïn Safra 2018)……. 82

Figure 13 : Répartition des herboristes en fonction de la fréquence de récolte/ceuillette (Oran, Mostaganem, Aïn Safra 2018)…… 83

Figure 14 : Répartition des herboristes en fonction des parties de la plante utilisées (Oran, Mostaganem, Aïn Safra 2018)……. 83

Figure 15 : Répartition des usages traditionnels de la plante à Mostaganem…... 84

Figure 16 : Répartition des usages traditionnels de la plante à Oran…… 84

Figure 17 : Répartition des usages traditionnels de la plante à Aïn Safra…… 84

Figure 18 : Répartition des modalités de préparations de la plante (Oran, Mostaganem, Aïn Safra 2018)……... 87

Figure 19 : Répartition des modes de préparations de la plante (Oran, Mostaganem, Aïn Safra 2018)……... 87

Figure 20 : Répartition des associations de la plante proposées par les herboristes (Oran, Mostaganem, Aïn Safra 2018)……. 88
Figure 21 : Répartition en fonction de la durée du traitement (Oran, Mostaganem, Aïn Safra 2018)…….. 88
Figure 22 : Herbier d'*E.spinosissimus* Turra au Royal Botanics Gardens Kew. ……..... 90
Figure 23: caractères macroscopiques d'identification de l'espéce *E. spinosissimus* Turra……... 91
Figure 24 : caractères microscopiques de la poudre de racines *d'E.spinosissimus* Turra…… 96
Figure 25 : Caractères microscopiques de la poudre de feuilles *d'E.spinosissimus* Turra. …….. 98
Figure 26 : Caractères microscopiques de la poudre de fleur *d'E.spinosissimus* Turra. …… 100
Figure 27 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux (Benhammou., 2011)……. 107
Figure 28 : Courbe d'étalonnage de de catéchine pour le dosage des flavonoïdes (Benhammou., 2011)……. 107
Figure 29 : Courbe d'étalonnage de de catéchine pour le dosage des tanins condensés.(Benhammou., 2011)…… 107
Figure 30 : UV chromatogramme de l'extrait acétate éthyle Sud des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 280 nm……. 113
Figure 31 : UV chromatogramme de l'extrait méthanolique sud des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 280 nm……. 113
Figure 32 : UV chromatogramme de l'extrait méthanolique nord des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 280 nm……. 114
Figure 33 : UV chromatogramme de l'extrait acétate éthyle Nord des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 280 nm……. 114
Figure 34 : UV chromatogramme de l'extrait acqueux Nord des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 280 nm……. 115
Figure 35 : UV chromatogramme de l'extrait acqueux Sud des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 280 nm……. 115

Figure 36 : UV chromatogramme de l'extrait méthanolique des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 280 nm……. 111
Figure 37 : UV chromatogramme de l'extrait méthanolique Sud des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 330 nm……. 117
Figure 38 : UV chromatogramme de l'extrait méthanolique Nord des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 330 nm……. 117
Figure 39 : UV chromatogramme de l'extrait acétate éthyle Sud des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 330 nm……. 119
Figure 40 : UV chromatogramme de l'extrait acétate éthyle Nord des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 330 nm……. 119
Figure 41 : UV chromatogramme de l'extrait aqueux Nord des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 330 nm……. 120
Figure 42 : UV chromatogramme de l'extrait aqueux Sud des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 330 nm……. 120
Figure 43 : Courbe de régression des surfaces des plaies au cours des jours des prises des mensurations……. 139
Figure 44 : Courbe d'évolution des pourcentages de contraction des plaies en fonction du temps…….. 139
Figure 45 : Représentation morphologique de la contraction des plaies d'excision du 4éme au 16éme jour de l'essai in vivo…… 141
Figure 46 : Coupes histologiques des tissus cutanés obtenus à partir du modèle de plaie d'excision au 16e jour, observées au microscope photonique (Gr x: 100)…… 144
Figure 47 : Observation au microscope optique GX100 des caractères anatomopathologiques des tissus d'excision de peau du groupe G 1 à J16……. 147
Figure 48 : Observation au microscope optique GX100 des caractères anatomopathologiques des tissus d'excision de peau du groupe G 2 à J16……. 148
Figure 49 : Observation au microscope optique GX100 des caractères anatomopathologiques des tissus d'excision de peau du groupe G 3 à J16……. 149
Figure 50 : Observation au microscope optique GX100 des caractères anatomopathologiques des tissus d'excision de peau du groupe G 4 à J16…….. 150

Introduction générale

Introduction

Le règne végétal représente un réservoir, en grande partie, inexploité de composés biologiquement actifs, non seulement comme des médicaments, mais aussi comme des modèles uniques qui pourraient servir de point de départ pour les analogues synthétiques ou comme matière première pour l'hémi-synthèse, il s'agit aussi d'un outil intéressant qui peut être appliqué pour une meilleure compréhension des processus biologiques (Pushparaj , 2004).

Au fil des années et à ce jour, il y a eu de nombreuses études documentant les propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales, anticancéreuses et anti-inflammatoires des ingrédients végétaux, tels que les alcaloïdes, les huiles essentielles et les composés polyphénoliques (Naili et al., 2010).

Certaines de ces plantes sont utilisées pour la gestion des plaies aigues, tandis que d'autres pour le traitement les plaies chroniques. Malgré l'utilisation répandue de ces plantes traditionnellement dans la cicatrisation des plaies, seuls quelques-unes ont été étudiées scientifiquement pour valider leur potentiel thérapeutique.

La cicatrisation des plaies est un processus dynamique impliquant des phénomènes biochimiques et physiologiques assez complexes et complémentaires qui aboutissent à la régénération tissulaire par multiplication, migration cellulaire active et production de matrice extracellulaire (Nagappa et Cheriyan , 2001). Le processus cicatriciel des plaies peut être entravé par la présence des radicaux libres ou par une infection microbienne qui peuvent endommager les cellules environnantes de la plaie (Houghton et al., 2005).

Echinops L. fait partie du groupe des Asteraceae, une famille qui est dispersée dans le monde entier en dehors de l'Antarctique; c'est un taxon monophylétique reconnu par des inflorescences organisées sur un réceptacle en têtes centripètes et entouré de bractées. Il concerne 120 à 130 espèces réparties à travers l'Afrique du Nord, l'afrique tropicale, le bassin méditerranéen et l'Asie centrale. Les membres de ce genre sont pour la plupart vivaces (Funk et al., 2005).

En Algérie, ce genre est représenté par l'espèce très commune *Echinops spinosus* L (African Plant Database, 2020; Plant List Database, 2020) qui est synonyme *d'E. Spinosissimus* Turra. Selon Quezel et Santa (1963), elle est subdivisée en deux sous-

espèces *E. spinosus* ssp. eu. spinosus Maire et *E. spinosus* ssp. bovei (Boiss.) Maire également appelée *E. bovei* Boiss.

Cette plante est connue dans la langue berbère Algérienne sous les noms «Taskra», «Teskera», « Ameskelit » et « Sarsor », et en arabe sous les noms: «fouga el djemel», «chouk el djemel», «sukej-jmal», « Kachir », « Ikchir », « Chouk el Hamir », « Chicaou » et « Sorr » (Baba Aissa, 2000; Ait Youssef, 2006). Dans la langue Tamahaq tahaggart, elle est appelée « Téfariast » (Sahki et al., 2004).

Les utilisations populaires les plus rapportées en Algérie, des racines ou capitules floraux d'*E. Spinosissimus* Turra sont comme abortif, diurétique, pour la circulation sanguine, le diabète, les troubles gastriques, la dyspepsie, comme antispasmodique et dans le traitement du prostatisme et de la dysménorrhée (Kheder et al., 2014). Traditionnellement, il est considéré comme un agent hypertenseur et a été utilisé dans le traitement des hémorroïdes, des varices, des varicocèles et différents hémorragies en raison de son action vasoconstrictive (Ait Youssef., 2006).

La revue de la littérature portant sur la phytochimie de l'espèce s'est révélée assez restreinte, les travaux publiés sur *E. spinosissimus* Turra ont mis en évidence la présence de plusieurs métabolites primaires et secondaires appartenant à différentes classes phytochimiques. En 2006, Fokialakis et al. ont rapporté la présence d'un composé thiophénique défini comme l'α-terthiophène , Dong et al (2008) ont isolé deux nouveaux sesquiterpénoïdes : l'échinopine A et l'échinopine B à partir de l'extrait méthanolique des parties souterraines de la plante provenant du Maroc.

Le 11-hydroxyisocom-2-en-5-one, un nouveau sesquiterpénoïde a été isolée pour la première fois à partir d'un extrait de racine *d'E.spinosissimus* du Maroc (Ni et al., 2013).

Une étude égyptienne a rapporté en 2011, l'isolement de l'échinopsine et de l'échinorine, deux alcaloïdes naturels à noyau quinoléine provenant du capitule floral *d'E. Spinosus* (Halim et al., 2011). D'autres composés comme l'apigénine, l'apigénine-7-O-β-glucopyranoside et l'apigénine-7-O-β-D- (6 " -p-coumaroyl) - glucopyranoside ont été identifiés dans les parties aériennes *d'E. Spinosissimus* (Boumaraf et al., 2016). La même année, deux autres travaux de recherche sur la même plante ont montré de une la présence de 22 composés polyphénoliques

comme l'hespirtine (39,233 mg / 100g) et l'hespiridine (34,589 mg / 100g), qui sont les principaux composés des parties aériennes (Ibrahim et al., 2016), et de deux l'identification de 13 stérols avec deux composés majoritaires et qui sont le ß-sitostérol (44,97%) et le stigmastérol (34,95%) et ce dans les parties aériennes *d'E. Spinosissimus* provenant de Tunisie (Bouattour et al., 2016), l'apigenine-7-*O*-ß-D-glucoside- (4"-*O*-*trans*-*p*-coumaroyl) et un compose C30-pentacyclic triterpadiene A-neooleana-3(5),12-diene ont également été identifiés dans la même plante par les mêmes auteurs un an plus tard (Bouattour et al., 2017).

Il faut savoir qu'il existe uniquement un seul rapport sur un nouveau thiophène établi dans des racines collectées au Maroc, appelé acetylene 2,2-dimethyl-4 [5'-(prop-1-ynyl)-2,2'-bithiophene-5-yl]-1,3-dioxalane (Wu et al., 2017).

Peu de travaux aussi portant sur les composés terpéniques de cette plante ont été retrouvés, neuf triterpénoïdes, un de type oléanane, quatre types de taraxastane, trois types de lupane et un phytostérol ont été isolés à partir des parties aériennes *d'E. Spinosissimus* (Tsafantakis et al., 2019).

Très récemment, l'huile essentielle de racines *d'E. Spinosissimus* a fait l'objet de deux publications, une provenant de Tunisie et qui a révélé la présence de vingt composés, où le γ-cadinène (27,224%) était le composé majoritaire suivi du 5- (3-buten-1-ynyl)-2,2'-bithienyl (21.334%) (Yahyaoui et al., 2018**)**,l'autre en 2020 sur l'huile essentielle *d'E. Spinosus* de la même partie de la plante ,qui a révélé que le 5- (But-1-yn-3-ényl) -2,2′-bithiophène (54,4%) et l'α-terthienyle (26,3%) étaient fortement dominants dans l'huile essentielle poussant dans un biotope Algérien (Belabbes et al., 2020).

Il en découle de l'analyse bibliographique portant sur l'espèce *E.spinosissimus* Tura, un réel besoin d'intérêt pour cette espèce notamment en Algérie.

Par conséquent, le présent travail a comme principal objectif d'étudier scientifiquement le contenu polyphénolique, alcaloides et d'évaluer l'activité cicatrisante des extraits de racine *d'E. Spinosissimus* Turra provenant de deux régions Nord-ouest et Sud-ouest d'Algérie.

Le choix d'étudier l'activité cicatrisante d'*E.spinosissimus* Turra a été motivé par plusieurs raisons à savoir :

1-l'effet cicatrisant peu appuyé en médecine traditionnelle algérienne mais qui reste présent en ethnobotanie (Ait Youssef, 2006).

2-En 2014, des auteurs ont pu démontré l'effet des alcaloïdes (forme hydrogénée de l'échinopsine (1-méthyl-4 (1H) -quinolinone), alcaloïde présent dans l'espèce *E.spinosissimus* Turra) isolés pour la première fois à partir d'*Echinops heterophyllus* espèce endémique irakienne appartenant au même genre, sur la cicatrisation et la prévention d'apparition d'escarres (Khadim et al., 2014).

3-La présence dans la plante de flavonoïdes type Apigénine, l'apigénine-7-O-β-glucopyranoside et apigénine-7-O-β-D- (6 " -p-coumaroyl) - glucopyranoside identifiés dans les parties aériennes *d'E. Spinosissimus* (Boumaraf et al., 2016). Et sa richesse en composés phénoliques à savoir l'hespirtine et l'hespiridine décrits auparavant par Ibrahim et al.(2016).

3-L'apigénine et ses glycosides qui ont été identifiés dans l'espèce *E.spinosissimus* Turra auraient des propriétés cicatrisantes (Adhav et al., 2015; Soni et al., 2012; Abdennabi et al., 2016). Il a été rapporté dans une étude que les C-glycosides flavonoïdes sont connus pour posséder des propriétés biologiques utiles, notamment des propriétés antioxydantes et cicatrisantes, ce qui a été démontré par Zain et al (2020) lorsqu'il a testé des fractions enrichies en C-glycosides flavonoïdes (orientine, iso-orientine, vitexine et isovitexine) montrant de meilleures activités de prolifération et migration cellulaires des cellules fibroblastes 3T3 et ce à de faibles concentrations qu'à des concentrations élevées.

Selon nos connaissances, il s'agit du premier travail sur l'activité cicatrisante de l'extrait de racine de cette plante et également de la première identification par HPLC-PDA-ESI-MS de la composition qualitative en polyphénols et alcaloïdes *d'E. Spinosissimus* Turra.

Les objectifs secondaires de notre démarche de recherche portent sur :

- Inventorier et évaluer à travers une enquête ethnobotanique réalisée dans trois wilayas des régions sélectionnées, les usages traditionnels de la plante.
- Etablir un profil d'identification macroscopique et microscopique de la plante.
- Extraire par différents solvants de polarité croissante, les principes actifs des racines *d'E.spinosissimus*.
- Cribler phytochimiquement et déterminer les contenus polyphénoliques, flavonoïdiques totaux et tanins condensés des différents extraits.
- Déterminer l'effet antioxydant des extraits par l'entremise des tests de piégeage du radical libre DPPH et de la capacité antioxydante totale étant donné que c'est un paramètre fortement lié à la chronicité des plaies.
- Evaluer l'activité antibactérienne des extraits et leurs concentrations minimales inhibitrices vis-à-vis de trois souches bactériennes les plus incriminées dans le phénomène de surinfection des plaies.

Le présent travail est scindé en deux grandes parties :

- Une première partie théorique qui englobe le chapitre 1 rapportant l'état des lieux sur la bibliographie existante portant sur le genre Echinops et l'espèce en question (ethnobotanie, phytochimie et activités pharmacologiques), le deuxième chapitre s'intéresse aux rappels physiologiques sur la peau et sur la physiopathologie de la cicatrisation avec présentation à la fin du chapitre d'un recueil des travaux de recherche sur le rôle des plantes médicinales en général dans la cicatrisation et comment peuvent-elles l'améliorer.
- La deuxième partie est une étude expérimentale, elle-même est présentée sous forme de trois volets :

1. Une étude ethnobotanique appuyée par une caractérisation macroscopique et microscopique de la drogue végétale.
2. Une étude phytochimique des extraits végétaux.
3. Enfin une étude des activités biologiques *d'E.spinosissimus* à savoir l'activité antioxydante, antibactérienne et cicatrisante.

Chapitre 1

Echinops spinosissimus Turra : Ethnobotanie, phytochimie et activités biologiques.

I-Introduction

Le genre Echinops, appartient à la famille des Asteraceae (anciennement Compositae) et comprend 120 espèces réparties dans toute la région méditerranéenne, en Asie centrale et en Afrique tropicale (Halim et al., 2011) . En Algérie, ce genre est représenté par l'espèce très commune *Echinops spinosus* L. Selon la littérature cette espèce est synonyme *d'E. Spinosissimus* Turra (Plant List., 2020). C'est une plante qui pousse dans des conditions arides avec une pluviométrie annuelle variant entre 20 et 100 mm, sur des sols de natures différentes, calcaires, sablonneuses et graveleuses à rocheuses (IUCN., 2005). Les botanistes ont subdivisé l'espèce *Echinops spinosus* L. en deux sous-espèces (Quezel et Santa., 1963 ; Ozenda., 2004) : *E. spinosus* ssp. eu. spinosus Maire (var. chaeto-cephalus Pomel) et *E. spinosus* ssp. bovei (Boiss.) Maire (var. pallens Maire.), également connue sous le nom *d'E. bovei* Boiss (Dobignard et Chatelain., 2011). Les données récentes de synonymique fournies par les bases de données du genre, ont validé le nom scientifique d'*E. Spinosissimus* subsp. bovei (Boiss.) Maire = *E.spinosissimus* Turra (Greuter, 2003 ; Plant List,2020).

II-Monographie d' *Echinops spinosissimus* Turra.

II-1-Dénomination

Echinops spinosissimus Turra. *(*Plant List, 2020*)*

Echinops spinosissimus ssp. bovei (Boiss.) Maire. (Plant List, 2020)

Echinops: du grec échinos, hérisson.

Noms vernaculaires français : chardon à fleurs globuleuses, l'échinope épineuse, l'échinope, la boule d'azur épineuse , chardon (Adouane ,2016), échinops oursin ; oursin épineux ; boulette (Bellakhdar , 1998).

Nom vernaculaire Anglais : thorny-headed globe thistle.

Noms vernaculaires Arabes :

- Fouga el djemel, Ikchir, chicaou, kachir, sor (Algérie) (Quézel et Santa.,1963 ; Fourment et Roques,1942).
- Taskra, Chouk el djemel ; šuk al-himar, Timaṭ, Sawk al gimal, L-hersuf (Bellakhdar,1998)
- Teskra (Tunisie) (Boukef, 1986)
- Šûk aj-jmâl; šûk al-hamîr (Ait Youssef,2006)

Noms Berbères et Targuis :

- Isnanen, isanânane, Tademaît, Timezrit (Algérie, Kabylie) (Brette ,1985)
-Taskra, Teskera (Algérie) (Bertrand , 1991)
-Teskra, Tasekra, Asekra (Maroc) (Gattefossé, 1921)
-Téfaryast (Algérie) (Ait Youssef, 2006).

II-2-Description botanique de la plante

Plante herbacée vivace atteignant 1 mètre et plus de longueur, avec tiges dressées brunâtres à rougeâtres, longues de 40 à 80 cm, fermes, rameuses dans leur partie supérieure ; elles sont striées **(**Quézel et Santa, 1963) ou sillonnées, souvent d'un brun-rouge (Ozenda, 2004**) (Fig. 1 a,b,c).**

Les feuilles sont très grandes, longues, de 10-15 cm, tomenteuses sur les deux faces, Poilues, arachnoïdes, alternes le long de la tige et à pétiole élargi terminé par de très longues épines jaunâtres. Elles sont caulinaires uni ou bi-pinnatiséquées ; elles ont leur limbe profondément divisé en segment de forme triangulaire-acuminé dans l'ensemble, pointus et terminés par de longues épines vulnérantes (Ait Youssef , 2006) **(Fig. 1f).**

L'inflorescence très dense et de forme globuleuse est souvent présentée par un seul globe hémisphérique composé d'un petit capitule qui se réunit en grand nombre sur un réceptacle commun dit « séteux », ceci pour constituer un capitule terminal, très volumineux qui peut atteindre 5-6 cm de diamètre pendant la période de floraison. Il est entouré de nombreuses épines longues. Ce faux capitule possède un involucre commun, généralement peu visible et constitué par de petites bractées réfléchies **(Fig. 1g).**

Les petites fleurs hermaphrodites qui composent la tête dense sont tubulaires, bleutées ou jaunâtres suivant les variétés, La floraison a lieu au début du printemps (UICN, 2005).
Le fruit est un akène inséré sur le réceptacle par sa base : il est velu, de forme ovoïde ou obconique, surmonté par une aigrette qui est laciniée (irrégulièrement découpée en lanières étroites et longues) et cachée par les poils du fruit.

II-3-Répartition géographique de la plante

Le genre Echinops se produit dans les zones semi-humides en Afrique tropicale, dans les zones semi-arides d'Afrique du Nord, le bassin méditerranéen et les régions tempérées de l'Eurasie à l'Asie centrale (Garnatje et Martin , 2007) . *Echinops spinosissimus* Turra est une espèce morphologiquement variable **(Fig. 2)** et répartie également sur les régions Irano-turaniennes et saharo-arabes (Heller et Heyn , 1993). Les espèces du genre *Echinops* L. présentes ou simplement signalées en Algérie et en d'autres pays du Maghreb, sont :

- *Echinops spinosus* L.
- *Echinops ritro* L., d'aire de répartition sud- européenne, présente dans les pays d'Europe méridionale, d'Asie occidentale et même en Sibérie. Elle a été signalée en Algérie, mais y paraît étrangère ; souvent dénommée « oursin bleu » ou « échinops » en français ; on la trouve surtout sur le bord des routes, sur les pelouses sèches ou dans les forêts de chênes pubescents dégradées.
-*Echinops sphaerocephalus* L., espèce plus montagnarde ayant été signalée en Algérie, mais y paraissant peu commune.
- *Echinops strigosus* L., espèce présente en d'autres régions d'Algérie et du Maghreb , d'aire de répartition ibérique et nord-africaine, notamment en Espagne et en Algérie. En Algérie, souvent dénommée fouga el djemel, kachir ou sor, elle est particulièrement répandue dans le partie la plus occidentale du Tell, de Ténès jusqu'à la frontière marocaine ; elle pousse surtout dans les champs et les pâturages argileux (Ait Youssef, 2006).

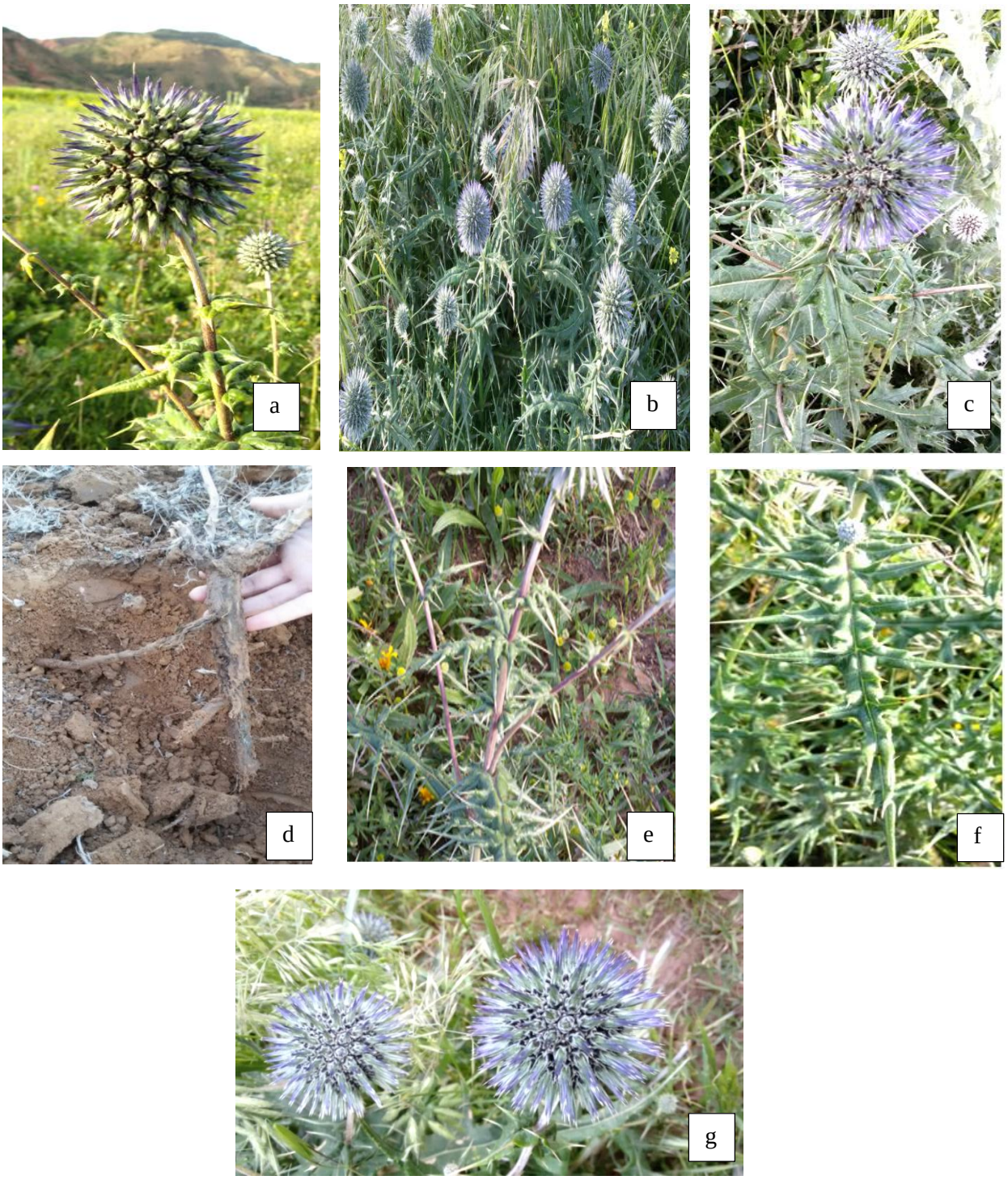


Figure 1 : Caractères botaniques d'*E.spinosissimus* Turra (Mostaganem, avril 2018).
a,b,c :Morphotype de la plante ; **d** :racine ; **e :**tiges ;**f** :feuilles ;**g** :inflorescences

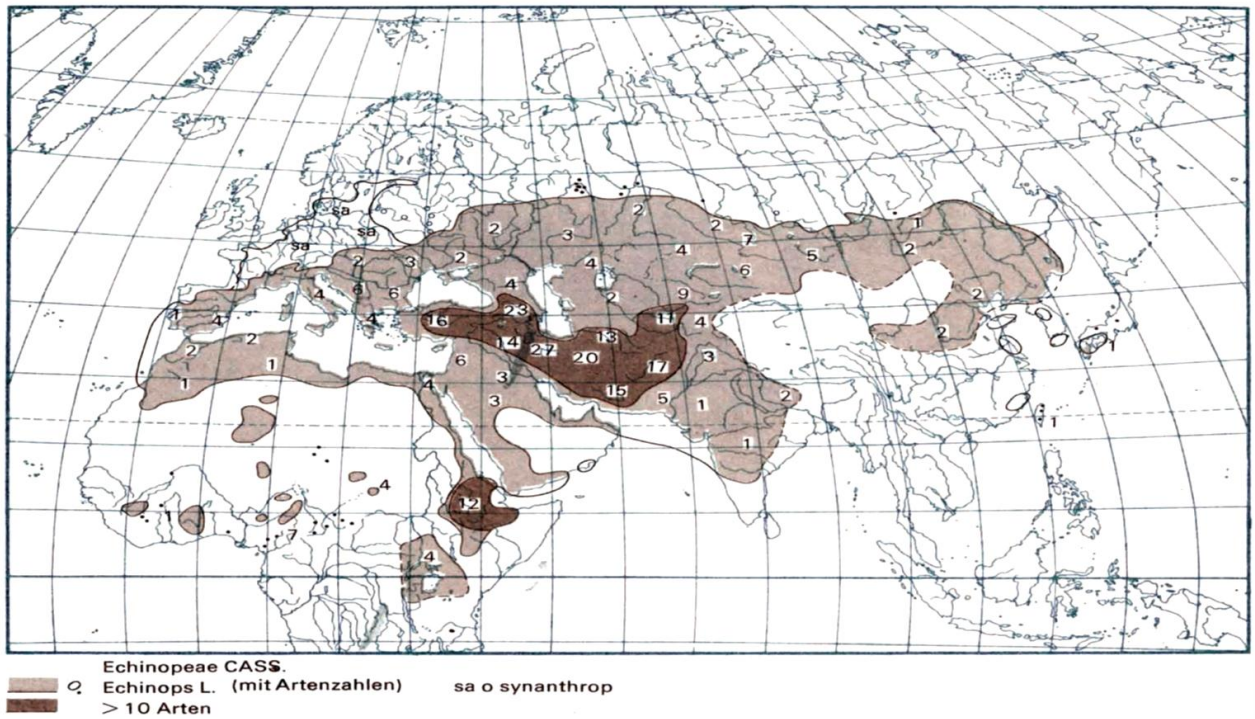


Figure 2 : Répartition du genre Echinops dans le monde (Garnatje et Martin , 2007). Les nombres indiquent le nombre approximatif d'espèces présentes dans la zone, tandis que la zone sombre montre où le nombre d'espèces est supérieur à 10.

II-4-Les données en Médecine traditionnelle

Les principales études ethnobotaniques portant sur l'espèce *E.spinosus* L sont reportées dans le **Tableau 1.** Les utilisations traditionnelles courantes du genre Echinops peuvent être divisées en trois grands groupes. L'usage traditionnel le plus fréquemment décrit consiste à traiter des symptômes tels que l'inflammation, la douleur et la fièvre (Regassa, 2013; Rathore et al., 2015). L'autre usage traditionnel courant était de traiter les affections liées aux voies respiratoires, y compris la toux et les maux de gorge (Ghasemi Pirbalouti et al., 2013; Sajjad et al., 2017). Des membres du genre ont été utilisés comme aphrodisiaque (Hamayun et al., 2006), facilitant l'expulsion du placenta et la délivrance (Okello et Ssegawa , 2007; Qureshi et Bhatti, 2008), comme abortif (Abouri et al., 2012), pour le traitement des tumeurs utérines (Abderrahim et al., 2013) et de la leucorrhée (Wagh et Jain, 2018).

Trois espèces (*E. bannaticus* Rochel ex Schrad, *E. cornigerus* DC et *E. polyceras* Boiss.) auraient été utilisées dans le traitement des calculs rénaux (Mustafa et al, 2012; Nawash et al., 2013; Kumar et al., 2018).

En plus des applications médicinales traditionnelles précédemment décrites, les plantes ont une valeur nutritionnelle. En Iran, le bulbe d' *E. Viscidulus* Mozaff est consommé comme légume (Ghasemi Pirbalouti et al., 2013). Les racines d' *E. Giganteus* A. Rich. et *E. spinosus* sont utilisés comme épice au Maroc et au Cameroun, respectivement (Pavela et al., 2016; Tbatou et al., 2016). L'utilisation *d' E. Giganteus* pourrait être attribuée à la présence de nutriments tels que le fer, les phénols, les caroténoïdes et les vitamines E et C dans la plante (Abdou Bouba et al., 2012).

Les préparations traditionnelles d' *E. Spinosus* sont fréquemment utilisées en médecine traditionnelle comme abortif, comme diurétique et pour la circulation sanguine, le diabète, les douleurs gastriques, l'indigestion et les spasmes (Kheder et al., 2014).

Dans d'autres pratiques de médecine traditionnelle, *E. spinosus* est bien connu en chine (Parhat et al., 2014) et au nord d'afrique (Boulos., 1983); ce dernier rapportant l'utilisation ethnomédicinale des tiges, des feuilles et des racines comme diurétique.

En Algérie, les racines ou les capitules floraux d'*E. Spinosus* ont été utilisés dans le traitement du prostatisme et de la dysménorrhée. Ce remède naturel a également été utilisé comme vasoconstricteur périphérique dans le traitement des hémorroïdes, des varices et de la varicocèle, dans diverses hémorragies veineuses et dans les métrorragies. Il est considéré comme un principe actif hypertenseur (Ait Youssef, 2006; Baba Aissa, 2000).

Tableau 1 : Etudes ethnobotaniques sur l'espèce *E.spinosus* L (Asteraceae).

Espèce	**Partie utilisée**	**Indication**	**Pays**	**Référence**
E. spinosus L.	Racine	La décoction est utilisée en usage interne comme hypoglycémique.	Maroc	Merzouki et al., 2000
Echinops spinosus L.	Racine	Sous forme d'infusion a visée hypoglycémique, diurétique, pour les soins post-partum, les troubles hépatiques, comme appétissante, dépurative et abortive.	Maroc	Bnouham et al.,2002
Echinops spinosus L.	ND	Contre le froid, comme désinfectant et réchauffant, analgésique, antispasmodique pour les coliques rénales.	Maroc (Rabat)	Hseini et al.,2007
Echinops spinosus L	Racine	La décoction de racines est utilisée en obstétricale, administrée aux femmes après l'accouchement pour expulser le placenta et pour la circulation sanguine.	Maroc	Lahsissene et al.,2009
Echinops spinosus L.	Racines et parties aériennes Racines, branches et Fleurs	-Décoction utilisée pour les rhumes, les calculs rénaux, comme désinfectants, diurétiques et hypoglycémique. -Décoction: abortive, les contractions utérines durant l'accouchement -Infusion : névralgie, fatigue.	Maroc (Province Tata)	Abouri et al.,2012

E. spinosus L.	Racine	Stimulant de l'appétit, rhume, diabète, calculs rénaux.	Maroc	El Abbouyi et al., 2014
Echinops spinosus L.	Graines	Utilisée en infusion comme antidiabétique.	Maroc (Oujda)	Alami et al.,2015
E. spinosus L.	Tige, racine et feuille	Hépatoprotecteur, abortif.	Maroc	Akdime et al., 2015
Echinops spinosus L	Racine	Infections génitales (après un avortement), infections des voies urinaires, pour le traitement des néphrites et pour la circulation sanguine.	Algérie (Mascara)	Baghdad et al., 2016
E. spinosus L.	Racine	Diabéte.	Maroc	Katiri et al., 2017
Echinops spinosus L	Rhizomes	Décoction pour les troubles gastriques.	Maroc (Seksaoua)	Sbai-Jouilil et al., 2017
Echinops spinosissimus Turra.	Plante entiére	Maladies spléniques et maux de gorge.	Arabie saoudite	El-Ghazali et al., 2010
E. spinosissimus Turra	Plante entiére	Diurétique, tonique nerveux, antitussif.	Egypte	Mahmoud et Gairola., 2013
E. spinosissimus Turra	Plante entiére	Tonique nerveux, Diurétique, antitussif.	Emirates Unis	Sajjad et al., 2017

Echinops bovei (Boiss.) Maire	Parties aériennes	Infusion à usage interne: Problémes oculaires, trachome, inflammation douloureuse, maladies digestives, spasmes, coliques et fièvre.	Algerie (Tassili Des N'jjers)	Hammiche et al.,2006
Echinops bovei (Boiss.)	ND	Essentiellement employée à des fins gynécologiques (hygiène après l'accouchement).	Algérie (Tiaret)	Miara et al.,2013
*Echinops spinosus L.*subsp Bovei. (Boiss).Maire	Racines et fruits	Douleurs post avortement et névralgie.	Algérie (Sétif)	Chermat et al.,2015
Echinops spinosissimus subsp. fontqueri (Pau) Greuter	Racine	Rhumatisme, Rhumes, stérilité du couple.	Maroc (Marrakech)	Ouarghidi et al.,2013
E. spinosissimus subsp. fontqueri (Pau) Greuter	Racine	Rhumatismes, rhumes, douleurs utérines, tumeur utérine.	Maroc	Abderrahim et al., 2013
E. spinosissimus subsp. macro-plepis (Boiss.) Greuter	Tige, racine et feuille	Problémes rénaux.	Liban	Baydoun et al., 2015

II-5-Activités pharmacologiques

II-5-1-Activités antibactériennes et antifongiques

Comme nous l'avons déjà mentionné auparavant, Le genre Echinops est traditionnellement utilisé pour traiter différentes maladies infectieuses, notamment le trachome, la septicémie, la typhoïde, la gonorrhée et la lymphangite ulcéreuse. Il est également utilisé pour traiter différentes affections pouvant être causées par des infections bactériennes et ou fongiques, notamment la fièvre, les maladies respiratoires, les maux de dents, les leucorrhées et les infections de la sphère ORL. Ainsi, ils ont été étudiés pour leurs activités antimicrobiennes (Bitew et al., 2019).

Rahman et al (2011) ont entrepris une étude portant sur l'évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de deux extraits méthanoliques et hexaniques des parties aériennes d'*E.spinosissimus* concentrés à 6 mg/ml sur des souches bactériennes et fongiques à savoir : *B.cereus, S.aureus, S.epidermis, Klebsiella oxytoca, yersinia enterocolitica et E.coli.* Les diamètres d'inhibition variaient entre 12 et 20 mm avec une plus grande activité enregistrée de l'extrait méthanolique contre la souche *S.aureus* avec un diamètre d'inhibition de 32 mm.

Abd-Ellatif et al (2011) ont estimé l'activité antifongique de l'extrait méthanolique des parties aériennes de l'espèce *E.spinosissimus* à une concentration de 23 mg/ml *contre C. albicans,* le diamètre d'inhibition a été de 18 mm ce qui témoigne d'une bonne activité vis-à-vis de cette souche.

Une autre étude en Egypte a rapporté que l'extrait méthanolique provenant des parties aériennes d' *E. spinosissimus* L. a manifesté une activité antibactérienne contre *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumonia et Providencia stuartii* avec une CMI de 1024 ug / ml **(**Kuete et al.,2012).

L'insaponifiable de l'extrait hexane *d'E. Spinosissimus* contenant principalement du taraxastérol, du lupéol, du pseudotaraxastérol, de l'α-amyrine, de la β-amyrine, de l'acétate de pseudotaraxastéryle, de l'acétate de lup-22 (29) -en-3-yle, du β-sitostérol et du stigmastérol , a montré une faible activité antibactérienne avec des valeurs de CMI inférieures à 125 µg / mL contre différentes souches bactériennes (*Bacillus*

amyloliquefaciens, Micrococcus luteus, Bacillus subtilis et Salmonella entérique) cependant aucune activité antifongique n'a été enregistrée (Bouattour et al., 2016).

Parmi les souches testées, sur les espèces du genre Echinops, *M. tuberculosis* (H37Rv) qui a montré la sensibilité la plus élevée à l'extrait éthérique de racine d'*E. giganteus* et à l'extrait méthanolique d'*E. amplexicaulis* avec une CMI de 12 µg / mL et 32 µg / mL, respectivement (Tekwu et al., 2012; Kevin et al., 2018). L'extrait méthanolique de racine *d'E. amplexicaulis* a également montré un effet prometteur contre une souche multirésistante de *M. tuberculosis* avec une CMI de 50 µg / mL (Kevin et al., 2018). L'extrait éthanolique de racine et les huiles essentielles obtenues à partir d'*E. Kebericho* ont montré un effet relativement fort contre *Staphylococcus aureus* (Ameya et al., 2016) et *Klebsiella pneumoniae* (Belay et al., 2011). Ces résultats pourraient justifier l'utilisation traditionnelle *d'E. Kebericho* et des autres espèces aussi du même genre, dans le traitement des maladies respiratoires, des maux de dents et de la fièvre.

Le 5- (4-hydroxy-1-butynyl) -2,2'-bithiophène, l'Arctinol A, l'Arctinol-b et le 5 '- (3,4-dihydroxybut-1-yn-1-yl) - [2,2 '-bithiophène] -5- acide carboxylique , sont des thiophènes isolés à partir de la racine d'*E. ritro* et qui ont manifesté un effet antibactérien contre *S. aureus* avec une valeur de CMI de 8 µg / mL similaire à l'effet observé pour le contrôle positif (la lévofloxacine) (Li et al., 2019).

De plus, l'extrait méthanolique de la plante entière *d'E. polyceras* a potentialisé l'effet de la tétracycline sur les souches résistantes de *Pseudomonas aeruginosa* (Aburjai et al., 2001).

Les extraits des feuilles et de fleurs d'*E. Viscosus* subsp. bithynicus ont été décrits pour avoir des propriétés antibactériennes contre *E. coli, Micrococcus luteus, S. aureus, Mycobacterium smegmatis, P. aeruginosa, Enterobacter cloacae* et *Bacillus megaterium*. Même si la concentration des extraits n'est pas bien définie dans l'étude, l'extrait de fleur *d'E. Microcephalus* aurait une plus grande zone d'inhibition que le médicament standard, la vancomycine (30 µg / disque) (Toroğlu et al., 2012).

La plupart des études antifongiques sur le genre ont révélé que les extraits et ou les composés isolés étaient efficaces principalement contre *Candida albicans* avec l'effet le plus puissant observé pour l'extrait méthanolique de racine *d'E. Kebericho* (CMI = 3,12 µg / mL) (Ameya et al ., 2016).

Le 5- (but-3-én-1-ynyl) -2,2'-bithiophène isolé à partir d'*E. ritro et qui est aussi présent dans* l'espéce *E.spinosissimus* Turra a été décrit comme possédant une activité antifongique significative contre *Colletotrichum gloeosporioides* (IC50 = 4,2 µM) (Fokialakis et al., 2006a).

II-5-2-Activité anti-protozoaire

Des recherches visant à évaluer in vitro l'activité anti-protozoaire des extraits des parties aériennes de *E. ritro L*. et *E.spinosissimus* L. provenant de la Crête (île grecque) ont révélé que l'activité de l'extrait Dichlorométhane sur les souches chloroquine sensibles et les souches résistantes de *Plasmodium falciparum et Leishmania donovani* ainsi que la cytotoxicité sur la lignée cellulaire de fibroblaste rénal de mammifère est qualifiée de modérée sans activité antipaludique significative ni cytotoxique (Fokialakis et al.,2006b)**.**

II-5-3-Activité antioxydante et hépato-protectrice

Les membres du genre Echinops se sont également avérés avoir des activités hépatoprotectrices et anti-oxydantes. La plupart des études ont été menées sur les lésions hépatiques induites par le tétrachlorure de carbone (CCl4), dans lesquelles des biomarqueurs de la fonction hépatique tels que l'aspartate aminotransférase (ASAT) et l'alanine aminotransférase (ALAT) ont été mesurés.

Dans les maladies du foie, un stress oxydatif excessif contribue sans aucun doute à la progression et à l'expression pathologique de la maladie et sert d'indicateur pronostique (Zhu et al., 2012).

Gheffour et al (2015) ont conduit une étude sur l'activité antioxydante des deux fractions flavonoïdes et tanins extraites à partir des parties aériennes (tiges et feuilles) et des racines d'*E. spinosus* provenant de la région de Tlemcen. L'évaluation in vitro a porté sur deux méthodes: la réduction du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) et le piégeage des radicaux libres 2,2 -diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH). Cette étude a montré que

l'extrait d'acétate d'éthyle des parties aériennes avait une plus grande capacité de réduction du fer et également une activité de piégeage des radicaux libres dans le test DPPH que les extraits de racines. La concentration inhibitrice (IC50) dans la méthode DPPH était de 8,25 µg / ml pour les parties aériennes contre 23 µg / ml pour les racines, tandis que la méthode FRAP a confirmé la capacité de réduction élevée et ce à une concentration de 2,5 mg / ml.

De même, Khedher et al. (2014) ont montré que l'extrait éthanolique d'*E. Spinosus* avait la plus grande capacité à réduire les radicaux DPPH, avec une valeur IC50 de 147 µg / ml. Il a été également rapporté dans la même étude qu'il existe une bonne corrélation entre la teneur en tanins condensés dans les racines d'*E. Spinosus* et l'activité antioxydante estimée par la méthode du DPPH.

L'extrait méthanolique de racine d'*E. giganteus* a montré in vitro un effet de piégeage des radicaux libres avec 12,54 mg de poids équivalent de trolox pour 100 g (Bouba et al., 2010). Les extraits aqueux *d'E. Ritro, E. tournefortii* possédaient un effet de piégeage du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) avec des pourcentages d'inhibitions de plus de 80% et 70%, respectivement, à 1 mg / mL (Aydın et al., 2016).

Les effets hépatoprotecteurs des composés isolés d' *E. galalensis* tel que le β-sitostérol, l'apigénine-7-O-β-D-glucoside, 3β-acétoxy-taraxast-12,20 (30) - diène-11α-21α – diol, α-amyrine, érythrodiol lup-20 (29) -ène-1,3-diol et des dérivés d'acide dicaféoyl-quinique sur la lignée cellulaire d'hépatome humain (Huh7) ont été scientifiquement établis. La protection la plus élevée a été manifestée par le 3β-acétoxy-taraxast-12,20 (30) -diène-11α-21α-diol, l'érythrodiol et le Lup-20 (29) -ène-1,3-diol (Abdallah et al., 2013), selon ces auteurs, l'effet protecteur de l'extrait et des composés isolés était en partie dû aux effets anti-oxydants des échantillons.

Quels que soient les effets décrits, les évaluations de l'activité anti-oxydante ne sont toujours pas suffisantes. Dans la plupart des rapports, la valeur IC50 de l'effet anti-oxydant in vitro n'est pas mentionnée. Aucun modèle anti-oxydant in vivo n'a été utilisé. L'effet hépatoprotecteur traditionnellement décrit pour l'espèce, *E. spinosus* L. (Akdime et al., 2015), n'a pas encore été étudié scientifiquement.

II-5-4-Action anti-inflammatoire

De nombreuses plantes médicinales ont été utilisées pour le traitement des maladies inflammatoires. Traditionnellement, les espéces du genre Echinops sont connus pour avoir été utilisés pour traiter l'inflammation (Talhouk et al.,2007) , la douleur et la fièvre. En conséquence, plusieurs espèces ont été explorées pour leurs activités anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques.

Rimbau et al (1999) ont évalué les activités anti-inflammatoires des extraits aqueux, éthanoliques et chloroformiques du rhizome d'*E. Spinosus* par deux modéles expérimentaux (Rimbau et al .,1996) . Les extraits administrés étaient dosés à 100 mg / kg avec un groupe témoi positif traité avec de l'indométacine (administration intrapéritonéale 3 mg / kg). Tous les extraits testés ont montré des activités anti-inflammatoires significatives dans les deux modèles expérimentaux. Cependant, l'extrait chloroformique a montré une activité anti-inflammatoire plus élevée avec une moyenne de pourcentage d'inhibition de 67,4%, contre 32,4% pour le groupe de référence. Dans le modèle expérimental chez la souris, le pourcentage d'inhibition de l'extrait chloroformique était de 56,1% contre 34% pour le groupe de référence.

L'extrait éthanolique de la plante entière d'*E. Echinatus* a montré une activité anti-inflammatoire contre l'œdème induit par la carraghénine et le formaldéhyde chez le rat avec des pourcentages d'inhibitions de 67,5% et 51,8% à une dose de 800 mg / kg administrée par voie intrapéritonéale et orale, respectivement (Singh et al., 1989).

Un triterpénoïde isolé de cette plante, l'acétate de taraxastérol, a montré une activité anti-inflammatoire sur l'œdème de la pédale induit par la carraghénine chez le rat avec l'inhibition la plus élevée de 68,3% et 63,2% à 200 mg / kg administrée par voie intrapéritonéale et orale, respectivement (Sing et al., 1991).

Un Flavanone glycoside, le 5,7-dihydroxy-8,4'- diméthoxyflavanone-5-O-α-L-rhamno-pyranosyl-7-O-β-D-arabinopyranosyl (1 → 4) -O-β-D-glucopyranoside isolé *d'E. echinatus,* a montré aussi une activité anti-inflammatoire (Yadava et Singh, 2006).

Les extraits méthanoliques de racines d'*E. Grijissi* et d'*E. Latifolius* ont présenté une activité anti-inflammatoire significative (Lin et al., 1992).

Les fractions d'acétate d'éthyle, de chloroforme et de n-hexane obtenues à partir de l'extrait brut d'*E. Grijissi* ont montré des activités anti-inflammatoires significatives dans l'œdème induit par la carraghénane chez le rat, la fraction chloroformique , à une dose de 300 mg / kg, a présenté un effet inhibiteur de (56,7%) , supérieur à celui de l'indométacine (Lin et al., 1992).

Les flavonoïdes, extraits à partir d'*E. Latifolius*, ont été testés sur la polyarthrite rhumatoïde chez des rats et ont inhibé la prolifération de la synovie par l'apoptose des synoviocytes de type fibroblaste à 150 mg / kg (Miao et al., 2015).

Les effets anti-inflammatoires testés in vivo du genre Echinops ne semblent pas prometteurs puisque les plantes manifestent une action pharmacologique mais à des doses élevées. Malgré les études mentionnées ci-dessus, les données scientifiques justifiant l'allégation traditionnelle *d'E. Bovei* (Boiss.) Maire., *E. cornigerus*, *E. kebericho*, *E. longifolius*, *E. macrochaetus* et *E. spinosissimus* à traiter les rhumatismes et la douleur ne sont pas encore fournis (Betew et al., 2019).

II-5-5-Activité anti-hémolytique

Dans une étude, les extraits de tanins provenant des feuilles, des tiges et des racines d'*Echinops spinosus* appartenant à la région de Tlemcen (nord de l'Algérie) ont été criblés pour l'activité antihémolytique vis-à-vis d'érythrocytes humains. Les travaux antérieurs entrepris par les mémes auteurs sur l'espéce E.spinosus ont été a la base d'une réflexion sur leur potentielle activité antihémolytique. L'étude a été réalisée par la méthode spectroscopique en utilisant cinq concentrations inhibitrices différentes (IC50, 2 IC50, 10 IC50, 20 IC50 et 40 IC50) pour chaque extrait. Les résultats suggèrent que l'extrait aqueux d'*E. Spinosus* contient de manière très significative la plus grande quantité de tanins, soit 1910 mg EC / 100 g de matière sèche et 704,34 mg EC / 100g de matière sèche dans la partie aérienne et les racines respectivement. Tous les extraits ont présenté une activité hémolytique très faible qui ne dépasse pas 5% d'hémolyse, sauf les extraits d'acétate d'éthyle et de n-butanol de racines qui atteignent respectivement 35 et 40% par rapport à l'hémolyse totale (Gheffour et al., 2018) .

II-5-6-Activité hypocholestérolémiante

Dans une étude très récente, les auteurs ont examiné le mécanisme d'action des extraits *d'Echinops spinosissimus* Turra subsp. spinosus (E. s. spinosus) utilisés en concomittance avec un régime riche en cholestérol . Les résultats in vitro ont démontré la richesse de ces extraits en composés antioxydants. La co-administration d'E.spinosissimus (100 ou 200 mg / kg / jour) avec un régime riche en graisses a atténué l'hépatotoxicité secondaire au régime hypercholestérolémiant, les auteurs ont remarqué une nette amélioration des biomarqueurs du stress oxydatif et des paramètres lipidiques et hépatiques plasmatiques, par rapport aux souris témoins. L'indice athérogène et le poids corporel ont également été considérablement réduits par rapport aux souris témoins. Ces résultats ont été confirmés histopathologiquement par l'amélioration des changements histologiques et des dommages à l'ADN. Ces données indiquent que l'extrait des inflorescences de cette espèce réduit le risque d'hypercholestérolémie et les propriétés athérogènes du cholestérol alimentaire. Son effet hypocholestérolémiant peut être dû à ses activités antioxydantes et à sa richesse en molécules bioactives (Dammak et al., 2020).

II-5-7-Effets sur le système reproducteur

Un certain nombre d'espèces ont été utilisées pour la gestion de divers problèmes de stérilité du couple. Malgré les allégations traditionnelles, seule *E. echinatus* a été évaluée pour ces activités biologiques.

Correspondant à son usage traditionnel, la fraction terpénoïde d'*E. Echinatus* a montré des propriétés anti-fertilité aux doses de 30 et 60 mg / kg chez les rats mâles (Padashetty et Mishra., 2007).

Des études antérieures ont également indiqué que l'extrait éthanolique de racine d'*E. Echinatus* avait des propriétés anti-fertilité en diminuant la taille des testicules, de l'épididyme, de la prostate ventrale, du canal déférent et de la vésicule séminale à des doses de 50, 100 et 200 mg / kg. En outre, l'extrait a également diminué la motilité et la densité des spermatozoïdes avec une inhibition de la sépermatogenèse chez le rat (Chaturvedi et al., 1995).

La fraction butanol de l'extrait de racine a démontré un effet protecteur sur l'hyperplasie prostatique induite par la testostérone à une dose de 100 mg / kg chez le rat. La meme fraction a également montré un meilleur effet inhibiteur de la 5α-réductase (IC50 = 0,22 mg / mL) que de l'extrait brut et d'autres fractions, suivi de la fraction soluble dans l'eau (IC50 = 0,43 mg / mL) (Agrawal et al., 2012).

De même, l'extrait d'éther de pétrole de racine d'*E. Echinatus* a inhibé la 5α-réductase. L'enzyme joue un rôle important dans la pathogenèse de l'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP), du cancer de la prostate, de l'acné, de l'alopécie, de la calvitie chez l'homme et de l'hirsutisme chez la femme (Nahata et Dixit , 2014).

II-6-Données phytochimiques

Les espéces du genre Echinops contiennent principalement des thiophènes et des terpènes cependant des flavonoïdes et d'autres composés phénoliques, des alcaloïdes, des lipides et des phénylpropanoïdes ont également été signalés. La racine de la plante est la principale source des thiophènes alors que la plupart des terpènes et flavonoïdes ont été isolés de la partie aérienne et ou de la plante entière. Le genre est également connu pour sa teneur en huile essentielle, tous les organes des plantes peuvent contenir des huiles essentielles. les composés isolés et caractérisés auraient également des activités biologiques différentes. Les formules structurales chimiques des composés du métabolisme secondaire isolés et caractérisés dans l'espéce E.spinosissimus Turra sont données dans le **tableau 2**.

II-6-1- Thiophenes

Les thiophènes, principaux constituants bioactifs du genre Echinops, sont issus de la biosynthèse d'acides gras et de soufre réduit (Arroo et al., 1997). La majorité des composés thiophéniques comprennent un groupe fonctionnel acétylénique et la plupart des thiophènes sont constitués de deux cycles thiophène dans leur structure.

Les thiophènes les plus abondants qui ont été signalés chez neuf espèces du genre Echinops sont : 5-(but-3-en-1-ynyl)-2,2'-bithiophene , α-terthiophene , 5-(4-hydroxybut-1-ynyl)- 2-(pent-1,3-diynyl)-thiophene , 5-(penta-1,3-diynyl)-2-(3,4-dihydroxybut-1-ynyl)-thiophene and 5-(4-hydroxy-1-butynyl)-2,2'-bithiophene.

Des thiophènes ont été également détectés dans les huiles essentielles obtenues à partir des différentes plantes de ce genre ; Le 5- (3-buten-1- ynyl) -2,2'-bithiényl a été détecté dans des huiles essentielles obtenues à partir des racines de *E. grijsii Hance, E. bannaticus et E. sphaerocephalus L.*(Betew et al.,2019).

En parallèle, il convient de noter aussi que l'espéce *E. spinosus* n'a pas fait l'objet de beaucoup d'études portant sur sa composition en thiophènes; une seule étude phytochimique a décrit la structure d'un nouveau thiophène extrait à partir des racines de l'espéce collectée au Maroc, ce composé est connu sous le nom d'acétylène 2,2-diméthyl-4 [5 '- (prop-1-ynyl) -2,2'-bithio -phén-5-yl] -1,3-dioxalane (Ni et al.,2013). Belabes et al (2020) en entreprenant une étude sur l'extraction et l'identification des huiles essentielles extraites à partir de cette espéce, a trouvé que la majorité des composants de cette huile était de nature polyacétylénique et que les composées thiophénes 5-(But-1-yn-3-enyl)-2,2′-bithiophene et le α-terthienyle étaient majoritaires dans l'huile essentielle extraites à partir des racines.

II-6-2-Terpenoides

Les principaux terpenoides identifiés dans le genre sont de type sesquiterpénoides et triterpénoïdes, ils ont été signalés principalement à partir de la plante entière et des parties aériennes du genre Echinops. La plupart des sesquiterpénoïdes contiennent des lactones. Les lactones sesquiterpéniques sont également les métabolites secondaires les plus répandus dans la famille des Astéracées (Chadwick et al., 2013). La plupart des triterpénoïdes existent sous diverses formes, y compris les lactones, les esters et les stérols avec leurs glycosides. Le sesquiterpénoïde commun signalé était le costunolide, qui a été isolé de trois espèces du genre Echinops, tandis que le lupéol et l'acétate de lupéol étaient les triterpénoïdes les plus courants. De nombreux sesquiterpénoïdes ont également été détectés à partir des huiles essentielles du genre.

En 2009, des travaux ont pu décrire l'isolement de deux sesquiterpénoïdes avec une nouvelle structure carbonée nommés échinopine A et échinopine B (Dong et al.,2008). L'étude phytochimique des parties aériennes d'*Echinops spinosissimus* a conduit à l'isolement de neuf triterpénoïdes, un de type oléanane, quatre de type taraxastane, trois de type lupane et un phytostérol. Leurs structures ont été élucidées grâce à une analyse

approfondie des données spectrales RMN et HRMS. Le composé (20-oxo-30-nortaraxast-21-en-3β-ol) représente un triterpène de type taraxastane non décrit auparavant, tandis que le composé (21-hydroxytaraxastérol-3β-acétate) est décrit pour la première fois comme un composé naturel (Tsafantakis et al., 2019).

Bouattour et al (2016) ont identifié 13 stérols dans L'extrait hexane des capitules floraux d'*Echinops spinosissimus Turra* subsp. spinosus provenant de Tunisie. . Cet extrait contenait des niveaux élevés de β-sitostérol et de stigmastérol (44,97% et 34,95% des stérols totaux, respectivement). D'autre part, l'identification des composés terpénoïdes a été étudiée en utilisant la GC / MS, qui a révélé quatorze terpénoïdes majeurs principalement taraxastérol, lupéol, pseudotaraxastérol, acétate de lup-22 (29) -en-3-yle, acétate de taraxastéryle, α-amyrine , β - amyrine, acétate de pseudotaraxastéryle, hop - 20 (29) - en3 - β - ol, α - amirénone, ainsi que β - sitostérol et stigmastérol. (Bouattour et al., 2017).

II-6-3-Flavonoides et autres composés phénoliques

Les flavonoïdes du genre Echinops étaient principalement des flavones et principalement isolés de la plante entière et des parties aériennes des plantes. L'apigénine est l'aglycone flavonoïde la plus courante et elle a été isolée de la fleur et de la plante entière d'*E. Niveus*, *E. echinatus, E. integrifolius* et *E. albicaulis*. En plus des flavonoïdes, des composés phénoliques comprenant des coumarines, des phénylpropanoïdes et des lignanes ont été également signalés dans le genre (Tene et al., 2004; Dong et al., 2008; Senejoux et al., 2013).

En 2016, l'investigation phytochimique des fractions solubles dans l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux-méthanolique des parties aériennes d'*E.spinosissimus* Turra a conduit à l'identification de trois composés connus, l'apigénine, l ' apigénine-7-O-β-glucopyranoside (cosmosiine) et l'apigénine-7 -β-DO- (6 " - OEp-coumaroyl) -glucopyranoside (Boumaraf et al., 2016). La même année, un autre travail de recherche sur la plante a été publié et qui a révélé la présence de 22 flavonoïdes dans les parties aériennes, avec les principaux composés Hespirtine (39233 mg / 100g) et Hespiridine (34589 mg / 100g) (Ibrahim et al., 2016). Bouattour et al (2017) ont isolé un nouveau dérivé de l'apigénine: appelé apigénine-7-O-ß-D-glucoside- (4 ”-O-trans-p-coumaroyl).

II-6-4-Alcaloides

Les premiers alcaloïdes isolés du genre Echinops étaient l'échinopsine , l'échinozolinone correspondant au 3 (2-hydroxyéthyl) -4 (3H) –quinazolinone et l'échinopsidine et ce à partir des parties aériennes d'*E. Echinatus* (Chaudhuri, 1987). Plus tard, un autre alcaloïde, le 7-hydroxyechinozolinone, a été isolé des fleurs de la même plante (Chaudhuri, 1992). Les alcaloïdes ont été principalement isolés des parties aériennes des plantes. L'alcaloïde prédominant, isolé de quatre espèces différentes, était la 1-méthyl-4-quinolone .

Une étude égyptienne a rapporté en 2011, l'isolement de l'échinopsine, un alcaloïde naturel à noyau quinoléine et ce à partir du capitule floral d'*Echinops spinosus* L (Halim et al.,2011) .c'est un alcaloïde isolé pour la première fois en 1900 par M. Greshoff à partir de graines de *E. ritro* L, sa présence a également été démontrée dans 14 autres espèces d'Echinops.

Echinopsine (tableau 2) est une base faible, la solution de ses sels, qui ne présente aucune fluorescence, précipite avec les réactifs généraux des alcaloïdes. C'est un composé très amer, son action physiologique est semblable, mais non identique, à celle d'un mélange de brucine et de la strychnine mais elle est moins toxique (Kadhim et al.,2001).

De plus, cette même étude décrite par Halim et al (2011) a permis pour la première fois l'isolement et l'identification d'un autre alcaloïde type quinoléine qui est l'échinorine de la même espèce toujours . L'échinorine se révèle être un composé avec la structure chimique 1- méthyl-4-méthoxyquinolinium . L'échinorine est décomposé en solution alcaline en échinopsine (1-méthyl-quinolone- (4) (Kadhim et al.,2001).

II-6-5-Huiles essentielles et composés lipidiques

Le genre Echinops est connu riche en ce qui concerne sa teneur et sa composition en huiles essentielles, qui se trouvent principalement dans les racines. Divers travaux ont indiqué la présence de terpénoïdes et de thiophènes dans les huiles essentielles.

On a découvert que la racine d'*E. Grijisii* contenait principalement dans son huile essentielle du cis-β-farnésène et du 5- (3-butén-1-ynyl) -bithiophène comme composants

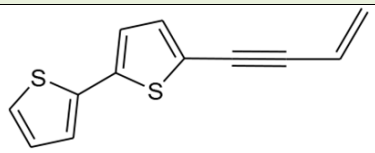
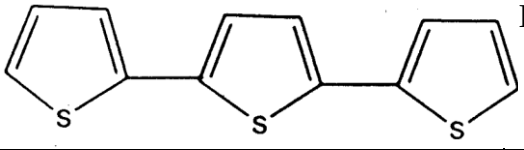
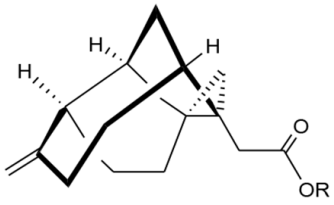
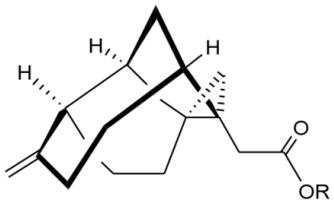
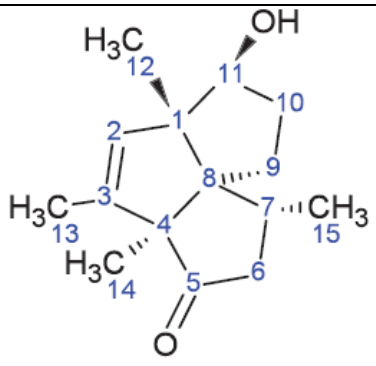
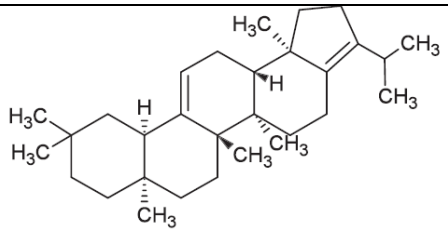
principaux (Guo et al., 1994). Les huiles essentielles de racine, de tige, de feuille et de fleurs d'*E. Ellenbeckii* comprenaient principalement du β-maaliène, du cypérène, de l'oxyde de caryophyllène et du β-sélinène dans les parties respectives de la plante (Hymete et al., 2004). Les inflorescences fraîches d'*E. graecus* et d'*E. ritro* ont respectivement produit une huile riche en méthyl chavicol et du (E) -2-hexenal, 1,8-cinéole et du *p*-cymène respectivement (Papadopoulou et al., 2006).

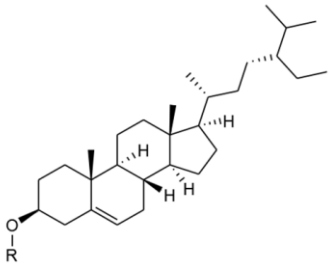
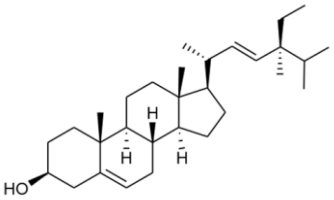
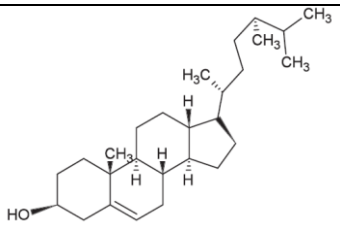
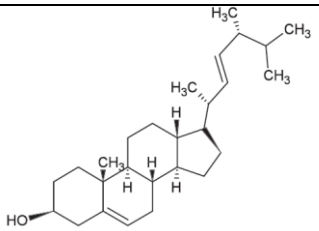
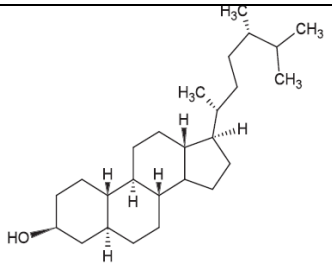
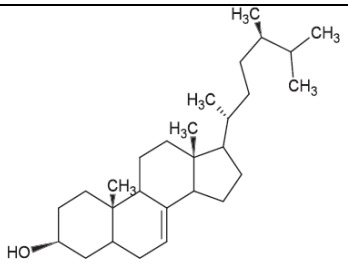
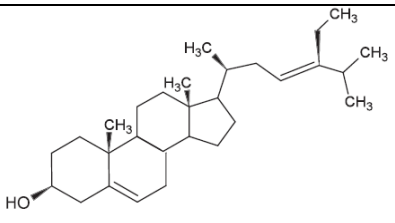
L'extrait d'acétate d'éthyle d'*E. Integrifolius* est rapporté contenir du lupéolacétate, de l'acide 1,3-butadiène-1-carboxylique, du lupéol, de l'acide (1R, 3R, 4R, 5R) - (-) - quinique, de l'acide palmitique et du D-thréo-O -éthylthréonine comme principaux constituants (Karimov et Aisa, 2012). Dans une étude connexe, l'analyse GS-MS de l'extrait d'éther de pétrole de la partie aérienne d'*E. Integrifolius* a indiqué la présence d'esters méthyliques d'acides gras ainsi que d'hydrocarbures saturés tels que l'octacosane, l'hentriacontane, l'hexacosane, le tétratétraacontane, l'éicosane et le nonadécane (Karimov et Aisa, 2013).

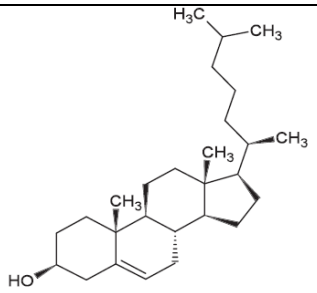
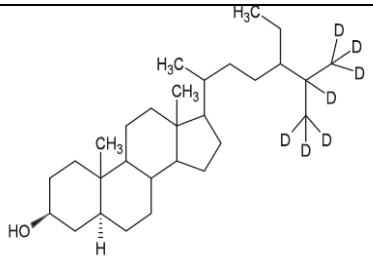
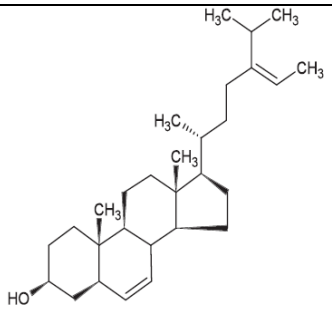
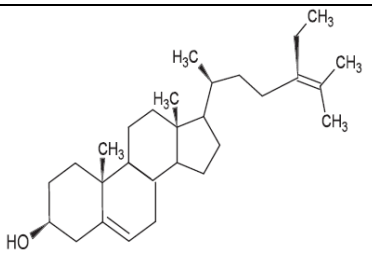
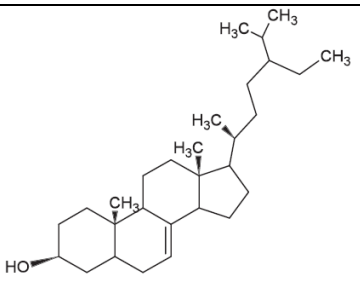
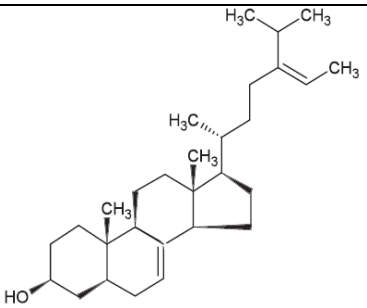
L'extrait hexane des capitules d'*Echinops spinosissimus* Turra subsp spinosus provenant de Tunisie, ont été analysés pour leur composition en acides gras et en stérols. Les acides oléique (C18: 1; 61,14%), palmitique (C16: 0; 21,36%) et linoléique (C18: 2; 10,45%) étaient les acides gras dominants. Cet extrait contenait également des niveaux élevés de β-sitostérol et de stigmastérol (44,97% et 34,95% des stérols totaux, respectivement).

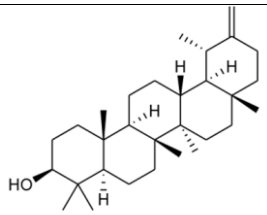
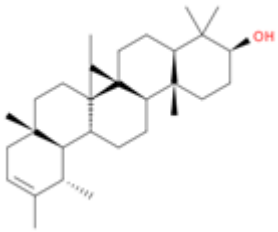
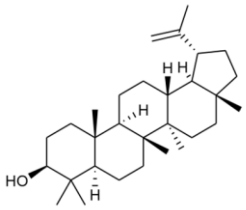
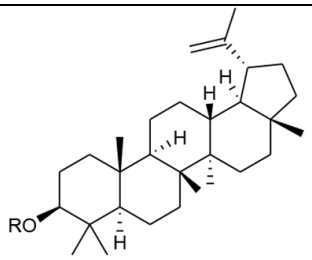
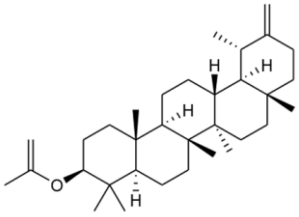
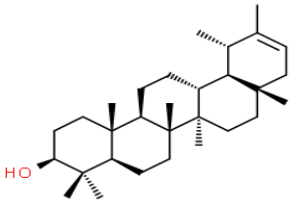
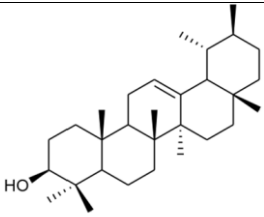
Dix-huit et treize composants représentant 95,4% ont été identifiés dans les huiles essentielles de racine *d'Echinops spinosus* provenant d'Algérie. Les polyacétylènes étaient les composés majoritaires des huiles essentielles. Le 5- (But-1-yn-3-ényl) -2,2′-bithiophène et l'α-terthiényle étaient fortement dominants dans l'huile essentielle des racines (54,4 et 26,3%, respectivement) (Belabes et al. , 2020).

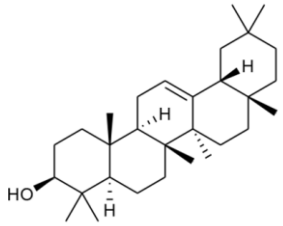
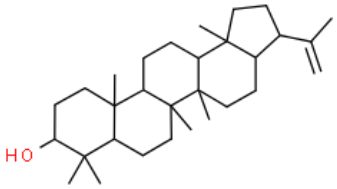
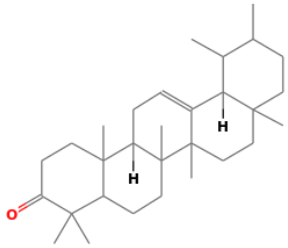
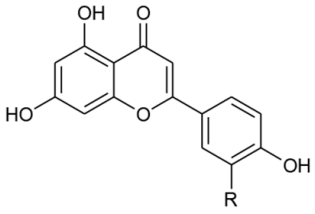
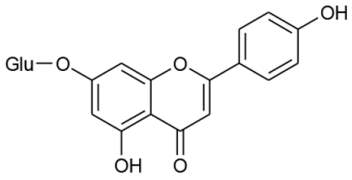
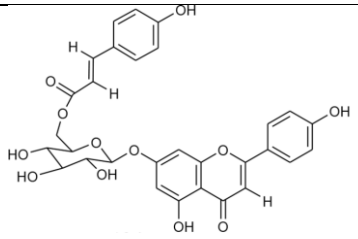
Tableau 2 : Les principaux métabolites secondaires établis dans l'espèce *E.spinosissimus* Turra.

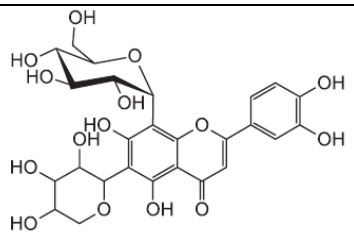
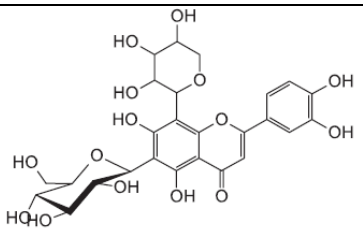
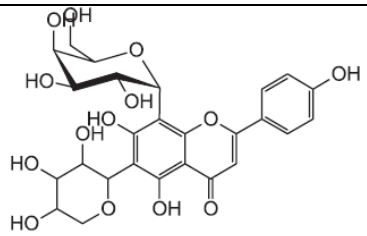
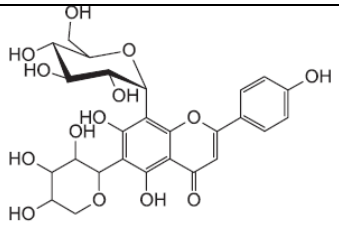
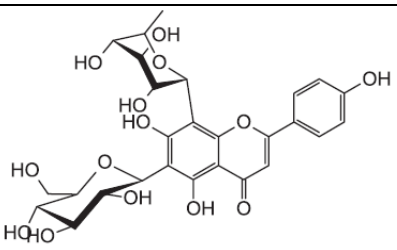
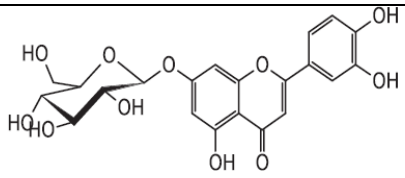
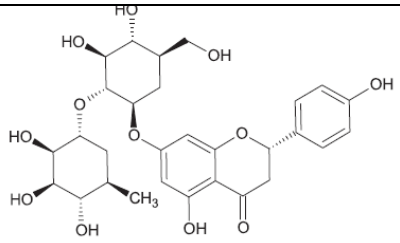
Classe phytochimique	Nom du composé	Structure chimique	Référence
Thiophenes	5-(but-3-en-1-ynyl)-2,2'-bithiophene		Fokialakis et al., 2006. Bitew et al.,2019. Belabes et al.,2020
	α-terthienyle		Belabes et al.,2020
Terpénes et Terpénoides	Echinopine A	 **R=H**	Dong et al., 2008 Bitew et al.,2019
	Echinopine B	 **R=CH_3**	Dong et al., 2008 Bitew et al.,2019
	11-hydroxyisocom-2-en5-one		Dong et al.,2008 Bitew et al.,2019
	C30-pentacyclic triterpadiene A-neooleana-3(5),12-diene		Bouattour et al.,2017 Bouzabata et al.,2018 Bitew et al.,2019

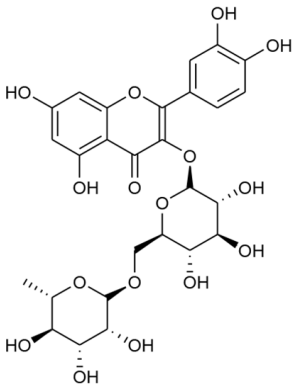
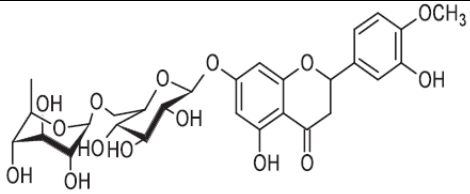
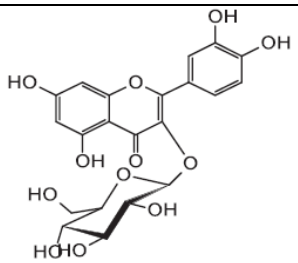
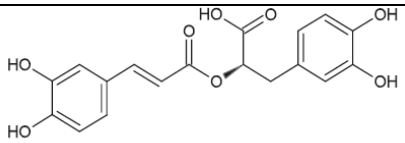
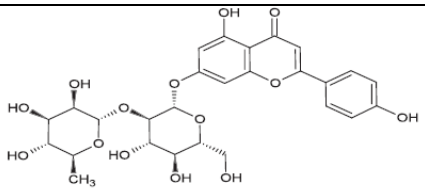
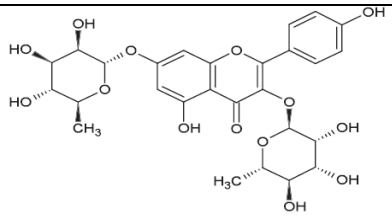
	β-Sitostérol	 **R=H**	Bouattour et al.,2017 Bouzabata et al.,2018 Bitew et al.,2019
	Stigmastérol		
	Campestérol		
	Brassicastérol		
	Campestanol		
	Δ7-Campesterol		
	Δ5,23-Stigmastadienol		

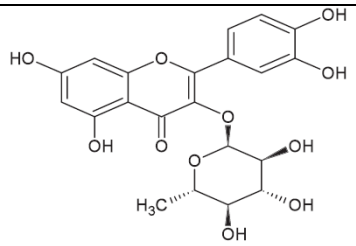
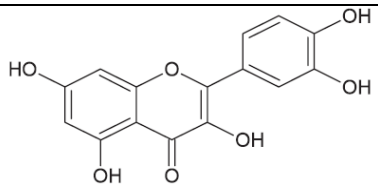
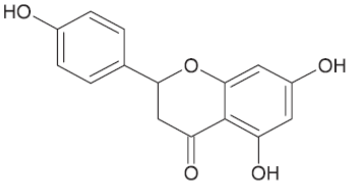
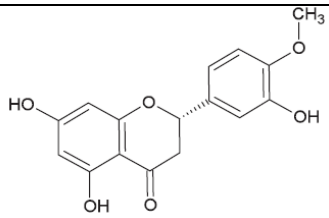
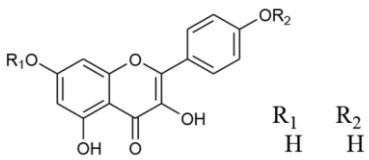
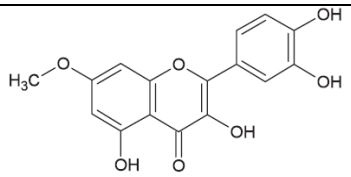
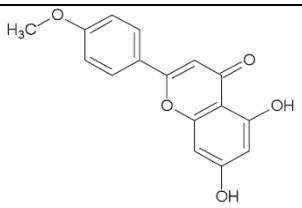
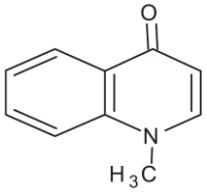
	Cholestérol		
	Sitostanol		
	Δ5-Avenastérol		
	Δ5,24-Stigmastadienol		
	Δ7-Stigmastenol		
	Δ7-Avenasterol		

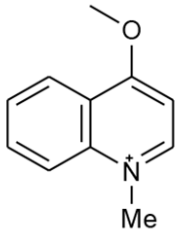
	Taraxastérol		Bouattour et al., 2017
	Pseudotaraxastérol		
	Lupéol		
	Lup- 22(29)- en-3- yl acetate	 **R=acétyle**	
	Taraxastérol acétate		
	Pseudotaraxastérol acétate		
	α- amyrine		

	β- amyrine		
	Hop- 20(29)-en3- *β*- ol		
	α- amirenone		
Flavonoides et autres composés phénoliques	Apigenine	 **R=H**	Boumaraf et al., 2016 Bitew et al.,2019
	Apigenine 7-*O*-glucoside		Erenler et al., 2014. Boumaraf et al., 2016 Bitew et al.,2019
	Apigenine-7-*O*-(6''-trans-pcoumaroyl- β -D-glucopyranoside		Boumaraf et al., 2016 Erenler et al., 2014 Bitew et al.,2019

	Luteoline-6-arabinose-8-glucoside		Ibrahim et al.,2016. Bouzabata et al.,2018
	Luteoline-6-glucose-8-arabinoside glucoside		
	Apigenine-6-arabinose-8-galactoside		
	Apigenine-6-arabinose-8-glucoside		
	Apigenine-6-glucose-8-rhamnoside		
	Luteoline-7-glucoside		
	Narengine		

	Rutine		
	Hespéridine		
	Quercetine-3-O-glucoside		
	Acide Rosmarinique		
	Apigenine-7-O-neohespiroside		
	Kaempferol-3,7-dirhamnoside		

	Apigenine-7-glucoside		
	Quercetine		
	Naringenine		
	Hespiritine		
	Kaempférol		
	Rhamnetine		
	Acacetine		
Alcaloïdes	Echinopsine (1-methyl-4-quinolone)		Halim et al.,2011. Bouzabata et al.,2018. Bitew et al., 2019.

	Echinorine		

III- Conclusion

Le genre Echinops est bien connu pour son utilisation pour traiter la douleur et les manifestations respiratoires. Les allégations traditionnelles étaient justifiées par différentes évaluations biologiques. Les résultats d'études in vitro ont indiqué que les membres du genre ont un effet potentiel contre différentes souches microbiennes. Ils ont également montré des activités anti-inflammatoires, analgésiques et hépatoprotectrices in vivo significatives. Certains des extraits et des composés isolés ont montré des effets prometteurs. Cela inclut le potentiel antioxydant de Apigenine 7-*O*-glucoside . Les métabolites secondaires bioactifs les plus abondants chez les membres du genre sont les thiophènes et les terpénoïdes .

Nous avons proposé un bref aperçu sur les informations assez restreintes sur l'espèce *E. spinosissimus* Turra et avons présenté les potentiels traditionnels, thérapeutiques et pharmacologiques ainsi qu'une revue de la phytochimie de la plante en question. A notre connaissance, aucune étude n'a été menée pour estimer la toxicité de cette espèce surtout qu'elle est largement utilisée en médecine traditionnelle Algérienne.

Il serait intéressant d'entreprendre des études phytochimiques et pharmacologiques afin d'investiguer les potentiels thérapeutiques des différentes classes chimiques décrites ou pas dans cette espèce.

Chapitre 2

Physiopathologie de la cicatrisation des plaies

I-Introduction

La peau est la principale barrière qui nous protège du milieu extérieur. En cas de blessure, une fermeture rapide de la plaie et une régénération de la peau endommagée sont essentielles pour restaurer la fonction de barrière. Une réparation efficace nécessite une communication et une interaction entre de nombreux types de cellules différentes, ce processus est très bien orchestré et régulé à plusieurs niveaux (Reinke et Sorg, 2012).

Le processus de cicatrisation se caractérise généralement par quatre phases : hémostase (0 à plusieurs heures après la blessure), inflammation (1 à 3 jours), prolifération (4 à 21 jours) et remodelage (21 jours à 1 an). Le dérèglement de l'une de ces étapes entraîne des troubles de la cicatrisation, citant l'exemple des ulcères chroniques difficiles à guérir ou des cicatrices excessives, qui représentent un fardeau sanitaire et économique majeur et croissant pour la société (Mustoe et al., 2006; Sen et al., 2009).

La capacité de restaurer rapidement l'intégrité d'une barrière cutanée blessée est essentielle et constitue le but ultime des thérapies. Malheureusement, des traitements efficaces pour améliorer la guérison et réduire les cicatrices font encore défaut. Une compréhension approfondie de la physiologie de la réparation normale et de la pathologie de la cicatrisation retardée est une condition préalable au développement d'interventions thérapeutiques plus efficaces (Landén et al., 2016).

II-Anatomie et fonction de la peau

La peau fournit une barrière vitale entre le corps et l'environnement extérieur contre les agressions physiques, les agents pathogènes, la perte de liquide. Elle a également des fonctions immuno-neuroendocrines qui contribuent au maintien de l'homéostasie corporelle (Nejati et al., 2013).

L'innervation cutanée consiste en un réseau dense de fibres sensorielles et autonomes qui forment des jonctions serrées avec les kératinocytes et transmettent des sensations de douleur, de température, de pression, de vibration et de démangeaison (Ebenezer et Polydefkis , 2014)

La circulation cutanée est composée d'une circulation de shunt thermorégulatrice artério-veineuse parallèle contrôlée par des nerfs vasoconstricteurs et vasodilatateurs sympathiques toniques adrénergiques qui donnent naissance à un réseau capillaire sous-épidermique qui fournit oxygène et nutriments à l'épiderme et élimine le CO2 et les déchets (Chao et. Cheing ,2009) .

Les vaisseaux lymphatiques de la peau sont constitués de capillaires lymphatiques qui courent horizontalement sous l'épiderme, suivis de vaisseaux pré-collecteurs situés plus profondément dans le derme et de vaisseaux collecteurs de lymphe dans la couche adipeuse sous-cutanée (Thomas et al., 2016 ; Suami et Scaglioni ,2018).

Sur le plan anatomique, la peau est constituée de 2 parties principales : La partie superficielle externe qui constitue l'épiderme et la partie interne plus épaisse constituant le derme et l'hypoderme ; l'ensemble peau et phanère (ongles - poils) constitue le tégument (Dréno, 2009).

Le type de structure, la composition cellulaire et les principaux composants de ces couches cutanées sont résumés dans la **fig. 3** et le **Tableau 3.**

II-1-Epiderme

L'épiderme se compose d'un épithélium strié qui offre une protection mécanique considérable et contribue également à maintenir les microorganismes à l'extérieur de l'organisme.

L'épiderme contient des kératinocytes, des mélanocytes, des cellules dendritiques, des cellules de Langerhans et d'autres cellules immunitaires, des axones sensoriels et la membrane basale épidermo-dermique (Pasparakis et al.,2014 ; Rousselle et al.,2018).

Il est formé de plusieurs couches de cellules superposées:

-La couche la plus profonde est la couche muqueuse de Malpighi ou couche basale: séparée du derme par la membrane basale (lame basale) et attaché à la membrane basale par des hémidesmosomes. Les cellules trouvées dans cette couche sont des cellules souches cuboïdes à colonnaires à activité mitotique qui produisent constamment des kératinocytes et assurent la régénération continuelle de la peau. Cette couche contient également des mélanocytes (Ober et al., 2005).

-Les couches superficielles forment la couche cornée : elle est constituée de kératine et de kératinocytes vieillies (morts) appelés cellules squameuses anucléées et qui se desquament continuellement. C'est la couche qui varie le plus en épaisseur, en particulier dans les peaux calleuses. Au sein de cette couche, les kératinocytes morts sécrètent des défensines qui font partie de notre première défense immunitaire (Yousef et al.,2019).

II-2- Derme

Le derme est sous-jacent à l'épiderme. Les fibroblastes est le principal type cellulaire dans le derme. Ils ont comme fonction l'élaboration du collagène, la composante structurale de base de la peau (Lacombe, 2006).

Le derme est relié à l'épiderme au niveau de la membrane basale et se compose de deux couches, de tissu conjonctif, les couches papillaires et réticulaires qui se confondent sans démarcation nette, La couche papillaire est la couche supérieure, plus fine, composée de tissu conjonctif lâche et entre en contact avec l'épiderme. La couche réticulaire est la couche la plus profonde, la plus épaisse, la moins cellulaire et se compose de tissu conjonctif dense / faisceaux de fibres de collagène (Yousef et al.,2019).

Le derme abrite également les structures annexes cutanées, les muscles, les neurones sensoriels, les vaisseaux sanguins, les mastocytes, les macrophages, les cellules dermiques présentant l'antigène et les cellules immunitaires résiduelles et circulantes (Kupper et al.,2004) .

De plus, le derme comprend le complexe de matrice extracellulaire qui soutient les connexions intercellulaires, le mouvement cellulaire et régule les cytokine et les fonctions des facteurs de croissance (Cañedo-Dorantes et Cañedo-Ayala,2019).

II-3-Hypoderme

Couche la plus profonde de la peau, également appelé fascia sous-cutané, elle constitue la graisse plus ou moins épaisse selon les individus, elle est contenue dans des lobules adipeux séparés les uns des autres par des fibres identiques à celles du derme, ces fibres assurant à la fois la nutrition et la tenue de l'hypoderme. Cette couche hypodermique a

essentiellement une fonction d'amortisseur des chocs et de protection du froid par isolation (Dréno., 2009).

Tableau 3 : Les caractéristiques des trois couches de la peau humaine (Moniz et al.,2020).

Couche	**Structure**	**Type de cellules**	**Composition de la matrice extracellulaire**
Hypoderme	Vaisseaux sanguins Nerfs follicules pileux.	Adipocytes, fibroblastes, cellules endothéliales, cellules musculaires.	Elastine, collagène type I.
Derme	Vaisseaux sanguins nerfs, mécanorécepteurs Appendices.	fibroblastes, cellules endothéliales, cellules de Langerhans, cellules musculaires.	Elastine, protéoglycanes, collagène de type : I, IV, VII.
Epiderme	Epithélium kératinisé stratifié.	Kératinocytes, mélanocytes, cellules de Merkel et cellules de Langerhans.	Kératine, collagène de type : IV, VII.

II-4- Les annexes cutanées

Les annexes cutanées regroupent des glandes cutanées et des phanères. Les glandes cutanées sont les glandes sudoripares eccrines, les glandes sudoripares apocrines et les glandes sébacées. Les phanères sont les poils (cheveux) et les ongles (Langlois-Wills et Lepresle, 2001).

II-4- 1- Les glandes cutanées

Les glandes sudoripares apocrines sont annexées aux follicules pilosébacés dans certaines régions de l'organisme, notamment les plis axillaires, les plis inguinaux et les plis inter fessiers. Elles ont une sécrétion opaque grasse et alcaline. La sécrétion est de type apocrine avec un canal excréteur qui débouche dans le conduit pilosébacé en aval de la glande sébacée.

Les glandes sudoripares eccrines sont indépendantes des poils et s'ouvrent directement à la surface de la peau. Ces annexes cutanées sont d'origine ectoblastique (Kierszenbaum, 2007 ; Dréno, 2009).

Les glandes sébacées sont annexées aux poils constituant ainsi le follicule pilosébacé. Ce sont des glandes exocrines, alvéolaires simples, secrétant un produit lipidique : le sébum. Le canal excréteur débouche au niveau de la gaine épithéliale du poil et y déverse le sébum (Dupont, 2015).

II-4- 2-Les phanères

Les follicules pileux produisent de longues et fines structures cylindriques (gaine du poil) composées principalement de kératine disposée selon une organisation bien particulière. Dans un poil normal chaque gaine est constituée d'une médullaire (ou médulla) centrale entourée d'un cortex, avec une cuticule superficielle faite d'une simple couche d'écailles aplaties (Saiah et al.,2016).

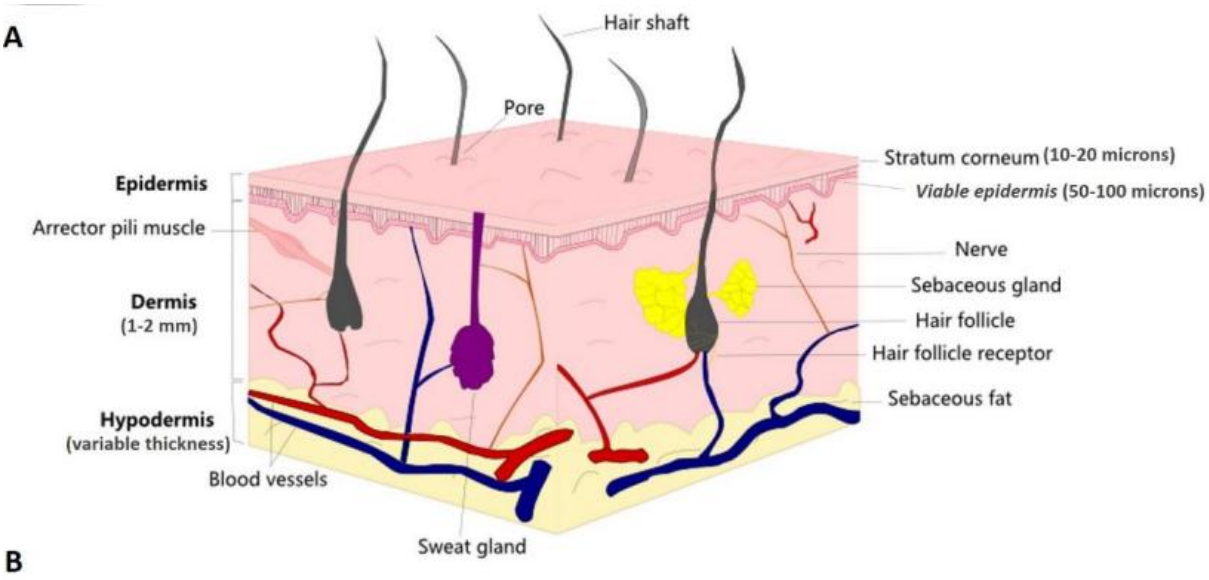


Figure 3 : Représentation schématique de la structure de la peau humaine (Moniz et al.,2020)

III-Physiopathologie de la plaie

Après une blessure, l'intégrité de la peau doit être rapidement restaurée afin de maintenir ses fonctions. Le processus complexe de réparation de la peau est organisé en trois. étapes séquentielles et chevauchantes: la phase inflammatoire, la phase prolifération et la phase de remodelage. La phase inflammatoire comprend l'inflammation neurogène cutanée et l'hémostase; ces premiers événements commencent dans les premières secondes après la blessure et durent environ 1 heure. Suivi par l'infiltration progressive de monocytes-macrophages inflammatoires vers la plaie, atteignant son maximum pendant la phase proliférative. La dernière phase débute dans la deuxième semaine après la blessure et comprend le remodelage du tissu préalablement formé lors de la phase de prolifération et l'organisation d'une cicatrice afin de restaurer l'intégrité cutanée. Elle pourrait durer des mois (Rousselle et al., 2018).

III-1-Phase Inflammatoire

Elle commence par l'hémostase ou les vaisseaux sanguins lésés se contractent et le sang qui s'écoule se coagule, contribuant ainsi au maintien de son intégrité. La coagulation consiste en une agrégation de thrombocytes et de plaquettes dans un réseau de fibrine, reposant sur l'action de facteurs spécifiques à travers l'activation et l'agrégation de ces cellules (Martin, 1997).

Le réseau de fibrine, en plus de rétablir l'homéostasie et de former une barrière contre l'invasion des micro-organismes, organise la matrice temporaire nécessaire à la migration cellulaire qui à son tour rétablit la fonction de la peau en tant que barrière protectrice. Cela permet également la migration cellulaire vers le microenvironnement de la lésion et la stimulation de la prolifération des fibroblastes (Shaw et Martin, 2009).

La réponse inflammatoire qui commence 6 à 8 h après la blessure provoque une fuite au niveau des vaisseaux sanguins, libérant du plasma et des neutrophiles dans les tissus environnants **(fig.4).** Les neutrophiles phagocytent les débris et les micro-organismes et constituent la première ligne de défense contre les infections. En digérant les bactéries et les débris, les neutrophiles meurent et libèrent des enzymes intracellulaires dans la matrice environnante, qui digèrent davantage les tissus. Les neutrophiles sont remplacés par des macrophages qui digèrent et éliminent davantage les débris cellulaires et autres corps

étrangers. En outre, les macrophages facilitent la prolifération des cellules endothéliales et des cellules musculaires lisses. De plus, comme la fibrine est décomposée dans le cadre de ce nettoyage, les produits de dégradation attirent les cellules impliquées telles que les fibroblastes et les cellules épithéliales. Ils sont aidés également par des mastocytes locaux (Li et al., 2007).

III-2-Phase de Prolifération

L'objectif de cette phase proliférative est de diminuer la zone tissulaire lésée et ce par contraction et fibroplasie, établissant ainsi une barrière épithéliale viable pour activer les kératinocytes **(fig. 5).** Cette étape est responsable de la fermeture de la lésion elle-même, qui comprend l'angiogenèse, la fibroplasie, et la ré-épithélialisation. Ces processus commencent dans le microenvironnement de la lésion dans les 48 premières heures et peuvent se dérouler jusqu'au 14eme jour après l'apparition de la lésion (Gonzalez et al., 2016).

D'autres données décrivent que la phase de prolifération commence environ 4 jours après la blessure et dure généralement jusqu'au 21éme jour dans les plaies aiguës, en fonction de la taille de la plaie et de l'état de santé du patient. Les fibroblastes et les cellules endothéliales qui sont les acteurs clés facilitent l'angiogenèse, la prolifération des fibroblastes (dépôt de collagène), la formation de tissu de granulation, la contraction de la plaie et la ré-épithélialisation.

On Conclut alors que la phase de prolifération est caractérisée par l'angiogenèse, le dépôt de collagène, la formation de tissu de granulation, la contraction de la plaie et l'épithélialisation. Cliniquement, la prolifération est observée par la présence de tissu rouge granuleux ou de collagène dans la base de la plaie et implique le remplacement des tissus dermiques et parfois sous-cutanés dans les plaies plus profondes (Agyare et al., 2015).

III-3- Phase de Remodelage ou de différenciation cellulaire

La troisième phase de guérison consiste en un remodelage, qui commence deux à trois semaines après le début de la lésion et peut durer un an ou plus. L'objectif principal de l'étape de remodelage est d'atteindre la résistance à la traction maximale par réorganisation, dégradation et resynthèse de la matrice extracellulaire **(fig. 5).** Dans cette dernière étape, une tentative de récupération de la structure tissulaire normale se produit et le tissu de granulation est progressivement remodelé, formant un tissu cicatriciel moins cellulaire et vasculaire et qui présente une augmentation progressive de sa concentration en fibres de collagène (Cotran et al., 2005).

Dans la réparation des plaies, le processus de guérison implique un remodelage et un réalignement du tissu de collagène pour produire une plus grande résistance à la traction comparable à celle d'une peau normale. Les principales cellules impliquées dans ce processus sont les fibroblastes. Encore une fois, les tissus épithéliaux formés par des kératinocytes fortement proliférants seront transformés en système final de formation de barrière par différenciation terminale indiquée par les marqueurs protéiques typiques tels que les cytokératines K1 et K10, l'involucrine, la loricrine, etc. Le remodelage peut prendre jusqu'à 2 ans (Diegelman et Evans, 2004; Iba et al., 2004).

IV- Plaies aiguës et chroniques

Indépendamment de l'étiologie de la plaie, les processus de réparation sont similaires. Les plaies aiguës sont généralement dues à une forme de traumatisme pouvant être contondants. Les Plaies qui enregistrent un retard de guérison de 12 semaines après la blessure initiale sont appelées plaies chroniques, souvent à la suite d'inflammation pathologique (Broughton et al.,2006).

Les plaies aiguës ont tendance à progresser à travers les phases de la cicatrisation d'une façon ordonnée et sans retard cependant les plaies chroniques progressent à travers les phases de la cicatrisation à un rythme beaucoup plus lent, elles s'arrêtent dans la phase inflammatoire et ne parviennent pas à progresser. De nombreux facteurs influencent le développement de plaies chroniques, y compris l'état nutritionnel, état de la maladie chronique, l'oxygénation de la plaie et l'œdème chronique (Peate et Glencross, 2015).

L'ampleur des dommages infligés à la peau à la suite d'une blessure dépend de la profondeur de celle-ci, qui est classifiée en trois degrés (Bryant et Nix, 2012) :

-Plaie du premier degré : guérison spontanée avec formation de cicatrice orientée dans le même sens des fibres de collagène, on parle alors de cicatrisation primaire.

-Plaie du second degré : dans ce type de cicatrisation appelée secondaire, la plaie est laissée ouverte et guérit spontanément, la fermeture s'effectue par contraction et épithélialisation .ce type de blessure est sujette aux infections car elles manquent de barrière épidermique.

-Plaie de troisième degré : cicatrisation tertiaire assez typique, la plaie est fermée après un délai de quelques jours ou semaines et la cicatrisation est retardée par la présence d'infection et de débris étrangers.

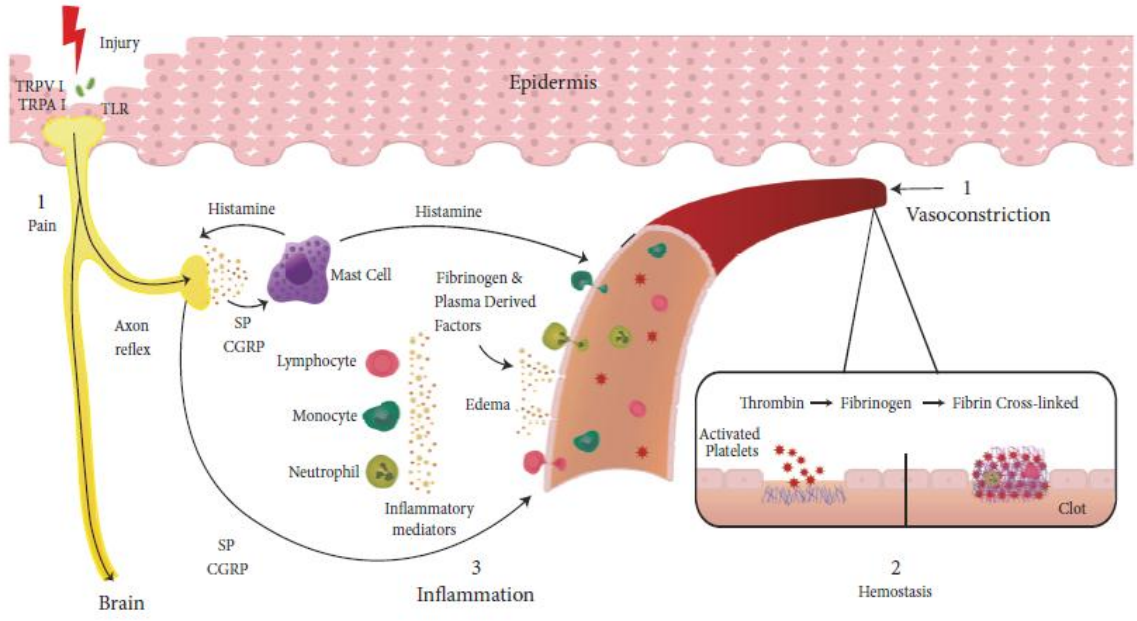


Figure 4 : La phase inflammatoire de la cicatrisation (Cañedo-Dorantes et Cañedo-Ayala,2019) : l'inflammation commence par la coagulation, agrégation plaquettaire et formation de caillots de fibrine; puis les événements inflammatoires se produisent par l' infiltration des neutrophiles des macrophages, phagocytose de débris, de cellules apoptotiques et d'agents pathogènes.

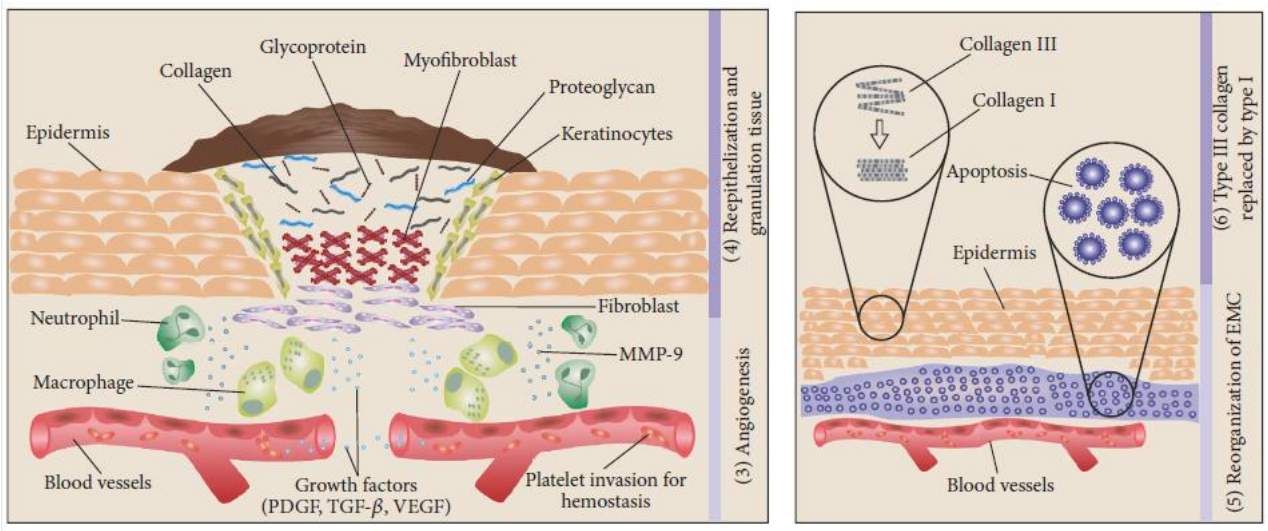


Figure 5 : Les phases de prolifération et de remodelage du processus cicatriciel (Serra et al.,2017) **:** Dans la prolifération se produit l'angiogenèse (3); la réépithélisation (4) (prolifération des cellules épithéliales et transformation des fibroblastes en myofibroblastes) et formation de tissu de granulation EMC (composé de collagène, glycoprotéine,protéoglycane, fibroblastes et kératinocytes, sous modulation de MMP-9). Le remodelage est marqué par la (5) réorganisation de L'EMC: Apoptose cellulaire et regression de l'angiogenèse; et le collagène (6) de type III est remplacé par le type I.

V- Facteurs intervenant dans la gestion de la cicatrisation des plaies

Divers événements physiologiques peuvent affecter le cours de la cicatrisation des plaies. Parmi les plus importants, on trouve l'activité anti-inflammatoire, antimicrobienne, analgésique et antioxydante, quel que soit le mécanisme sous-jacent.

Une inflammation prolongée peut empêcher la plaie d'atteindre la phase de remodelage, en conséquence, des retards dans la fermeture de la plaie et une augmentation de la sensation de douleur au niveau de la plaie sont assez fréquents, conduisant à une guérison encore plus entravée (Pierce.,2001).

Compte tenu de ce qu'on vient de citer, l'utilisation d'anti-inflammatoire dans le traitement de soins des plaies a été objet de recherches approfondies, notamment en ce qui concerne l'amélioration du confort du patient (Rijswik et al.,2000).

Les infections sont connues comme l'une des plus importants facteurs influençant l'efficacité de la cicatrisation des plaies. La Réduction de la charge bactérienne peut être (Sibbald et al., 2003).

La plupart des blessures provoquent une sensation de douleur. La douleur se rapporte à
Un inconfort du patient, une réduction de sa qualité de vie (Mobilité entravée, problèmes psychologiques liés au stress induit par la douleur) et le fardeau financier causé par une thérapie prolongée, tous contribuent à une cicatrisation moins efficace des plaies.

L'inflammation provoque également un afflux coordonné de neutrophiles au site de la plaie. Les neutrophiles activent « l'explosion respiratoire » et produisent des radicaux libres (Babior ., 1978) . La présence de radicaux libres entraîne un stress oxydatif conduisant à la peroxydation lipidique, à la rupture de l'ADN et des enzymes piégeurs de radicaux libres, qui sont connus pour limiter les effets des espèces réactives à l'oxygène. Les antioxydants peuvent être donc d'utilisation thérapeutique dans ces conditions et contribueraient donc à améliorer l'efficacité de la cicatrisation des plaies (Yeoh.,2000).

VI- Rôle des plantes médicinales dans la cicatrisation

De nombreuses plantes et leurs extraits ont été utilisés traditionnellement en raison de leur grand potentiel pour la gestion et le traitement des plaies. Les substances naturelles induisent la guérison et la régénération des tissus grâce à de multiples mécanismes connectés. Les « phyto-principes » provoquent en général moins d'effets secondaires indésirables, Cependant, une prise de conscience croissante de leurs activités et de leur potentiels problèmes de sécurité, soulignent la nécessité de leur normalisation scientifique, leur validation et l'évaluation de leur toxicité avant une introduction efficace au soin des plaies. Ces dernières années, des recherches approfondies ont été menées dans le domaine de la cicatrisation et de la prise en charge des plaies par les plantes médicinales (Gupta et Jain, 2010; Ajose, 2007).

En ce sens, il est important de rappeler que le ministère brésilien de la Santé a encouragé l'insertion de pratiques de soins complémentaires dans le système de santé par La mise en œuvre de la Politique nationale des plantes médicinales et de la phytothérapie (PNPMF) et de la politique nationale des pratiques intégratives et complémentaires (PNPIC), qui visent à stimuler l'accès aux pratiques complémentaires et aux plantes médicinales pour les soins de santé de manière efficace et sûre (Serra et al., 2017).

Komakech et al . (2019) ont présenté une revue du potentiel de cicatrisation des plaies *d'Aspilia africana* (Asteraceae), une plante utilisée en médecine traditionnelle africaine pour traiter les plaies. Les auteurs ont signalé que des études in vitro et in vivo ont fourni des preuves des propriétés de cicatrisation de ses extraits de plantes et ses composés phytochimiques, y compris les alcaloïdes, les saponines, les tanins, les flavonoïdes, les phénols, les terpénoïdes, le β-caryophyllène, le pin-pinène, le carène, le phytol et l'acide linolénique. Ces phytoconstituants étaient liés à une forte activité anti-inflammatoire, antimicrobienne et antioxydante, tous essentiels à la cicatrisation des plaies. Il a été rapporté que les activités spécifiques des extraits *d'A. Africana* et de ses constituants bénéfiques pour la cicatrisation des plaies comprennent également des effets inhibiteurs sur les saignements, une amélioration de la contraction de la plaie, une augmentation des taux de facteur de croissance basique des fibroblastes (BFGF) et du facteur de croissance dérivé des plaquettes et enfin la stimulation des éléments sanguins comme les globules blancs et rouges.

Gulumian et al. (2018) ont dressé un état des lieux sur les plantes médicinales africaines ayant une activité antioxydante comme ressources potentielles pour le traitement des plaies sur la base des prémisses selon lesquelles l'excès de radicaux libres fortement lié à la chronicité des plaies et qu'une thérapie antioxydante faciliterait la cicatrisation. Les auteurs ont rapporté que de nombreux polyphénols, y compris les acides phénoliques, les favonoïdes (anthocyanes), les tanins et les lignanes, sont connus pour agir comme antioxydants et protéger contre diverses conditions pathologiques telles que les maladies coronariennes et les plaies, en plus de leurs anti-inflammatoires, antimicrobiennes et anticancéreuses (Barron et al., 2002; Middleton et al., 2000).

Nascimento et al. (2018) ont identifié et isolé les principaux composés chimiques présents dans les extraits *d'Ouratea fieldingiana* (Ochnaceae) couramment utilisés dans la médecine populaire brésilienne pour la cicatrisation des plaies et le traitement de l'inflammation et des maladies infectieuses et ont étudié leurs activités antifongiques, antioxydantes et anticholinestérasiques . L'amentoflavone et le kaempférol 3-O-rutinoside qui ont été isolés, respectivement, des extraits éthanoliques des graines et des feuilles de la plante, se sont avérés posséder une activité antifongique contre plusieurs souches de Candida, une activité antioxydante et anticholinestérasique.

Dans un autre article de synthèse, Tan et al. (2018) ont évalué le taux d'efficacité clinique, de sécurité et le coût financier des injections (TCMI) très populaires en médecine traditionnelle chinoise dans la cicatrisation des ulcères du pied diabétique. Les résultats de l'étude suggèrent que les (TCMI) se sont révélées bénéfiques pour les patients souffrant d'ulcères diabétiques du pied, augmentant le taux d'efficacité clinique des thérapies conventionnelles et entraînant de meilleures performances en termes de sécurité et de charge financière. Les auteurs ont cependant suggéré des essais contrôlés randomisés plus rigoureux avec une grande taille d'échantillon pour fournir des preuves de plus haute qualité pour soutenir les avantages de ce type de traitement pour les divers types de plaies.

Jenwitheesuk et al. (2018) ont évalué l'efficacité de l'extrait de *Centella asiatica* (Apiaceae) en crème pour l'amélioration de la cicatrisation. Il s'agit d'un essai randomisé, contrôlé, en double aveugle qui a conclu que L'amélioration de la cicatrice hypertrophique par la crème d'extrait de *Centella asiatica* a été attribuée principalement à une meilleure pigmentation et une amélioration des surfaces des plaies.

Dans une récente publication, Kim et al. (2018), ont étudié l'effet du tracheloside, une lignine végétale, sur la prolifération des kératinocytes en utilisant des tests de cicatrisation et de prolifération cellulaire étant donné que la migration et la prolifération cellulaires sont importantes pour une bonne cicatrisation après une lésion cutanée. Dans l'étude, il a été démontré que le tracheloside affecte positivement la prolifération de la lignée cellulaire de kératinocytes HaCaT. Les auteurs ont conclu que le tracheloside est un candidat thérapeutique prometteur pour favoriser la cicatrisation des plaies.

Plusieurs activités biologiques de la curcumine ont été identifiées, notamment des activités anti-inflammatoires, anticancérigènes, anti-infectieuses, antioxydantes, anti-apoptotiques et cicatrisantes (Gopinath et al., 2004; Ramsewak et al., 2000); Les effets de la curcumine sur la cicatrisation des plaies peuvent être expliqués par ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (Yucel et al., 2011).

Kant et coll. (2014) ont démontré que la curcumine appliquée localement sur une plaie cutanée présentait une diminution des expressions du facteur de nécrose tumorale alpha (TNF), de l'interleukine-1 1 bêta (IL-1) et de la métalloprotéinase matricielle-9 (MMP-9). Il a été démontré également que le traitement par la curcumine diminue la production des ROS et augmente la prolifération cellulaire en accélérant la cicatrisation des plaies (Panchatcharam et al., 2006). L'application de curcumine sur la peau blessée a provoqué la secrétion à des niveaux accrus de cytokine anti-inflammatoire, y compris l'interleukine-10 (IL-10) et des enzymes antioxydantes à savoir la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) (Ibrahim et al., 2018).

VII-Conclusion

Une cicatrisation réussie est importante pour la qualité de vie des patients. Les connaissances actuelles ont révélé que lorsque les cellules sont saines, la phase inflammatoire est bien orchestrée et ne dure que quelques jours, par conséquent les étapes de la réparation tissulaire: ré-épithélialisation de la plaie, formation de tissu de granulation, contraction de la plaie et formation de cicatrice, se déroulent normalement. Cependant, lorsque les cellules sont dysfonctionnelles, comme dans le diabète, le processus inflammatoire est prolongé, l'intégrité de la peau n'est pas restaurée et un ulcère ou une fibrose pathologique se produit.

Dans l'ensemble, les activités de cicatrisation des plaies de plusieurs plantes médicinales traditionnelles ont été prouvées par des études scientifiques de pointe. Compte tenu de la rareté des études cliniques sur l'efficacité des plantes médicinales mentionnées (malgré les nombreuses preuves in vitro et in vivo), des essais cliniques avancés sont recommandés pour confirmer l'efficacité et la sécurité de ces remèdes à base de plantes.

Partie pratique

I. INTRODUCTION

L'étude du potentiel thérapeutique des plantes est d'un grand intérêt, car elles constituent des substances actives naturelles, qui peuvent être exploitées comme des principes actifs ayant des activités antioxydantes et antibactériennes améliorant ainsi le processus cicatriciel (Vaquero et al., 2007). De même, environ 33% des médicaments utilisés pour le traitement des plaies et des problèmes cutanés provenaient de plantes, tandis que 1 à 3% seulement étaient d'origine synthétique (Mantle et al., 2001).

Parmi les substances naturelles courantes, les composés phénoliques ont démontré un potentiel intéressant avec des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes et peuvent donc être portés comme extraits naturels pour la gestion de la cicatrisation des plaies (Auricchio et al., 2007).

Le genre *Echinops* L. est représenté en Algérie par l'espèce très commune *Echinops spinosus* L (African Plant Database., 2020; Plant List Database., 2020) qui est synonyme *d'E. Spinosissimus* Turra. La revue de la littérature sur la phytochimie de L'espèces est assez limitée, les recherches phytochimiques sur *E. spinosissimus* Turra ont révélé la présence de plusieurs métabolites appartenant à différentes classes phytochimiques.

Une étude égyptienne a rapporté en 2011, l'isolement de l'échinopsine, un alcaloïde naturel à noyau quinoléine et ce à partir du capitule floral *d'Echinops spinosus* L. De plus, cette étude a permis pour la première fois l'isolement et l'identification d'un autre alcaloïde type quinoléine qui est l'échinorine de la même espèce toujours (Halim et al., 2011).

Puis en 2016, l'investigation phytochimique des fractions solubles dans l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux-méthanolique des parties aériennes a conduit à l'identification de trois composés connus, l'apigénine, l'apigénine-7-O-β-glucopyranoside (cosmosiine) et l'apigénine-7 -β-DO- (6 " - OEp-coumaroyl) -glucopyranoside (Boumaraf et al., 2016). La même année, un autre travail de recherche sur la plante a été publié et qui a révélé la présence de 22 flavonoïdes dans les parties aériennes, avec les principaux composés Hespirtin (39,233 mg / 100g) et Hespiridin (34,589 mg / 100g) (Ibrahim et al. , 2016).

Bouattour et al (2017) ont isolé un nouveau dérivé de l'apigénine: appelé apigenin-7-*O*-ß-D-glucoside- (4''-*O*-*trans*-*p*-coumaroyl) et un a C30-pentacyclic triterpadiene A-neooleana-3(5),12-diene, qui serait probablement un marqueur d'identification ou d'identité de l'espèce *E. Spinosissimus* Turra.

Il y a donc un réel besoin de s'intéresser à cette espèce car notamment en Algérie, deux travaux seulement ont porté sur sa phytochimie (Gheffour et al., 2015; Boumaraf et al., 2016). Et donc , la présente étude a été menée pour étudier scientifiquement le contenu polyphénolique, alcaloïdique et l'activité cicatrisante d'extraits de racine *d'E. Spinosissimus* Turra chez des rats expérimentaux.

Au terme d'une revue systématique de l'espéce, on peut considérer que c'est le premier travail portant sur l'identification par HPLC/MS du profil polyphénolique ainsi que des alcaloïdes des parties sous-terraines (racines) *d'Echinops spinosissimus* Turra.

II-MATERIELS ET METHODES

II-1-MATERIELS

II-1-1-Matériel Végétal

II-1-1-1-Critères de choix de la plante étudiée

De nombreuses sources naturelles sont à l'origine de découverte de nouveaux principes actifs (microorganismes, plantes, organismes marins…etc.). Mais les plantes sont historiquement les plus utilisées dans toutes les pharmacopées du monde. Bruneton (2009) rapporte que parmi les 25 principes actifs les plus vendus au monde, 12 proviennent de produits naturels. Or on estime que seulement environ 10 % des 250 000 espèces de plantes inventoriées ont fait l'objet de recherches de molécules bioactives. Il reste donc potentiellement, de nombreux principes actifs à découvrir.

La recherche des composés bioactifs dans une plante sont longues et onéreuses du fait des multiples étapes nécessaires à l'isolement et à la détermination structurale d'un principe actif. Pour cela, la sélection initiale des plantes pour mener ce genre d'étude est une étape cruciale qui peut s'appuyer sur différentes approches, le plus souvent sur le criblage aléatoire, la littérature, la chimiotaxonomie ou l'ethnopharmacologie.

Les données apportées par l'ethnopharmacologie mènent souvent à sélectionner des plantes à fort potentiel pharmacologique. D'après la littérature, nous aurions ainsi plus de chances de trouver des molécules bioactives et non toxiques dans les plantes de la médecine traditionnelle que par le biais d'un criblage aléatoire (Balunas et Kinghorn., 2005).

Pour le présent travail, et en tenant compte des considérations que nous avons évoqué précédemment, une espèce intéressante a particulièrement retenu notre attention du fait qu'elle n'a été que très peu étudiée surtout du point de vue profil polyphénolique et activité cicatrisante de la partie souterraine de la plante *Echinops spinosissimus* Turra (La mise à jour de la nomenclature botanique a été effectuée en faisant appel à la base de données The Plant List 2013) .



Figure 6 : Situation géographique de la station nord-ouest de récolte d'*E.spinosissimus* Turra (Asteraceae) (ANIREF., 2011).

II-1-1-2-Récolte du matériel végétal

La cueillette, effectuée sur deux années successives (2018, 2019), a concerné deux régions (Belattar wilaya de Mostaganem **(fig. 6)** et Ain Sefra « sefissifa » **(fig. 7)** wilaya d'El Naama). Le matériel végétal parfaitement identifiable, ne comportant aucun signe de nécrose, ni de dessèchement a été récolté en période de floraison (allant du mois d'Avril au mois de Mai) car le prélèvement en cette période permet de s'assurer d'une identification botanique précise.

Une vingtaine de pieds individuels arrivés à maturité de la plante entière : racine, tige, feuilles et fleurs ont été prélevés dans deux stations situées dans le Nord- ouest et le sud-ouest Algérien avec huit à dix échantillons pour chaque station. La seconde récolte a eu lieu pendant la période de floraison, de l'année 2019.

Des échantillons de référence ont été déposés au laboratoire de Botanique Pharmaceutique du département de pharmacie de la faculté de médecine de l'université Oran1.

L'identification de l'espèce provenant des deux régions a été faite par Dr Nador Hayat, Maitre assistante en Botanique Pharmaceutique à l'Université Oran1 (Algérie).

Le matériel végétal récolté a été trié (différentes parties), séché à l'air libre et à l'obscurité dans un endroit sec et aéré pendant une semaine puis conservées dans des sacs en papier à l'abri de l'humidité. La matière végétale est réduite en poudre fine, juste avant l'extraction.

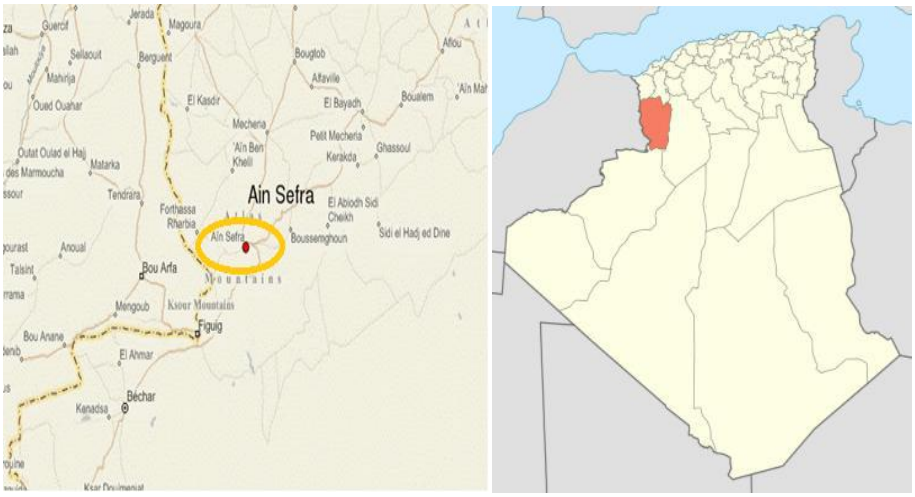


Figure 7 : Situation géographique de la station sud-ouest de récolte d'*E.spinosissimus* Turra (Asteraceae) (ANIREF.,2011).

II-1-1-3-Situation géographique et Bioclimat des stations de récolte

Notre étude a été menée dans 02 stations de récolte du Nord et sud de l'Algérie **(fig. 6,7),** la wilaya de Mostaganem est d'une superficie globale de 2269 km^2 , située à 365 km à l'ouest de la capitale Algérienne « Alger ». Elle compte plus de 768942 habitants répartis sur 32 communes. Mostaganem est caractérisée par un climat semi-aride à hiver tempéré,

avec une pluviométrie variante de 350 mm sur le plateau et 400 mm sur les piémonts du Dahra variant ainsi la richesse floristique de la région (ANIREF., 2011).

Répartie sur une superficie de 1 812,38 km^2, Aïn Safra est une commune de la wilaya de Naâma, elle est limitée au nord par les wilayas de Tlemcen et Sidi-Bel-Abbès, à l'est par la wilaya d'El Bayadh, au sud par la wilaya de Béchar, à l'ouest par la frontière Algéro-marocaine (ANIREF., 2013). D'une manière générale, l'année climatique de la wilaya de Naâma est divisée en deux grandes saisons ; une saison froide et relativement humide qui s'étend de novembre à avril et une saison chaude et sèche allant de Mai à Octobre. Cependant ce climat est caractérisé essentiellement par de faibles précipitations présentant une grande variabilité inter-mensuelle et interannuelle et par des régimes thermiques relativement homogènes mais très contrastés, de type continental (Benaissa ., 2010).

II-1-2-Matériel Animal

Notre étude a porté sur des rats albinos femelles (*Ratus norvegicus*) de souche Wistar d'un poids moyen variant entre (208,71± 22,43g). Elle a été réalisée au niveau de l'animalerie du laboratoire de pharmacologie de la faculté de médecine d'Oran 1.

Les rats ont été logés individuellement dans des cages en polypropylène et ont été exposées à une photopériode journalière de 12 heures et à une température ambiante de (25±0.5) C°. Le régime alimentaire fourni est de type standard avec un renouvellement quotidien de la literie du rat et de sa réserve en eau. Après la période d'adaptation, les animaux ont été réparties en 04 groupes de 06 rats chacun.

II-1-2-1-Le choix de la race, du sexe et du modèle d'évaluation de la cicatrisation

Les rats ont été largement utilisés dans l'étude de l'activité cicatrisante et dans l'efficacité de différentes modalités de traitement. Cette espèce animale est souvent sélectionnée à cause de sa disponibilité, son faible cout mais aussi à cause de sa petite taille.

Une recherche bibliographique a été effectuée afin de définir l'usage courant des modèles d'évaluation de la cicatrisation cutanée. Selon une méta-analyse (Dorsett- Martin.,2004), il a été démontré que 38.2% des études utilisaient le model excisionnel avec seulement quelques études combinant le model excisionnel et incisionnel (raison pour laquelle nous

avons choisi le modèle excision de peau pour l'induction de la blessure sur les rats), par contre la majorité des investigations (78.2%) ont effectué l'essai sur la partie dorsale du rat et la race Sprague Dawley (marge de poids de 250–300 gram ; animaux jeunes) était la plus utilisée suivie par la race Wistar.Vu la non disponibilité de la race Sprague Dawley, nous avons par conséquent opté pour l'utilisation de la race Wistar avec des rats de sexe féminin en prenant en considération leur disponibilité d'abord mais aussi le fait que la Food Drug Administration FDA recommande l'inclusion des femmes dans les essais cliniques en dermatologie, et donc l'utilisation des rats de sexe féminin dans les études in vivo devrait augmenter (Mogford et al., 2001).

II-1-3-Microorganismes

Le support biologique est constitué par 03 souches cliniques pathogènes : *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa et Escherichia coli*. Elles sont entretenues par repiquages successifs et réguliers dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné (gélose nutritive) et conservées à 4°C. Le choix des souches bactériennes testées a été motivé par un article de recherche qui visait à identifier les agents pathogènes bactériens présents dans les plaies infectées de 213 patients; Les souches bactériennes les plus couramment identifiées étaient Staphylococcus aureus (37%), *Pseudomonas aeruginosa* (17%), *Proteus mirabilis* (10%), *Escherichia coli* (6%) et Corynebacterium spp. (5%) (Bessa et al., 2015). La non disponibilité de la souche *P.mirabilis* au niveau du laboratoire de microbiologie du CHU de Tlemcen a fait qu'on a choisi *E.coli* comme la 3éme souche bactérienne à tester.

II-1-4-Réactifs chimiques, solvants et appareillage

Tous les solvants et les produits chimiques utilisés sont de qualités analytiques. Les réactifs chimiques et solvants nous ont été fournis par les sociétés Sigma-Aldrich (Taufkirchen, Germany) : éther de pétrole, acétate d'éthyle, méthanol, Folin-Ciocalteu, sodium carbonate, sodium acétate, sodium phosphate, acide gallique, acide ascorbique, catéchine, quercétine, vanilline, $NaNO_2$, $AlCl_3$,NaOH, HCl, acide sulfurique, ammonium molybdate, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH),… etc.

Sous l'action du Réactif de Gazet du Chatelier (préparé au niveau du laboratoire de pharmacognosie), tous les éléments des poudres végétales deviennent transparents et prennent une teinte particulière ; les particules lignifiées (vaisseaux de bois, fibres, cellules scléreuses) se colorent en jaune par le sulfate d'aniline ; les particules subérifiées (suber, subéroïde) sont colorées en rouge brun par le Soudan III ; les lipides, huiles essentielles, résines, latex sont colorés en rouge orangé par le Soudan III ; l'amidon se colore en bleu sous influence de l'iode (Dali Yahia., 2017).

Les différents appareils utilisés pour nos analyses sont les suivants:

- un extracteur soxhlet
- un évaporateur rotatif de marque IKABH eco .
- un lyophilisateur
- un spectrophotomètre Jenway 6405 UV/ Vis.
- un chromatographe liquide haute performance HPLC Thermo FinniganSurveyor Plus, équipé d'une pompe quaternaire, d'un détecteur à barrette de photodiodes (PDA) UV-Visurveyor et d'un spectromètre de masse à piège à ions LCQAdvantage max (Shimadzu Prominence-i / LC-2030C 3D), couplé via une source d'ionisation par électrospray (ESI).

II.2. METHODES

II.2.1.Méthode ethnobotanique

II.2.1.1. Type d'étude

Afin de connaître l'éventuel usage de l'espèce végétale dans la pharmacopée traditionnelle, nous avons entrepris une étude descriptive de l'usage traditionnel de la plante portant sur 50 herboristes pour les wilayas d'Oran, Mostaganem et Ain Sefra et qui s'est étalée sur une période allant de Février 2018 jusqu'à Avril 2018.

II.2.1.2. Le questionnaire

L'enquête a été réalisée à l'aide d'une fiche remplie par interrogation orale. La majorité des entretiens ont été conduits dans la langue originaire de la zone d'étude (Arabe). Le

questionnaire a été rédigé en français et en arabe **(Annexe 1,2)**. Il est divisé en deux parties et est composé de 16 questions.

La première partie renferme des renseignements sur l'herboriste (âge, sexe, niveau d'étude et nombre d'années d'exercice).

La deuxième partie incluant plusieurs variables (le nom vernaculaire arabe de la plante, la cueillette, parties utilisée, les différents usages traditionnels, les modalités de préparation, etc.,…).

Nous avons été confrontés lors de notre enquête a certaines contraintes comme la méfiance et ou la réticence de la part de quelques herboristes pour répondre aux questions, et ce à cause de l'usage abortif très répandu de la plante et ou le manque d'informations autour de l'usage traditionnel d'*E.spinosissimus* Turra.

- Critères d'inclusion : Herboristes installés dans la ville d'Oran, Mostaganem et Aïn Safra connaissant la plante et acceptant de coopérer et de répondre au questionnaire.
- Critères de non inclusion : Herboristes installés à Oran, Mostaganem et Aïn Safra refusant de répondre au questionnaire, dont le nombre est de trois à Mostaganem et de six à Oran.

II.2.1.3. Identification des échantillons

L'identification des échantillons prélevés lors de l'enquête a été réalisée au sein du laboratoire de pharmacognosie de la faculté de médecine d'Oran en utilisant les clés d'identification des flores des plantes médicinales et le droguier du laboratoire.

II.2.1.4. traitement des données de l'enquête

Les données prélevées sur les fiches d'enquête ont été ensuite saisies et analysées à l'aide du logiciel tableur Excel 2013, pour être présentés par la suite sous forme des tableaux et d'histogrammes.

II.2.2.Préparation des échantillons

La préparation des échantillons est d'une importance capitale pour toute analyse fiable. De nombreuses méthodes de préparation des échantillons ont été développées pour déterminer les composés phénoliques. En général, les échantillons solides sont soumis à

un broyage et à un tamisage, souvent précédés par une étape de séchage à l'air libre du matériel végétal à analyser.

II.2.2.1.Le séchage et broyage

Le matériel végétal récolté a été trié (différentes parties), séché à l'air libre et à l'obscurité dans un endroit sec et aéré pendant une semaine puis conservées dans de grandes enveloppes en papier à l'abri de l'humidité. Les racines des plants collectés et préalablement séchés ont été pulvérisé juste avant l'extraction à l'aide d'un broyeur électrique en poudre fine et ce en procédant par des temps de broyage brefs afin d'éviter la dégradation par les températures générées par le broyage, de certains constituants chimiques thermolabiles de la plante.

II.2.2.2.Caractères organoleptiques de la drogue

Grace à une loupe binoculaire, nous avons pu apprécier les caractères morphologiques et organoleptiques des parties souterraines de la plante.

II.2.2.3. Technique d'observation des caractères microscopiques des poudres végétales

Un échantillon de poudre végétale a été prélevé par une petite spatule et étalé sur une lame puis délayé dans une goutte du réactif de Gazet du Chatelier avant de le recouvrir d'une lamelle. La poudre ainsi montée entre lame et lamelle est examinée au microscope photonique aux différents grossissements.

II.2.3.Préparation des extraits

Nous avons procédé à des extractions de type solide-liquide par le biais de l'appareil de soxhlet qui permet de procéder à des extractions successives et ce en faisant passer le solvant d'extraction plusieurs fois à travers l'échantillon qui est positionné dans une cartouche qui se retrouve dans un compartiment séparé du compartiment contenant le solvant. Cet appareil va nous permettre d'obtenir l'extraction la plus complète possible (Wang et al., 2006).

Le broyat des racines provenant de chaque région a été introduit dans une cartouche de cellulose se trouvant dans un réservoir qui est lui-même surmonté par un réfrigérant qui

assure la condensation et le retour du solvant vers le ballon. Le solvant d'extraction contenu dans le ballon est chauffé et ainsi évaporé et condensé pour retomber dans la cartouche et est de ce fait en contact avec la matière végétale. Le ballon s'enrichit a fur et à mesure avec le solvant saturé en métabolites à chaque cycle d'extraction .l'opération est terminée lorsque le solvant d'extraction qui s'écoule devienne de plus en plus clair témoignant de l'épuisement de la drogue.

Soixante grammes de la poudre des racines ont été objet à des extractions successives selon le protocole de (Halim et al., 2011) avec quelques modifications. Nous avons opté pour l'utilisation de quatre solvants à polarité croissante à savoir : éther de pétrole, acétate d'éthyle, méthanol et eau. Le marc prélevé après extraction est séché et pesé avant la prochaine extraction avec le prochain solvant. Les extraits obtenus sont filtrés sur un papier Wattman 01. Afin d'éviter des détériorations de composés extraits, les phases organiques sont évaporées à sec sous pression réduite en utilisant un évaporateur rotatif et une pompe à vide à une température ne dépassant pas les 50°C, on obtient ainsi un résidu sec ou un résidu brut qui est ensuite pesé pour le calcul des rendements.

Le rendement d'extraction correspond au pourcentage du principe actif dissout dans le solvant organique utilisé pour l'extraction (Abe et al., 2010) , il est exprimé en pourcentage massique par rapport à la quantité de matière sèche selon la formule calculé par la formule suivante:

R(%) = **(M1/M0) x 100**

R : le rendement en pourcentage

M1 : masse de l'extrait sec en gr.

M0 : masse de la matière végétale sèche initiale en gr.

Après évaporation des solvants d'extractions, les résidus bruts peuvent changer de solubilité, nous avons donc réalisé des essais de solubilisation des extraits bruts dans les différents solvants, certains extraits ont bien répondu aux solvants initiaux tandis que d'autres ont nécessité du DMSO qui est un solvant permettant à la fois de solubiliser les substances hydrophiles et hydrophobes.

II.2.4.Criblage ou screening préliminaire des classes phytochimiques majoritaires

Le screening phytochimique est une analyse qualitative se basant sur des réactions de colorations et/ ou de précipitations par des réactifs spécifiques **(Annexe 3)**. Il permet la détection de la présence de différentes classes phytochimiques (Alcaloïdes, polyphénols, flavonoïdes, tanins, saponosides, polyterpènes,...) dans une plante donnée. Nous nous sommes référées dans l'élaboration du protocoel de criblage sur les techniques décrites dans les travaux de Dohou *et al.* (2003), Békro *et al*. (2007), Bruneton (2009) et Belfekih et al. (2017)

II.2.4.1.Préparation des extraits

L'infusé à 5% : 5 g de poudre végétale sont introduits dans 100 ml d'eau bouillante et sont laissés a infuser 15 à 30 minutes. Cet infusé est utilisé pour la caractérisation des tanins et des flavonoïdes.

L'extrait choloroformique : 1g de drogue en poudre a été ajouté à 10 ml de chloroforme dans un tube à essai et prudemment chauffé au bain-marie pendant 3 minutes. Cet extrait a servi à la recherche des dérivés anthracéniques libres.

L'hydrolysât : à un aliquote du résidu de la poudre épuisée par le chloroforme, 10 ml d'eau distillée et 1ml d'acide chlorhydrique concentré sont ajoutés. Le tube à essai est maintenu dans un bain-marie bouillant pendant 15 min et refroidi par la suite sous un courant d'eau. L'hydrolysat est employé pour l'identification des dérivés anthracéniques combinés.

L'extrait éthérique : 1 g de poudre et 20 ml d'éther sont introduits dans un tube à essai et laissés à macérer pendant 24 heures. Cet extrait est utilisé ensuite pour la caractérisation à la fois de stérols et des triterpènes, caroténoïdes et de coumarines.

Le décocté : 5g de poudre végétale sont introduits dans 100ml d'eau distillée et sont portés à ébullition dans un bain marie pendant 3min.

II.2.4.2.Les Réactions de Caractérisation

Alcaloïdes

La caractérisation des alcaloïdes est basée sur leurs propriétés de précipiter les métaux lourds ; c'est le principe de réaction avec les réactifs généraux des alcaloïdes (Burchard et de Dragendorff). Dans un erlenmeyer de 250 ml, Introduire 10 g de poudre végétale, à laquelle 100 ml de H2SO4 dilué au 1/10 sont ajoutés. Ce mélange est agité et macéré pendant 24 h. Il est ensuite filtré sur papier filtre et lavé à l'eau distillée de manière à obtenir environ 100 ml de filtrat. Ensuite, 3 gouttes de réactif de Dragendorff sont ajoutées à 2 ml de filtrat à 10 %. L'apparition d'un précipité rouge-orangé révèle la présence d'alcaloïdes.

Polyphénols

La réaction au chlorure ferrique (FeCl3) a permis de caractériser les polyphénols par l'ajout dans un tube à essai de 5 ml d'infusé à 5%, et 1 ml de la solution aqueuse de FeCl3 dilué à 2%. En présence de polyphénols, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

Tanins

La recherche des tanins et leurs différenciation en tanins catéchiques condensés et tanins galliques hydrolysables est obtenue par la réaction de Stiasny ; à 5 ml d'infusé à 5%, 15 ml du réactif de Stiasny sont ajoutés (10 ml du formol à 40% + 5 ml HCl concentré). Le mélange est ensuite chauffé sous hotte au bain-marie à 90°C pendant 30 minutes. L'obtention d'un précipité floconneux démontre la présence de tanins catéchiques. Pour la caractérisation des tanins galliques, nous avons filtré la solution précédente qui sera saturée avec une solution d'acétate de sodium .au surnageant prélevé, on ajoute quelques gouttes d'une solution de FeCl3 à 1%. Le développement d'une teinte bleu-noire intense indique la présence de tannins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

Flavonoïdes

Les flavonoïdes **libres ou génines** ont été identifiées par la réaction de la cyanidine, dans un tube à essai ,5 ml d'infusé à 5% sont mélangés à 5 ml d'alcool chlorhydrique (4 ml d'éthanol à 95°, et 1 ml HCl concentré), puis quelques copeaux de magnésium et 1 ml

d'alcool iso amylique sont ajoutés. Il se produit une réaction de précipitation pendant quelques minutes.

L'apparition au niveau du surnageant d'alcool iso amylique d'une coloration en fonction de la nature des flavonoides présents dans le mélange :

Rose-orangée (Flavones)

Rose-violacée (Flavanones)

Rouge (Flavonols et flavanonols)

Les leucoanthocyanes sont également révélées par la réaction à la cyanidine mais sans l'ajout des copeaux de magnésium avec un chauffage à 50 °C pendant 15 min au bain marie. En présence de leucoanthocyanes, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée.

Les anthocyanes ont été identifiés par addition de 5 ml d'acide sulfurique H2S04 (10%) à 5 ml d'infusé de la drogue (5%), l'apparition d'une coloration rose- rougeâtre en milieu acide qui vire au bleu violacé par ajout de 5 ml de d'hydroxyde d'ammonium NH4OH dilué au ½ ,témoigne de la présence des anthocyanes.

Dérivés anthracéniques

Les Anthracéniques **libres** ont été mis en évidence par la réaction Borntraëger. Dans un tube à essai, l'ajout d'un 1ml d'extrait chloroformique à 1 ml de NH4OH dilué à 50%. Après agitation, une coloration rouge indique la présence d'anthraquinones libres.

Les dérives anthracéniques combinés :

O-hétérosides (anthraquinones)

5 ml d'hydrolysat préparé précédemment est agité avec 5 ml de Chloroforme. La phase organique est soutirée et introduite dans un tube à essai, tandis que la phase aqueuse est gardée. A la phase organique, 1 ml de NH4OH dilué au 50% est ajouté puis agité. La présence de génines des O-hétérosides est révélée par la coloration rouge au violet dans la phase aqueuse alcaline. Si la réaction est négative ou faiblement positive, les O-hétérosides à génine réduite sont à rechercher. Pour cela, un prélèvement de 5 ml d'hydrolysat préparé précédemment et 3 à 4 gouttes de FeCl3 à 10% (oxydant) sont ajoutées. Après avoir chauffé pendant 5 minutes au bain-marie a 90 °C et refroidi sous un courant d'eau, on ajoute 10 ml de chloroforme ,ainsi la phase chloroformique est soutirée et introduite dans un tube à

essai, puis 1 ml de NH4OH dilué à 50% est ajouté et agité. En présence de produits d'oxydation des anthranols ou anthrones, la coloration rouge est plus intense que précédemment.

C-hétérosides

Ils sont caractérisés en reprenant la phase aqueuse qui a été précédemment préparée avec les O-hétérosides, dans 10 ml d'eau distillée et ajouter par la suite 1 ml de FeCl3 à 10%. Le tube à essai est porté à ébullition dans un bain-marie pendant 30 minutes et refroidi sous courant d'eau. Une agitation est ensuite effectuée avec 5 ml de chloroforme CHCl3. La phase organique est soutirée et recueillie dans un tube à essai, puis 1 ml de NH4OH dilué à 50% est ajouté. Après agitation, une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines C-hétérosides.

Stérols et polyterpènes

Les Stérols et les polyterpènes ont été identifiés par la réaction de Liebermann-Burchard. Dans une capsule, 10 ml de l'extrait filtré éthérique est évaporé à sec sur bain de sable, le résidu est dissous dans une solution composée de 1 ml d'anhydride acétique et de 1 ml de chloroforme. Le mélange est récupéré et partagé sur deux tubes à essai ; l'un servira de témoin négatif et l'autre est ajouté a 1 à 2 ml d'acide sulfurique concentré mais sans agiter. A la zone de contact des deux liquides, il y a formation d'un anneau rouge-brunâtre, la couche surnageante devenant violette révèle la présence de stérols et de triterpènes.

Saponosides

La mise en évidence des saponosides repose sur leur pouvoir moussant. Dans une série de 10 tubes à essai de 160 x 16 mm, numérotés de 1 à 10, répartir successivement 1,2…jusqu'à 10 ml du décocté à 1% préparé de la poudre de racines .Le volume est ajusté dans chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée. Chaque tube est agité dans le sens de la longueur pendant 15 secondes en raison de 2 agitations par seconde. Ensuite, laisser reposer les tubes pendant 15 minutes, puis la hauteur de la mousse est mesuré dans chaque tube. Le tube dans lequel une hauteur de mousse persistante est de 1 cm indique la valeur de l'indice de mousse Im.

$$Im = \frac{1000}{n° \text{ du tube}}$$

Avec **n** = numéro du tube dans lequel la hauteur de la mousse est égale à 1cm.

Un indice supérieur à 100 est considéré comme une réaction positive témoignant d'une richesse de la plante en saponosides.

Mucilages

1ml du décocté à 10% est introduit dans un tube à essai, puis 5 ml d'alcool absolu sont ajoutés. L'obtention d'un précipité floconneux après agitation indique la présence de mucilages.

Coumarines

Dans une capsule, 5 ml d'extrait éthérique est évaporé, puis 2 ml d'eau chaude est ajoutée au résidu. La solution est partagée entre 2 tubes à essais. Au contenu de l'un des tubes, 0,5 ml est ajouté de NH4OH à 25%. Une fluorescence intense observée sous U.V à 366 nm, dans le tube contenant l'ammoniaque indique la présence de coumarines.

Huiles essentielles

On prend 50 g du produit sec broyé, et on l'introduit dans un montage d'extraction d'huiles essentielles, on chauffe doucement pendant 4 à 5 heures. L'apparition d'une couche d'huile sur le distillat indique la présence des huiles essentielles.

II.2.5.Analyses quantitatives des extraits

II.2.5.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en phénols totaux des différents extraits de la plante a été déterminée par la méthode de Singleton et Ross (1965) qui est une technique spectrophotométrique utilisant le réactif de Folin–Ciocalteu. Elle est basée sur la réduction en milieu basique de la mixture d'acide phosphotungestique H3P(W3O10)4 et d'acide phosphomolybdique H3PMO12O4 par les groupements oxydables des composés phénoliques présents dans l'échantillon .Les produits de réduction oxydes métalliques de tungstène (W8O23) et de molybdène (Mo8O3) de couleur bleue, possèdent une absorption maximale au environ de

750 nm dont l'intensité est proportionnelle au taux des composés phénoliques présents dans l'échantillon (Hadjadj.,2017).

Un volume de 200 µl pour chaque extrait est introduit dans des tubes à essais, le mélange (1 ml de Folin Ciocalteu dilué 10 fois et 0.8 ml de carbonate de sodium à 7.5 %) est additionné. Les tubes sont agités et incubés durant 30 min. L'absorbance est mesurée à 765 nm contre un blanc contenant le solvant dans lequel est solubilisé l'extrait. Trois lectures sont faites par échantillon en utilisant le spectrophotomètre Jenway 6405 UV/ Vis.

L'acide gallique a été utilisé comme standard et une courbe d'étalonnage à différente concentration a été réalisée. Les teneurs en phénols totaux dans les extraits sont calculées à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage et sont exprimées en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme (g) du poids de la matière sèche (mg EAG/ g MS).

II.2.5.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La détermination de la teneur en flavonoïdes dans nos extraits a été effectuée par une méthode colorimétrique optimisée par Zhishen *et al* (1999).cette dernière est basée sur l'oxydation des flavonoïdes par le réactif au trichlorure d'aluminium, entraînant la formation du complexe flavonoïde- aluminium entre le groupe cétone du carbone 4 et le groupe hydroxyle des carbones 3 et 5 des flavones et flavonols, ou encore avec les groupes ortho-dihydroxylés dans le cycle A ou B des flavonoïdes. Le complexe ainsi formé est un acide stable de couleur rosâtre, détectable à 510 nm (Saiah et al., 2018).

Une prise de 500 µl de solution méthanolique de catéchine à différentes concentrations ou de l'extrait dilué dans le solvant approprié est additionnée à 1500 µl de l'eau distillée. Au temps zéro, 150 µl de nitrite de sodium ($NaNO_2$) à 5 % est ajouté au mélange. Après 5 min, 150 µl de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 10 % (m/v) est rajouté. Après l'incubation de 6 min à la température ambiante, 500 µl d'hydroxyde de sodium (NaOH) (1 M) est additionné. Immédiatement, le mélange est complètement agité. L'absorbance de la solution de couleur rosâtre est mesurée à 510 nm contre le blanc. La teneur en flavonoïdes totaux des extraits est déduite à partir de la gamme d'étalonnage et est exprimée en milligramme (mg) équivalents de catéchine par gramme (g) du poids de la

matière sèche (EC)/g).Tous les dosages ont été effectués au triplicata (Benhammou., 2011).

II.2.5.3. Dosage des tannins condensés

Les teneurs en tanins condensés (proanthocyanidines / procyanidols totaux) contenus dans nos extraits ont été estimées en utilisant la méthode à la vanilline en milieu acide (Julkunen-Titto, 1985).

Un volume de 50 µl des différents extraits bruts est ajouté à 1500 µl de la solution vanilline/méthanol (4 %, m/v) et puis homogénéisé à l'aide d'un agitateur électrique (vortex). Par la suite, 750 µl d'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné et laissé à agir à température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc. La concentration des tannins est estimée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage, en milligramme (mg) équivalents de catéchine par gramme (g) du poids de la matière sèche (EC)/g).

II.2.5.4.Identification des composés phénoliques et des alcaloïdes par HPLC-PDA-ESI-MS

L'analyse qualitative et la séparation chromatographique des composés phénoliques et des alcaloïdes des extraits a été réalisée par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) couplée à la spectrométrie de masse (MS) sur un appareil HPLC Thermo FinniganSurveyor Plus équipé d'une pompe quaternaire, d'un détecteur à matrice de photodiodes UV-Vis (PDA) et d'un spectromètre de masse à piège à ions LCQAdvantage max (ShimadzuProminence-i / LC-2030C 3D), couplé par une source d'ionisation par électropulvérisation (ESI). L'analyse a été réalisée sur un SUPELCO C18 (25cmx4,6 mm, 5µm). Le système de solvants était constitué d'acide acétique et d'eau (pH = 3) (solvant A) et de méthanol / acide acétique (pH = 3) (solvant B). Une élution de gradient de 10 à 100% B pendant 50 min a été utilisée. Le débit était de 0,8 mL / min (Youssef et al., 2017) et le volume d'injection était de 5 mL. Les chromatogrammes ont été extraits à 280 nm. Des analyses HPLC-PDA-ESI-MS des phénoliques ont été réalisées à l'aide d'une interface ESI, en mode ion négatif. Les conditions ESI étaient les suivantes: température: 3508 ° C, pression du nébuliseur: 35 psi, débit de gaz de séchage N2: 10 L /

min, tension du fragmenteur: 135 V, tension capillaire: 4500 V, plage spectrale de masse 100-1 600 m / z (Munekata et al. ., 2016).

Les données enregistrées d'un rapport masse/ charge (m/z) sont traitées à l'aide du logiciel Xcalibur (version 2.1). Les spectres de masse ainsi obtenus sont comparés à des données de la littérature afin d'identifier la nature des métabolites.

II.2.6. Evaluation des Activités Biologiques

II.2.6.1. Etude de l'activité antioxydante des extraits

Pour quantifier d'une façon précise le potentiel antioxydant des échantillons, il n'existe pas de méthode unique universelle, il convient donc toujours de combiner les réponses des différents tests de l'activité antioxydante qui s'avèrent être complémentaires. Ceci est principalement dû à la complexité des processus d'oxydation mais aussi à la nature des antioxydants qui diffère d'un composé à l'autre (Sánchez-Moreno, 2002).
Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* de nos extraits a été effectuée par deux techniques chimiques à savoir : capacité antioxydante totale (CAT) et le piégeage du radical libre DPPH.

II.2.6.1. 1. Activité antioxydante totale (TAC)

La capacité antioxydante totale (TAC) des extraits est estimée par la méthode de phosphomolybdène de Prieto *et al* (1999). Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate $MoO4^{2-}$ à molybdène Mo (V) MoO^{2+} en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide.

Un volume de 0.3 ml de chaque extrait est mélangé à 3 ml du réactif en solution composé principalement par (Acide sulfurique à la concentration de 0.6 M, phosphate de sodium concentré à 28 mM et molybdate d'ammonium avec une concentration de 4 mM). Après fermeture des tubes à essai, ils sont incubés à l'obscurité dans l'étuve à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, on mesure l'absorbance des solutions à 695 nm contre un blanc contenant 3 ml de la solution du réactif précédemment décrit et 0.3 ml du solvant utilisé pour la solubilisation des extrais bruts et qui est incubé aussi dans les mêmes conditions que les extraits. La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme

équivalents d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mg EAA/ g MS).Toutes les opérations ont été réalisées au triplicata.

II.2.6.1. 2. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil)

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger Le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH•), un radical libre relativement stable à température ordinaire, de couleur violette et qui présente une bande d'absorption maximale à 515 nm dans le méthanol. En présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), il est réduit en 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazine non radical en acceptant un atome d'hydrogéne (DPPHH) et change de couleur en virant au jaune **(Fig. 8).**

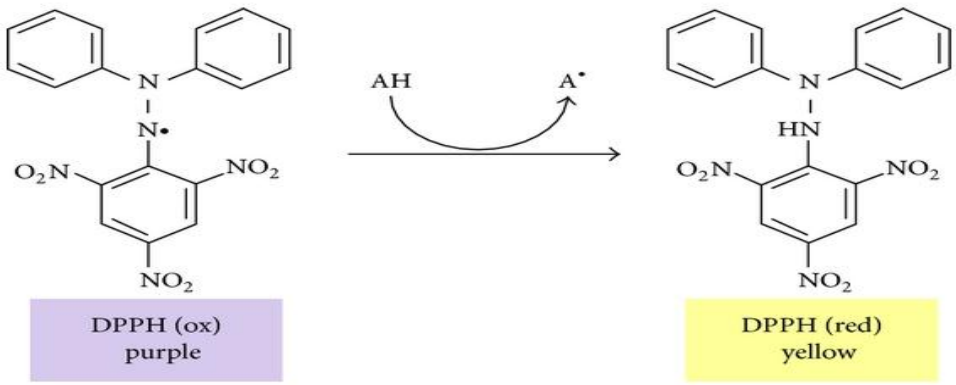


Figure 8 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Teixeira et al., 2013)

La réduction du DDPH• est suivie par la mesure de la diminution de son absorbance à 515 nm, selon le protocole décrit par Sanchez-Moreno *et al* (1998).

Un volume de 50 µl de différentes concentrations de chaque extrait exprimées en g/l est additionné à 1,950 ml de la solution méthanolique du DPPH• (0.025 g/l) fraîchement préparée. Après agitation vigoureuse et une période d'incubation de 30 minutes à l'obscurité et à température ordinaire, l'absorbance a été lue contre un blanc (50 µl de méthanol + 1,950 ml de la solution méthanolique du DPPH•) à 515 nm. L'activité de

piégeage des radicaux libres DPPH a été calculée en pourcentage (%) en utilisant la formule suivante:

DPPH inhibition (%) = ($A_{témoin} – A_{echantillon} / A_{témoin}$) × 100

A Témoin désigne l'absorbance du témoin négatif (sans extrait),
A Echantillon désigne l'absorbance de la solution d'extrait.
Les pourcentages du DPPH• résiduels en fonction des concentrations des échantillons, nous permettent de définir concentration d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration DPPH• initiale à 50%. Cette valeur est dite la concentration efficace EC50 et parfois notée IC50. Elle est déterminée graphiquement par la régression exponentielle des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés. L'activité anti radicalaire IC50 est exprimée en milligramme d'extrait par rapport au gramme DPPH• dans le milieu. Plus la valeur d'EC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée (Popovici et al., 2009).

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard très nnu : l'acide ascorbique ou vitamine C, dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les extraits, ainsi l'IC50 est déterminée et nous permet donc de faire l'étude comparative des résultats obtenus.

II.2.6.2. Activité antibactérienne

La Méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé d'agar a été la technique choisie afin d'évaluer l'activité antibactérienne. Les extraits de la plante ont été testés sur trois souches bactériennes dont le *Staphylococcus aureus* Gram positif (ATCC 25923) et deux bactéries Gram négatif *Escherichia coli* (ATCC 25922) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). Les bactéries ont étés repiquées par la méthode des stries et revivifiés dans des tubes contenant 10 ml d'eau physiologique stérile pour chaque souche. La turbidité a été ajustée à 0,5 McFarland, ce qui correspond à une densité cellulaire de 1,2 × 108 UFC / mL pour les bactéries (DO = 0,08 à 0,1 ; lue a une longueur d'onde λ = 625 nm).

Les zones d'inhibition ont été déterminées selon la méthode de diffusion sur disque recommandée par les directives du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (CLSI, Document M2-A9, 2006; NCCLS-M27-A 1997) contre des souches microbiennes ATCC sélectionnées. Des suspensions bactériennes ont été préparées servant d'inoculum puis incubées à 37 ° C pendant 24 h. La turbidité de la suspension de microorganismes testée a été ajustée à une densité optique de 0,5 McFarland. Ensuite, la suspension de chaque culture a été étalée sur milieu solide (gélose de Mueller-Hinton) dans des boites de pétri, en utilisant un écouvillon stérile et en prenant soin de tourner la boite de pétri de 60°C après chaque application afin d'assurer une distribution homogène de l'inoculum. Des disques de papier filtre stérile Whatman n ° 1 (6 mm de diamètre) ont été imprégnés avec 5, 10 et 20 uL des différents solutions des extraits dissous a une concentration de 100 mg/ml dans du DMSO et déposés par la suite à l'aide d'une pince sur la gélose nutritive, parfaitement appliqués à plat sans glissement en appuyant légèrement au-dessus de la surface des disques.

Des disques antibiotiques standards ont été aussi utilisés comme témoins positifs pour les bactéries (la ticarcilline (75 ug) et la pénicilline G (10 UI)) ainsi que des témoins négatifs (disques imprégnés par le DMSO) afin de bien contrôler et interpréter la sensibilité des micro-organismes testés. Les boites ont été laissées 1 à 2 h à 4 ° C pour une pré-diffusion des substances, avant d'être incubées à 37°C à l'étuve pendant 24 h.

A la sortie de l'étuve, l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour du disque d'un halo translucide correspondant à l'absence de la croissance bactérienne. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (Choi et al., 2006).

La lecture s'effectue par la mesure des diamètres de la zone d'inhibition (DI) y compris le disque de papier (en mm). Chaque essai a été réalisé trois fois et les résultats ont été exprimés en moyenne ± écart-type.

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits d'*E. Spinosissimus* ont été déterminées en utilisant la méthode de dilution (Vitali et al., 2016; Lopez et al., 2018), selon les protocoles du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Tous les tests ont été réalisés dans le bouillon Mueller Hinton et les cultures de chaque souche ont été préparées une journée auparavant. Les suspensions de microorganismes ont été ajustées à

l'aide d'un spectrophotomètre pour donner une densité optique finale de 106 CFU / ml. Ensuite, une dilution double a été réalisée avec du diméthylsulfoxyde (DMSO) à une concentration de 1%, dans des microplaques à 96 puits (100 µL par puit) pour obtenir des concentrations allant de 0,019 à 5 mg / mL, Un volume égal de l'inoculum microbien des souches testées provenant de la culture en bouillon a été ajouté pour donner une concentration finale de 5 x 10^5 CFU / ml dans chaque puit. Après incubation pendant 18 à 24 h à 37 ° C à l'étuve, la CMI a été définie comme la concentration la plus faible des extraits à laquelle les micro-organismes ne présentaient pas de croissance visible. La croissance du microorganisme était indiquée par la turbidité. Tous les tests ont été effectués en triple et les valeurs de CMI sont exprimées en mg / ml.

II.2.6.3. Evaluation de l'activité cicatrisante

L'évaluation de l'effet cicatrisant de l'extrait sélectionné de la plante a été faite sur des plaies d'excision par deux approches complémentaires : une étude macroscopique planimétrique grâce à des observations cliniques avec recours à des techniques de planimétrie et une étude microscopique histologique sur des prélèvements de pièces cutanées cicatrisés. L'ensemble de ces techniques va nous assurer une évaluation objective de l'effet cicatrisant des différents traitements utilisés pendant l'essai in vivo. Le protocole expérimental utilisé dans cette étude est conforme à la loi algérienne 98-11 du 22 août 1998 et aux recommandations d'usage en matière de soins pour animaux utilisés dans la recherche et l'enseignement (CCPA., 1993 ; NRC., 2001).

II.2.6.3.1. Animaux et lots expérimentaux

24 rats femelles albinos de race Wistar et d'un poids moyen de (208,71 ± 22,43g), ont servi de modèle expérimental d'excision de peau afin d'évaluer le potentiel cicatrisant de la plante. Les rats proviennent de l'animalerie du service de pharmacologie de la faculté de médecine de l'université Oran 1. Avant le début des expériences, un examen clinique des rats est effectué. Il permet de vérifier l'absence de jetage ou de blessure quelconque de façon à s'en assurer de la bonne santé des animaux utilisés.

Chaque animal a été placé dans une cage individuelle ayant un couvercle en acier inoxydable d'une longueur de 40 cm (afin de prévenir le phénomène de cannibalisme décrit chez les rats après induction de la plaie) tout en respectant le cycle nycthéméral et dans des conditions standard de température et d'humidité. Tous les animaux ont été nourris ad libitum avec l'eau et d'aliment constitué de granulés d'origine commerciale (aliments granulés pour rats).

La litière utilisée est un substrat à base de sciures de bois, cette litière est renouvelée aussi souvent que nécessaire pour une bonne hygiène des animaux.

Les animaux ont été maintenus en période de stabulation avant l'expérimentation, ils ont été divisés en 04 groupes avec six animaux dans chaque groupe (n = 6).Tous les traitements témoins et testés ont été administrés à l'animal quotidiennement, par voie externe cutanée a raison d'une fois par jour pendant une période de 16 jours (Prasad et al., 2010 ; Kundu et al.,2016).

Lot ou Groupe 1 (Témoin positif) : traité topiquement avec la pommade MEBO® contenant 0,25% de β-sitostérol.
Lot ou Groupe 2 (Témoin négatif) : laissé sans traitement ; cicatrisation naturelle.
Lot ou Groupe 3 (Vaseline pure) : traité topiquement par le véhicule (vaseline) dans lequel a été dilué l'extrait à tester.
Lot ou Groupe 4 (EM) : traité topiquement avec l'extrait méthanolique (EM) de la plante.

Au 16éme jour postopératoire, les tissus cutanés d'excision de tous les animaux ont été traités pour l'examen histopathologique.

II.2.6.3.2. Formulation des onguents

L'onguent de l'extrait méthanolique à tester in vivo, dosé à 2 %, a été formulé selon le protocole décrit par Kodati et al. (2011) et Saiah et al. (2018). Le choix de la concentration de 2% a été appuyé par un essai pilote in vivo sur des rats Wistar, réalisé une année précédant l'expérience proprement dite, cet essai avait comme objectif d'évaluer l'activité cicatrisante de la même plante mais sur des modèles différents dits de brulures thermiques de peau. A l'issue de cet essai, nous avons pu constater que

l'extrait à 2% était aussi actif que celui formulé à 4%. Grace à cette expérience aussi, nous avons pu décider du choix de modèle expérimental « excision de peau », car en provoquant des brulures, on ne pouvait nullement contrôler le degré des brulures sur l'ensemble des rats, par conséquent, les résultats de l'essai pilote étaient biaisés et inexploitables.

Nous avons introduit une masse de 2 gr de l'extrait méthanolique préalablement pesé, dans un mortier en porcelaine, ensuite 98 gr de vaseline pure officinale ont été ajoutés, le tout a été trituré, mélangé en utilisant un pilon et en effectuant des mouvements circulaires et en forme de 8 pendant environ 10 minutes jusqu´à l´obtention d´un onguent homogène.

II.2.6.3.3.Induction des plaies

Le modèle d'expérimentation « Excision de peau » a été retenu pour l'essai in vivo de l'activité cicatrisante. , avant l'induction de la plaie, la région dorsolombaire de la peau des rats a été rasée en utilisant un rasoir électrique, un jour avant l'expérience.

Le choix de cette région de l'animal est motivé par la facilité d'accès, tant pour la réalisation de la blessure que pour le suivi de l'évolution de la plaie et le relevé des mensurations. La localisation des plaies à ce niveau prévient également l'auto léchage par les rats.

Les animaux ont tous été anesthésiés à l'éther diéthylique dans un cristallisoir pendant 3 minutes environ. Grâce à un bistouri, une plaie d'excision a été infligée en prélevant un morceau de peau à partir de la zone rasée, préalablement désinfectée à l'alcool chirurgical et prédéterminée par un gabarit en acétate transparent, mesurant 1,5 x 1,5 cm^2 de surface. On estime à 2 mm la profondeur de la plaie au niveau de la région dorsale de chaque animal (Nayak et al., 2007).

L'hémostase a été réalisée en compressant la plaie avec un coton imbibé d'une solution saline normale à 9‰. Les animaux blessés ont été logés séparément dans des cages individuelles propres préalablement nettoyés et désinfectés à l'eau de javel diluée.

Après application topique des différents traitements (affectés aléatoirement sur les quatre groupes) en une couche de 2 à 3 mm d'épaisseur environ, les plaies recouvertes ont été laissées à l'air libre sans pansement (Kundu et al., 2016).

Durant toute l'expérience, les animaux ont été soigneusement observés pendant les 16 jours de traitement, en en vérifiant leur aspect général, présence ou non de saignement, d'exsudat et de croûte. Les rats présentant un quelconque signe d'infection ont été séparés, exclus de l'étude et remplacés.

Les zone ou les surfaces des plaies initiales et aux différents jours de prise des mensurations du suivi des plaies, ont été mesurées instantanément en plaçant un acétate transparent sur la plaie et en traçant à l'aide d'un marqueur permanent les contours de la blessure (Nayak et al., 2007; Suntar et al., 2010). Les acétates ont été ensuite désinfectés et mis en conserve afin de calculer les surfaces de la plaie avec le logiciel AutoCAD Architecture version 2013.

II.2.6.3.4.Paramétres biophysiques des plaies

A-Etude planimétrique/ taux de contraction

Les surfaces des plaies ont été estimées aux jours J0, J4, J8, J12 et J16, la moyenne des surfaces des six plaies d'un même lot, est calculée.

Le pourcentage de contraction de la plaie a été établi en comparant les surfaces de plaies au jour J n (prise des mensurations) aux surfaces des plaies initiales à J0, selon l'équation suivante (Nagesh et al., 2015).

$$\text{Pourcentage de contraction \%} = \frac{\text{surface de la plaie à J '}\mathbf{0}\text{'- surface de la plaie à J '}\mathbf{n}\text{'}}{\text{Surface de la plaie à J '}\mathbf{0}\text{'}} \times 100$$

B-Temps d'épithélialisation

La période de ré-épithélialisation a été estimée pour tous les animaux, elle est définie par le nombre de jours requis pour la chute de l'escarre et fermeture totale de la plaie qui ne laisse derrière elle aucune blessure résiduelle (Gutierrez et Vargas., 2006).
Tous les quatre jours, des photographies des plaies ont été prises sous le même angle, avec une caméra à haute résolution. Le suivi de l'évolution de la cicatrisation par photographie, va nous permettre un enregistrement permanent, non seulement de la taille de la plaie, mais aussi de son apparence.

II.2.6.3.5.Etude histopathologique

Les coupes histologiques ont été réalisées suivant la technique décrite par (Luna., 1968). Des échantillons de tissus ont été prélevés sur chaque groupe pour une observation histolopathologique le 16éme jour après l'induction de la plaie. Dans tous les cas, la dissection a été réalisée à la fin de la phase de cicatrisation. Tous les échantillons ont été fixés dans du formol tamponné à 10% (pH 7) pendant au moins 24 heures, Le but de la fixation est de garder les cellules et les tissus dans un état aussi proche que possible de l'état naturel. Il s'agit d'interrompre toutes les interactions dues à la mort notamment l'autolyse due à la persistance d'activités enzymatiques, ou bien le gonflement ou le rétrécissement par humidification ou séchage.

Les tissu sont ensuite immergés dans de la paraffine chaude, qui durcit en se refroidissant. L'eau doit être au préalable entièrement extraite des tissus par passage dans des bains d'éthanol à concentration progressive de 50 à 100 %. L'éthanol est ensuite remplacé par un solvant intermédiaire (xylène), lui-même échangé contre la paraffine.

Les blocs de paraffine sont ensuite sectionnés à l'aide d'un microtome en une épaisseur de 5 µm, les coupes de paraffine sont étalées sur des porte-objets en verre. Ensuite, ils sont débarrassés de leur paraffine au moyen de xylène (déparaffinage).

La coloration est réalisée avec un réactif hématoxyline éosine. Les coupes sont ensuite couvertes au moyen d'un couvre-objet en verre qu'on colle à l'aide d'une substance transparente durcissant à l'air (Eukitt®).

La lecture des lames d'histologie a été effectuée au microscope optique afin d'observer le processus inflammatoire et cicatriciel permettant ainsi d'évaluer la qualité de la cicatrisation de la plaie en prenant en compte les critères histologiques suivants : la quantité d'infiltration de cellules inflammatoires, la néoangiogénése, la prolifération fibroblastique ou la fibrose, la réépithélialisation et le dépôt de collagène (Saiah et al., 2016).

II.2.7. Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été effectuées au triplicata. Les données ont été présentées sous forme de moyenne ± écart type. MicrocalOrigin 6 et Microsoft Excel 2003 ont été utilisés pour des évaluations statistiques et graphiques. Une analyse de variance à sens unique (ANOVA) a été réalisée pour évaluer la signification statistique des données. $p < 0,05$ était considéré comme statistiquement significatif. De plus, une ANOVA bidirectionnelle (two-way ANOVA) a également été réalisée pour tester les différences significatives ou pas entre les 04 groupes expérimentaux d'animaux.

III. Résultats et discussion

III-1-Enquête ethnobotanique

L'étude des pharmacopées autochtones joue un rôle important dans le développement de Nouveaux médicaments (Heinrich, 2000).

Les études ethnobotaniques sont aujourd'hui reconnues comme des méthodes de choix pour la connaissance des plantes médicinales et leurs utilisations (Farnsworth et al., 1986), Elle consiste à aller à la rencontre des tradipraticiens et des usagers de la médecine traditionnelle, pour s'enquérir de leurs méthodes de traitement des maladies. Les données recueillies permettent d'évaluer l'importance relative d'une plante médicinale en terme de connaissance et d'utilisations dans une région ou culture donnée (Trindade Medeiros et al., 2011).

Ces études sont indispensables dans la mesure où elles nous permettent de nous orienter afin de sélectionner les plantes à étudier et de cibler certains tests biologiques (Jones et al., 2000).

Dans le but de la valorisation de la plante *Echinops spinosissimus* Turra utilisé en médecine traditionnelle algérienne, nous avons réalisé l'étude ethnobotanique pour avoir une vision globale de l'utilisation ancestrale de cette espèce.

III-1-1-Utilisation traditionnelle de l'*Echinops spinosissimus* Turra L. dans le Nord-ouest et Sud -ouest d'Algérie.

Dans cette enquête ethnobotanique ; nous nous sommes intéressés à la distribution plusieurs variables, incluant la distribution de l'utilisation de l'échinops comme traitement traditionnel, le domaine d'utilisation, la partie utilisée, le mode de préparation et la pathologie traitée. Les résultats de l'enquête montrent que :

-Echinops est une espèce fréquemment utilisée, 94% des herboristes à Mostaganem et 100% à Oran et Aïn Safra connaissent cette plante. En effet c'est une plante très répandue dans l'Oranie ainsi que dans le Sahara Algérien **(fig. 09).**

-« Teskra » semble être le nom vernaculaire arabe le plus répandu dans les trois régions (82% à Mostaganem, 64% à Oran et 90% à Aïn Safra). D'autres noms vernaculaires ont été également cités tels que Assekra a ain sefra avec un pourcetage de 10%,chouk el

djemel a oran (8%) te garnina et chouk el hamir dans la région de mostaganem avec des pourcentages de 12% et 6% respectivement. **(Fig.10)**

-Dans la région nord, les herboristes utilisent la plante surtout sous forme sèche (72% à Mostaganem, 57% à Oran). Cependant à Aïn Safra **(Fig. 11)**, ils préfèrent l'utiliser à l'état frais (91%) .

-La presque majorité des herboristes procèdent à la collecte de la plante une fois par an **(fig.12, 13)**, en saison de printemps (100% à Mostaganem, Aïn Safra et 82% à Oran).

-Nous avons observé que la partie utilisée de la plante est présentée majoritairement par les racines **(fig. 14)** et ce quel que soit la station étudiée. (60%) des herboristes à Mostaganem et 58% à Oran recommandent l'utilisation des racines. D'autant plus, qu'elles sont plus faciles à récolter car la partie aérienne est épineuse. Cependant, d'autres parties ont été indiquées : les tiges (25%) à Mostaganem, tandis qu'à Oran et Ain Sefra nous avons enregistré des pourcentages de 14% et 19% respectivement, les tiges (25%) à Mostaganem, 14% et 9% à Oran et Ain Sefra. Plus rarement les fleurs ont été citées uniquement à Ain Sefra avec un pourcentage de (33%).

- Les résultats ont montrés que le mode de préparation le plus cité est la décoction **(fig.18)**, avec un pourcentage de réponses de 58% à Mostaganem 72% , à Oran et 61% à Aïn Sefra; suivie de l'infusion (16%) à Oran et (17%) à Mostaganem. Par contre à Ain Sefra, nous avons noté que l'usage sous forme de poudre obtenue par broyage des racines séchées occupe la deuxième place avec un pourcentage de (39%). Cette forme d'usage a été aussi citée dans la région de Mostaganem (19%). les cataplasmes restent très peu utilisés (6%) à Mostaganem seulement.

-La majorité des herboristes n'associent pas l'Echinops avec d'autres plantes (88% à Mostaganem et 100% à Oran et à Aïn Safra). Par contre 12% à Mostaganem préconisent de préparer ce remède traditionnel en utilisant le miel comme véhicule ou liant **(fig. 20).**

-La **fig. (19)** montre que l'usage interne reste le mode de préparation le plus utilisé (80% à Mostaganem, 86% à Oran et 100% à Aïn Safra). 88% des herboristes à Mostaganem et

57% à Oran préconisent l'utilisation de la plante jusqu'à guérison **(fig. 21)**. Cependant 58.5% des herboristes de Aïn Safra conseillent l'usage de la plante pendant une semaine.

-Nous avons observé que le domaine d'utilisation thérapeutique est majoritaire quel que soit la station étudiée. Concernant, les pathologies traitées par l'*Echinops spinosissimus* Turra, nous notons une plus forte distribution des réponses comme traitement traditionnel dans les pathologies génitales et gastro-intestinales comme décrites par les herboristes de la région de Mostaganem **(fig. 15)**: abortive (14.32 %), l'indigestion (7.15 %), les affections stomacales (7.15 %) et amélioration de la circulation (7.15 %). En plus faibles pourcentages, sont citées d'autres indications d'usage traditionnel telles que les dysménorrhées (5.82%), en post-partum (5.82%), usage vétérinaire (5.82%), faciliter l'accouchement (2.8%), les affections du foie (2.8%), hémorroïdes (2%), diurétique (2.8%), varices (2.8%), cancer (2.8%), prostatisme (1.45%) et diabète (1.45%) , etc. L'usage comme cicatrisant a été cependant cité avec un faible pourcentage (5.82%).

Les herboristes de la wilaya d'Oran **(fig. 16)** préconisent aussi la plante pour un usage abortif (22%), après l'accouchement (19%), usage vétérinaire (15%), les dysménorrhées (10%), diurétique (3%) et pour le prostatisme (3%). Ils ont reporté d'autres utilisations de la plante comme pour l'allergie (3%), l'eczéma (3%), les œdèmes (3%), énergisante (3%), etc.

Pour les herboristes de la région de Aïn Safra **(fig. 17)**, nous avons aussi noté la prédominance de l'indication la plante pour l'usage génital à savoir : abortif (33.3%), après accouchement (33.3%), dysménorrhée (13%), épuratif (10%), hémorragie (7%) et hémorroïdes (3.4%).

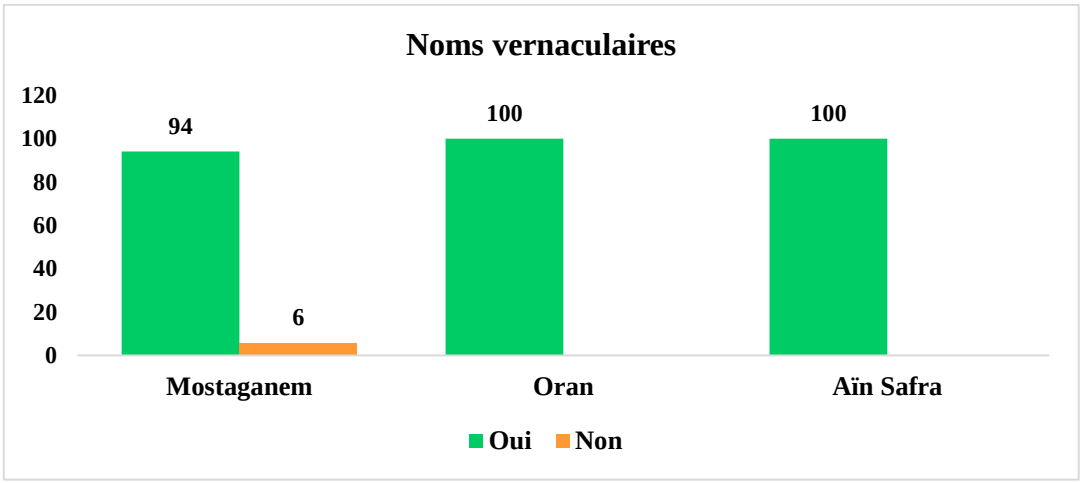


Figure 9 : Répartition des herboristes en fonction de la connaissance du nom vernaculaire arabe (Oran, Mostaganem, Aïn Safra 2018)

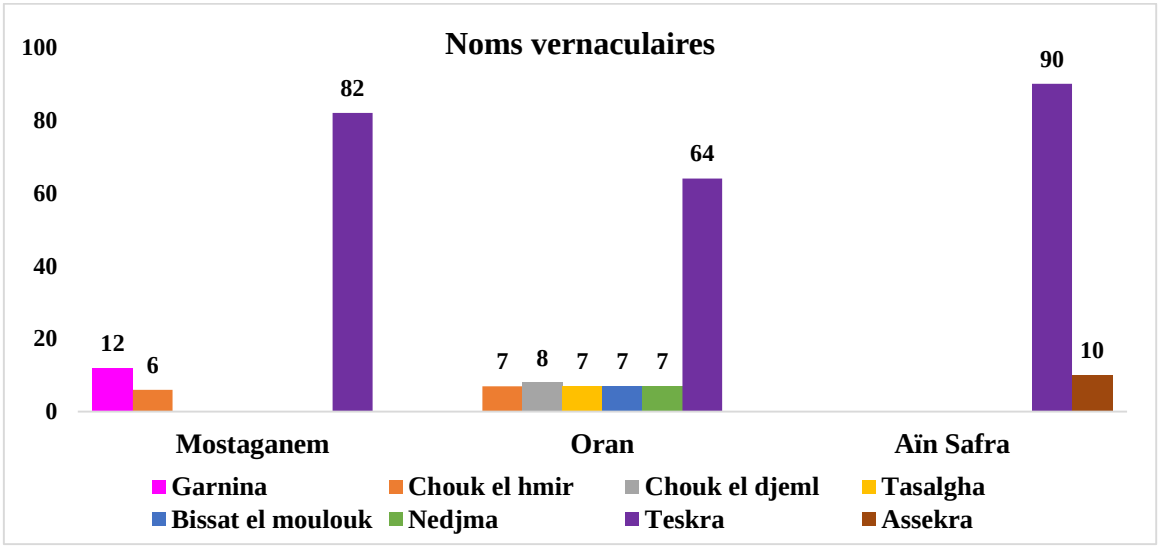


Figure 10 : Répartition des noms vernaculaires utilisés par les herboristes (Oran, Mostaganem, Aïn Safra 2018)

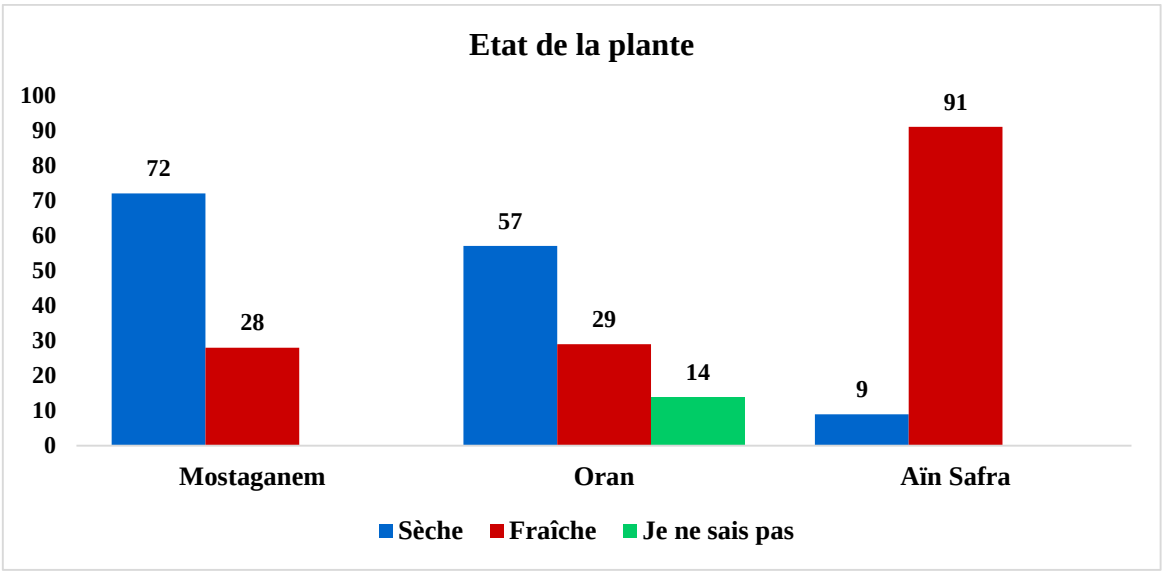


Figure 11 : Répartition des herboristes en fonction de la forme d'utilisation (fraiche ou sèche) (Oran, Mostaganem, Aïn Safra 2018)

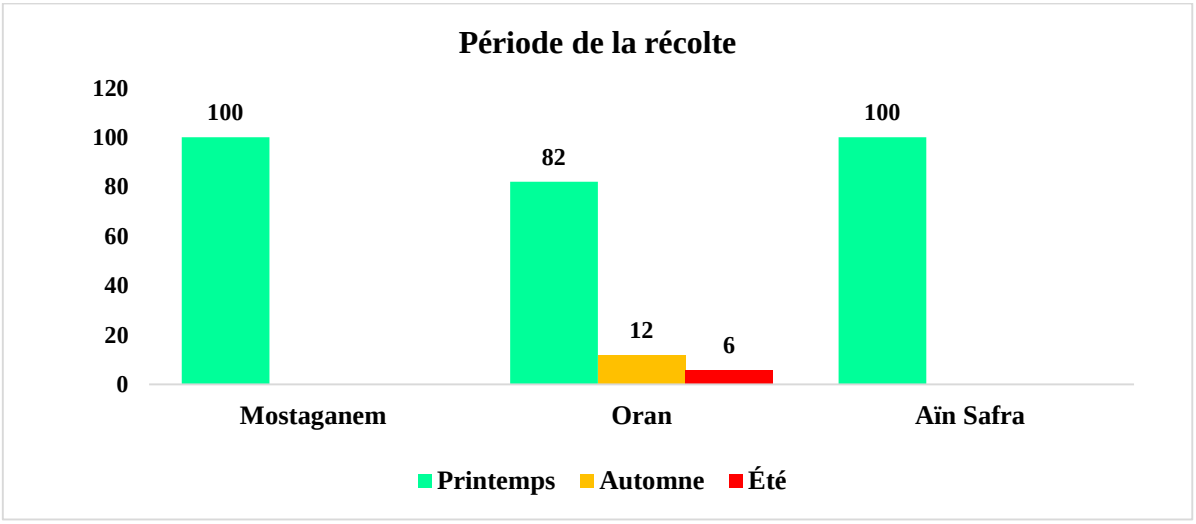


Figure 12 : Répartition des herboristes en fonction de la période de récolte/ceuillette (Oran, Mostaganem, Aïn Safra 2018)

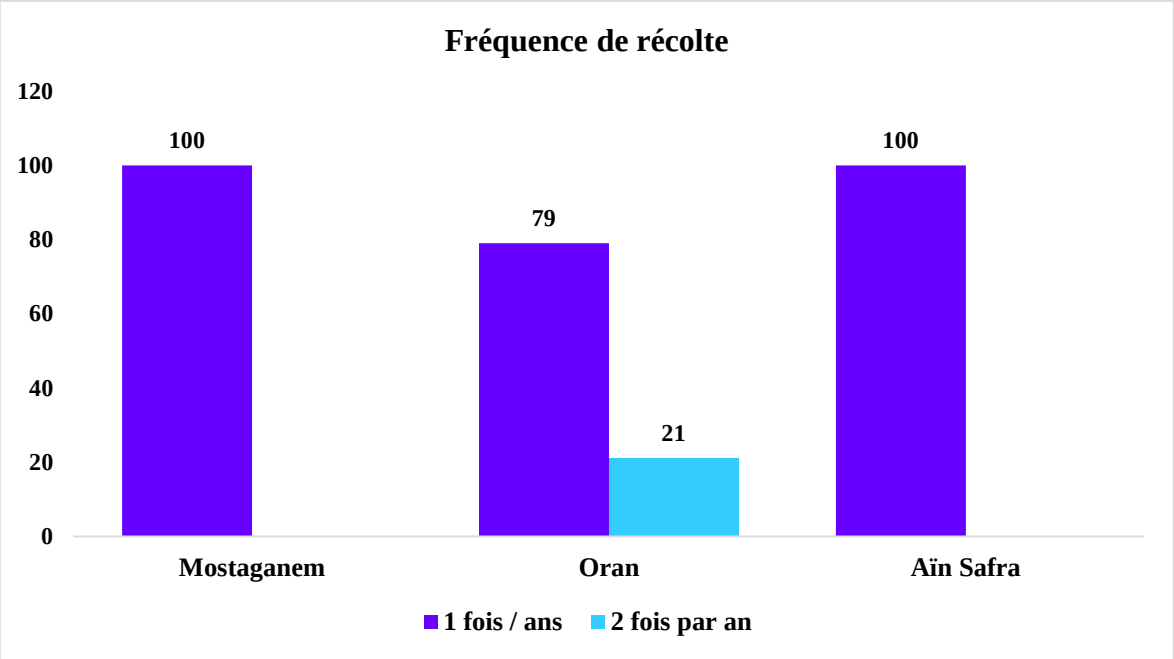


Figure 13 : Répartition des herboristes en fonction de la fréquence de récolte/ceuillette (Oran, Mostaganem, Aïn Safra 2018)

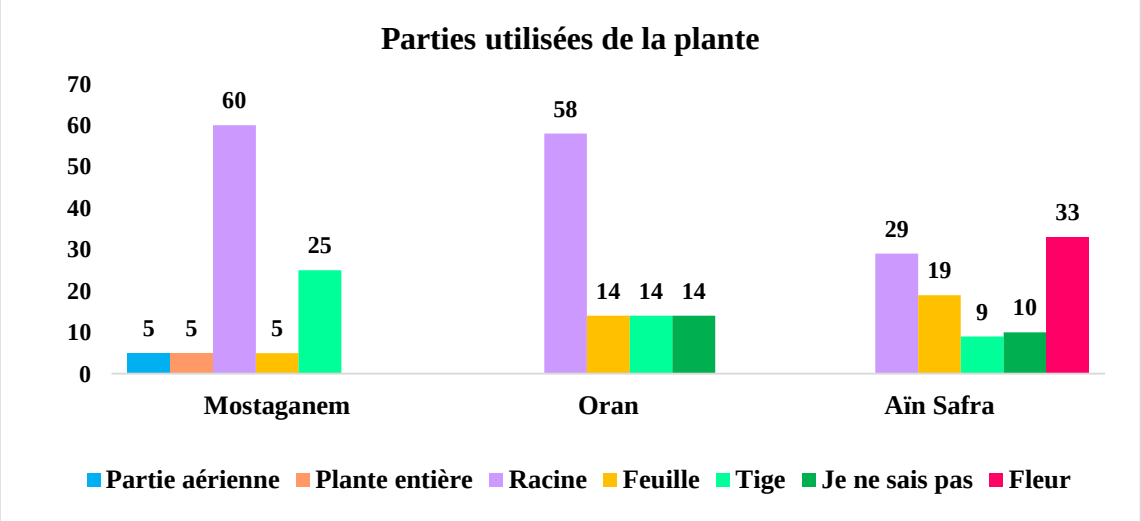


Figure 14 : Répartition des herboristes en fonction des parties de la plante utilisées (Oran, Mostaganem, Aïn Safra 2018)

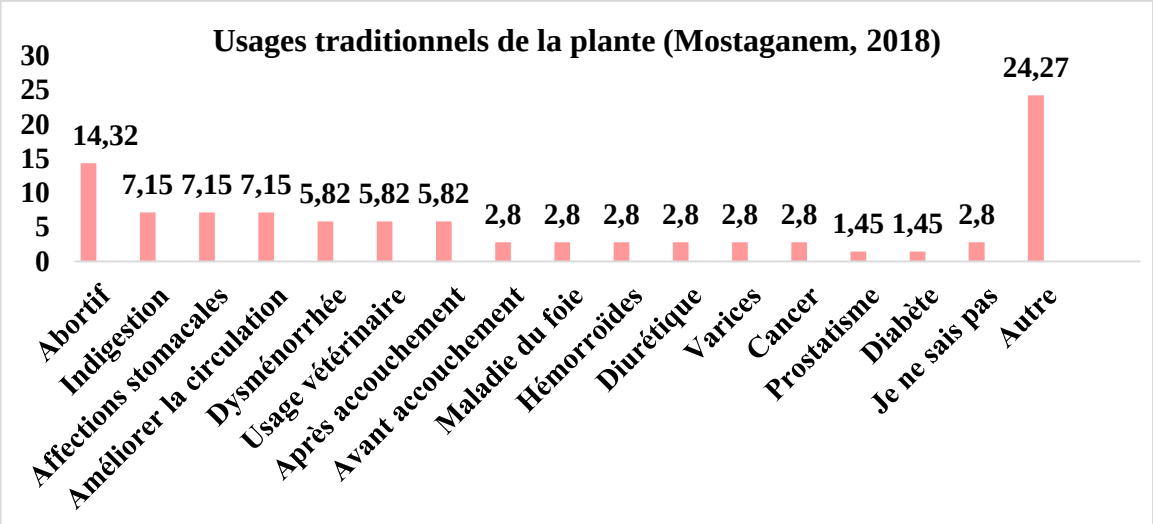


Figure 15 : Répartition des usages traditionnels de la plante à Mostaganem

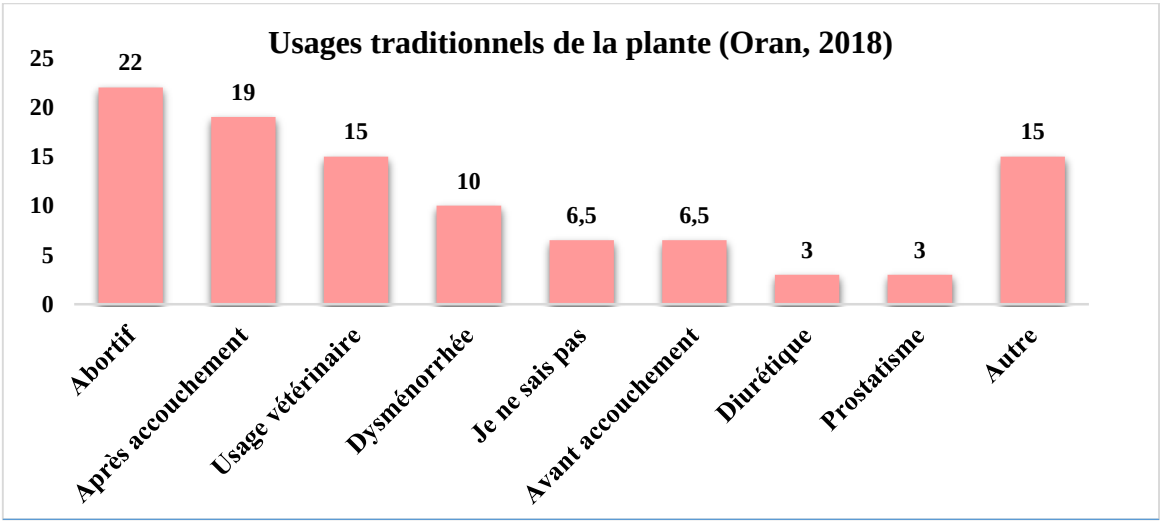


Figure 16 : Répartition des usages traditionnels de la plante à Oran

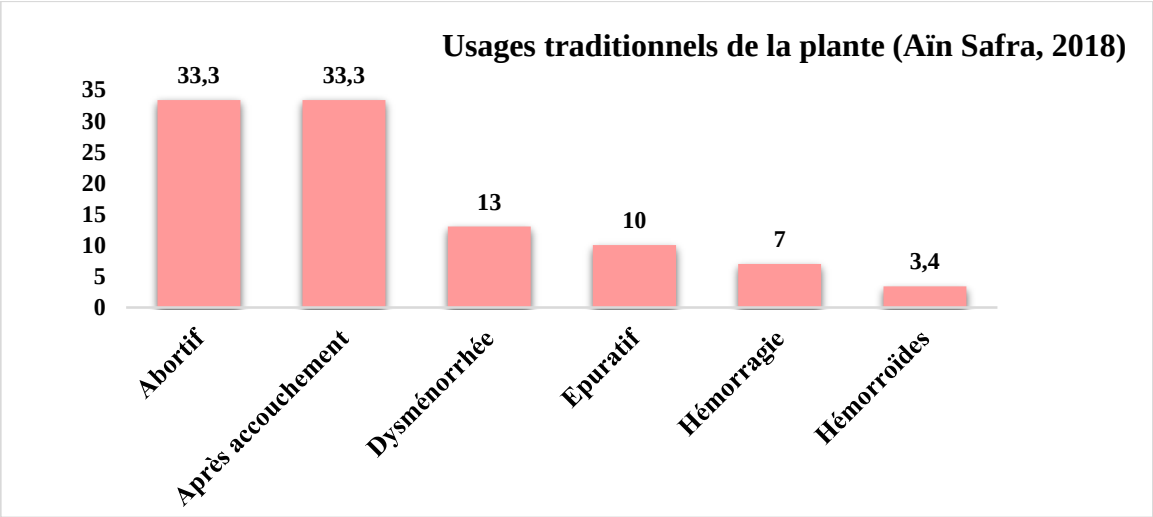


Figure 17 : Répartition des usages traditionnels de la plante à Aïn Safra

Au terme de cette enquête, nous avons montré l'importance de l'échinops et de son utilisation traditionnelle dans les régions sus-citées.

En Algérie, des études éthnobotaniques ont rapporté que les préparations traditionnelles d'*E. Spinosissimus* sont fréquemment utilisées en médecine populaire.

Baba Aissa (2000) et Ait Youssef (2006) décrivent l'utilisation des racines et des capitules floraux dans le traitement du prostatisme et de la dysménorrhée. Ils ont aussi mentionné que cette plante est indiquée comme vasoconstricteur périphérique dans le traitement des hémorroïdes, des varices et varicocèle, dans diverses hémorragies veineuses et dans les métrorragies mais aussi comme un agent hypertenseur.

Une autre étude en Algérie a décrit l'usage comme abortif, diurétique, pour la circulation sanguine, le diabète, douleurs d'estomac, indigestion et comme spasmolytique (Kheder et al., 2014) .

Chermat et Gharzouli (2015), rapportent l'usage des racines et des capitules floraux d'*E. spinosus* L. subsp Bovei (Boiss). Maire dans le traitement contractions lors des accouchements, des névralgies, mais aussi comme abortif.

En Tunisie, Boukef (1986), préconise d'utiliser la plante pour les affections dermatologiques, le diabète, les affections digestives ainsi que pour le cancer. Un décocté de la plante à raison de deux verres par jour est décrit comme un puissant remède contre les douleurs stomacales, les indigestions, le manque d'appétit ainsi que le diabète.

Selon Bellakhdar (1997) , *Echinops spinosus* L. peut être utilisée en usage interne sous forme de décoction (dans de l'eau ou de l'huile) en obstétrique avant et après l'accouchement pour accélérer la délivrance en cas d'inertie utérine, pour les indigestions, le manque d'appétit, les maladies du foie, comme diurétique, épuratif et abortif.

Nous avons noté la multitude des travaux d'enquête ethnobotaniques portant sur l'espèce *E.spinosissimus* Turra au Maroc , à savoir Merzouki et al (2000) qui parlent de l'utilisation de la décoction de racine d'*E.spinosus* L en usage interne comme un hypoglycémiant. Abouri et al (2012) ont mentionné les divers usages thérapeutiques des racines, fleurs et parties aériennes *d'E.spinosus* L dans le traitement du rhume, des calculs rénaux, comme diurétique, hypoglycémiant, abortif, pour les contractions utérines lors des accouchements, les névralgie et la fatigue.

Abderrahim et al (2013) ont fait une enquête sur l'usage traditionnel d'*E. spinosissimus* subsp. fontqueri (Pau) Greuter au Maroc, ils ont reporté l'usage de la racine dans le traitement des rhumatismes, des rhumes, des douleurs pelviennes et des tumeurs utérines.

El Abbouyi et al (2014) décrivent aussi un usage des racines comme stimulant de l'appétit, pour le rhume, le diabète et les calculs rénaux. Katiri et al (2017) parlent d'un usage antidiabétique des racines d'*E.spinosus* L.

D'autres études au monde arabe se sont intéressées à cette espèce, citons El-Ghazali et al (2010) dans une enquête en Arabie saoudite qui décrivent l'usage de la plante entière *E.spinosissimus* Turra dans le traitement des splénopathies et des maux de gorge.

En Egypt , Mahmoud et Gairola (2013) parlent d'une utilisation de la totalité de la plante *E.spinosissimus* Turra (racine, parties aériennes et capitules floraux) comme diurétique, tonique nerveux et antitussif. De même pour Sajjad et al (2017) qui reportent aussi une indication de la plante entière de la même espèce comme tonique nerveux, diurétique et antitussif en médecine traditionnelle émiratie.

Au Liban, Baydoun et al (2015), confirment l'usage des tiges, feuilles et racines d'*E. spinosissimus* subsp. macro-plepis (Boiss.) Greuter comme diurétique dans les affections rénales.

Dans d'autres pratiques, cette plante est reconnue aussi en médecine traditionnelle nord-africaine (Boulos et al., 1983) et chinoise (Parhat et al., 2014) comme étant un puissant diurétique ,cette action est retrouvée en utilisant les tiges, les feuilles et les racines.

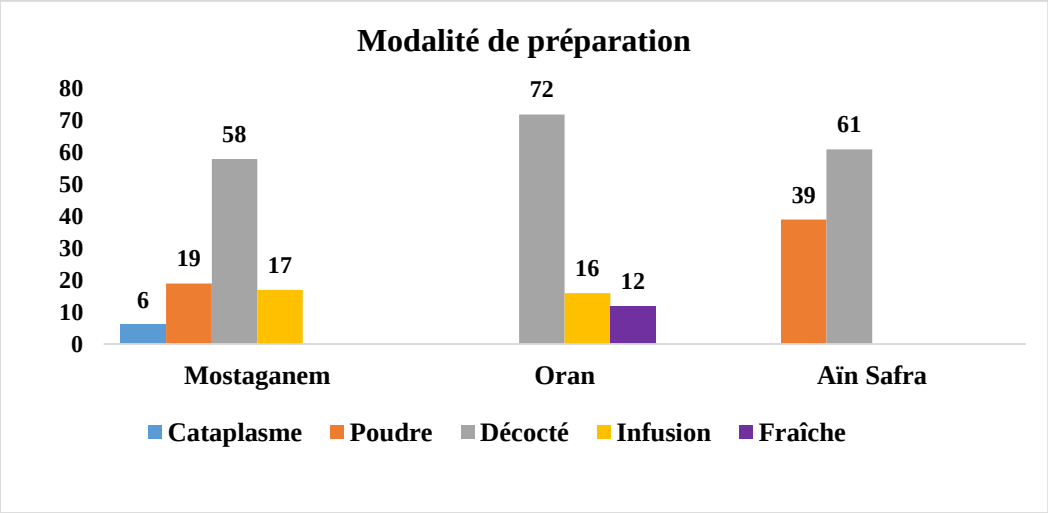


Figure 18 : Répartition des modalités de préparations de la plante (Oran, Mostaganem, Aïn Safra 2018)

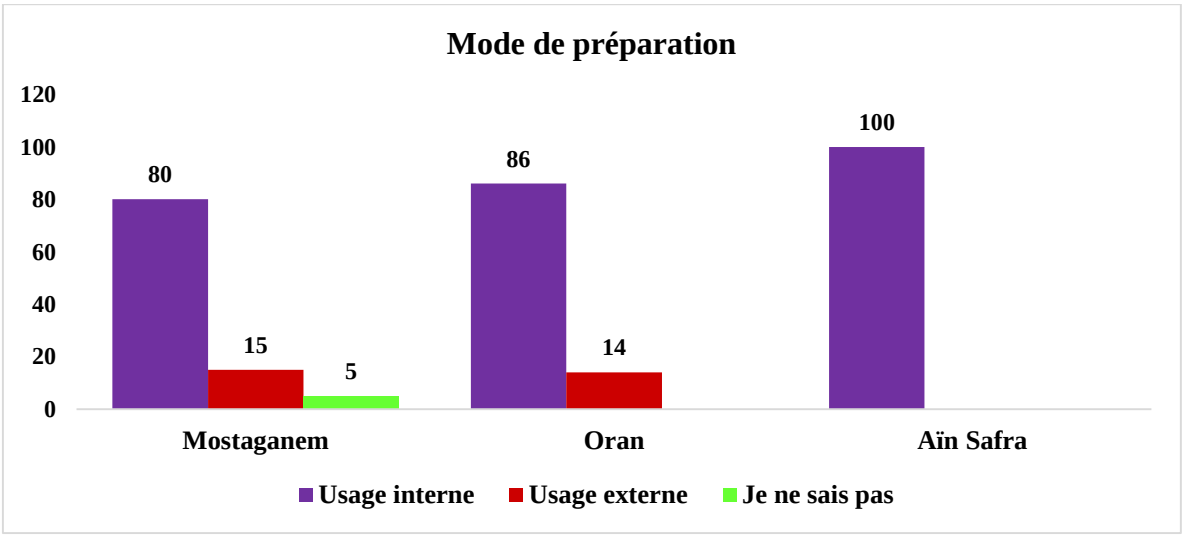


Figure 19 : Répartition des modes de préparations de la plante (Oran, Mostaganem, Aïn Safra 2018)

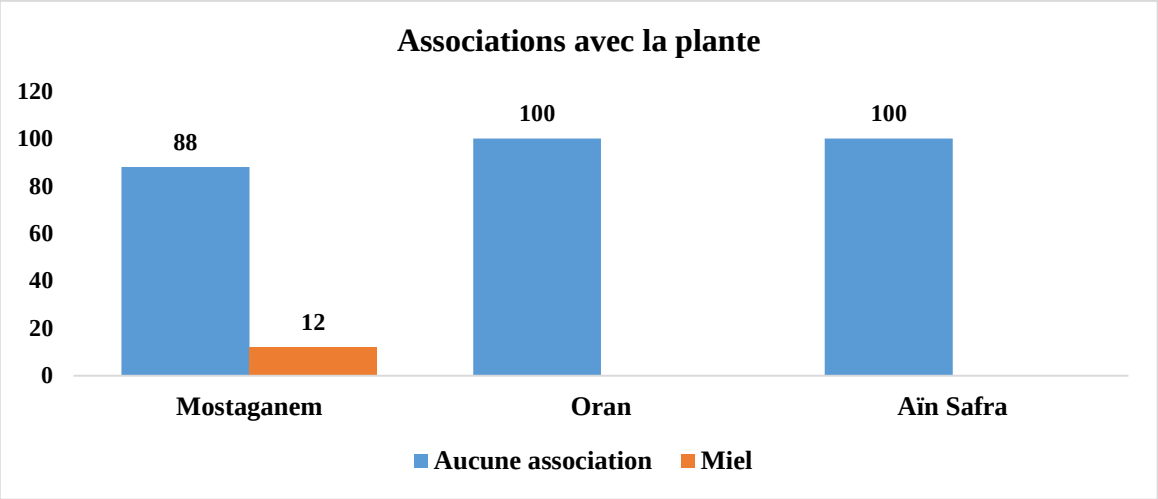


Figure 20 : Répartition des associations de la plante proposées par les herboristes (Oran, Mostaganem, Aïn Safra 2018)

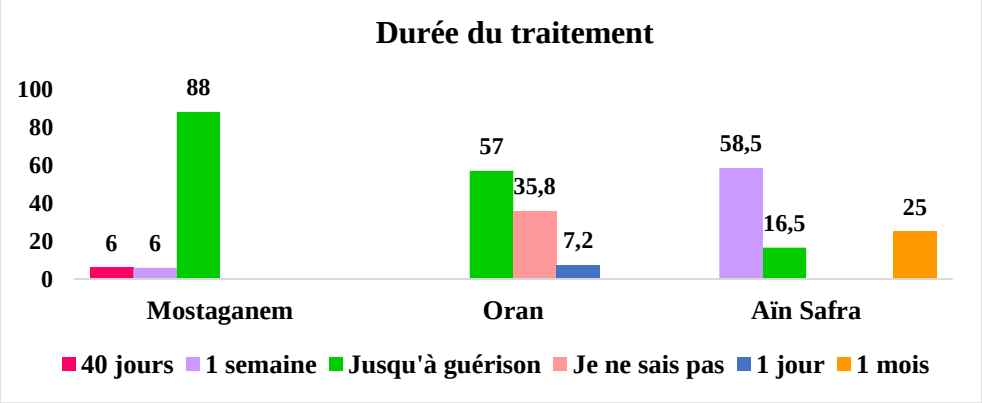


Figure 21 : Répartition en fonction de la durée du traitement (Oran, Mostaganem, Aïn Safra 2018)

III-2-Identification botanique et caractères organoleptiques

III-2-1-Macroscopiquement

Les classifications botaniques ont subdivisé l'espéce *Echinops spinosus* L. en deux sous-espèces très polymorphes (Quezel et Santa.,1963 ; Ozenda.,2004) : *E. spinosus* ssp. *eu. spinosus* Maire (var. chaetocephalus Pomel) et *E. spinosus* ssp. *bovei* (Boiss.) Maire (var. Pallens Maire.), Également connu sous le nom d'E. *bovei* Boiss . les données récentes fournies par les bases de données botaniques telle que the plant list **(fig. 22)** , nous ont permis d'actualiser le nom scientifique *E.spinosus* ssp. *bovei* (Boiss.) en *E. spinosissimus* ssp *bovei* (Boiss.) Greuter .

Trois autres espèces ont été signalées en Algérie (Quezel et Santa., 1963), mais semblent peu répandus:

**E. ritro* L., connue sous le nom de «Oursin Bleu» ou «Echinops» en français, et qui a une disribution sud européenne, mais elle se retrouve également dans l'ouest de l'Asie, et même la Sibérie;

**E. sphaerocephalus* L. qui s'avère être une espèce montagneuse;

**E. strigosus* L. répartie dans la zone Ibérique et en Afrique du Nord, en particulier dans le sud de l'Espagne et en Algérie, et est répandue dans la partie la plus occidentale du Tell, de Tenes à la frontière Marocaine.

L'identification de l'espèce a été réalisée en se référant aux flores dont dispose le laboratoire de Botanique Pharmaceutique de la faculté de médecine d'Oran à savoir : la nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales de QUEZEL et SANTA et la Flore et végétation du Sahara d'OZENDA. La **fig. (23)** montre les éléments botaniques retenus pour la confirmation de l'identité de l'espèce.

Plante vivace à tiges dressées, fermes, de 40-80 cm, rameuses dans le haut, striées. Feuilles 1-2 pinnatiséquées, glabrescentes ou glanduleuses, à segments triangulaires-acuminés et se terminant (ainsi que leurs dents) par de longues épines vulnérantes, blanches tomenteuses sur les deux faces.

Bractées de l'involucre dressées. Gros capitules de 5-6 cm de diam. Akènes velus, obconiques (forme de cône renversé), à aigrette laciniée (irrégulièrement découpée en longues lamelles, fines et étroites), cachée par les poils (Quezel et Santa., 1963).



Figure 22 : Herbier d'*E.spinosissimus* Turra au Royal Botanics Gardens Kew (Plant list.,2020)

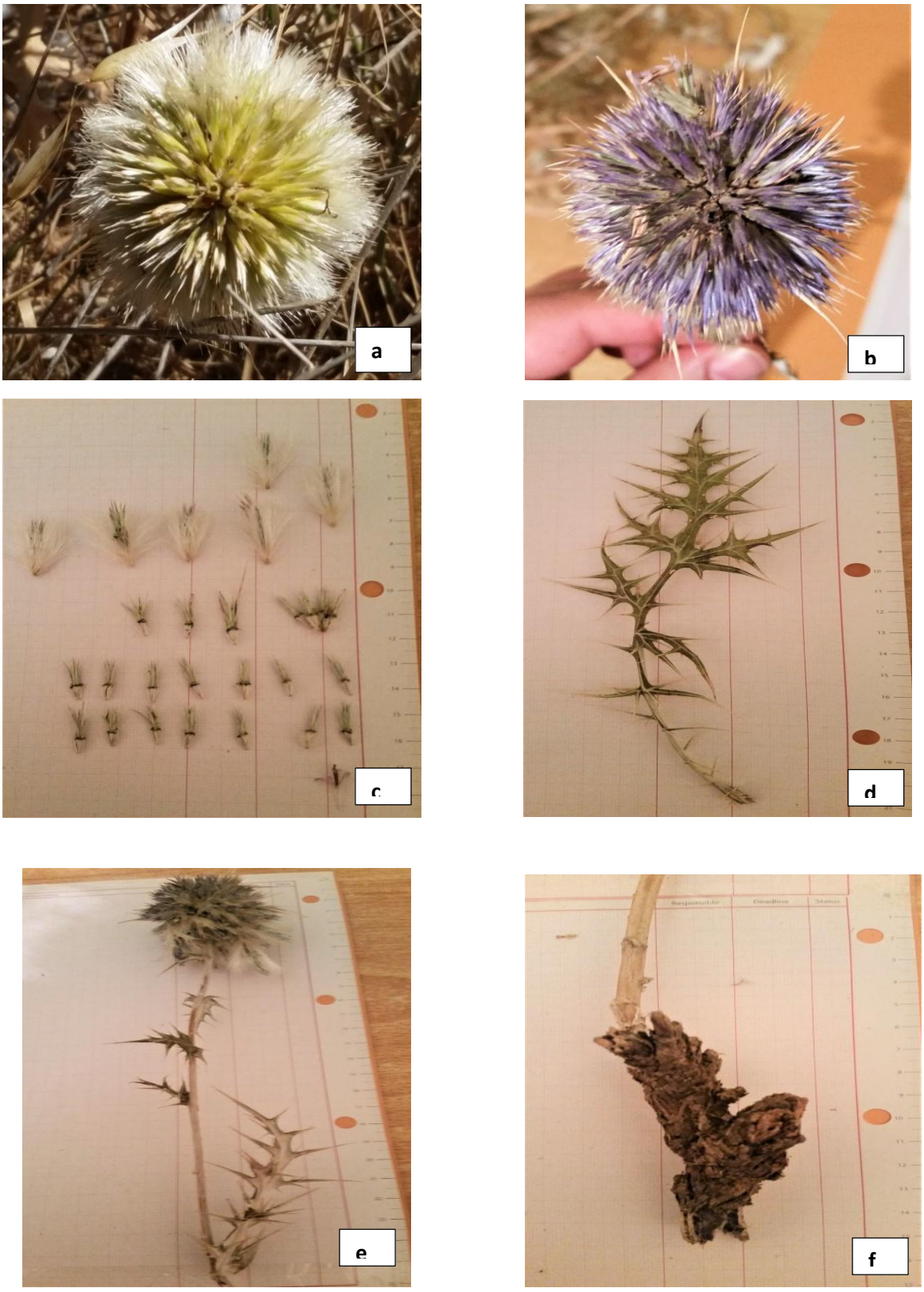


Figure 23: caractères macroscopiques d'identification de l'espéce *E. spinosissimus* Turra ; **a** et **b :** Pseudo-capitules terminaux, solitaires ou en cymes constitués par un ensemble de capitules uniflores, très denses, globuleux, à involucre commun en général peu visible et constitué par de petites bractées réfléchies, **c :** Fleurs hermaphrodites tubuleuses bleues ou blanchâtres disposées en boule, **d :** Feuilles vertes sur la face inférieure, alternes, souvent épineuses (de même que les bractées de l'involucre). **e :** Tige glanduleuse, **f** : racine.

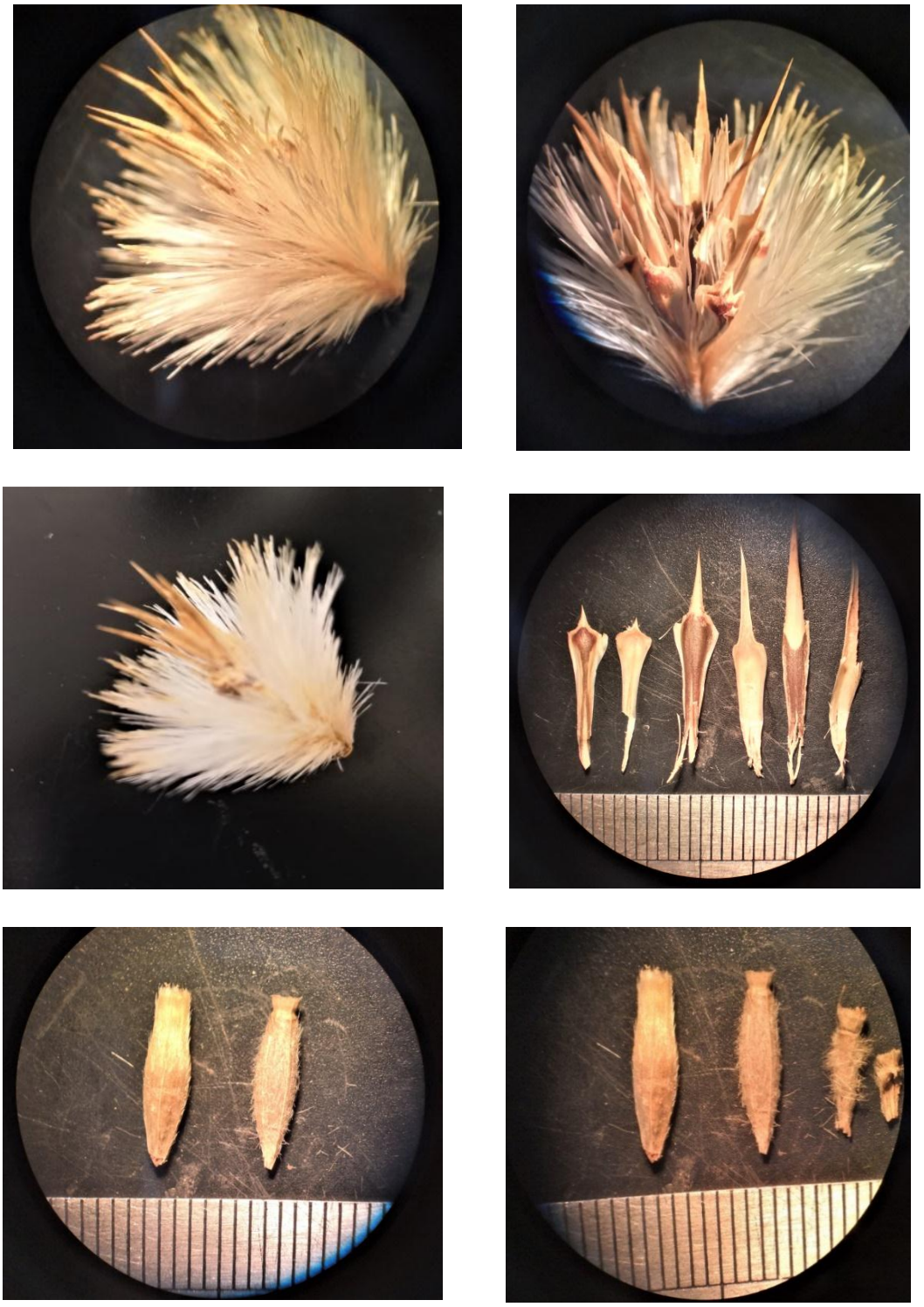


Figure 23 (suite) : caractères macroscopiques d'identification de l'espéce *E. spinosissimus* Turra ; Chaque fleur dispose d'un involucre particulier. Akènes à aigrette variable, constitué par des pièces ± soudées à la base constituant la couronne. Involucres particuliers (des capitules uniflores) constitués par de nombreuses bractées imbriquées, rigides, aiguës ou spinescentes (tendance à se transformer en épine), les extérieures plus petites, les intérieures parfois munies d'une longue épine près du sommet, enveloppées à la base par un faisceau de poils raides (pinceau).

III-2-1-Microscopiquement

La méthode d'étude par microscopie optique pour l'identification des plantes médicinales est appliquée depuis de nombreuses années. Il s'agit d'une procédure standard dans différents textes de référence pour la caractérisation du matériel végétal (Zhao al.,2005), y compris la Pharmacopée chinoise (Kang.,2003), la Materia Medica chinoise (Chinese Materia Medica.,1999), le New Compendium of Chinese Materia Medica (Xiao.,2002), la British Herbal Pharmacopoeia (BHP.,1996), l'American Herbal Pharmacopoeia (Upton.,1999 ; Upton.,2003), et bien d'autres pharmacopées dans divers pays du monde.

La méthode microscopique offre plusieurs avantages par rapport aux techniques d'authentification conventionnelles pour les plantes médicinales, notamment l'efficacité, la simplicité et le faible coût, et comme indiqué ci-dessus, a été largement adoptée comme méthode officielle dans de nombreuses pharmacopées internationales à base de plantes.

III-2-1-La Racine

Les caractéristiques diagnostiques de la poudre de racines broyées sont présentées sur la **fig. (24)** .Il s'agit d'une poudre brunâtre, avec une odeur aromatique caractéristique et un goût astringent.

-Nous avons observé une abondance de scléreides dont la taille et la forme varient considérablement. Deux types peuvent être facilement distingués: ceux qui sont de contour rectangulaire à ovale , fortement épaissis avec une petite lumière ou lumen et d'autres plus abondants avec une forme plus allongée à parois moyennement épaissies et striées présentant de nombreuses fosses , développées sous forme de fibres scléreuses.

-De nombreux poils tecteurs ou trichomes couvrants sont également notés, ils sont unicellulaires, à parois minces, courtement coniques à base enflée. On note également la présence de poils longs unisériés et unicellulaires.

-Abondance des cristaux d'oxalate de calcium en épars, sous forme de raphides (aciculaires).

-De très rares fragments de suber avec des cellules à parois minces et de forme polygonale.

-Très occasionnellement, des groupes de petits vaisseaux de bois lignifiés avec un épaississement en spirale ou annulaire.

III-2-2-La Feuille

Les caractéristiques de la poudre de feuille sont présentées dans la **fig. (25)**. L'échantillon est une poudre verdâtre, avec une odeur aromatique et un goût aromatique légèrement amer.

-Les feuilles sont caractérisées par une abondance de poils glandulaires à pied unicellulaire et à têtes bicellulaires. De plus, deux types différents de poils glandulaires ont été observés : poils à pied unisériée et à tête unicellulaire, poils à pied bisériés et à tête pluricellulaire.

-La poudre de feuilles se caractérise également par la présence de larges poils convergents tecteurs.

-Les cellules de l'épiderme sont polygonales à cuticule striée et des stomates anomocytiques.

-Nous avons aussi pu observer quelques grains de pollen assez petits, sphériques, avec trois pores (triaperturés), avec Exine finement verruqueuse.

III-2-3-la Fleur

Les caractéristiques microscopiques de la poudre des fleurs sont présentées sur la **fig. (26)**. C'est une poudre légèrement verdâtre, avec une odeur aromatique caractéristique et un goût légèrement amer et aromatique.

-La poudre des fleurs est caractérisée par une abondance de groupes de cellules fibreuses, de cellules contenant de l'oléorésine et de petits poils tecteurs convergents et courts.

-De plus, des raphides d'oxalate de calcium minces et allongées en forme d'aiguille ou de prismes amincis ont été observées.

-Très rarement, de grands poils tecteurs convergents.

-Des fragments d'épiderme inférieur avec stomates anomocytiques (entourées d'un nombre variable de cellules qui ne sont pas différentes les unes des autres).

Selon l'Organisation mondiale de la santé (WHO., 1999), la description macroscopique et microscopique d'une plante est la première étape pour établir l'identité et le degré de pureté de ces matériaux et doit être effectuée avant tout essai (Sharma et al.,2013).

Les observations microscopiques des différentes parties de la plante, fournissent des informations utiles pour développer les paramètres de contrôle de qualité initiaux du de la matière première végétale.

L'étude microscopique de la poudre de feuille d'*E.spinosissimus* Turra a permis de mettre en évidence la présence de poils tecteurs de forme et de taille différentes; mais aussi des poils glandulaires.

Ces résultats sont en accord avec ceux de (Kiyekbayeva et al., 2017) qui ont identifié de longs poils tecteurs au niveau de l'épiderme inférieur des feuilles d'*E. Albicaulis* Kar. Des stomates de type anomocytiques ont été également retrouvés dans les feuilles de cette espèce.

En outre, des cristaux en forme d'aiguilles ou de raphides, ont été identifiés dans la feuille d'*E. spinosissimus* Turra. Cependant, aucun poil sécréteur n'a été retrouvé au niveau des feuilles *E. Albicaulis* Kar, ceci peut constituer un bon caractère d'identification de notre espèce à condition de compléter l'analyse microscopique de toutes les espèces du genre Echinops ce qui peut constituer une très bonne perspective de projet de recherche.

Nous avons également identifié les caractéristiques microscopiques des fleurs et des racines tout en définissant des caractéristiques spécifiques, à savoir des cellules à oléorésine dans les fleurs et des scléreides dans les racines de forme et de taille différentes.

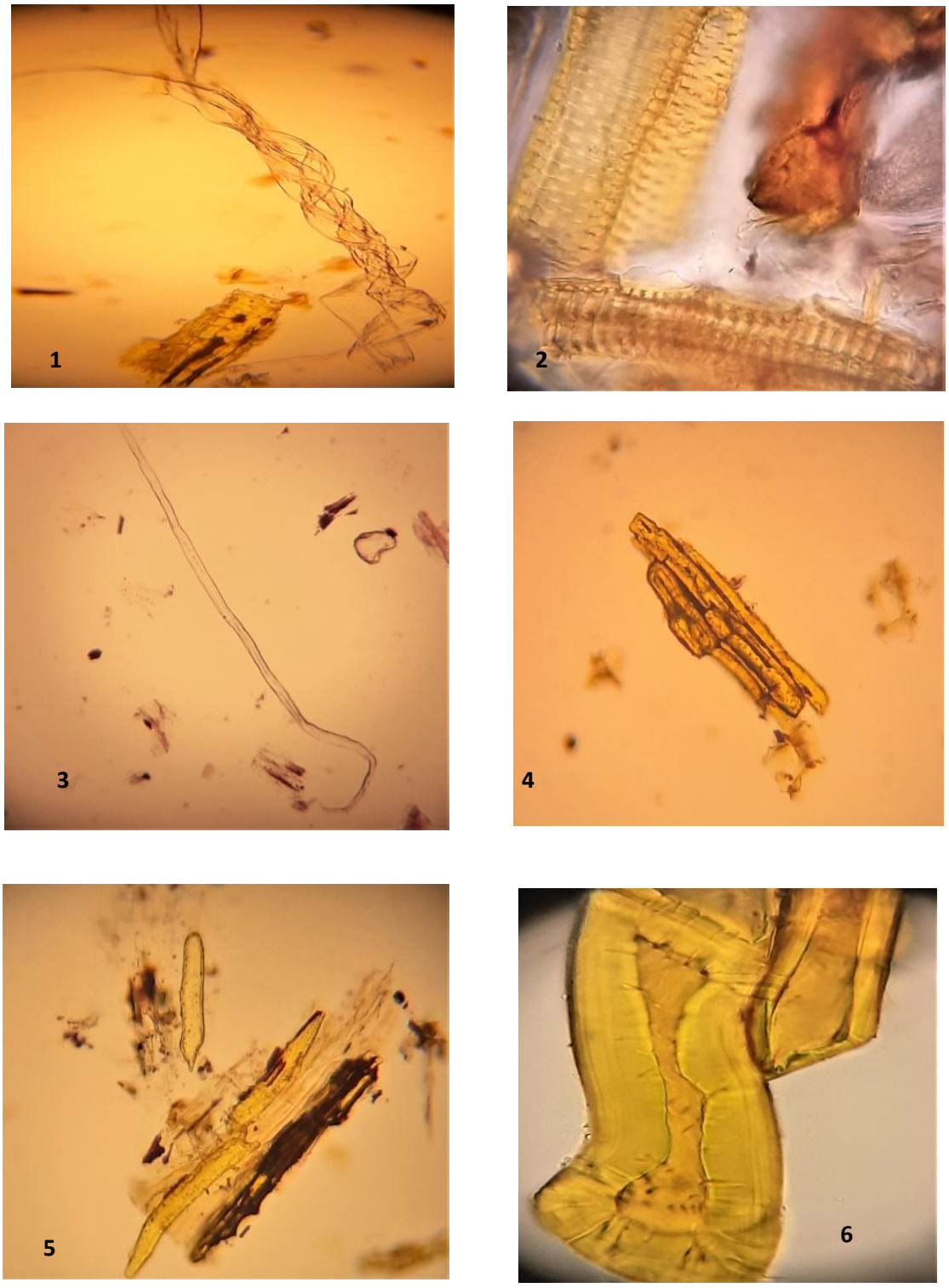


Figure 24 : Caractères microscopiques de la poudre de racines *d'E.spinosissimus* Turra, scléreides de contour rectangulaire à ovale (6) , fortement épaissis avec une petite lumière ou lumen , scléreides abondants avec une forme plus allongée à parois moyennement épaissies et striées présentant de nombreuses fosses , développées sous forme de fibres scléreuses (4,5).poils tecteurs ou trichomes couvrants unicellulaires, à parois minces, poils longs unisériés et unicellulaires (1,3), débris de vaisseaux de bois (2) .

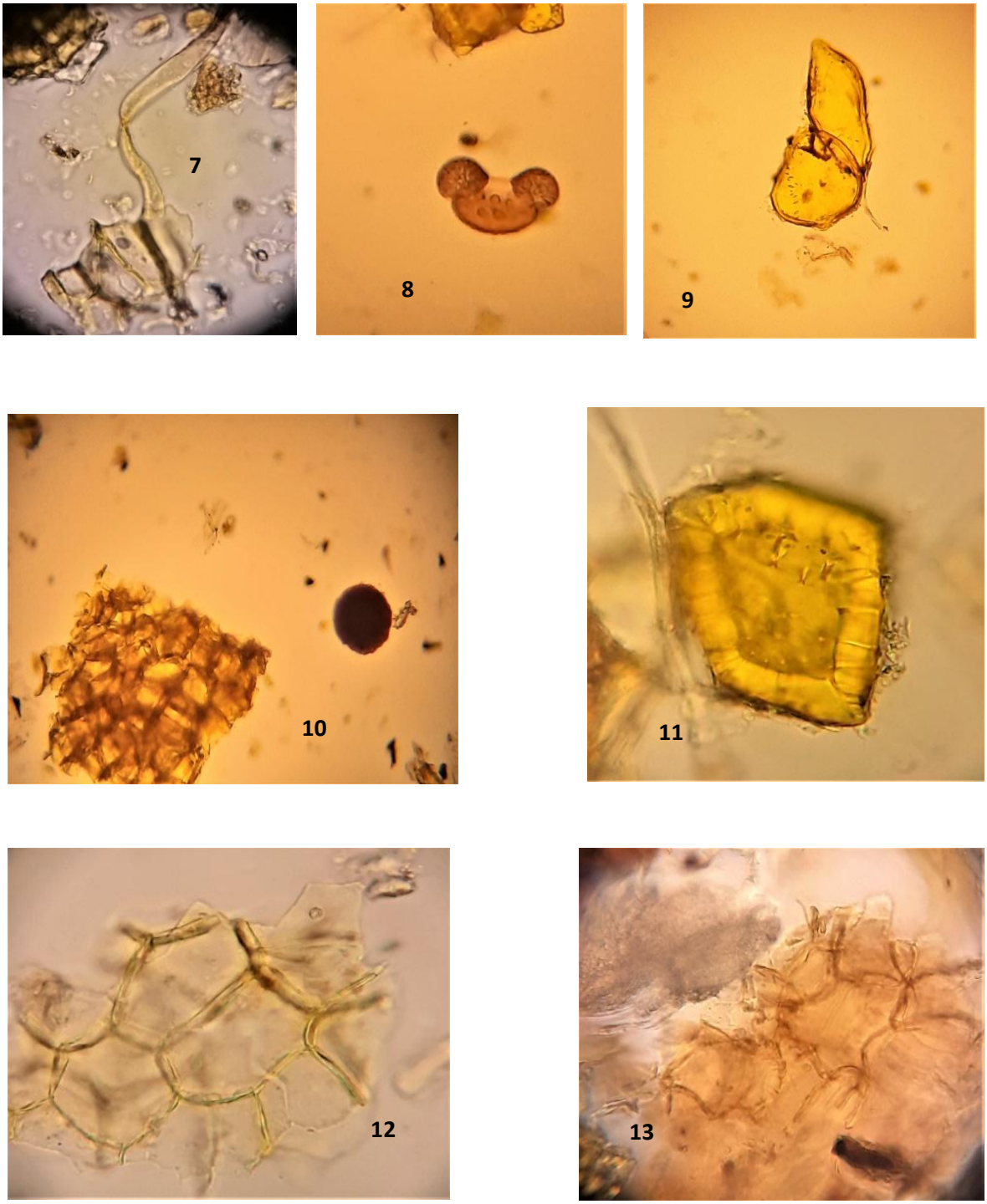


Figure 24 (suite) : Caractères microscopiques de la poudre de racines *d'E.spinosissimus* Turra, scléreides de contour rectangulaire à ovale , fortement épaissis (11), scléreides avec une forme plus allongée à parois moyennement épaissies (9). Poils tecteurs ou trichomes couvrants unicellulaires, à parois minces (7), fragments de suber avec des cellules à parois minces et de forme polygonale (10, 12,13), grain de pollen (8).

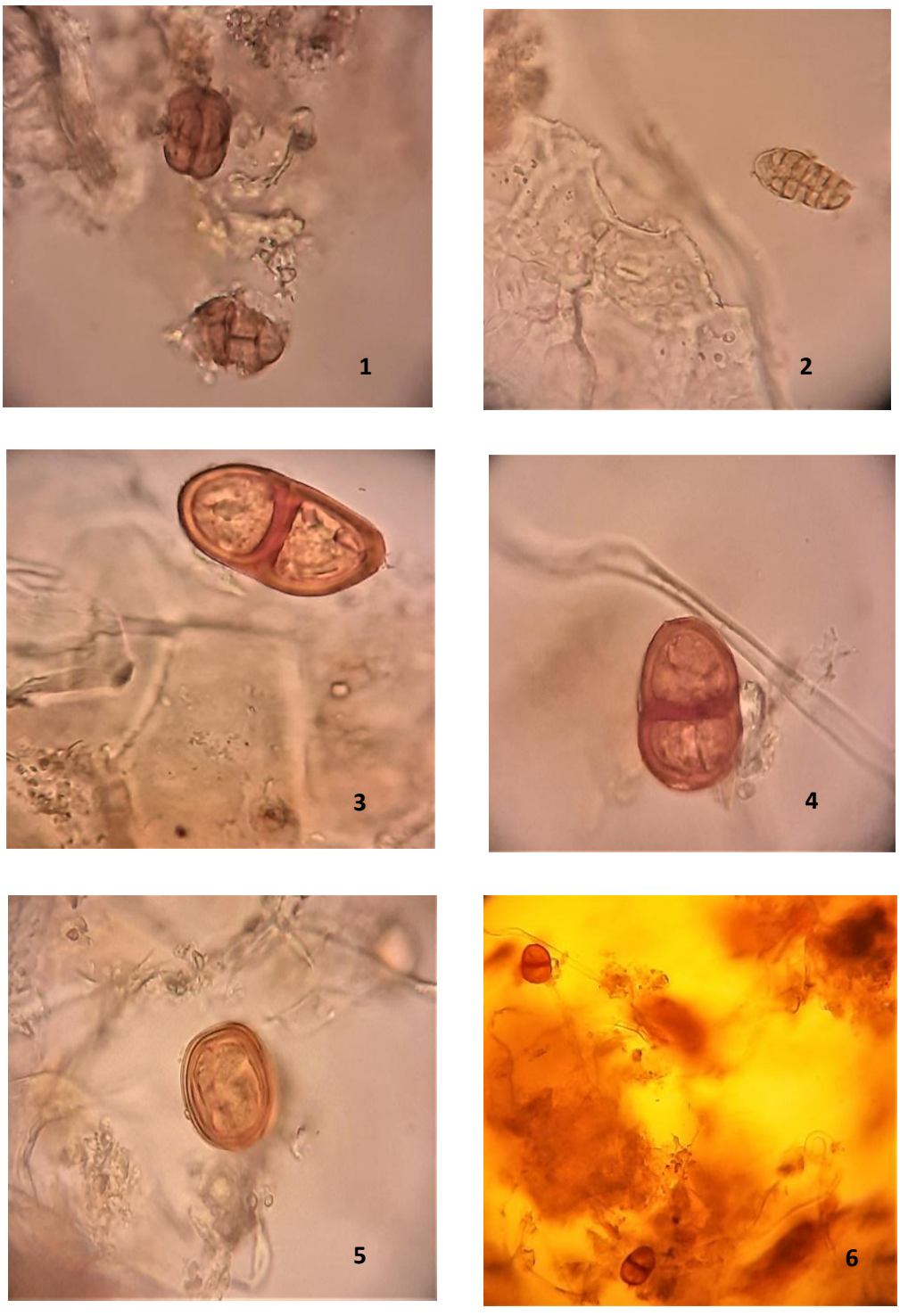


Figure 25 : Caractères microscopiques de la poudre de feuilles *d'E.spinosissimus* Turra ; poils glandulaires à pied unicellulaire et à têtes bicellulaires (3, 4,6). Poils à pied bisériés et à tête pluricellulaire (1,2). Poils glandulaires à pied unicellulaire et tête unicellulaire (5).

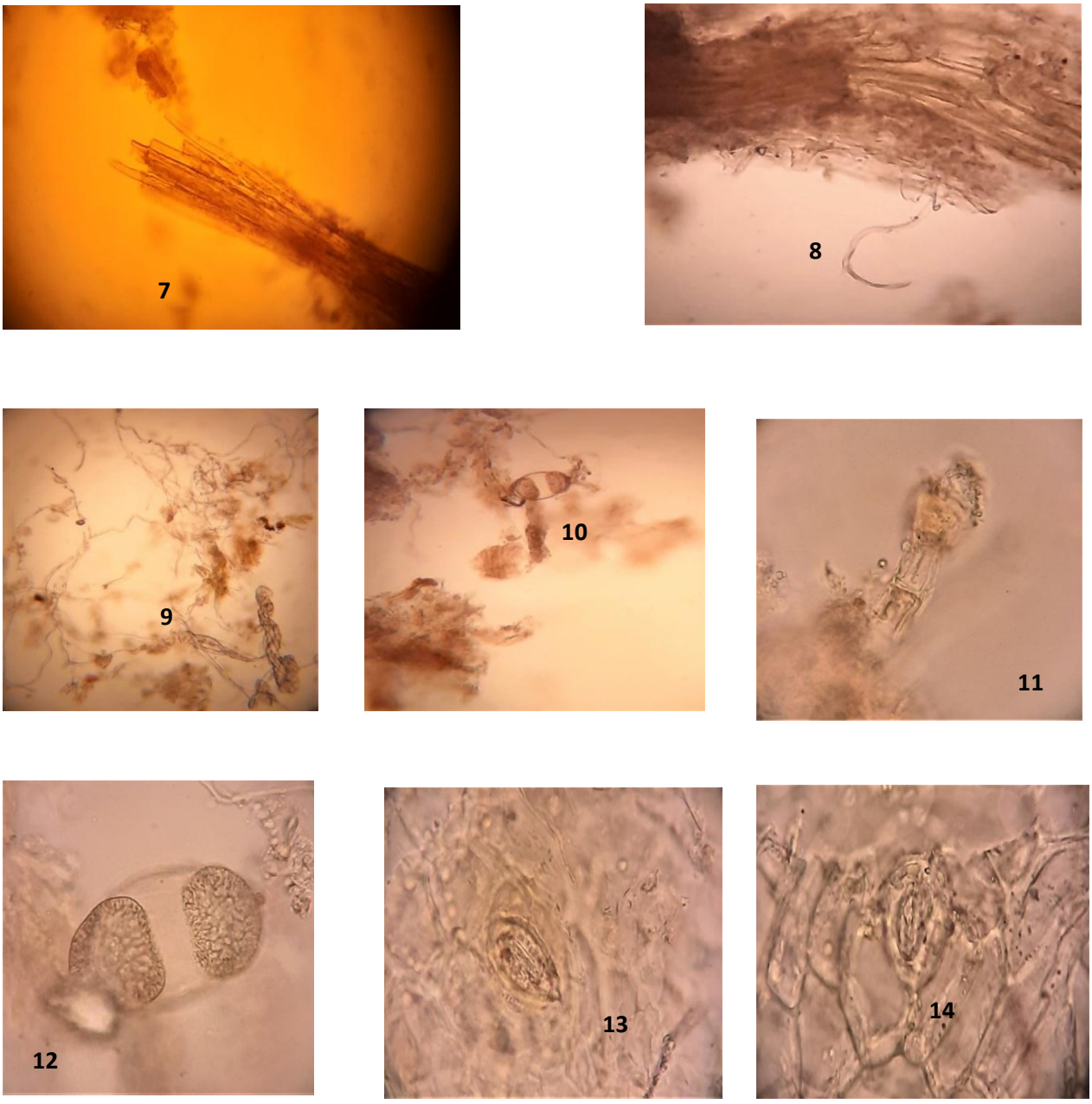


Figure 25 (suite) : Caractères microscopiques de la poudre de feuilles *d'E.spinosissimus* Turra ; larges poils convergents tecteurs (7, 8,9). Poils glandulaires à pied pluricellulaire et tête unicellulaire (11).Cellules épidermiques polygonales à cuticule striée et des stomates anomocytiques (13,14), grains de pollen petits, sphériques, avec trois pores (triaperturés), avec Exine finement verruqueuse (10,12).

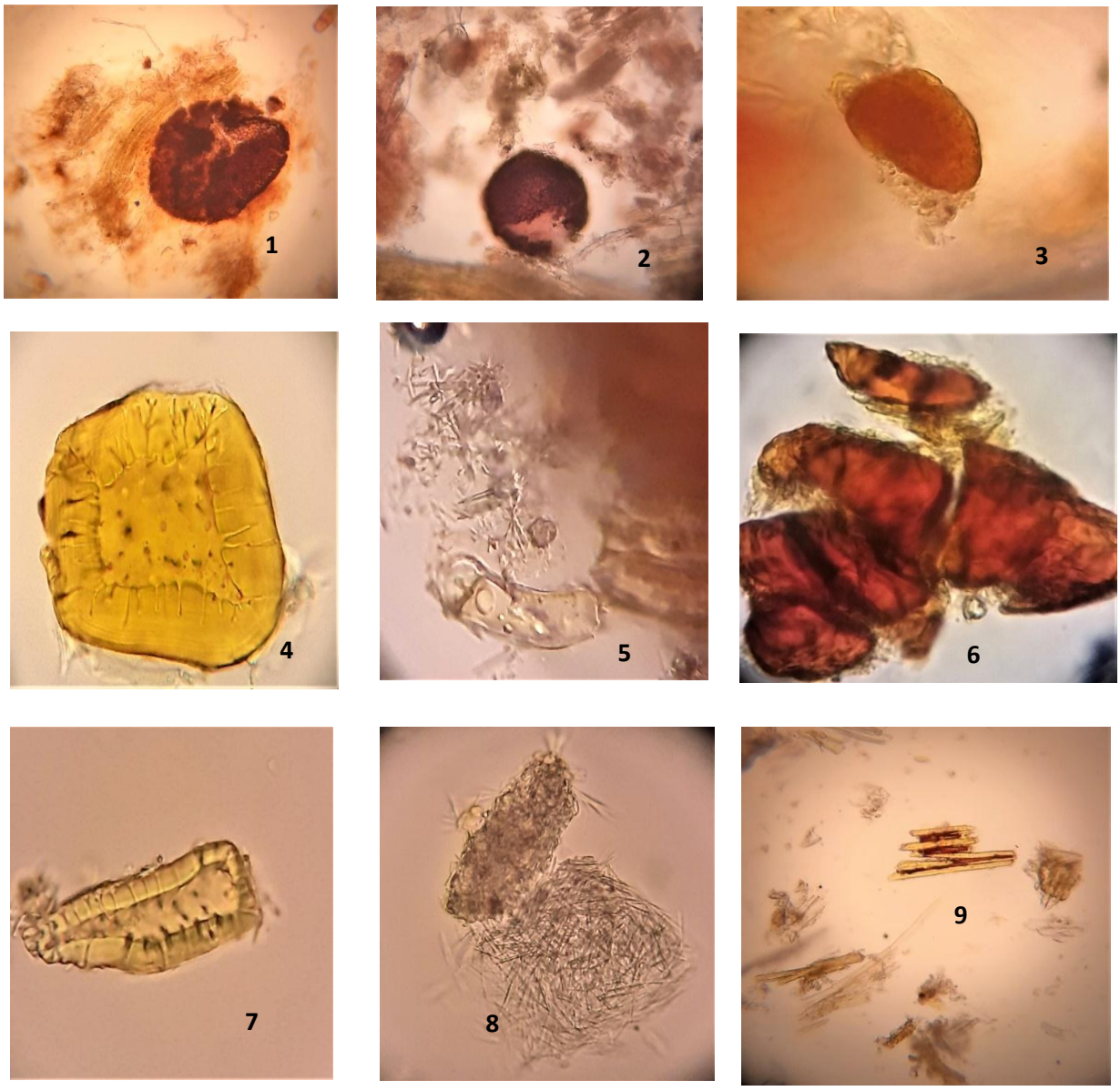


Figure 26 : Caractères microscopiques de la poudre de fleur *d'E.spinosissimus* Turra ; abondance de groupes de cellules fibreuses (4, 7,9), de cellules contenant de l'oléorésine (1, 2, 3,6), raphides d'oxalate de calcium minces et allongées en forme d'aiguille (8) ou de prismes amincis (5).

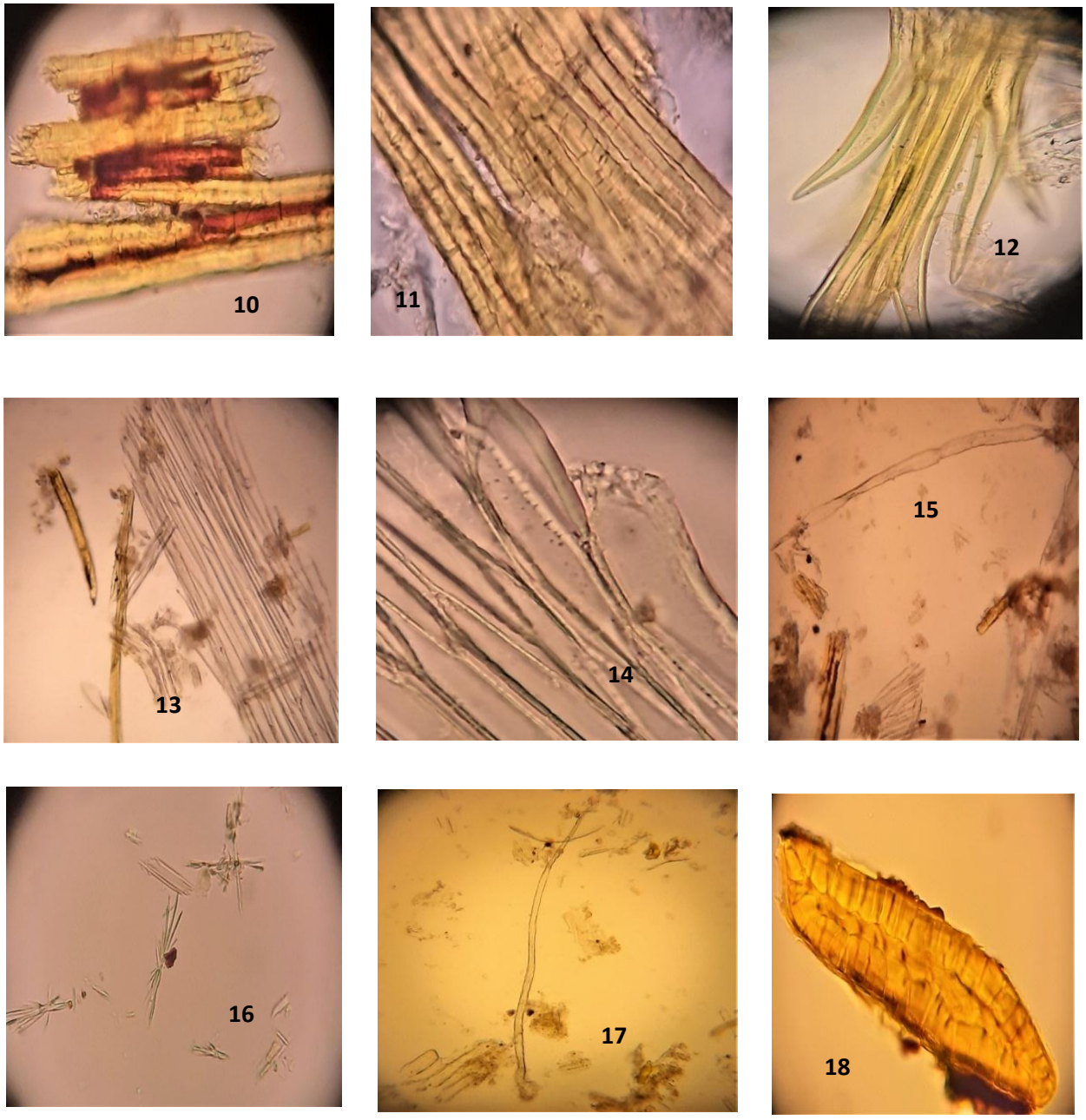


Figure 26 (suite) : Caractères microscopiques de la poudre de fleur *d'E.spinosissimus* Turra ; groupes de cellules fibreuses (10, 11, 12, 13,14), raphides d'oxalate de calcium en forme d'aiguille (16), grands poils tecteurs convergents (15,17). Scléreides (18)

III-3-Rendements des extractions

Pour optimiser une technique d'extraction, la réponse conventionnelle est le rendement d'extraction, qui estime la masse de molécules extraites par rapport au matériel de départ. Les résultats des rendements massiques en extraits bruts sont reportés dans le **tableau 4** .

Tableau 4 : Aspects, couleurs et rendements des extraits bruts obtenus après extraction au soxhlet avec des solvants de polarité croissante.

Région	Solvant	Aspect	Couleur	Rendement %
Mostaganem	Ether de pétrole	visqueux	jaune clair a verdâtre	**1.04**
	Acétate éthyle	visqueux pâteux	Résidu brun foncé	**2.20**
	Méthanol	Visqueux plus au moins liquide	Résidu marron clair	**6.79**
	Eau $_{d}$	Lyophilisat	marron très foncé	**2.43**
Ain Sefra	Ether de pétrole	élastique collant	Résidu jaunâtre	**3.09**
	Acétate éthyle	visqueux pâteux	Résidu brun foncé	**2.91**
	Méthanol	Visqueux plus au moins liquide	Résidu marron clair	**3.96**
	Eau $_{d}$	Lyophilisat	marron très foncé	**2.50**

Il est à noter aussi que les rendements des extraits bruts avec les différents solvants de la région sud sont plus importants que ceux de la région nord sauf pour l'extrait méthanolique nord qui présente un rendement de 6.79 % et qui s'avère deux fois supérieur à la région sud.

Cette variation du rendement s'explique par la variation des facteurs extrinsèques des deux stations étudiées. Il s'agit de l'incidence des facteurs de l'environnement englobant la température moyenne et l'humidité relative qui font que la teneur en composés phytochimiques soit différente d'une région à l'autre.

Une particularité a été soulevée pour la région d'Ain Sefra ou nous avons remarqué l'importance et la consistance du produit de délipidation de la racine et qui mérite d'être investigué à l'avenir pour un travail de recherche surtout qu'il existe des publications sur ce type d'extrait provenant des capitules floraux d'*E.spinosissimus* Turra .

Nous constatons que les rendements d'extraction avec le méthanol sont les meilleurs en les comparant aux autres solvants et ce quel que soit la région d'étude. La polarité du solvant joue un rôle clé dans l'augmentation de la solubilité des composés phytochimiques. L'amélioration du rendement d'extraction par l'utilisation du méthanol peut s'expliquer par le simple fait que cet alcool (polarité de 6.6) est plus polaire que l'acétate d'éthyle (polarité de 5.2). C'est pourquoi, il est connu par la plus grande efficacité pour extraire des quantités maximales de composants d'intérêt (Bourgou et al., 2016).

Saeed et al. (2012) ont montré que l'extraction avec du méthanol a donné une grande quantité de composés extractibles, de plus ils ont observé que le rendement était meilleur lorsque l'extraction a été effectuée au soxhlet, ceci dit que la combinaison de la chaleur au pouvoir extractible des solvants, peut augmenter considérablement les rendements en composés actifs.

Dans une autre étude, Shon et al. (2004), ont démontré que le méthanol et l'eau chaude sont très efficaces pour extraire des composés antioxydants de diverses variétés d'oignons.

III-4-Screening phytochimique

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaires au niveau des racines d'*Echinops spinosissimus* Turra de la région nord (Mostaganem) ainsi que la région sud (Aïn Safra). La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation et des réactions colorimétriques spécifiques. Les résultats sont présentés dans le **tableau 5**.

Les résultats obtenus des tests préliminaires phytochimiques réalisées sur la partie souterraine de la plante, ont révélé qu'elle contienne de plusieurs composés chimiques qui ont des activités biologiques intéressantes à savoir des alcaloïdes, polyphénols, tri-terpènes, saponosides, mucilage et huile essentielle. Par contre, nous avons constaté l'absence des coumarines.

Tableau 5 : Résultats du screening phytochimique préliminaire des Racines d'*E.spinosissimus* Turra Provenant des deux régions nord et sud d'Algérie.

Classe phytochimique	Méthode/ Réactif	Mostaganem	Ain Sefra
Alcaloïdes	Dragendorff Mayer Valser Bouchardât	+	+
Tanins	Chlorure ferrique $Fecl_3$	+	+
Flavonoïdes	Réaction à la cyanidine	+	+
Coumarines	UV test (365 nm)	-	-
Terpènes et stéroïdes	Test au trichlorure d'antimoine Réaction de Lieberman – Buchard	+	+
Saponosides	Test de formation de mousse	+	+
Mucilages	Test de Précipitation a l'alcool	+	+
Anthraquinones	Réaction de Borntraeger	+	+
Huiles essentielles	Hydrodistillation	+	+
+ = présent - = absent			

Selon l'étude réalisée par Khedher et al. (2014), *d'Echinops spinosus* L contiendrait des flavonoïdes, des tanins condensés dans différents extraits de la racine. ; à savoir l'extrait éthanolique , hexanique et l'extrait acétate d'éthyle . Par ailleurs, Gheffour et al. (2015) ont confirmé la présence des tanins catéchiques en quantité importante ainsi que des flavonoïdes dans l'extrait aqueux des feuilles, tiges et racines ainsi que dans l'extrait éthanolique de la partie aérienne.

En ce qui concerne la présence des triterpènes et stérols dans la plante, nos résultats rejoignent ceux décrits par Bouattour et al. (2016) qui ont pu identifier du Stigmasterol (34.95%) et du β–sitostérol (44.97%) dans l'extrait hexanique des capitules floraux, après analyse par CPG/MS. De même, Senejoux et al. (2013) ont identifié 4 tri-terpènes pour la première fois dans l'espéce *E. integrifolius* L. Nakano et al. (2012), ont soumis l'extrait ethanolique de la racine de *E. transiliensis* L. à une identification par HPLC et ils ont identifié 2 stérols ; le stigmastérol et le β-sitostérol.

L'apparition de précipités avec les réactifs généraux des alcaloïdes confirment leur présence dans la racine, nos résultats corroborent ceux mentionnés par Halim et al. (2011) en Egypt et qui a mis en évidence la présence de deux alcaloïdes : Echinopsine et echinorine dans les Capitules floraux de la plante *E.spinosus* L. D'autres chercheurs à savoir Chaudhuri (1992) , Dopke et Fritsch (1969) ; Schroeder et Luckner, (1968) ont confirmé la présence d'alcaloïdes dans les espéces *E. ritro* L, *E. sphaerocephalus* L, et *E. echinatus* L.

Nos résultats concordent aussi avec les travaux réalisés par Hymete et al.(2005) qui ont révélé l'existence d'alcaloïdes et de saponosides en quantité relativement importante dans les extraits méthanolique des racines *E. longisetus* L. et *E. ellenbeckii* L.

En outre, Khadim et al. (2014) ont identifié des alcaloïdes, des tanins ainsi que des flavonoides dans les extraits éthanoliques de la racine et des graines *E. hétérophyllus* L.

Récemment, l'huile essentielle de racines d'*E. Spinosissimus* de Tunisie , a révélé la présence de vingt composés, dont le γ-cadinène était le principal composant (Yahyaoui et

al., 2018). Dans une autre étude, le 5- (But-1-yn-3-ényl) -2,2′-bithiophène (54,4%) et l'α-terthienyle (26,3%) étaient les composés majoritaires dans l'huile essentielle d'*E. Spinosus* des racines toujours de cette espèce provenant d'Algérie (Belabbes et al., 2020).

III-5-Dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins

Afin de caractériser les extraits préparés à partir des racines des deux régions, un dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés a été effectué. La raison principale pour ces dosages réside dans le fait que la majorité des propriétés pharmacologiques des plantes leur sont attribuées.

Les analyses quantitatives des phénols totaux, des tannins et des flavonoïdes sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage **(fig.27, 28,29)** optimisées par Benhammou (2011) et exprimées successivement en mg équivalent d'acide gallique et mg équivalent de catéchine par g de résidu brut **(tableau 6).**

Tableau 6 : Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensées dans les extraits de racine d'*E.spinosissimus* Turra.

Extrait	Polyphénols totaux (mg EAG/g de résidu)[a]	Flavonoïdes (mg EC/g de résidu)[b]	Tanins condensés (mg EC/g de résidu)[c]
Extrait Acétate éthyle N	**131,26** ± 5,052	**72,29** ± 2,14	**298,15** ± 12,75
Extrait Méthanol N	**95,31** ± 2,90	**16,01** ± 0,16	**8,30** ± 0,65
Extrait Aqueux N	**282,24** ± 7,06	**48,76** ± 0,49	**112,06** ± 5,20
Extrait Acétate éthyle S	**280,93** ± 6,92	**46,73** ± 1,36	**171,73** ± 6,95
Extrait Méthanol S	**169,08** ± 4,07	**55,62** ± 1,75	**15,75** ± 1,71
Extrait Aqueux S	**230,28** ± 14,75	**30,72** ± 3,11	**69,59** ± 5,53

Les valeurs sont exprimées en moyennes ± écart type (n = 3 expériences).
N : nord (Mostaganem) ; S : sud (Ain Sefra) ; a : mg équivalent d'acide gallique/ g de résidu brut. b, c : mg équivalent de catéchine/g de résidu brut.

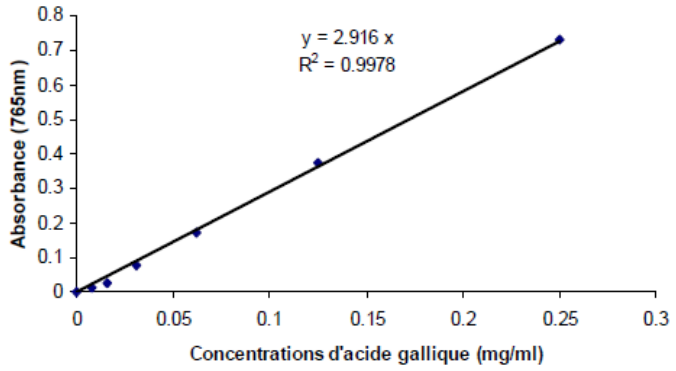


Figure 27 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux (Benhammou., 2011)

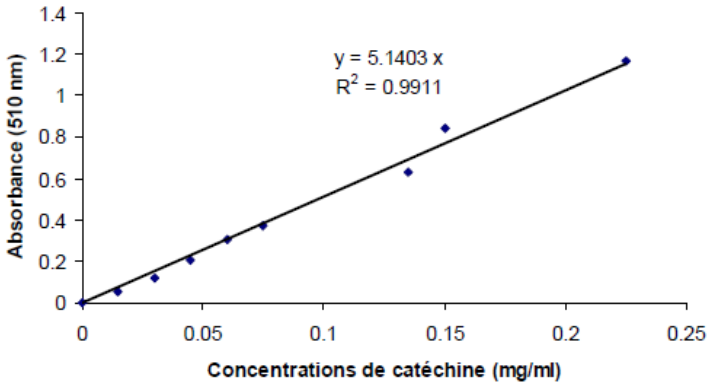


Figure 28 : Courbe d'étalonnage de de catéchine pour le dosage des flavonoïdes. (Benhammou., 2011)

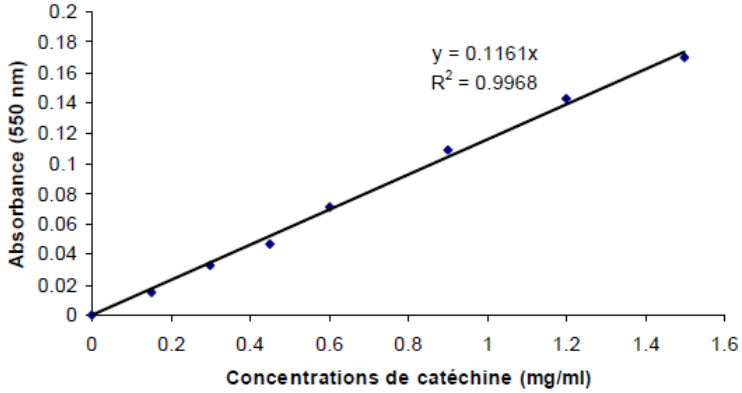


Figure 29 : Courbe d'étalonnage de de catéchine pour le dosage des tanins condensés. (Benhammou., 2011)

Après analyse des résultats obtenus des différents extraits, nous avons observé que la meilleure teneur en polyphénols totaux est enregistrée avec l'extrait aqueux nord (**282,24** ± 7,06) mg EAG/g suivi de l'extrait acétate éthyle sud (**280,93** ± 6,92) mg EAG/g et enfin l'aqueux sud avec une teneur de (**230,28** ± 14,75) mg EAG/g. La meilleure teneur en flavonoïdes et en tanins condensés est notée pour l'extrait acétate éthyle nord avec des teneurs de (**72,29** ± 2,14) mg EC/g et (**298,15** ± 12,75) mg EC/g respectivement.

La richesse de l'extrait acétate d'éthyle de la région sud en polyphénols totaux et flavonoïdes, pourrait être en relation avec la richesse de cet extrait en composés moyennement polaires (les aglycones, les monoglycosylés).

La présence de plus fortes teneurs en composés phénoliques dans les extraits aqueux de la région nord et sud suggère la richesse de cette espèce en polyphénols glycosylés hydrolysables.

Si on combine les trois paramètres, il en ressort que les extraits aqueux nord et acétate éthyle sud sont les plus intéressants du point de vue teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins.

Selon Ksouri et al.(2008), Cette différence pourrait être liée aux conditions abiotiques (facteurs environnementaux, conditions de manipulation et le solvant d'extraction) à la nature du sol et le type du microclimat (Atmani et al., 2009)

Nos résultats sont conformes à ceux rapportés par Kheder et al. (2014) sur les teneurs en polyphénols totaux au niveau de la racine d'*E. Spinosus* de Tunisie. Les résultats de cette étude ont montré que les teneurs en polyphénols variaient considérablement en fonction de la polarité du solvant.

Un autre travail portant sur les parties aériennes *d'E. Spinosissimus* du nord-ouest de l'Algérie a confirmé que le contenu phénolique total de cette partie de la plante, est nettement supérieur à celui des racines. En effet, elle était respectivement de 36,1 ± 0,0005 mg EAG / 100 g matière sèche (MS) contre 16,1 ± 0,001 mg EAG / 100 g MS. La teneur en flavonoïdes dans la partie aérienne était de 13,37 ± 0,001 mg EC / 100 g MS; une teneur qui est trois fois plus élevée que celle rapportée dans les racines (4,78 ± 0,0005 mg EC / 100 g de MS) **(**Gheffour et al., 2015).

L'estimation de la teneur en polyphénols par Al-Harbi et al (2016) à savoir composés phénoliques totaux, tanins et flavonoïdes totaux était de 66,54 mg EAG / 100 g MS, 20,28 mg EC / 100 g MS et 44,6 EC / 100 g MS respectivement.

Samir et al (2018) ont étudié la composition des parties aériennes d'*E. Spinosus* provenant d'Egypte, ils ont affirmé une quantité de polyphénols totaux de 0,23 g % p / p, de flavonoïdes de 0,004 ± 0,04% p / p et de tanins ont été estimés à 2,88 ± 0,07 % p / p.

Le criblage phytochimique d'extraits provenant de capitules floraux d'*E. Spinosus* de Tunisie, rapporte que l'extrait méthanolique a une teneur élevée en polyphénols (895,14 mg EAG / g d'extrait) alors que l'extrait d'acétate d'éthyle a été jugé riche en flavonoïdes (215,36 mg EQ / g d'extrait) (Dammak et al., 2020).

III-6-Profils chromatographiques des extraits par HPLC-PDA-ESI-MS

III-6-1-Polyphénols

Tous les extraits : acétate éthyle, méthanolique et aqueux provenant des deux régions ont été soumis à une chromatographie haute performance HPLC/UV ; suite à cela l'extrait ayant enregistré le meilleur chromatogramme a fait l'objet d'une identification des composés phénoliques par HPLC-PDA-ESI-MS (**fig. 30, 31, 32, 33, 34, 35).**

Nous avons remarqué donc que l'extrait méthanolique nord présentait le meilleur profil phénolique et a fait donc l'objet de l'identification phytochimique par HPLC couplée à la spectrométrie de masse atomique **(fig.32).**

Selon nos connaissances, il s'agit du premier travail sur la composition phénolique de l'extrait méthanolique de la racine *d'E. Spinosissimus* Turra .

Le chromatogramme UV des composés identifiés et leurs temps de rétention, les longueurs d'onde d'absorption maximales et les données spectrales MS sont illustrés sur la **fig. (36)** et le tableau 7 , Quatorze composés phénoliques ont été enregistrés.

L'apigénine et ses dérivés (3, 4, 5, 6, 12) sont les composés majoritaires, ils ont été caractérisés par un détecteur à barrette de photodiodes UV / Vis (PDA). On observe

également la présence de kaempférol et ses dérivés (7, 11, 14), Eriodictyol-4'-O-néohesperidoside-7-O- glucoside (8), Isorhamnetin-3-O-rutinoside (13), trois acides phénoliques ; Acide chlorégénique, cinnamique et caféique (1, 2, 9) et enfin la quercétine 3-galactoside (10).

Nos résultats sont en accord avec les travaux de Dessalegn et al. (2020) sur *Echinops kebericho*. Ces auteurs ont identifié sept acides phénoliques, six flavanols et deux acides organiques aliphatiques, avec l'acide hydroxycinnamique (413,14 ± 6,60 µg / g), la quercétine-3-O-galactoside (7,07 ± 0,34 µg / g) et l'acide succinnique (702,95 ± 42,54) µg / g) comme étant les principaux composants.

Pour la partie aérienne d'*E. Spinossisimus* étudiée par certains auteurs, les investigations phytochimiques ont montré la présence de 22 flavonoïdes dont les principaux composés sont l'hespirtine (39,233 mg / 100g), l'héspiridine (34,589 mg / 100g), la lutéoline-6-arbinose -8- glucose (25,344 mg / 100g), Apigénine-6- arbinose -8-glactose (23,049 mg / 100g) et Apigénine-6- glucose -8- rhamnose (20,083 mg / 100g) (Ibrahim et al., 2016) .

D'autres composés ont également été identifiés comme l'apigénine, l'apigénine-7-O-β-glucopyranoside (cosmosiine) et apigenine-7-β-D-O-(6’’-O-E-p-coumaroyl)-glucopyranoside (Boumaraf et al., 2016) .

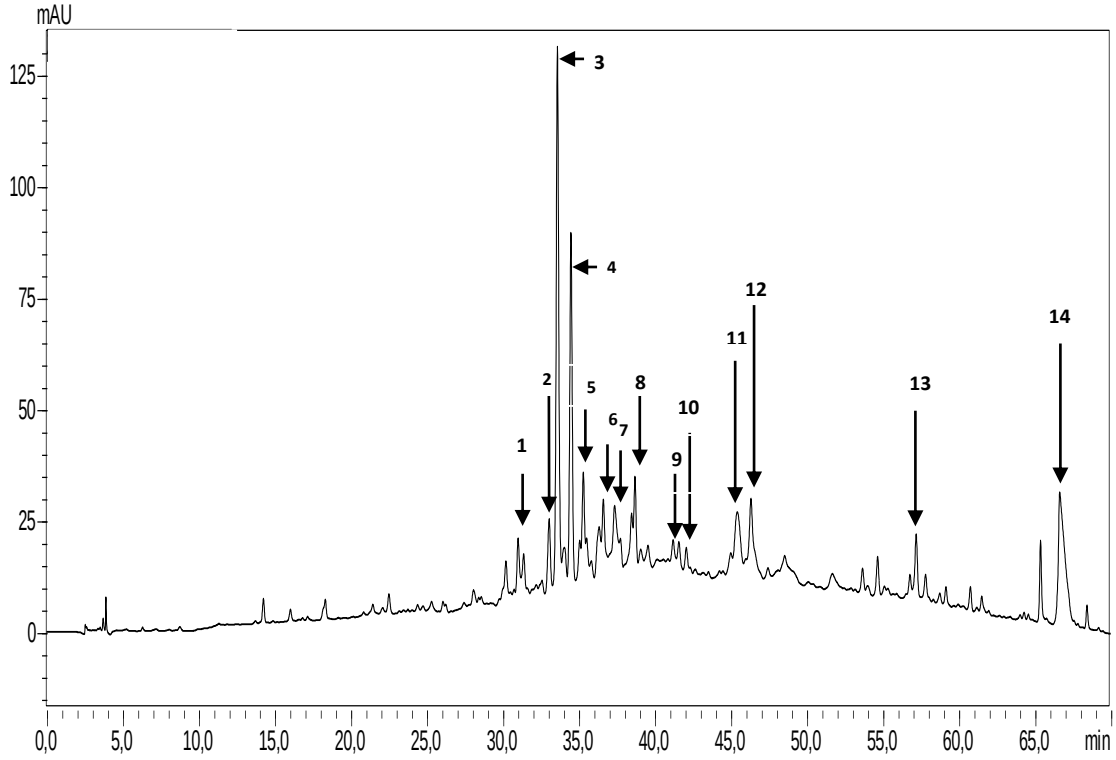


Figure 36 : UV chromatogramme de l'extrait méthanolique des raciness d'*E.spinosissimus* Turra à 280 nm

Tableau 7: Identification de la composition en polyphénols de l'extrait méthanolique de la racine de *E. spinosissimus* Turra par HPLC-PDA-ESI-MS.

Peak number	Rt (min)	UV (λ max)	Molecular ion [M-H]– (m/z)	Compound
1	31.020	201- 327		Acide chlorogénique
2	33.064	273		Acide cinnamique
3	33.607	271- 335	593- 271	Apigénine 6,8 glucoside
4	34.498	271- 333	431- 271	Apigénine 7-O- glucoside
5	35.310	272- 334	431	Apigénine-8-C-glucoside
6	36.627	271-332	431- 283	Apigénine-6-C-glucoside
7	37.369	268 -295 -315	739- 285	kaempferol p-coumaroyl-diglycoside
8	38.709	273- 322	757	Eriodictyol-4'-O-neohesperidoside-7-O- glucoside
9	41.595	269 -299- 327	295	Dérivé de l'acide caféique
10	42.082	269- 296 -349	463	Quercetine 3-galactoside
11	45.436	269 -327	785- 285	kaempferol 3-O-acyldiglycoside
12	46.336	268- 332	269	Apigénine
13	57.204	295- 344	623	Isorhamnetine-3-O-rutinoside
14	66.645	197- 275- 315	901- 285	kaempferol 7-O-rhamnosyl-glucoside

Un nouveau dérivé de l'apigénine appelé apigénine-7-*O*-ß-D-glucoside- (4”-*O-trans-p*-coumaroyl) dans la plante *E. spinosissimus* , a été signalé dans une étude en Tunisie (Bouattour et al., 2016).

Il convient de noter que les flavonoïdes signalés étaient principalement des flavones et principalement isolés de la plante entière et des parties aériennes.

L'apigénine est l'aglycone flavonoïde la plus courante et elle a été isolée de la fleur et de la plante entière *d'E. Niveus, E. echinatus, E. integrifolius et E. albicaulis* (Singh et al., 1994; Singh et al., 2006; Senejoux et al., 2013; Kiyekbayeva et al., 2018).

De plus, les composés phénoliques, y compris les coumarines, les phénylpropanoïdes et les lignanes, ont également été signalés chez *Echinops giganteus, Echinops grijisii et E. integrifolius* (Tene et al., 2004; Dong et al., 2008; Senejoux et al., 2013).

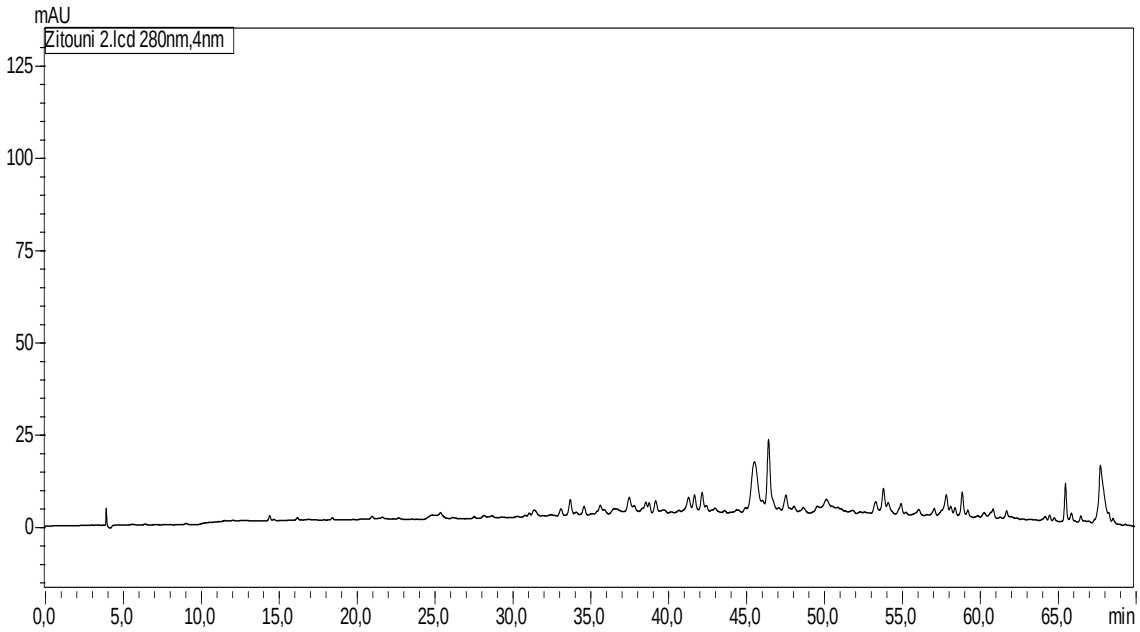


Figure 30 : UV chromatogramme de l'extrait acétate éthyle Sud des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 280 nm

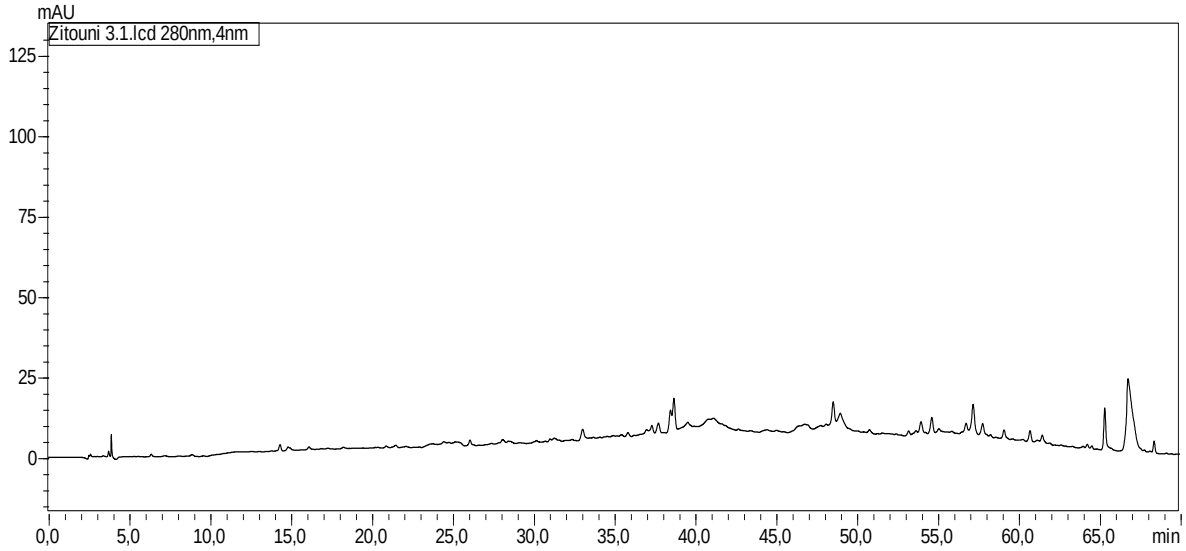


Figure 31 : UV chromatogramme de l'extrait méthanolique sud des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 280 nm

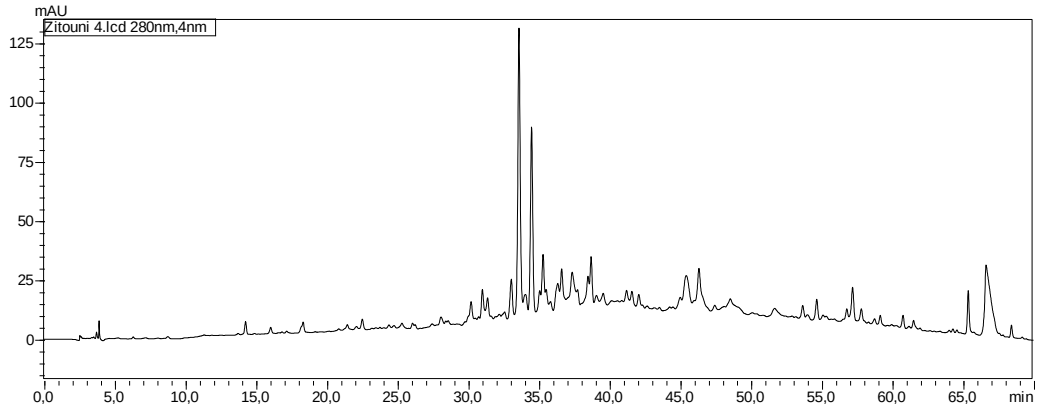


Figure 32 : UV chromatogramme de l'extrait méthanolique nord des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 280 nm

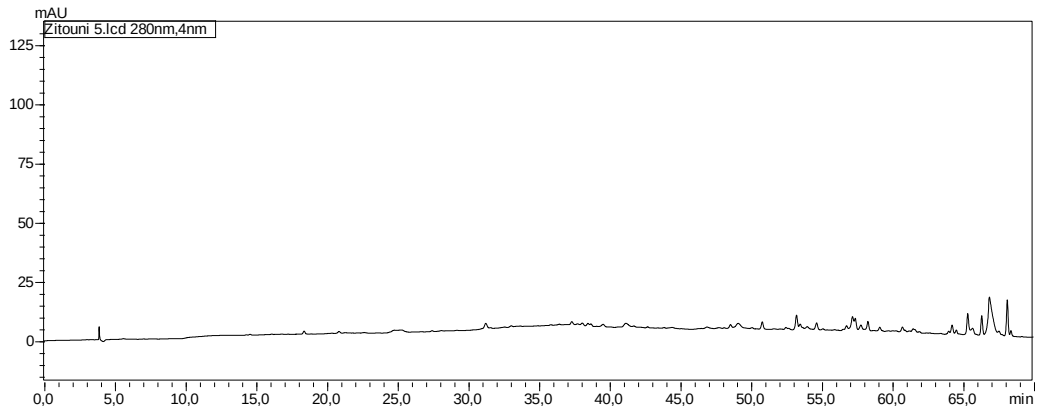


Figure 33 : UV chromatogramme de l'extrait acétate éthyle Nord des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 280 nm

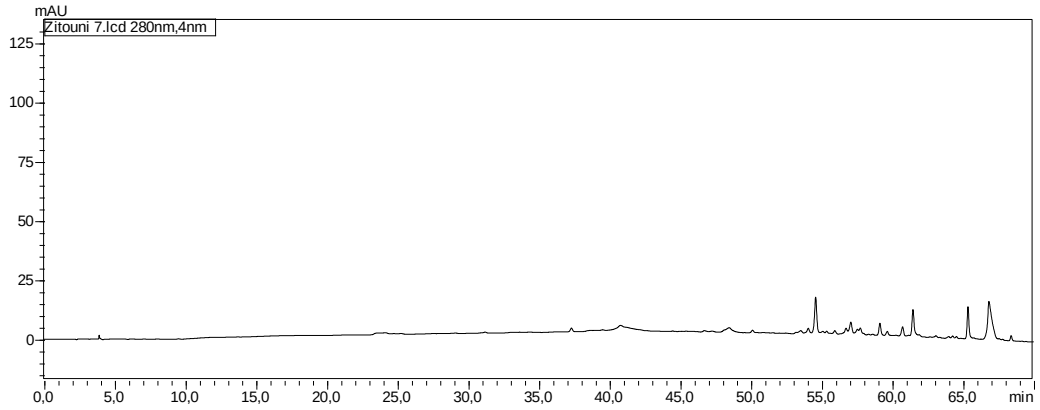


Figure 34 : UV chromatogramme de l'extrait acqueux Nord des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 280 nm

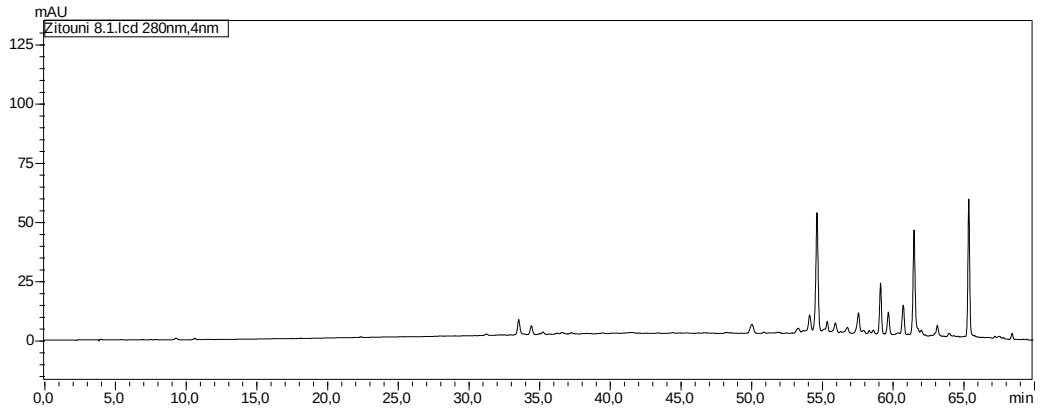


Figure 35 : UV chromatogramme de l'extrait acqueux Sud des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 280 nm

III-6-2-Alcaloides

Tous les extraits : acétate éthyle, méthanolique et aqueux provenant des deux régions ont été soumis à une chromatographie haute performance HPLC/UV **(fig.37, 38, 39, 40, 41,42)** ; suite à cela l'extrait ayant enregistré les meilleurs chromatogrammes ont fait l'objet d'une identification des composés phénoliques en les comparant avec les données de la bibliographie.

Selon nos connaissances, il s'agit également du premier travail sur la composition en alcaloïdes de l'extrait méthanolique de la racine *d'E. Spinosissimus* Turra .

Le chromatogramme UV des composés identifiés et leurs temps de rétention et les longueurs d'onde d'absorption maximales sont illustrés sur la **fig. 37, 38** et le **tableau 8, 9**, deux pics correspondant à deux alcaloïdes ont été enregistrés : échinopsine et échinorine.

Les alcaloïdes à noyau quinoléine sont considérés comme un marqueur chimiotaxonomique du genre Echinops **(**Hegnauer., 1964). L'échinopsine (N-méthyl-4-quinolone) a été isolée des fruits de l'espèce européenne *E. ritro* L. depuis le tout début du siècle dernier et on lui a attribué la formule moléculaire $C_{11}H_9NO$ (Greshoff., 1900).

En 1963, Ban'kovskii et al, ont suggéré que l'échinopsine était un artefact formé à partir d'un autre alcaloïde non identifié après un traitement alcalin de l'extrait de graines *d'E. Sphaerocephalus.*

Plus tard, Schroeder et Luckner (1966 et 1968) ont isolé un alcaloïde amine quaternaire, appelé échinorine, à partir de l'extrait méthanol-acide acétique (9: 1) des fruits d'*E. Ritro* L. Le nouvel alcaloïde a été caractérisé comme le N-méthyl -4- méthoxy quinoléine, il est considéré par les auteurs comme le seul alcaloïde détectable dans *E. ritro* L. tandis que l'échinopsine et d'autres alcaloïdes apparentés étaient considérés comme des artefacts formés au cours du processus d'isolement.

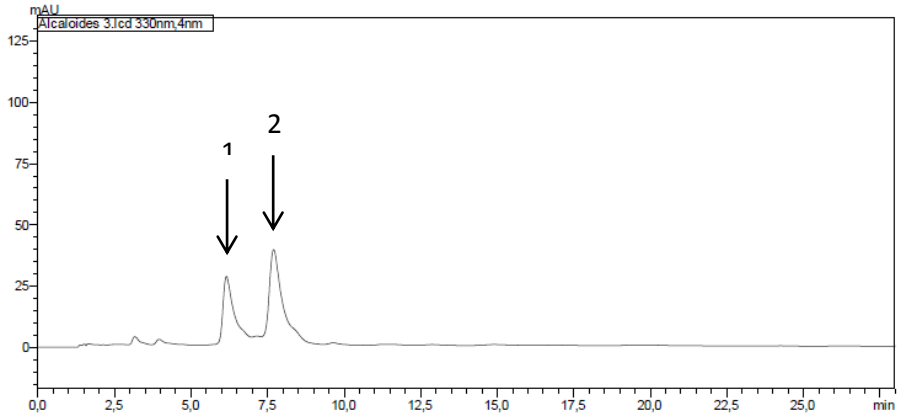


Figure 37 : UV chromatogramme de l'extrait méthanolique Sud des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 330 nm

Tableau 8 : Identification de la composition en alcaloïdes de l'extrait méthanolique Sud de la racine de *E. spinosissimus* Turra par HPLC-PDA-ESI-MS.

Numéro	Temps de rétention	surface	composé	λmax	Références
1	6.155	751459	Echinorine	216324	(Schroeder et Luckner., 1968 ; Kiyekbayeva et al.,2017)
2	7.695	1272830	Echinopsine	215302	

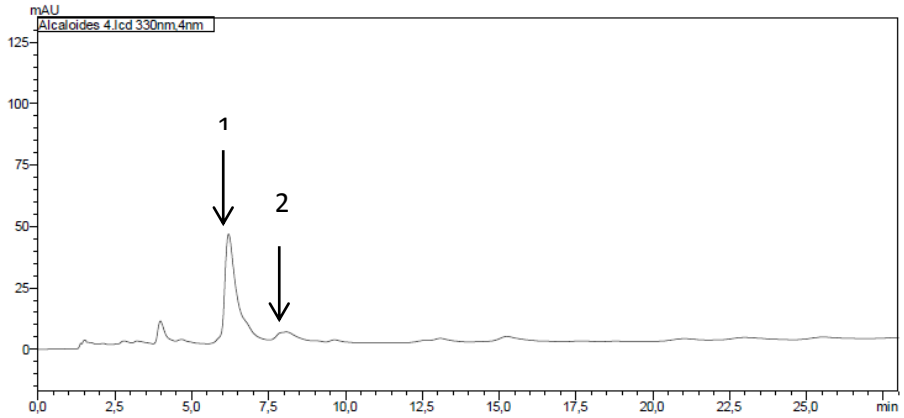


Figure 38 :UV chromatogramme de l'extrait méthanolique Nord des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 330 nm

Tableau 9 : Identification de la composition en alcaloides de l'extrait méthanolique de la racine de *E. spinosissimus* Turra par HPLC-PDA-ESI-MS.

Numéro	Temps de rétention	surface	composé	λmax	Références
1	6.197	1302709	Echinorine	215324	(Schroeder et Luckner., 1968 ; Kiyekbayeva et al.,2017)
2	8.081	172239	Echinopsine	301319	

Plusieurs années plus tard, l'échinopsine a été isolée des capitules et des parties aériennes *d'E. Spinosissimus* Turra provenant d'Egypte (Omar., 1980; Wassel et Baghdadi., 1980) ainsi que des fleurs de l'espèce indienne. *E. echinatus Roxb*. (Chaudhuri., 1987) et des parties aériennes *d'E*. niveus Wall (Rajendra et al., 1990) sans même mentionner la présence d'échinorine.

Halim et al. (2011) ont prouvés que l'échinopsine était un alcaloïde naturel après son isolement à partir de l'extrait chloroformique des fruits fraîchement pulvérisés d'*Echinops spinosus* L d'Egypte sans aucun traitement alcalin. Ils ont également rapporté le premier isolement et l'identification spectrale de l'échinorine dans la même espèce.

Kiyekbayeva et al.(2017) ont isolé deux alcaloïdes majeurs à partir de de l'extrait éthanolique d'*Echinops albicaulis.* Les composés isolés ont été identifiés chimiquement comme l'échinopsine et l'échinorine. Ces composés ont montré une activité antileishmaniale contre *Leishmania donovani* et *Trypanosoma brucei.*

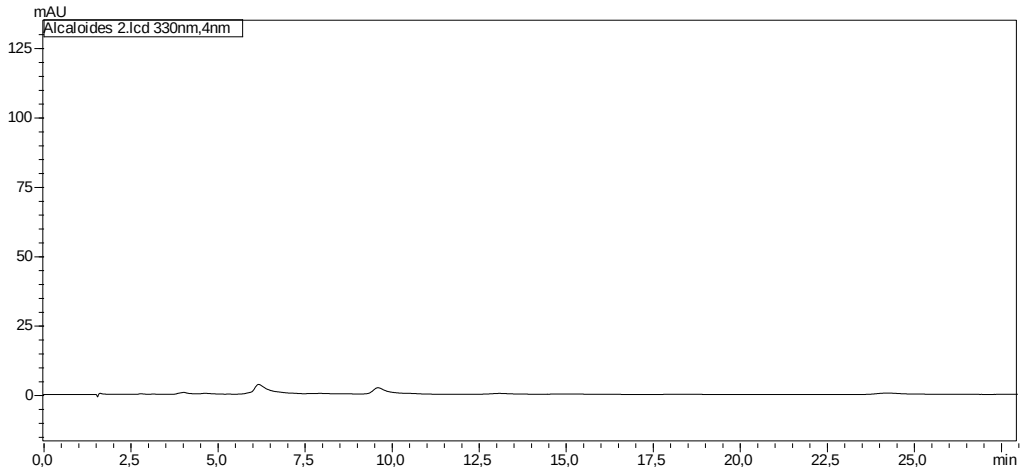


Figure 39 : UV chromatogramme de l'extrait acétate éthyle Sud des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 330 nm

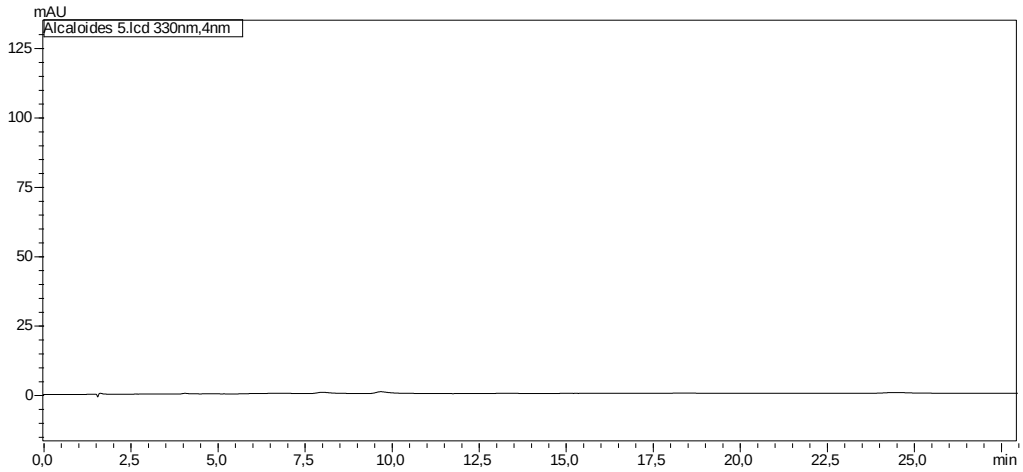


Figure 40 : UV chromatogramme de l'extrait acétate éthyle Nord des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 330 nm

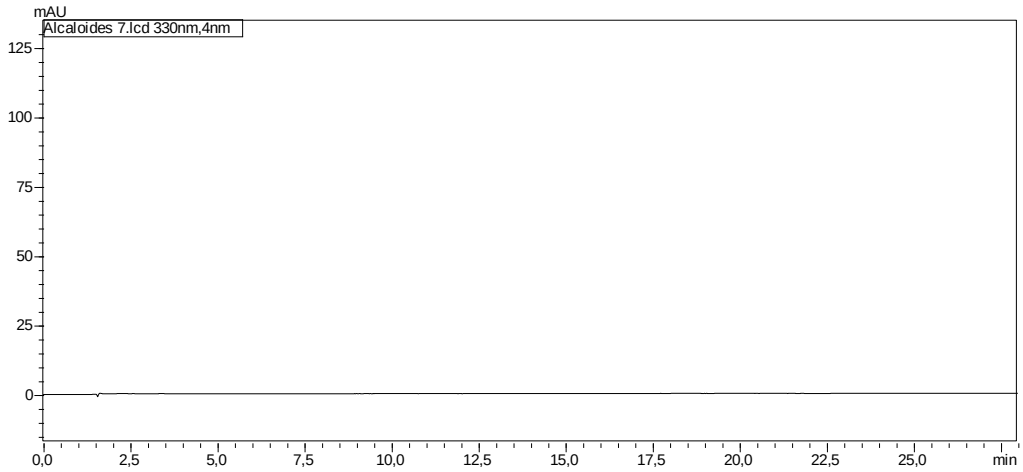


Figure 41 : UV chromatogramme de l'extrait aqueux Nord des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 330 nm

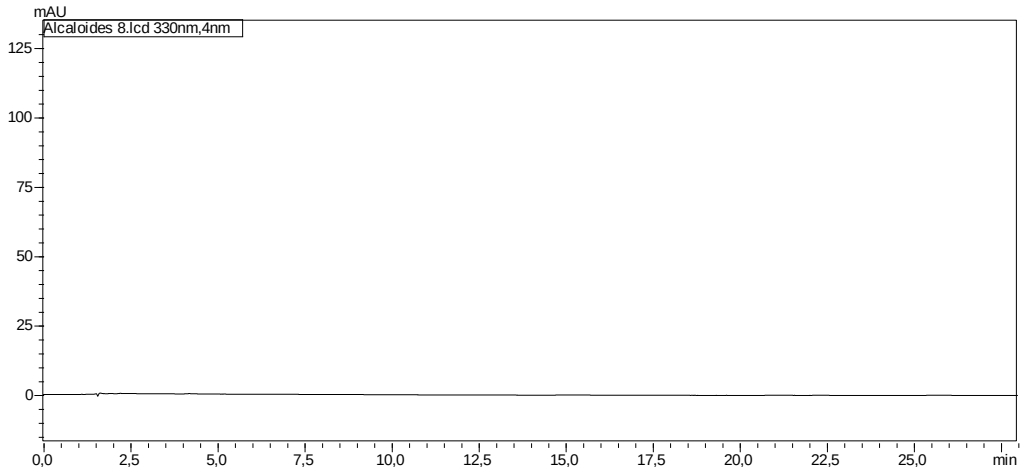


Figure 42 : UV chromatogramme de l'extrait aqueux Sud des racines d'*E.spinosissimus* Turra à 330 nm

III-7-Activités biologiques

III-7-1-Activité antioxydante

Jusqu'à présent, il n'existe pas une méthode unique et universelle par laquelle l'activité antioxydante est évaluée qualitativement et quantitativement (Prior et al., 2005).

Plusieurs techniques ont été proposées afin d'évaluer l'activité antioxydante *in vitro.*

Il est à noter que les substances qui ont une faible activité antioxydante *in vitro*, vont probablement montrer peu d'activité *in vivo*. Pour cette raison, nous avons utilisé deux techniques complémentaires pour estimer in vitro le potentiel antioxydant de nos extraits.

Les résultats de l'activité antioxydante des extraits de la racine d'*E. Spinosissimus* évaluées par deux méthodes ont été rapportés dans le **tableau 10** .

Tableau 10 : Estimation quantitative de la capacité antioxydante totale et des concentrations IC_{50} de la méthode au DPPH.

Extrait	TAC méthode (mg EAA/g)[d]	DPPH méthode (IC 50) (mg/ml)
Extrait Acétate éthyle N	84,83 ± 1,08	5,75 ± 0,13
Extrait Méthanol N	30,30 ± 0,54	7,99 ± 0,28
Extrait Aqueux N	91,48 ± 1,49	2,84 ± 0,35
Extrait Acétate éthyle S	10,56 ± 2,96	6,06 ± 0,09
Extrait Méthanol S	60,44 ± 0,63	2,48 ± 0,16
Extrait Aqueux S	66,80 ± 4,24	6,38 ± 0,30
Acide ascorbique	/	0.090±0.002

Les valeurs sont exprimées en moyennes ± écart type (n = 3 expériences).
N : nord (Mostaganem) ; S : sud (Ain Sefra). TAC : capacité antioxydante totale ; **d** : milligramme équivalents d'acide ascorbique par gramme de résidu brut ; IC 50 : concentration inhibitrice 50.

III-7-1-1-TAC méthode

Les résultats du **tableau 10** montrent que tous les extraits présentent des activités antioxydantes différentes.

L'extrait aqueux Nord possède la meilleure capacité antioxydante totale de l'ordre de 91,48 ± 1,49 mg EAA/g. suivi par l'extrait acétate éthyle nord avec une capacité de 84,83 ± 1,08 mg EAA/g puis vient l'extrait aqueux et méthanolique sud avec des valeurs de 66,80 ± 4,24 mg EAA/g et 60,44 ± 0,63 mg EAA/g respectivement.

III-7-1-2-DPPH méthode

La réduction des radicaux DPPH a été déterminée par la diminution de son absorbance à 516 nm induite par les antioxydants (Ramshankar *et al*., 2008). Une forte diminution de l'absorbance du mélange réactionnel indique une activité importante de piégeage des radicaux libres du composé à tester (Krishnaiah *et al*., 2011).

Le radical DPPH est couramment utilisé comme substrat pour évaluer l'activité antioxydante ; c'est un radical libre qui peut accepter un électron pour devenir une molécule stable.

Le tableau 10 montre l'activité antioxydante des extraits testés et le témoin positif (Acide ascorbique), exprimée en pourcentage d'inhibition du radical de DPPH.

Dans notre étude, les six extraits des racines de *l'Echinops spinosissimus* Turra, ont montrés des comportements différents dans les réponses aux deux types de dosages d'antioxydants.

A une concentration de 10 mg/mL, les meilleurs effets antioxydants ont été observés avec l'extrait méthanolique de la région sud des racines d'*E.spinosissimus* (95.15 ± 1.04 %) et l'extrait aqueux de la région nord avec une valeur de (87.58 ± 0.05 %).

La concentration inhibitrice médiane 50 (CI50) est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour

diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur de la CI50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est importante.

L'acide ascorbique a présenté des CI50 de 0.090±0.002 mg/ml, cette concentration est significativement ($p < 0.05$) inférieures par rapport à celles des extraits de la plante étudiée en ce en la comparant à la meilleure valeur de IC 50 enregistrée pour l'extrait méthanolique sud (2,48 ± 0,16 mg/mL) .

Les différences relevées, dans les réponses, entre les extraits peuvent être expliquées sans doute par la présence de beaucoup plus de substances bioactives dans le méthanolique sud que ceux trouvés dans les autres extraits. De plus Miliauskas *et al* (2004) et Ksouri *et al.(* 2008) ont démontré qu'un antioxydant efficace dans un test n'est pas forcément efficace dans un autre.

Donc en combinat les deux méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante de nos extraits, nous pouvons bien observer que les résultats sont plus au moins compatibles car les meilleurs valeurs ont été enregistrés approximativement pour les mêmes extraits.

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques qui pourraient être responsables de la capacité antioxydante des plantes médicinales. Selon les résultats de cette étude, la teneur la plus élevée en flavonoïdes a été observée pour l'extrait acétate éthyle nord qui n'a pas forcément manifesté la meilleure activité antioxydante, l'extrait méthanolique sud a enregistré une teneur en flavonoïdes totaux de 55.62±1.75 EC/gr tandis que l'aqueux nord contient un montant de 48.76±0.49 EC/gr.

L'extrait méthanolique nord ayant enregistré le meilleur profil polyphénolique par HPLC/UV, n'a cependant pas manifesté un bon potentiel antioxydant, ni d'intéressantes teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés.

Donc, nous pouvons conclure de l'absence de corrélation entre les deux techniques du pouvoir antioxydant et les teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés. Ce Constat est largement répandu dans la littérature (Sun *et Ho.,* 2005) car il est très accepté que ce n'est pas nécessairement la forte teneur en polyphénols qui exhibe une activité antioxydante puissante (Moure *et al.,* 2001)

Nos résultats sont relativement faibles par rapport aux travaux de Khedher et al. (2014) qui ont montré que l'extrait éthanolique de la racine *d'E. Spinosus* avait la plus grande capacité à réduire les radicaux DPPH, avec une valeur IC50 de 147 µg / mL.

De la même manière, Gheffour et al (2015) ont évalué l'activité antioxydante d'extraits de flavonoïdes et de tanins de la partie aérienne et des racines d'*E. Spinosus* de Tlemcen. Cette étude a montré que l'extrait tanins des parties aériennes avait une plus grande capacité à piéger le radical DPPH que l'extrait de racine. Les valeurs de CI50 dans le test DPPH étaient de 8,25 µg / mL pour les parties aériennes (contre 23 µg / mL pour les racines).

Comparativement, l'extrait de racine méthanolique d'*E. giganteus* a montré un effet in vitro de piégeage des radicaux libres avec 12,54 mg de poids équivalent de trolox pour 100 g (Bouba et al., 2010), tandis que des activités de piégeage élevées de DPPH (60%) ont été montrées à 40 µg / mL pour les extraits méthanoliques de graines et de feuilles *d'E. orientalis* (Erenler et al., 2014), bien que l'activité antioxydante DPPH des constituants isolés (β-sitostérol, 1-méthylquinolin-4 (1H) -one, apigénine-7- L'O-β-D-glucoside, l'apigénine-7-O- (6 "-transp-coumaroyl-β-D-glucopyranoside) n'étaient pas importants (Erenler et al., 2014).

Il a été également prouvé que *E. ritro* et Les extraits aqueux de *E.tournefortii* possédaient un effet piégeur de DPPH à une concentration de 1 mg / ml avec des pourcentages d'inhibition de plus de 80% et 70%, respectivement (Aydin et al., 2016).

Pour *E. persicus*, l'extrait acétate d'éthyle- méthanolique (50 / 50, v / v) a montré un effet antioxydant DPPH in vitro de 89,14% à une concentration de 40 mg / ml (Mohseni et al., 2017).

Deux principaux mécanismes antioxydants ont été proposés pour la prévention contre le stress oxydatif par les polyphénols, à la fois *in vitro* et *in vivo* (Perron *et al*., 2009). Le premier est basé sur la capacité de la fonction phénol à donner un atome d'hydrogène à un radical libre ; le deuxième est le transfert d'électron d'un composé phénolique à un radical libre (Quideau *et al*., 2011).

Dans une étude comparative évaluant les effets protecteurs de la vitexine et de l'apigénine (son aglycone) contre les dommages oxydatifs induits par H2O2 dans les érythrocytes humains, les résultats de la recherche ont montré que la vitexine et l'apigénine pouvaient réduire considérablement le degré d'hémolyse et améliorer les activités des enzymes antioxydantes érythrocytaires. De plus, la vitexine et l'apigénine pourraient restaurer la morphologie de la surface cellulaire en protégeant la teneur en sulfhydryle dans la protéine membranaire des globules rouges. Il a été également démontré que , les capacités antioxydantes de l'apigénine aux doses de 15 et 30 µg / ml étaient meilleures que celles des mêmes doses de vitexine et que ces activités sont non-dose dépendantes car en doublant les concentration l'effet antioxydant est resté le même (An et al., 2015). Ceci a été confirmé par une autre étude qui a montré que l'absence du sucre sur le groupe C7-OH potentialise l'activité antioxydante de l'aglycone. Deux mécanismes ont été proposés pour expliquer la corrélation structure activité à savoir la structure dihydroxy en position ortho au niveau de l'anneau B (qui forme une liaison H avec les radicaux) et la double liaison C2-C3 en conjugaison (qui est responsable de la délocalisation électronique à partir de l'anneau B grâce au groupe fonctionnel 4-oxo dans l'anneau C) (Pápay et Antal., 2014).

Mira et al.(2002) ont investigué la capacité antioxydante de certains flavonoïdes type flavones (apigénine, lutéoline, kaempférol, quercétine, myricétine et rutine). Tous les composés étudiés ont présenté une capacité de réduction plus élevée pour les ions cuivre que pour les ions fer. Les flavonoïdes avec une meilleure activité réductrice Fe3 + sont ceux avec une double liaison 2,3 et possédant à la fois le groupe catéchol dans le cycle B et le groupe 3-hydroxyle. L'activité réductrice du cuivre semble dépendre énormément du nombre de groupes hydroxyles dans le flavonoide.

Un autre travail portant sur l'Apigenine-8-*C*-(α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-*D*-glucopyranoside) a mis l'accent sur la grande capacité antioxydante de ce composant estimée in vitro par les deux méthodes colorimétriques DPPH• et ABTS•+ à des valeurs IC50 de 7.528 and 379.7 µg. mL-1, respectivement (Martínez et al.,2016).

Lors d'une étude sur les propriétés antioxydantes de trois flavonoïdes C-glycosides isolés du fruit de *Capsicum annuum* L. (lutéoline 6-C-glucoside, lutéoline 6,8-di-C-glucoside et apigénine 6-C-glucoside-8-C-arabinoside), il a été mentionné que la lutéoline et son C-6

glucoside ont montré la plus grande capacité à piéger les radicaux superoxyde (générés dans les systèmes enzymatiques et non enzymatiques) et les radicaux DPPH et avaient également la plus forte activité d'inhibition de l'activité de la xanthine oxydase, suivis de l'apigénine-C-glycoside et de l'apigénine (Materska , 2015).

Les flavonol glycosides tels que le kaempferol et ses dérivés, sont connus pour leur activité antioxydante qui est fortement liée à leurs caractéristiques structurales, telles que les substituants donneurs d'hydrogène (groupes OH) et la présence d'une double liaison 2,3 qui améliore leur pouvoir inhibiteur des enzymes pro-oxydantes (Remila *et al*., 2015).

l'évaluation in vitro des activités antioxydantes par DPPH méthode, pour les dérivés de Kaempférol a été estimée par Deng et al.(2019) .les résultats montrent que l'activité antioxydante est optimale et est dose-dépendante.

Chez *Helianthemum glomeratum***,** le kaempferol et la quercétine sont les principaux Composés qui ont été isolés dans l'extrait méthanolique des parties aériennes. Ces deux constituants ont été trouvés de posséder une forte activité antioxydante (Cai *et al.*, 2004).

Outre l'activité antipaludique, les alcaloïdes à noyau quinoléine constituent un large éventail d'activités cliniquement significatives. On peut observer que parmi les nouveaux composés synthétiques quinoléiques, bon nombre présenteraient des propriétés antioxydantes très intéressantes, tandis que les autres manifesteraient une capacité antioxydante légère à modérée. Des études montrent que la présence de substituants tels que CF3, OCH3, CH3 et les halogènes sur le cycle quinoléine jouent un rôle important dans L'activité antioxydante (Gan et al., 2017).

Dans une étude, deux alcaloïdes quinoléiques, la 3,8-dihydroxyquinoléine et la 2,8-dihydroxy-3,4-diméthoxyquinoléine ont été testés pour leur activité de piégeage des radicaux DPPH à 100 mM. Les activités des composés ont été qualifiées de décolorantes. l'activité suite au piégeage de l'électron non apparié de DPPH a été de 36% pour le 3,8-dihydroxyquinoléine, tandis qu'elle a été estimée à 93% pour le composé 2,8-dihydroxy-3,4-diméthoxyquinoléine possédant un groupe méthoxy (Yoon et al., 2006).

Leitão et al. (2017) ont étudié in ex- vivo l'effet des extraits éthanoliques bruts des trois espèces Choisya ainsi que deux alcaloïdes a noyau quinoléine (anhydroevoxine et choisyine) isolés à partir des mêmes espèces sur des modèles cultures cellulaires () à une concentration de 1, 10 et 30 ug / ml. Les résultats suggèrent que ces alcaloïdes ont une grande capacité d'inhibition de la génération de ROS dans les leucocytes stimulés par le LPS et sont également de puissants inhibiteurs de l'oxygénase.

Les molécules naturelles ayant une activité antioxydante peuvent avoir une application thérapeutique contre les maladies induites par les dommages oxydatifs. Dans un système complexe d'ingrédients bioactifs, les effets thérapeutiques sont le résultat de l'effet synergique de divers composés (Pápay et Antal., 2014).

III-7-2-Activité antibactérienne

III-7-2-1-Méthode de diffusion sur gélose agar

Les tests antibactériens des extraits de la plante provenant des deux régions (Mostaganem et Ain Sefra) étudiées ont été réalisés par la technique de diffusion en milieu gélosé, qui est une technique qualitative basée sur la mesure des diamètres des zones d'inhibition qui apparaissent autour des disques contenant les extraits à tester.
Les diamètres des zones d'inhibition des bactéries en présence des extraits et des antibiotiques de référence sont consignés dans le tableau

III-7-2-2-Determination des CMI

Des tests de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) ont été réalisés afin de préciser le caractère bactériostatique des extraits sélectionnés.

Une diminution progressive de l'intensité du trouble induite par la croissance des bactéries a été constatée au fur et à mesure que la concentration de l'extrait végétal augmentait dans les tubes expérimentaux. Les résultats des concentrations requises afin d'obtenir un effet bactériostatique, des différents extraits sont reportés dans le **tableau 12** .

Tableau 11 : Activités antibactériennes des extraits d'*E.spinosissimus* Turra .

Extrait	Concentration (mg/ml)	Diamètre d'inhibition (mm)		
		E.coli	*P.aeruginosa*	*S.aureus*
Acétate éthyle N	100	8.66±0.57	0±0	0±0
	200	9±0	0±0	0±0
	400	10±0	10±0	10±0
	Contrôle positif	**27±0.81**	**27.33±0.47**	**34±0.82**
Méthanol N	100	7±0	0±0	0±0
	200	7±0	10.66±0.57	0±0
	400	8±0	12.33±0.57	0±0
	Contrôle positif	**27±0.81**	**27.33±0.47**	**34±0.82**
Aqueux N	100	0±0	9±0	8±0
	200	0±0	12±0	9.33±1.15
	400	0±0	12±0	10.66±0.57
	Contrôle positif	**27±0.81**	**27.33±0.47**	**34±0.82**
Acétate éthyle S	100	0±0	0±0	0±0
	200	0±0	0±0	0±0
	400	9±0	0±0	0±0
	Contrôle positif	**27±0.81**	**27.33±0.47**	**34±0.82**
Méthanol S	100	0±0	0±0	0±0
	200	0±0	0±0	0±0
	400	8±0	8.33±0.57	8±0
	Contrôle positif	**27±0.81**	**27.33±0.47**	**34±0.82**
Aqueux S	100	8.66±0.57	8±0	7.33±0.57
	200	9.66±0.57	11±0	8±0
	400	10±0	11±0	11.33±0.57
	Contrôle positif	**27±0.81**	**27.33±0.47**	**34±0.82**

Les valeurs sont exprimées en moyennes ± écart type (n = 3 expériences).
Contrôle positif pour *E. coli et P.aeruginosa* :Ticarciline; Contrôle positif pour *S.aureus* : Peni G.

Tableau 12 : Valeurs des CMI (mg/ml) des extraits d'*E.spinosissimus* Turra sur trois espèces bactériennes.

Extrait	Concentration Minimale Inhibitrice CMI (mg/ml)		
	E.coli	*P.aeruginosa*	*S.aureus*
Acétate éthyle N	25±0	50±0	25±0
Méthanol N	50±0	25±0	25±0
Aqueux N	12.5±0	41.66±0	25±0
Acétate éthyle S	ND (>50)	50±0	12.5±0
Méthanol S	12.5±0	33.33±0	8.33±2.95
Aqueux S	16.66±5.9	20.83±5.9	50±0

Les valeurs sont exprimées en moyennes ± écart type (n = 3 expériences).
Témoin négatif : poussée bactérienne dans toutes les cupules ; Témoin diluant DMSO : poussée bactérienne dans toutes les cupules.

D'après le **tableau 12**, Il ressort des résultats obtenus que presque tous les extraits ont manifesté un effet inhibiteur sur les souches bactériennes testées a une concentration donnée, excepté deux extraits qui ont été inactifs vis avis de certaines souches à savoir : extrait aqueux nord (*E.coli*) et extrait acétate éthyle sud (*P.aeruginosa, S.aureus*).

L'importance de cet effet antimicrobien varie considérablement selon la composition chimique de ces extraits : la polarité du solvant et ou des substances extractibles (Djeussi et al., 2013).

L'extrait méthanolique nord a présenté les plus grandes zones d'inhibition (12.33±0.57 mm) pour *P. aeruginosa* ,suivi de l'extrait aqueux nord avec des diamètres d'inhibition variant de 8 a 12mm et des CMI estimées à 12.5±0, 41.66±0 et 25±0 mg/ml pour les souches *E.coli P.aeruginosa et S.aureus* respectivement .

Cependant l'extrait aqueux sud a donné un effet positif sur toutes les souches testées quel que soit la concentration avec des CMI de 16.66±5.9 mg/ml pour *E.coli* et de 20.83±5.9,

50±0 mg/ml pour *P.aeruginosa et S.aureus*. Les diamètres d'inhibition ont été par contre assez faibles variant approximativement entre 8 et 11mm.

S. aureus se montre résistante aux différentes concentrations testées (100, 200 et 400 mg / mL) de l'extrait méthanolique nord de la racine d'*E. Spinosissimus*. En revanche, on observe une activité modérée envers les deux autres souches bactériennes notamment contre *P. aeruginosa* mais à des concentrations élevées (200-400 mg / mL) avec des CMI de 25 ± 0 mg / ml pour *P.aeruginosa et S.aureus* tandis que pour *E. coli* , la CMI est estimée à 50 ± 0 mg / ml.

Il est important de noter que les diamètres d'inhibition induits par les six extraits demeurent inférieurs à ceux induits par les antibiotiques (témoins positifs) ticarciline et Peni-G et ce pour les trois souches testées.

De même pour le diméthyle sulfoxyde (DMSO) qui est un solvant de solubilisation des extraits,le mélange eau distillée/DMSO (10 %, v/v) sert de contrôle négatif. Avec un diamètre d'inhibition égal à celui du disque stérile non imprégné (6 mm), le DMSO est sans effet sur *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*.

Comme mentionné dans cette étude, les extraits méthanolique et aqueux de la région nord sont les plus efficaces pour inhiber la croissance de la souche bactérienne à Gram-(*P.aeruginosa*) avec des diamètres d'inhibition de 12.33±0.57mm et 12±0 mm respectivement. Cette souche a été fortement impliquée dans la surinfection des plaies, retardant la cicatrisation et conduisant ainsi à la chronicité des plaies car selon une étude, les bactéries colonisatrices des plaies telles que *P. aeruginosa*, sont capables de dégrader les protéines cutanées et d'inhiber la croissance des fibroblastes, entraînant ainsi une hypertrophie de la plaie et un retard de cicatrisation (Mustoe et al., 2004).

D'après la littérature, les travaux réalisés sur les extraits de parties aériennes d'*E. Spinosissimus* collectés sur la côte méditerranéenne occidentale de l'Egypte ont enregistré une activité antibactérienne modérée de l'extrait méthanolique à 6 mg / mL contre *E. coli, Bacillus cereus et S.aureus* avec un diamètre d'inhibition de 12 mm. Cette activité augmente considérablement lorsque la concentration de l'extrait augmente pour atteindre une activité maximale contre *B. cereus* (42 mm) (Rahman et al., 2011).

Dans une autre étude réalisée en Arabie Saoudite toujours sur la même espèce, les diamètres d'inhibition enregistrés avec l'extrait méthanolique des feuilles concentré à 100 mg / ml, variait entre 09,5 et 13,5 mm pour toutes les souches testées avec (Abdallah Emad et al., 2013).

De plus, les résultats de l'activité antimicrobienne des extraits des parties aériennes *d'E. Spinosissimus* ont été moins actifs contre *S. aureus* (13 mm) et inactifs vis-à-vis des souches *E. coli et C. albicans* (Gouda et al., 2014).

Le même extrait méthanolique a montré des effets antifongiques relativement faibles sur *Botrytis cinerea et Fusarium solani*, modéré sur *Alternaria alternata* mais un effet plus important sur *Stemphylium botryosum* (El-Mergawi et al., 2018).

Pour les autres espèces du genre Echinops,plusieurs travaux ont bien porté sur l'évaluation de l'activité antibactérienne , l'extrait éthanolique de la racine obtenu à partir d'*E. Kebericho* a montré un effet relativement fort contre *K. pneumoniae* (Belay et al., 2011) et *S. aureus* (Ameya et al., 2016).

Dans une autre étude, le criblage microbiologique des extraits méthanolique, acétate d'éthyle et acétonique des feuilles et des fleurs d'*E. Viscosus* et *d'E. Microcephalus* a montré une activité antibactérienne prometteuse contre *S.aureus, E. coli et B.megaterium* par rapport aux antibiotiques standards (Toroğlu et al., 2012).

Nos résultats rejoignent ceux rapportés par Mothana et al. (2011) qui confirment que les extraits méthanoliques et aqueux chauds d'E. Spinosissimus n'ont pas montré d'activité intéressante contre trois souches bactériennes: S. aureus, B. subtilis et M. flavus avec une CMI variant entre 500 et> 1000 µg / mL. De plus, les activités antimicrobiennes des fractions aériennes isolées d'extrait d'E. Spinosus hexane ont montré une très faible activité antibactérienne avec des valeurs de CMI de 125,0 µg / mL contre S.aureus, B. cereus et M. luteus (CMI> 125,0 µg / mL) et aucune activité antifongique significative n'a été observée (Bouattour et al., 2016). L'extrait de racine méthanolique d'E. Amplexicaulis a également montré un effet encourageant contre la souche multirésistante de M. tuberculosis avec une CMI de 50 µg / mL (Kevin et al., 2018).

L'inhibition de la croissance des microorganismes par les composés phénoliques peut être due à la liaison de l'hydrogène avec les enzymes microbiennes. Les proanthocyanidines

ou tanins condensés par exemple sont vulnérables à la polymérisation par les réactions d'oxydation. La taille des polyméres constitue un facteur important régissant leur toxicité vis-à-vis des bactéries. La condensation oxydative des phénols peut entraîner la destruction des microorganismes (Okoro et al., 2010).

Par contre, certains micro-organismes ne sont pas sensibles à la toxicité des tanins et peuvent même se développer en utilisant ces composés en tant que source unique de carbone , à savoir *Aspergillus niger,Candida tropicalis, Escherichia coli et Pseudomonas fluorescens.* cette défense microbienne vis-à-vis de la toxicité des tanins est dû à la sécrétion par les micro-organismes de polymères ayant une grande affinité pour les tanins, avec lesquels ils se combinent spécifiquement et bloquent leur action, ainsi qu'a l'incapacité des tanins à désactiver certaines enzymes bactériennes, notamment la tannase, les invertases et les alpha-amylases (Scalbert et al.,1991).

Par ailleurs, certains auteurs ont trouvé que les flavonoïdes ne possédant pas d'hydroxyles sur l'anneau B sont plus actifs su les micro-organismes que ceux possédant deux hydroxyles (Chabot et al.,1992).

Dans une autre étude, les auteurs ont investigué l'activité antibactérienne synergique de l'apigénine en combinaison avec des agents antimicrobiens existants contre les bactéries de la sphére ORL. L'effet combiné de l'apigénine a été évalué, seule ou avec des antibiotiques, les valeurs CMI / CMB pour l'apigénine, l'ampicilline, la gentamicine, l'érythromycine et la vancomycine contre toutes les bactéries testées variaient entre 50-200 / 100-800 µg / ml, 0,0313-16 / 0,125-32 µg / ml, 2-256 / 4-512 µg / ml, 0,008-32 / 0,016-64 µg / ml et 0,25-64 / 1-128 µg / ml, respectivement. Les tests ont révélé une activité synergique dans l'association de l'apigénine avec des antibiotiques (Cha et al.,2016).

Akilandeswari et al. (2016) ont étudié l'efficacité anti-SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline) et l'effet synergique de l'apigénine en association avec l'ampicilline et la ceftriaxone . La concentration inhibitrice minimale (CMI) de l'apigénine contre les souches Gram positif et Gram négatif variait de 32,5 à 62,5 ug / ml. la résistance à la méthicilline a été considérablement modulée par l'apigénine qui a amélioré

les activités de l'ampicilline et de la ceftriaxone. Les résultats pour la perméabilisation de la membrane externe et de la membrane interne ont montré que l'ampicilline et la ceftriaxone en combinaison avec l'apigénine endommageaient la membrane cytoplasmique du SARM et provoquaient une fuite ultérieure de constituants intracellulaires. La microscopie électronique a clairement montré que ladite combinaison ci-dessus provoquait également des dommages morphologiques marqués de la paroi cellulaire, de la forme cellulaire et de la membrane plasmique de cette souche. À partir de ces résultats, on peut conclure que l'apigénine a un effet synergique avec l'ampicilline et la ceftriaxone pour inverser la résistance bactérienne contre le SARM.

L'activité antibactérienne de l'apigénine-C-8 glucoside a été signalée comme faible par rapport à l'apigénine aglycone. On a émis l'hypothèse que la glycosylation entraîne une réduction de la lipophilie et par conséquent diminue la capacité de pénétrer dans la membrane bactérienne. Certains dérivés de l'apigénine ont montré une activité antibactérienne accrue contre S. aureus, Bacillus subtilis, Escherichia coli et Pseudomonas aeruginosa, en particulier le 7- [3- (Morpholin-4-yl) propoxy] -5-hydroxy2- (4-hydroxyphényl) -4H -chromen-4-one. La cible cellulaire de l'apigénine pourrait être les enzymes de traitement des acides nucléiques et l'ADN gyrase (Wang et al., 2019).

Kim et al. (2020), dans une étude portant sur l'élucidation du mécanisme apoptose-like antibactérien de l'apigénine sur la souche bactérienne *E.coli* ,ont démontré que l'apigénine induit l'apoptose cellulaire microbienne par activation des systèmes cellulaires oxydatifs qui sont dépendants de la production et l'accumulation des RNS(reactive nitrogen species) et des ROS (reactive oxygen species).

Ming et al. (2017) décrivent le kaempférol comme une petite molécule avec une activité anti-biofilm qui inhiberait spécifiquement la formation de biofilms de *S.aureus*. Les résultats de cette étude ont clairement montré que 64 µg / ml de kaempférol inhibe à 80% la phase d'attachement primaire de la formation du biofilm, il réduit également l'activité de *S. aureus* sortase A (SrtA) et l'expression des gènes liés à l'adhésion. Pendant ce temps, la concentration minimale inhibitrice (CMI) et les résultats de la courbe de croissance ont indiqué que le kaempférol n'avait aucune activité antibactérienne contre la souche bactérienne testée.

D'autres auteurs ont testé l'activité antibactérienne de deux flavonoïdes : kaempférol 3-O-[β-D-glucopyranosyl- (1 → 2) -α-L -rhamnopyranosyl- (1 → 6)] - β-D-glucopyranoside et le kaempférol 3-O- [β-D-xylopyranosyl- (1 → 2) -α-L-rhamnopyranosyl- (1 → 6)] - β-D-glucopyranoside. Les résultats de la mesure de l'activité antibactérienne ont montré que les deux composés ont une excellente activité antibactérienne à large spectre contre *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella enteriditis, Bacillus thuringiensis, Aspergillus niger et Rhizopus nigricans* (Qiu et al.,2020).

Un autre travail de recherche rapporte l'isolement et la caractérisation du flavonoïde, le kaempferol 7-O-β-D- (6 ″ -O-cumaroyl) -glucopyranoside, à partir de feuilles de *Croton piauhiensis*. De plus, l'action antimicrobienne intrinsèque du composé contre les souches *d'Escherichia coli, de Pseudomonas aeruginosa et de Staphylococcus aureus* ont été évaluées. Les résultats des tests d'activité antibactérienne intrinsèque ont révélé que le composé n'avait aucune activité antibactérienne contre les souches testées à des concentrations <1024 µg / mL. La combinaison du flavonoïde à une concentration de 128 µg / mL avec la gentamicine a présenté des effets synergiques contre *S.aureus* et *E. coli* , et a également réduit la CMI de 16 µg / mL à 4 µg / mL et 8 µg / mL, respectivement. L'amikacine a également montré des effets synergiques contre *S. aureus* et E. coli. L'association du flavonoïde avec les aminosides peut être une alternative pour potentialiser les résultats attendus dans le traitement contre *S.aureus* et *E. coli*, car leur association conduit à un effet synergique, réduisant la CMI de ces médicaments et diminuant la dose nécessaire à la thérapeutique (Cruz et al.,2020).

A notre connaissance, Il n'existe pas de travaux portant sur l'activité antibactérienne de l'echinopsine ou l'échinorine mais il faut savoir que plusieurs antibiotiques ont été développés à partir des alcaloïdes tels que les quinolones qui sont issus de la synthèse de la quinine (Shang et al., 2018).

Upadhayaya et al. (2009) ont développé des dérivés de quinoléine grâce à des techniques de modélisation moléculaire qui se sont révélées actives contre la souche *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Il s'agissait de dérivés de 3-benzyl-6-bromo-2-méthoxy quinoléines. Souza et al. (2009) ont développé des dérivés de 7-chloro quinoléine efficaces contre la tuberculose multirésistante. Certaines quinoléines antituberculeuses ont été développées

par Eswaran et al. (2010) utilisant la méfloquine comme chef de file, dans lequel les pharmacophores actifs à savoir hydrazones, urées, thiourées et pyrazoles ont été attachés.

Les alcaloïdes affectent généralement plus les bactéries à Gram-positives que Gram-négatives. Les alcaloïdes quinoléiques contenant des dérivés de la thiourée ont montré une activité antibactérienne significative contre *S. aureus et E. coli* (Benhammou et al., 2019).

Les flindersines et leurs analogues (méthoxyflindersines) sont une nouvelle classe des alcaloïdes quinoléiques qui présentent à la fois des activités antibactériennes et antifongiques vis-à-vis de plusieurs souches microbiennes. Les furoquinoléines et les hydroxyquinoléine-N-oxydes ont aussi manifesté des activités antibactériennes surtout vis-à-vis de *B.cereus* (Shang et al., 2018).

III-7-3-Activité cicatrisante

Au terme de notre démarche d'évaluation du potentiel de la plante *E.spinosissimus* Turra, nous avons pensé à évaluer l'activité cicatrisante d'un seul extrait avec comme critère de choix : l'identification du profil polyphénolique par HPLC/DAD/MS.

C'est pour cette raison que nous avons retenu l'extrait méthanolique des racines de la plante provenant de la région de Mostaganem afin de nous faciliter l'interprétation et la discussion des résultats de l'essai in vivo. Il est à noter que c'est également le premier travail portant sur l'activité cicatrisante de la racine de cette espèce.

III-7-3-1-étude planimétrique

Les valeurs des moyennes des surfaces et les taux de contraction des plaies calculés aux jours 4, 8, 12 et 16 sont rapportés dans le **Tableau 13**.

L'observation macroscopique du diamètre de la zone d'excision de la plaie illustrée sur les **fig. (44,45)** a indiqué que l'application topique de la pommade de l'extrait méthanolique nord (MEO) n'a pas augmenté de manière significative le taux de contraction de la plaie par rapport aux groupes témoins.

Tous les groupes expérimentaux ont montré une diminution progressive de la surface de la plaie du jour 0 au jour 16 **(fig.43)**.

Les résultats ont montré une augmentation du taux de contraction de la plaie de 12.17 à 94.00 % dans le groupe traité avec la vaseline pure. Alors que dans le groupe traité avec la pommade (MEO), il y avait une augmentation de 9.83% à 95.00 % avec une fermeture complète de la plaie à la fin de l'expérience (15 ± 0.53 jours).Dans le groupe témoin MEBO®, le pourcentage variait de 15.33% à 95.5%, tandis que pour le groupe témoin négatif (cicatrisation naturelle), les pourcentages de contraction ont diminué de 25.33% à 94.67%.

Au jour 4 après l'induction de la blessure, G1 (MEBO®) a montré une contraction de 15.33%, tandis que le groupe traité avec l'extrait de la racine méthanolique a montré un pourcentage de 9.83%, G2 et G3 ont montré 25.33% et 12.17% de contraction, respectivement.

Au jour 8, G1 avait un pourcentage de 41.00%, G4 (40.83%) de contraction de la plaie, G2 et G3 avaient respectivement 44.17 et 41.83% de pourcentages de contraction.

Au jour 12 après induction de la plaie, il y avait une contraction de 86.50, 85.33, 90.17 et 87.50% pour G1, G2, G3 et G4 respectivement.

Le dernier jour de l'expérience **(jour 16)**, les pourcentages de contraction étaient approximativement similaires pour G1 (MEBO®) et G4 (MEO) avec des valeurs de 95.5% et 95.00%, respectivement, suivis de G2 (94.67%) puis le G3 (94.00%) par rapport au jour 1 de l'induction de la plaie.

En conséquence, nous pouvons dire que le MEO a une activité de cicatrisation plus proche de MEBO® car il n'y avait pas de différence significative des pourcentages de contraction aux jours 12 et 16 pour les quatre groupes, tandis qu'aux jours 4 et 8, des différences significatives *($p<0.05$)* entre les groupes ont été enregistrés.

Lors de l'analyse de la période de ré-épithélialisation, aucune différence significative entre G1, G3 et G4 par rapport à G2 (contrôle négatif) n'a été signalée **(Tableau 13).**

En comparant nos résultats aux travaux publiés portant sur l'activité cicatrisante de l'espèce *E.spinosissimus* Turra, nous avons trouvé une seule étude réalisée par des

chercheurs sur une espèce dont le biotope est complétement diffèrent (Arabie saoudite) et dont l'organe de la plante ayant fait l'objet de l'étude aussi différent puisque le travail a évalué le potentiel cicatrisant des parties aériennes d'*Echinops spinosus* L. Nous avons constaté que L'extrait MEO provenant de la région Nord (Mostaganem) présentait une meilleure activité de cicatrisation si on compare les surfaces des plaies enregistrées au cours de l'expérience, les valeurs données sont de 0,21 ± 0,06 cm^2 au jour 20 contre 0,17 ± 0,06 cm^2 au jour 16 pour l'extrait MEO testé.

Tableau 13: Effet du traitement topique de l'extrait méthanolique d'*E.spinosissimus* Turra sur les paramétres planimétriques des plaies d'excision pendant 16 jours .

Groupe expérimental	**surfaces (cm^2) et pourcentages des contractions des plaies (%)**					**Temps de ré-épithélialisation (jours)**
	Jour 0	**Jour 4**	**Jour 8**	**Jour 12**	**Jour 16**	
Contrôle Positif (MEBO®) (**G1**)	4.03±0.70***G3**	3.43±0.76***G3** **(15.33%)**	2.37±0.40***G3** **(41.00%)**	0.56±0.31 **(86.50%)**	0.19±0.12 **(95.5%)**	11.50±1.80
Contrôle négatif (non traité) (**G2**)	3.82±0.33	2.86±0.48 **(25.33%)**	2.13±0.48***G3** **(44.17%)**	0.52±0.53 **(85.33%)**	0.19±0.18 **(94.67%)**	12.33±1.88
Vaseline pure (**G3**)	2.47±0.36***G1,G4,G2**	2.13±0.51***G1,G4** **(12.17%)**	1.41±0.12***G1,G2** **(41.83%)**	0.23±0.05 **(90.17%)**	0.15±0.09 **(94.00%)**	11±1
MEO 2% (**G4**)	3.56±0.77***G3**	3.17±0.42***G3** **(9.83%)**	2.11±0.52 **(40.83%)**	0.44±0.12 **(87.50%)**	0.17±0.06 **(95.00%)**	11.83±1.07

L'analyse statistique a été déterminée par ANOVA bidirectionnelle (two-way) suivie du post-test de Bonferroni. Les pourcentages de contraction des plaies dans les groupes testés ont été calculés et comparés aux groupes standards. Les valeurs sont exprimées sous forme de moyennes ± S.E. (n = 6 dans chaque groupe), * significativement différent du groupe mentionné à p <0,05.

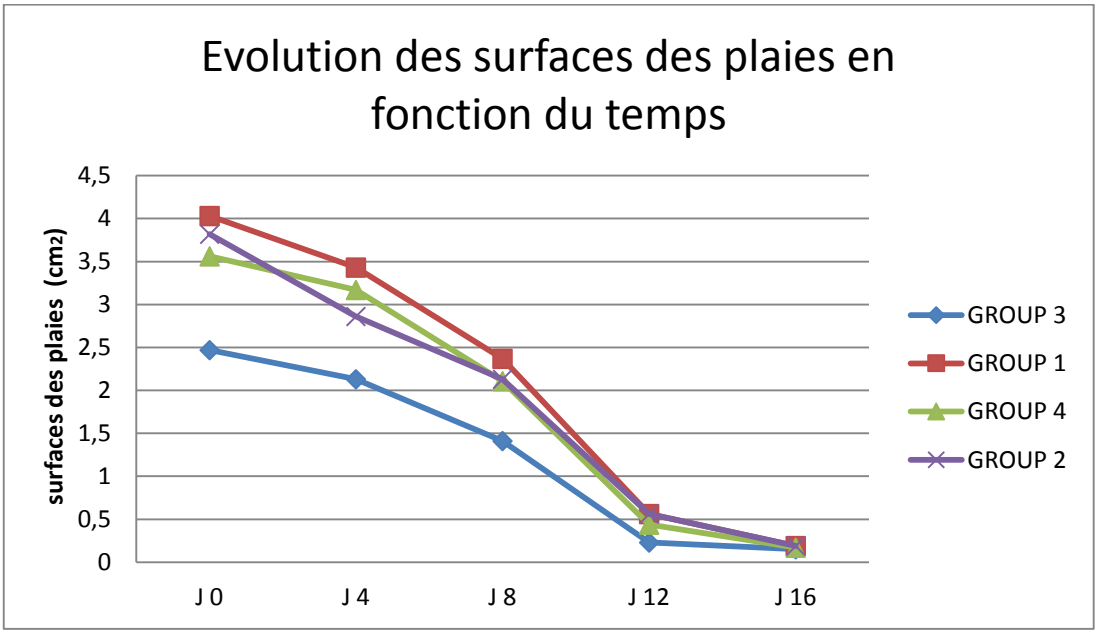


Figure 43 : Courbe de régression des surfaces des plaies au cours des jours des prises des mensurations. G1-MEBO® contenant 0,25% de β-sitostérol; G2-Contrôle négatif; G3-Vaseline pure ; et G4- onguent d'extrait méthanolique de *E.spinosissimus.*

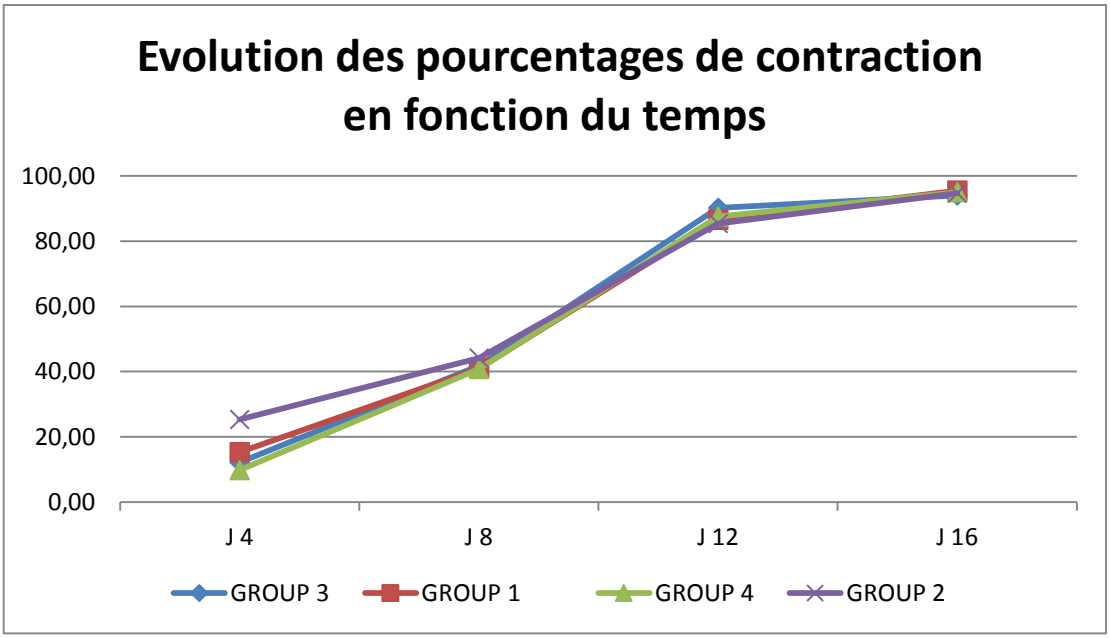


Figure 44 : Courbe d'évolution des pourcentages de contraction des plaies en fonction du temps. G1-MEBO® contenant 0,25% de β-sitostérol; G2-Contrôle négatif; G3-Vaseline pure; et G4- onguent d'extrait méthanolique de *E.spinosissimus.*

III-7-3-2-Etude Histopathologique

Les études expérimentales de la cicatrisation cutanée sur model animal passent par deux Phases, la première étant l'induction et le contrôle des lésions, suivi d'une phase d'évaluation et de suivi de la cinétique de la cicatrisation.

Afin d'estimer la qualité de la cicatrisation des différents lots expérimentaux, des coupes histologiques réalisées au 16éme jour post induction des plaies, étudiées pour la détermination du degré de prolifération des fibroblastes (fibrogenèse), de la ré-épithélialisation, d'angiogenèse et de dépôt de collagéne **(fig.46).**

Du point de vue structure, la peau du rat est formée par : l'épiderme, le derme et du muscle strié sous-cutané (*panniculus carnosus*), avec présence de follicules pileux et de glandes sébacées, mais absence de glandes sudoripares (Vidinsky et al., 2006).

A j16, Les zones des plaies traitées à l'extrait MEO, étaient complétement recouvertes de cellules épidermiques avec une cicatrisation complète du tissu, régénération épithéliale et un derme bien organisé associée à quelques cellules inflammatoires **(fig.50)**. Un tissu conjonctif fibreux caractérisé par une bonne production de collagène a été ainsi constaté (faisceaux denses bien organisés de fibres de collagène composant une matrice de collagène mature).

Le tissu avait une meilleure organisation que la plupart des autres groupes **(fig.47, 48,49)** avec une structure très similaire à une peau normale. On a observé la présence de cellules en pleine mitose au niveau de l'épiderme qui était très bien structuré avec une néoangiogénése accrue en présence de pleins de petits vaisseaux sanguins témoignant d'un processus cicatriciel évolutif étant donné que l'angiogenèse favorise l'apport de l'oxygène et des nutriments afin de promouvoir le tissu de granulation . La présence de kératinocytes a été également notifiée. Les structures auxiliaires de la peau telles que les glandes pilo-sébacées étaient également fortement représentées sur les coupes.

Nous avons également remarqué la présence d'infiltrats inflammatoires d'intensités variant d'un groupe à l'autre **(fig.47, 50)**. Il faut savoir que l'infiltration cellulaire des monocytes dans les plaies traitées peut être imputée à l'effet chimiotactique des extraits qui auraient attiré des cellules inflammatoires vers le site de la plaie (Yadav et al., 2012).

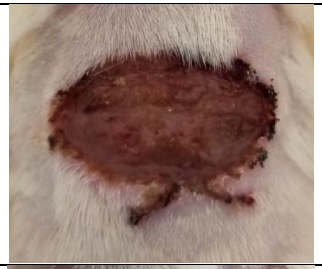
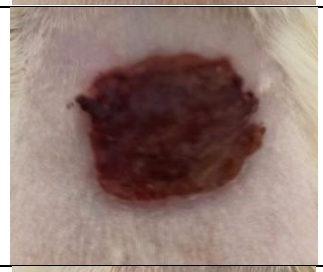
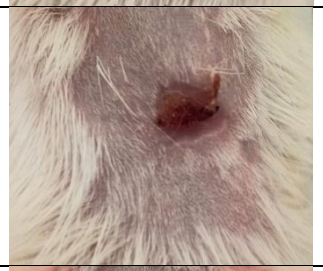
	G1	G2	G3	G4
Jour 4				
Jour 8				
Jour 12				
Jour 16				

Figure 45 : Représentation morphologique de la contraction des plaies d'excision du 4éme au 16éme jour de l'essai in vivo.

Il ressort de l'analyse anatomopathologique des coupes animales que l'extrait méthanolique d'*E. Spinosissimus* pourrait présenter une action pro-cicatrisante et ce en favorisant la prolifération cellulaire, le dépôt de collagène, la néo-angiogenèse et la ré-épithélialisation.

III-7-3-3- Corrélation entre phytoconstituants, activités biologiques et propriétés cicatrisantes

La cicatrisation des plaies est un mécanisme complexe et dynamique secondaire aux blessures entraînant ainsi la reproduction du tissu endommagé. Elle nécessite une coordination précise entre la restauration du tissu conjonctif, l'angiogenèse et la réépithélialisation (Wu et al., 2012).

L'épithélialisation est un processus qui implique la prolifération et la migration des cellules épithéliales à travers la plaie (Kundu et al., 2016). Il a été confirmé à travers plusieurs études que l'activité cicatrisante de toute substance testée, est principalement définie par une courte période d'épithélialisation et une bonne évolution des pourcentages de contraction de la plaie (Suntar et al., 2010).

L'extrait méthanolique *d'E. Spinosissimus* Turra pourrait améliorer la qualité de la cicatrisation des plaies. Ceci est principalement attribué à la composition phytochimique de l'extrait. Les flavonoïdes et les tanins semblent être responsables de l'augmentation du taux de contraction de la plaie en raison de leurs propriétés astringentes, antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires et antiallergiques, ils augmentent l'angiogenèse et la prolifération des fibroblastes (Trevisanato et al., 2000).

L'apigénine, le kaempférol et leurs glycosides auraient des propriétés cicatrisantes (Adhav et al., 2015; Soni et al., 2012; Abdennabi et al., 2016). Il a été rapporté dans une étude que le kaempférol-3-O-glucoside d'*Ipomoea carnea* a augmenté le taux du dépôt de collagène, la teneur en hydroxyproline du tissu de granulation et la prolifération des fibroblastes (Ambiga et al., 2007).

Selon Clericuzio et al. (2012), le kaempférol-3-O - [(6-caffeoyl) -b-glucopyranosyl (1-3) a-rhamnopyranoside] -7-O-α-rhamnopyranoside peut accélérer la migration des kératinocytes.

Dans une autre étude, les animaux traités avec 1% (p / p) de pommade de kaempférol ont manifesté le plus grand effet cicatrisant dans les plaies excisionnelles diabétiques et incisionnelles non diabétiques (92,12 et 94,17%, respectivement) (Özay et al., 2019).

L'apigénine (4 ', 5,7-trihydroxyflavone) agirait sur l'activité de la collagénase en plus de sa propriété anti-inflammatoire (Lee et al., 2007). De plus, des auteurs ont constaté que l'apigénine atténue les lésion pulmonaires aiguës chez la souris via une diminution de la production de cytokines pro-inflammatoires (IL-6 et IL-1β, le TNF-α) grâce à l'inhibition des voies d'activation COX-2 et NF-κB (Wang et al., 2014; Zhang et al., 2014).

En outre, des potentiels analgésiques et anti-inflammatoires de l'apigénine ont été avancés en raison de l'inhibition de la PGE2 ainsi que des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1β, l'IL-6 et le TNF-α sur des modèles murins (El Shoubaky et al., 2016).

L'apigénine-7-O- (6 ' - O-E-caffeoyl) -β-D-glucopyranoside a montré des propriétés cicatrisantes significatives révélées par la diminution de la surface de la plaie et une augmentation significative du temps d'épithélialisation (Manivannan., 2016).

Choi et coll. (2016) ont rapporté l'efficacité in vitro et clinique de l'apigénine en régénérant et protégeant la viabilité des fibroblastes dermiques humains normaux (nHDF) trouvés diminués par exposition aux rayons ultraviolets (UV). De plus, l'apigénine s'est avérée diminuer l'expression de la collagénase et de la métalloprotéinase de matrice (MMP) -1, dans les nHDF irradiés aux UVA. L'apigénine-7-O-glucoside et le schaftoside ont également induit l'expression de l'ARNm du collagène de type III, ce qui suggère qu'il stimule l'expression du collagène via différents mécanismes (Banzragch et al., 2017).

Selon Tu et al (2017), l'apigénine est un facteur favorisant l'angiogenèse via la voie de signalisation de la cavéoline-1. Dans une autre étude, l'effet cicatrisant du gel à base de chitosane avec de la vitexine (Apigénine) a démontré un effet significatif par rapport au groupe témoin avec une prolifération cellulaire significative dans le test de cicatrisation des plaies réalisé avec des cellules NIH 3T3 et HaCaT (Bektas et al., 2020).

L'apigénine a considérablement réduit in vitro, les réponses inflammatoires et allergiques, elle pourrait être utilisée pour améliorer les fonctions des barrières cutanées

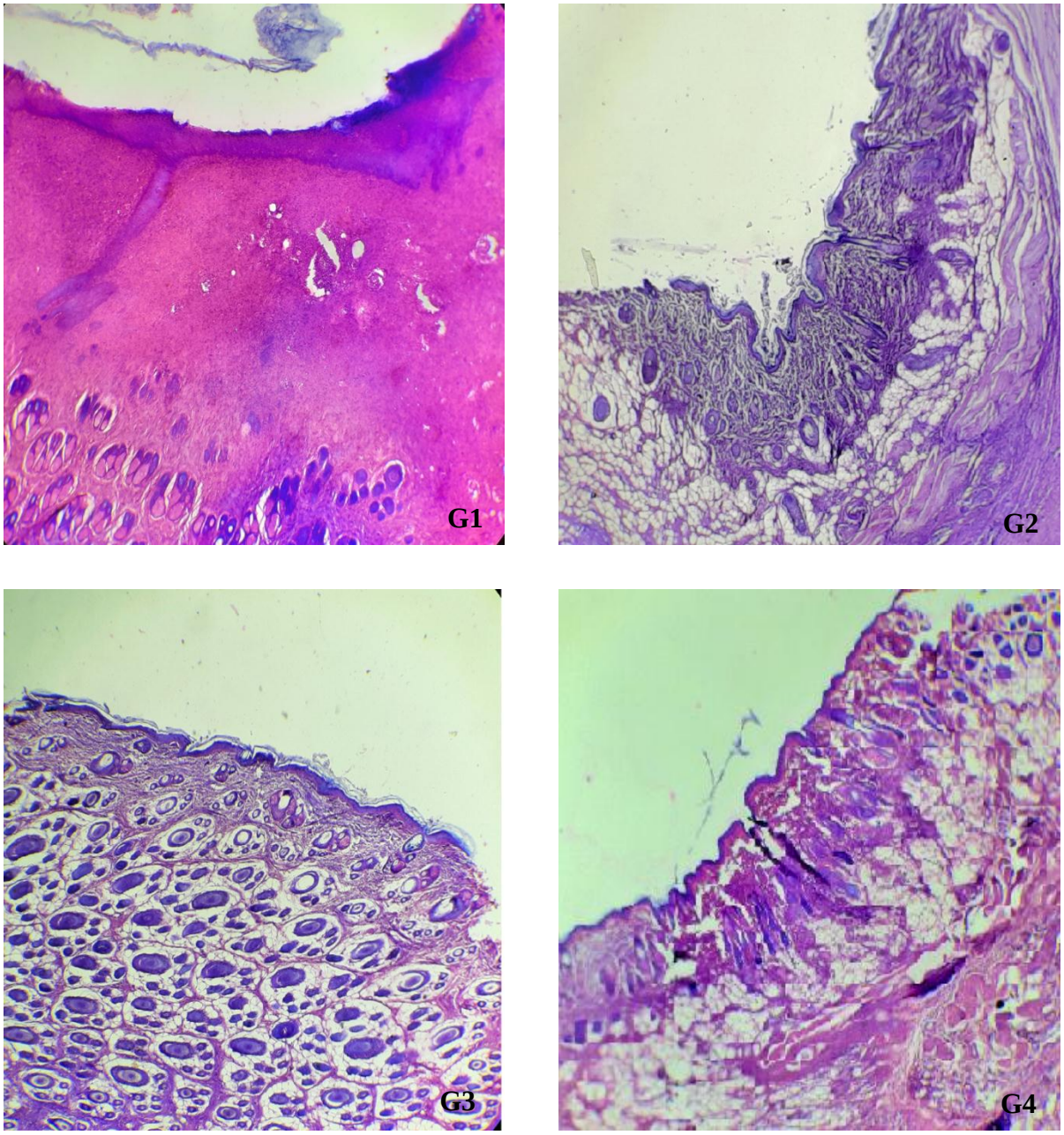


Figure 46 : Coupes histologiques des tissus cutanés obtenus à partir du modèle de plaie d'excision au 16e jour, observées au microscope photonique (Gr x: 100); G1 (contrôle positif MEBO®): épiderme acanthosique kératinisé, néoangiogenèse, présence de certains neutrophiles témoignant d'une inflammation modérée, infiltrat inflammatoire polymorphe, collagène en petites quantités avec fibrose modérée. G2 (contrôle négatif; sans aucun traitement): Épiderme superficiel de structure normale, pas d'inflammation et présence de collagène plus prononcée; G3 (vaseline): épiderme d'épaisseur régulière kératinisé surmontant un derme conjonctivo-vasculaire comportant des éléments inflammatoires, des glandes sébacées et des follicules pileux ; absence de fibrose et présence d'un dépôt normal de collagène ; G4 (MEO d'*E. spinosissimus* Turra.): Épiderme d'épaisseur régulière, kératinisé, surmontant un derme conjonctif et vasculaire comportant des structures annexes telles que les glandes sébacées et les follicules pileux. Présence de quelques lymphocytes et de petits vaisseaux sanguins. Un collagène de densité modérée, une fibrose régulière a également été notifiée.

physiques et chimiques et pour soulager le psoriasis, l'acné et la dermatite atopique (Park et al., 2020).

Les C-glycosides flavonoïdes sont connus pour posséder des propriétés biologiques utiles, notamment des propriétés antioxydantes et cicatrisantes, ce qui a été démontré par Zain et al (2020) lorsqu'il a testé des fractions enrichies en C-glycosides flavonoïdes (orientine, iso-orientine, vitexine et isovitexine) montrant de meilleures activités de prolifération et migration cellulaires des cellules fibroblastes 3T3 et ce à de faibles concentrations qu'à des concentrations élevées.

La présence ou non de radicaux libres (ROS) sur ou autour du lit de la plaie peut accélérer ou au contraire retarder le processus de cicatrisation car bien que les (ROS) soient essentielles pour protéger l'organisme contre le développement d'une infection, mais, lorsqu'ils sont présents en excès, ils peuvent simultanément endommager les tissus environnants par l'annihilation des lipides, des protéines, du collagène, du protéoglycane et de l'acide hyaluronique. Les phytoconstituants qui manifestent une activité anti-oxydante significative peuvent donc conserver les tissus viables et améliorer le processus cicatriciel (Yeoh et al., 2000).

L'excès de ROS ralentit l'angiogenèse, la phosphotyrosine phosphatase, et les résidus sulfhydryle qui sont des enzymes agissant comme des centres catalytiques impliquées dans les voies de signalisation, sont très sensibles aux modifications oxydatives. La production excessive de ROS conduit à un stress oxydatif responsable d'une cytotoxicité et d'un retard de la cicatrisation (Cho et al., 2004).

Les composés phénoliques fonctionnent comme des antioxydants non enzymatiques, ainsi, le pouvoir antioxydant de l'extrait testé *d'E.spinosissimus* démonté par cette étude peut conduire à une modulation de la peroxydation lipidique, une amélioration du statut antioxydant et manifester des effets protecteurs de l'ADN cellulaire (Murthy et al., 2013).

Au tout début de la cicatrisation, la plaie risque une surinfection qui peut influencer négativement la cicatrisation et même conduire à la chronicité de la plaie (Landis et al., 2008). Les microorganismes pathogènes retardent la cicatrisation par plusieurs mécanismes à savoir la production persistante des médiateurs inflammatoires qui prolongent la phase inflammatoire tels que l'interleukine-1 (IL-1) et le TNF α, l'activation

continue des neutrophiles qui produisent des enzymes cytolytiques et des ROS, la production des déchets métaboliques et des toxines ; la réduction de la fibrogénése et de la production du collagène (Saiah et al.,2018).

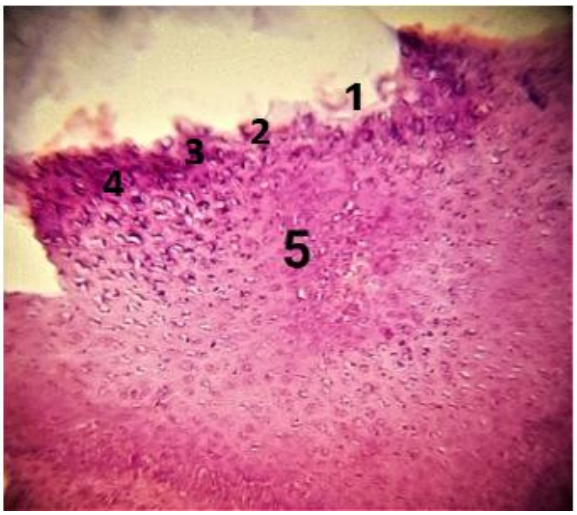
Dans une étude visant à identifier les agents pathogènes bactériens présents dans les plaies infectées de 213 patients; les souches bactériennes les plus fréquemment identifiées étaient *Staphylococcus aureus* (37%), *Pseudomonas aeruginosa* (17%), *Proteus mirabilis* (10%), *Escherichia coli* (6%) et *Corynebacterium spp*. (5%) (Bessa et al., 2015).

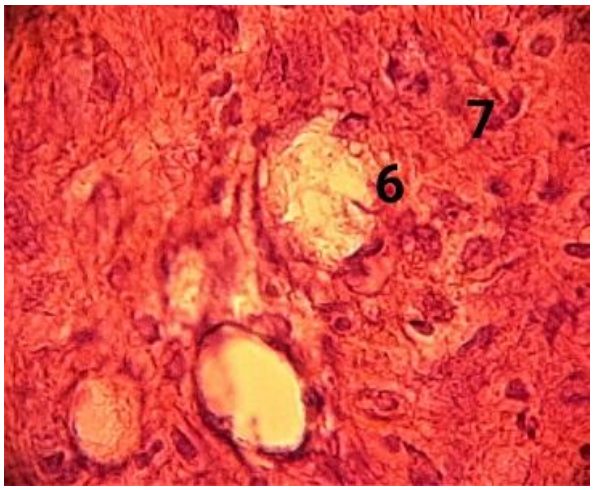
Les résultats de la présente analyse ont signalé que l'extrait méthanolique en question possède une bonne activité antibactérienne surtout vis avis de *P.aeruginosa et E.coli* . Cette activité peut être due à la présence des composés phénoliques qui peuvent agir en modifiant la perméabilité de la membrane cellulaire bactérienne (Souza et al., 2016). L'effet antibactérien semble être une propriété essentielle d'un bon agent de cicatrisation (Houghton et al., 2005).

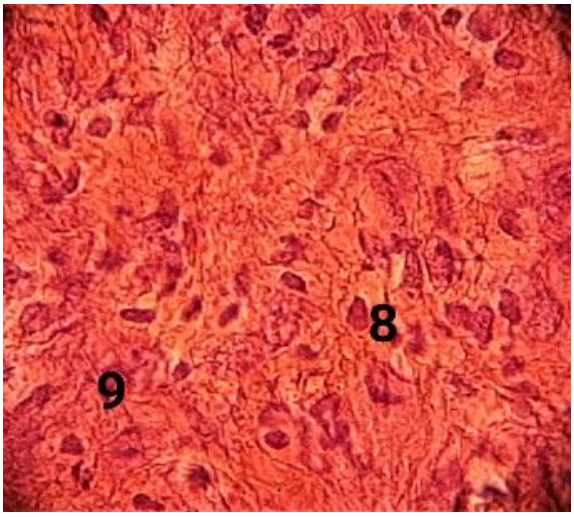
IV-CONCLUSION

En résumé, l'extrait méthanolique des racines d'*Echinops spinosissimus* Turra provenant de la région Nord-ouest de l'Algérie s'est avéré présenter une activité antioxydante ainsi qu'une activité antibactérienne, contre les bactéries à Gram négatif, en particulier *P. aeruginosa*.

Sur la base de son potentiel antibactérien, antioxydant et polyphénolique, l'extrait de racine méthanolique *d'E. Spinosissimus* a présenté un potentiel cicatrisant sur des modèles de rats expérimentaux. Des recherches plus approfondies sur les extraits de cette espèce sont nécessaires afin d'aboutir à une exploration plus approfondie car il est considéré que cette plante est une source de substances phytochimiques pharmacologiquement actives ayant des effets bénéfiques utiles pour la promotion de la santé et la prévention des maladies.







1 : Couche cornée

2 : Couche des grains

3 : Couche épineuse

4 : Couche germinale

5 : Derme (tissus conjonctif très dense non orienté)

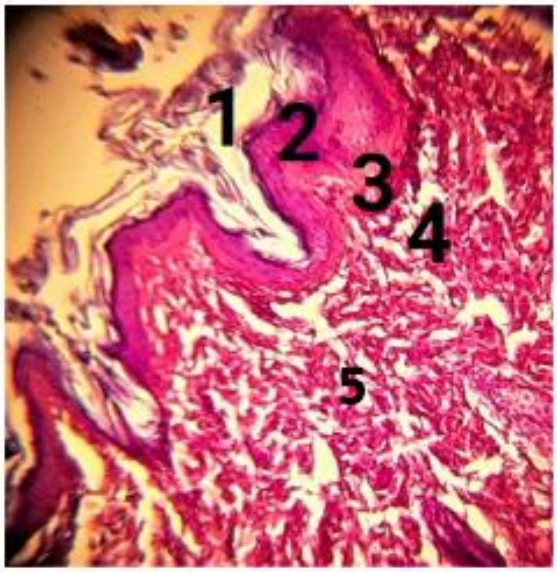
6 : capillaires sanguins néoformés

7 : Fibrose

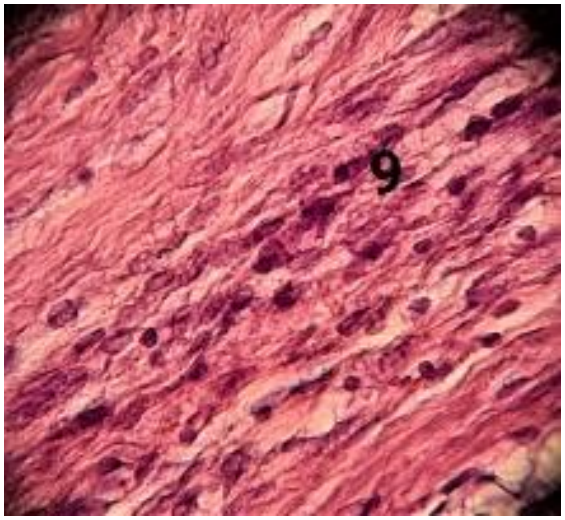
8 : infiltrat inflammatoire +++++++

9 : Fibrose intense

Figure 47 : Observation au microscope optique GX100 des caractères anatomopathologiques des tissus d'excision de peau du groupe G 1 à J16.

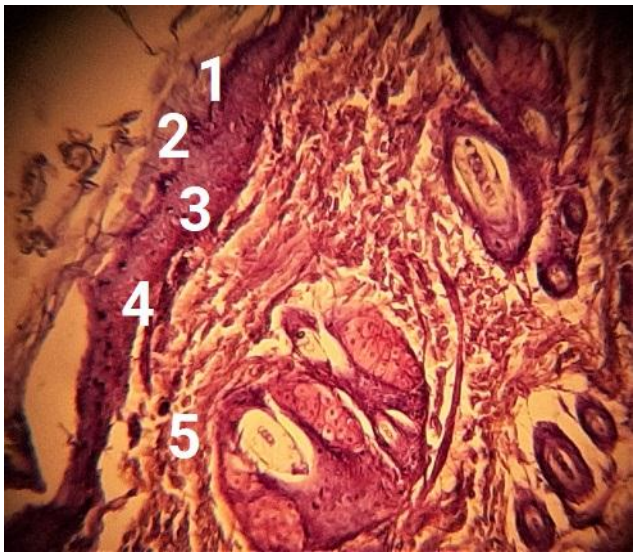


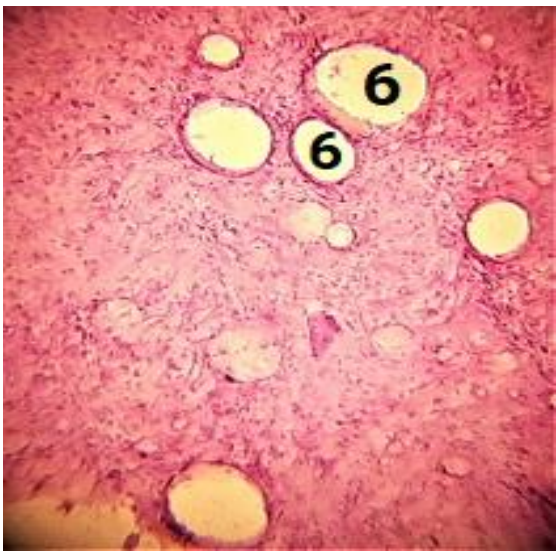


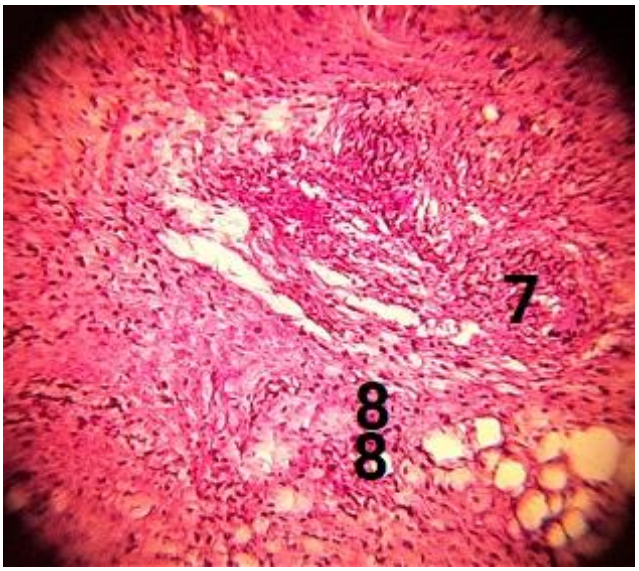


1 : Couche cornée
2 : Couche des grains
3 : Couche épineuse
4 : Couche germinale
5 : Derme (Tissus conjonctif dense non orienté)
6 : capillaires sanguins néoformés
7 : Fibrose
8 : infiltrat inflammatoire
9 : fibroblaste

Figure 48 : Observation au microscope optique GX100 des caractères anatomopathologiques des tissus d'excision de peau du groupe G 2 à J16.







1 : Couche cornée

2 : Couche des grains

3 : Couche épineuse

4 : Couche germinale

5 : Derme (tissus conjonctif dense non orienté)

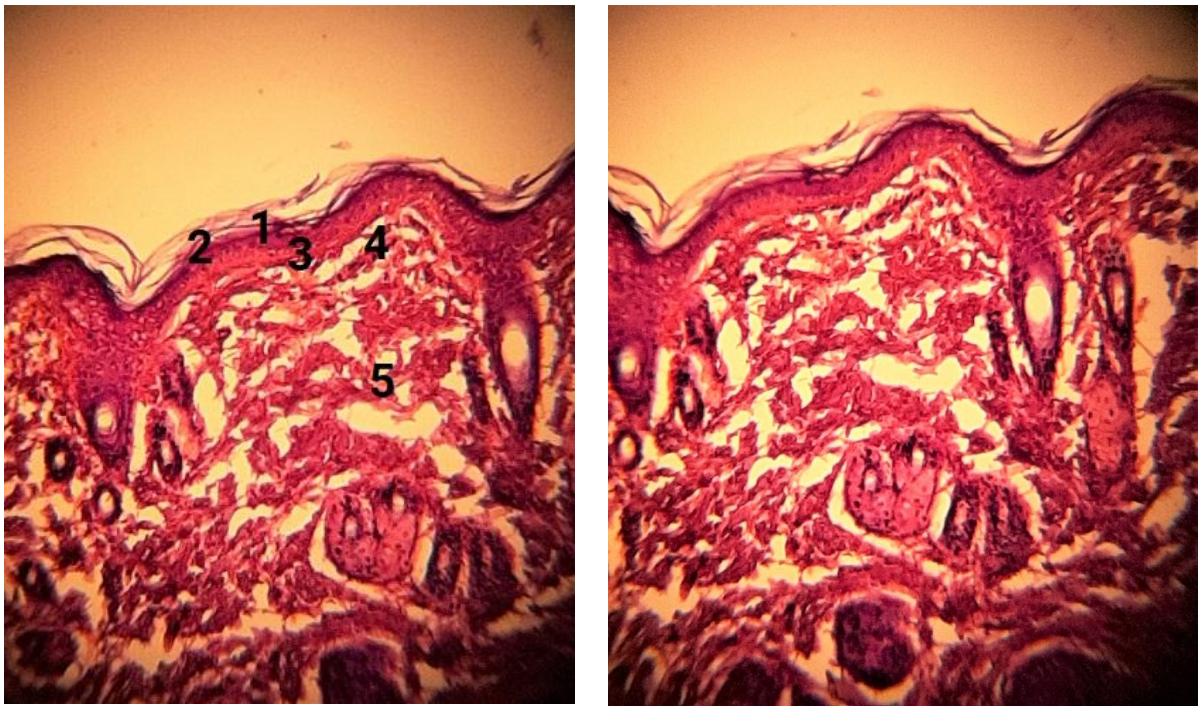
6 : capillaires sanguins néoformés

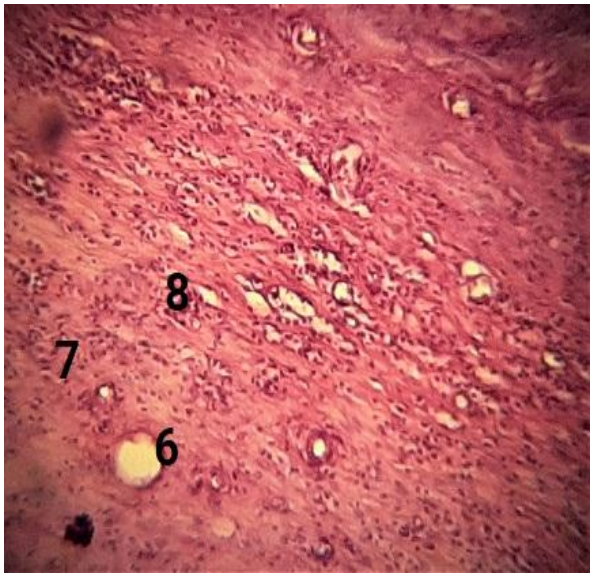
7 : Fibrose

8 : infiltrat inflammatoire

Observation : épithélialisation sans papilles dermiques

Figure 49 : Observation au microscope optique GX100 des caractères anatomopathologiques des tissus d'excision de peau du groupe G 3 à J16.





1 : Couche cornée

2 : Couche des grains

3 : Couche épineuse

4 : Couche germinale

5 : Derme (tissus conjonctif dense non orienté)

6 : capillaires sanguins néoformés

7 : Fibrose

8 : infiltrat inflammatoire ++++

Observation : épithélialisation avec papilles dermiques.

Figure 50 : Observation au microscope optique GX100 des caractères anatomopathologiques des tissus d'excision de peau du groupe G 4 à J16.

Conclusion générale

Conclusion

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à une plante Algérienne peu étudiée du point de vue botanique et phytochimique, nous avons par conséquent jugé opportun de commencer le travail par la réalisation d'une enquête ethnobotanique pour décrire les usages traditionnels de la plante en Algérie.

Nous avons également étudié la composition en polyphénols et alcaloïdes des divers extraits des racines d'*E.spinosissimus* Turra provenant de deux régions d'Algérie.

Nous savons que les métabolites secondaires issus des végétaux sont responsables de plusieurs activités biologiques, nous avons donc évalué l'activité antioxydante, antibactérienne et cicatrisante des parties sous-terraines de la plante.

Au terme de l'enquête ethnobotanique, nous avons montré l'importance de cette espèce en médecine traditionnelle algérienne et ce dans les régions de Mostaganem, Oran et Ain Sefra. Il s'est avéré que c'est une espèce largement utilisée par la population, 94% des herboristes à Mostaganem et 100% à Oran et Aïn Safra connaissent cette plante. En effet elle est très répandue dans la région de l'Oranie ainsi que dans le Sahara Algérien.

« Teskra » semble être le nom vernaculaire arabe le plus répandu dans les trois régions et la partie utilisée de la plante est présentée majoritairement par les racines et ce quel que soit la station étudiée.

Les résultats ont montré également que le mode de préparation le plus cité est la décoction tout en notant que la majorité des herboristes ne préconisent pas d'associer *E.spinosissimus* à d'autres plantes. L'usage interne reste le mode de préparation le plus utilisé (80% à Mostaganem, 86% à Oran et 100% à Aïn Safra) pour le traitement essentiellement des pathologies génitales (abortive, en post accouchement, dysménorrhée), gastro-intestinales (indigestion, problèmes digestifs en général) ainsi que pour l'amélioration de la circulation sanguine.

Conclusion générale

Au cours des examens microscopiques, nous avons pu déterminer les caractéristiques diagnostiques de la poudre de racines, des feuilles et des inflorescences. Il s'agit d'une poudre brunâtre, avec une odeur aromatique caractéristique et un goût astringent.

Au niveau de la racine, il a été observé une abondance de scléreides dont la taille et la forme varient considérablement. De nombreux poils tecteurs ou trichomes couvrants sont également notés, Abondance des cristaux d'oxalate de calcium en épars, sous forme de raphides (aciculaires).

Les feuilles sont caractérisées par une abondance de poils glandulaires à pied unicellulaire et à têtes bicellulaires. De plus, deux types différents de poils glandulaires ont été observés : poils à pied unisériée et à tête unicellulaire, poils à pied bisériés et à tête pluricellulaire.

La poudre des fleurs est caractérisée par une abondance de groupes de cellules fibreuses, de cellules contenant de l'oléorésine et de petits poils tecteurs convergents et courts avec abondance des raphides d'oxalate de calcium sous forme de prismes ou encore d'aiguilles minces et allongées.

Le criblage phytochimique préliminaire des racines a mis en évidence la présence de plusieurs composés chimiques biologiquement intéressants. Il s'agit des substances polyphénoliques (tanins et flavonoïdes), d'alcaloïdes, d'huiles essentielles, de mucilage et de terpènes. Par contre, nous avons constaté l'absence des coumarines.

Après analyse des résultats obtenus des différents extraits, nous avons observé que la meilleure teneur en polyphénols totaux est enregistrée avec l'extrait aqueux nord (**282,24** ± 7,06) mg EAG/g suivi de l'extrait acétate éthyle sud (**280,93** ± 6,92) mg EAG/g et enfin l'aqueux sud avec une teneur de (**230,28** ± 14,75) mg EAG/g. La meilleure teneur en flavonoïdes et en tanins condensés est notée pour l'extrait acétate éthyle nord avec des teneurs de (**72,29** ± 2,14) mg EC/g et (**298,15** ± 12,75) mg EC/g respectivement.

Conclusion générale

Les investigations chromatographiques réalisées sur les racines *d'E.spinosissimus* Turra par HPLC-PDA-ESI-MS, ont permis d'identifier quatorze composés phénoliques ; L'apigénine et ses dérivés sont les composés majoritaires, on a observé également la présence de kaempférol et ses dérivés, Eriodictyol-4'-O-néohesperidoside-7-O- glucoside, Isorhamnetin-3-O-rutinoside, trois acides phénoliques ; Acide chlorégénique, cinnamique et caféique et enfin la quercétine 3-galactoside.

Selon nos connaissances, il s'agit du premier travail sur la composition phénolique de l'extrait méthanolique de la racine *d'E. Spinosissimus* Turra .

L'analyse par HPLC/UV des extraits à 330 nm ont révélé que seulement deux extraits végétaux contenaient des alcaloïdes, il s'agit des extraits méthanoliques provenant des deux régions, deux pics correspondant à deux alcaloïdes ont été enregistrés : échinopsine et échinorine.

L'estimation de l'activité antioxydante des extraits a été évaluée par l'étude de leur capacité antioxydante totale et leur pouvoir à piéger 50 % du radical DPPH (CI50). Tous les extraits présentent des activités antioxydantes différentes ; L'extrait aqueux Nord possède la meilleure capacité antioxydante totale qui est de l'ordre de 91,48 ± 1,49 mg EAA/g. suivi par l'extrait acétate éthyle nord avec une capacité de 84,83 ± 1,08 mg EAA/g puis vient l'extrait aqueux et méthanolique sud avec des valeurs de 66,80 ± 4,24 mg EAA/g et 60,44 ± 0,63 mg EAA/g respectivement.

Des effets scavengers du radical DPPH, ont été constatés avec l'extrait méthanolique de la région sud des racines d'*E.spinosissimus* (95.15 ± 1.04 %) et l'extrait aqueux de la région nord avec une valeur de (87.58 ± 0.05 %). L'acide ascorbique a présenté des CI50 de 0.090±0.002 mg/ml, significativement ($p < 0.05$) inférieure en la comparant à la meilleure valeur de IC 50 enregistrée pour l'extrait méthanolique sud (2,48 ± 0,16 mg/mL).Ceci nous a permis de déduire que l'activité antioxydante des extraits n'est pas forcément en relation avec la quantité des polyphénols présents dans la plante.

Conclusion générale

Il ressort des résultats obtenus de l'activité antibactérienne que presque tous les extraits ont manifesté un effet inhibiteur sur les souches bactériennes testées a une concentration donnée, excepté deux extraits qui ont été inactifs vis avis de certaines souches à savoir : extrait aqueux nord (*E.coli*) et extrait acétate éthyle sud (*P.aeruginosa, S.aureus*).

L'importance de cet effet antimicrobien varie considérablement selon la composition chimique de ces extraits : la polarité du solvant et ou des substances extractibles. L'extrait méthanolique nord a présenté les plus grandes zones d'inhibition (12.33±0.57 mm) pour *P. aeruginosa* ,suivi de l'extrait aqueux nord avec des diamètres d'inhibition variant de 8 à 12mm et des CMI estimées à 12.5±0, 41.66±0 et 25±0 mg/ml pour les souches *E.coli P.aeruginosa et S.aureus* respectivement .Cependant l'extrait aqueux sud a donné un effet positif sur toutes les souches testées quel que soit la concentration avec des CMI de 16.66±5.9 mg/ml pour *E.coli* et de 20.83±59 , 50±0 mg/ml pour *P.aeruginosa et S.aureus* respectivement.

S. aureus s'est montrée résistante aux différentes concentrations testées (100, 200 et 400 mg / mL) de l'extrait méthanolique nord de la racine d'*E. Spinosissimus*. En revanche, on observe une activité modérée envers les deux autres souches bactériennes notamment contre *P. aeruginosa* mais à des concentrations élevées (200-400 mg / mL) avec des CMI de 25 ± 0 mg / ml pour *P.aeruginosa et S.aureus* tandis que pour *E. coli* , la CMI est estimée à 50 ± 0 mg / ml.

Au terme de notre démarche d'évaluation du potentiel de la plante *E.spinosissimus* Turra, nous avons effectué un essai in vivo sur l'activité cicatrisante d'un seul extrait avec comme critère de choix : l'identification du profil polyphénolique par HPLC/DAD/MS.

C'est pour cette raison que nous avons retenu l'extrait méthanolique des racines de la plante provenant de la région de Mostaganem .Il est à noter que c'est également le premier travail portant sur l'activité cicatrisante de la racine de cette espèce.

L'observation des paramètres planimétriques de la zone d'excision de la plaie des 4 lots de rats expérimentaux, a indiqué que l'application topique de la pommade de l'extrait méthanolique nord (MEO) n'a pas augmenté de manière significative le taux de contraction de la plaie par rapport aux groupes témoins. Tous les groupes expérimentaux ont montré une diminution progressive de la surface de la plaie du jour 0 au jour 16.

L’analyse de la période de ré-épithélialisation, n’a signalé aucune différence significative entre G1, G3 et G4 par rapport à G2 (contrôle négatif).

Par contre les résultats de l’analyse histopathologique de tissus d’excision à j16, a mis en évidence que les zones des plaies traitées à l’extrait MEO, étaient complétement recouvertes de cellules épidermiques avec une cicatrisation complète du tissu, une bonne régénération épithéliale et un derme bien organisé associée à quelques cellules inflammatoires. Un tissu conjonctif fibreux caractérisé par une bonne production de collagène a été ainsi constaté, Le tissu avait une meilleure organisation que la plupart des autres groupes avec une structure très similaire à une peau normale avec présence de cellules en pleine mitose au niveau de l'épiderme qui était très bien structuré et une néo angiogenèse accrue en présence de pleins de petits vaisseaux sanguins témoignant d’un bon processus cicatriciel évolutif .

L'extrait méthanolique *d'E. Spinosissimus* Turra pourrait améliorer la qualité de la cicatrisation des plaies. Ceci est principalement attribué à la composition phytochimique de l'extrait. L’analyse qualitative des principaux composés phénoliques contenus dans l’extrait testé, se trouve très utile pour expliquer les relations entre la capacité cicatrisante et les teneurs phénoliques. Les composés majoritaires de l’extrait méthanolique nord tels que L'apigénine, le kaempférol et leurs glycosides auraient des propriétés cicatrisantes par l’augmentation du taux de synthèse du collagène, l’amélioration de l’angiogénèse et de la prolifération cellulaire.

Les résultats obtenus *in vitro* et *in vivo* mettent en exergue, l’effet prometteur de l’extrait brut des racines *d’E.spinosissimus* Turra quant à son pouvoir antioxydant, antibactérien et cicatrisant, mais d'autres études plus poussées sont souhaitables.

Pour plus d'efficacité, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées :

-Elargissement des régions de l'enquête ethnobotanique pour mieux cerner l'usage traditionnel de la plante à travers le pays mais surtout pour mieux le sécuriser.

-Penser à étudier l'extrait éther de pétrole provenant des racines car il peut contenir des composés phytochimiquement et biologiquement très intéressants.

-Investiguer la composition chimique et les propriétés pharmacologiques de l'huile essentielle contenue dans la racine de la plante.

-Analyse du sol des deux régions nord et sud pour tenter d'expliquer les différences des teneurs en métabolites primaires ou secondaires de la plante.

-Elargissement du panel des activités antioxydantes in vitro et in vivo.

-Amélioration de l'effet cicatrisant par l'utilisation de formes galéniques facilitant la pénétration et l'absorption des principes actifs tels que les nanoparticules très utilisés actuellement en dermatologie.

-La purification des principes actifs responsables de ces propriétés pharmacologiques est fortement recommandée pour approfondir les connaissances sur les différentes molécules pourvues de ces activités et aussi pour cerner d'une manière plus fine les différentes actions possibles de ces composés et leur synergie.

-Réalisation des études de toxicité aigüe et chronique des extraits bruts ou des composés majoritaires de la plante.

Références bibliographiques

Abdallah Emad, M., El-Ghazali Gamal, E. (2013). Screening for antimicrobial activity of some plants from Saudi folk medicine. Global J Res. Med. Plants & Indigen. Med.| Volume, 2(4), 210-218.

Abdallah, H. M., Ezzat, S. M., Dine, R. S., Abdel-Sattar, E., and Abdel-Naim, A. B. (2013). Protective effect of *echinops galalensis* against CCl_4-induced injury on the human hepatoma cell line (Huh7). *Phytochem. Lett.* 6, 73–78.

Abd-Ellatif, S., Abdel Rahman, S. M., and Deraz, S. F. (2011). Promising antifungal effect of some folkloric medicinal plants collected from El-Hammam habitat, Egypt against dangerous pathogenic and toxinogenic fungi. *J. Agric. Biol. Sci.* 6, 25–32.

Abdennabi, R., Bardaa, S., Mehdi, M., Rateb, M. E., Raab, A., Alenezi, F.N., Belbahri, L. (2016). Phoenix dactylifera L. sap enhances wound healing in Wistar rats: Phytochemical and histological assessment. International Journal of Biological Macromolecules, 88, 443–450.

Abderrahim, O., Martin, G. J., and Abdelaziz, A. (2013). Botanical identification and ethno-medicinal uses of some underground part of medicinal plants collected and traded in Marrakech region. J. Med. Plants. Res. 7, 2165–2169.

Abdou Bouba, A., Njintang Yanou, N., Foyet, H., Scher, J., Montet, D., and Mbofung, C. M. (2012). Proximate composition, mineral and vitamin content of some wild plants used as spices in Cameroon. Food Nutr. Sci. 3, 423–432.

Abe E., Delyle S.G., Alvarez J.C., 2010- Extraction liquide-liquide : théorie, applications, difficultés Liquid-liquid extraction : theory, applications and difficulties Annales de Toxicologie Analytique, 22(2) : 51- 59.

Abouri M, El Mousadik A, Msanda F, Boubaker H, Saadi B, Cherif K. An ethnobotanical survey of medicinal plants used in the Tata Province, Morocco. Int J Med Plants Res 2012; 1(7):99–123.

Abouri, M., Mousadik, A. E., Msanda, F., Boubaker, H., Saadi, B., and Cherifi, K. (2012). An ethnobotanical survey of medicinal plants used in the Tata Province, Morocco. Int. J. Med. Plant. Res. 1, 99–123.

Aburjai, T., Darwish, R. M., Al-khalil, S., Mahafzah, A., and Al-abbadi, A. (2001). Screening of antibiotic resistant inhibitors from local plant materials against two different strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Ethnopharmacol.* 76, 39–44.

Adhav, R., Mantry, P., Darwhekar, G. N. (2015). Wound healing medicinal plant of India: A Review. Int J Pharmacogn, 2, 6-10.

Adouane S. ; 2016. Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès. Mémoire de magistère en sciences agronomiques. Université Mohamed Khider, Biskra, 191p.

African Plant Database. (2020).Version 3.4.0. Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève and South African National Biodiversity Institute, Pretoria. http://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/africa/ details.php? Langue=fr&id=137404.

Agence nationale d'intermédiation et de régulation foncière (ANIREF). Rubrique Monographie Wilaya. Wilaya de Mostaganem 16/07/2011.

Agence nationale d'intermédiation et de régulation foncière (ANIREF). Rubrique Monographie Wilaya. Wilaya de Naâma 06/11/2013.

Agrawal, M., Nahata, A., and Dixit, V. K. (2012). Protective effects of *echinops echinatus on* testosterone-induced prostatic hyperplasia in rats. *Eur. J. Integr. Med.* 4, 177–185.

Agyare, C., Boakye, Y. D., Bekoe, E. O., Hensel, A., Dapaah, S. O., & Appiah, T. (2016). African medicinal plants with wound healing properties. Journal of ethnopharmacology, 177, 85-100.

Ait Youssef, M. (2006). Plantes médicinales de Kabylie, Ibis Press, Paris, pp 117–9.

Ajose, F. O. (2007). Some Nigerian plants of dermatologic importance. International Journal of Dermatology, 46, 48-55.

Akbar, S., Al-Yahya, M. A. (2011). Screening of Saudi plants for phytoconstituents, pharmacological and antimicrobial properties. Australian journal of medical herbalism, 23(2), 76.

Akdime, H., Boukhira, S., Mansouri, L. E. L., El, A. H., and Bousta, D. (2015). Ethnobotanical study and traditional knowledge of medicinal plants in ain leuh region (Middle-Atlas of Morocco). *Am. J. Adv. Drug. Deliv.* 3, 248–263.

Akilandeswari, K., Ruckmani, K. (2016). Synergistic antibacterial effect of apigenin with β-lactam antibiotics and modulation of bacterial resistance by a possible membrane effect against methicillin resistant Staphylococcus aureus. Cellular and Molecular Biology, 62(14), 74-82.

Alami, Z., Aynaou, H., Alami, B., Hdidou, Y., & Latrech, H. (2015). Herbal medicines use among diabetic patients in Oriental Morocco. Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy, 7(2), 9.

Ambiga, S., Narayanan, R., Durga, G., Sukumar, D., Madhavan, S. (2007). Evaluation of wound healing activity of flavonoids from Ipomoea carnea Jacq. Anc Sci Life, XXVI(3), 45–51.

Ameya, G., Gure, A., Dessalegn, E. (2016). Antimicrobial activity of *echinops kebericho* against human pathogenic bacteria and fungi. *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.* 13, 199–203.

An, F., Cao, X., Qu, H., & Wang, S. (2015). Attenuation of oxidative stress of erythrocytes by the plant-derived flavonoids vitexin and apigenin. Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences, 70(11), 724-732.

Arroo, R. R., Jacobs, J. J., Van Gestel, J. A., Kenkel, H., Jannink, W., Croes, A. F., (1997). Regulation of thiophene biosynthesis by sulphate in roots of marigolds. *New. Phytol.* 135, 175–181.

Atmani D, Chaher N, Berboucha M, Ayouni K, Lounis H, Boudaoud H, Debbache N, Atmani D. 2009. Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. Food Chemistry 112:303-309.

Aydin, C., Ozcan, GT., Turan, M., Mammadov, R. (2016). Phenolic contents and antioxidant properties of *Echinops ritro* L. and *E. tournefortii* Jaup Spach extract. Int J Sec Metabolite, 3(2):74–81.

Baba Aissa, F. (2000). Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb, Librairie moderne, Rouiba, p 95.

Babior, B. M. (1978). Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes. New England Journal of Medicine, 298(12), 659-668.

Baghdad, M., Boumediene, M., Djamel, A., Djilali, B. (2016). Ethnobotany of medicinal plants in the region Béni choukrane, Mascara (Algeria). Journal of Biodiversity and Environmental Sciences, 9(1), 426-433.

Balunas, M. J., Kinghorn, A. D. (2005). Drug discovery from medicinal plants. Life sciences, 78(5), 431-441.

Ban'kovskii, A. I.; Perel'son, M. E. and an'kovskii, A. I.; Perel'son, M. E. and Shevelev, V. A. (1963) : hevelev, V. A. (1963) : Alkaloids of Echinops sphaerocephalus, Doklady Akademii Nauk SSSR, 148: 1073-1076, Chem. Abstr. 59, 5210e (1963).

Barron, D., Di Pietro, A., Dumontet, C., McIntosh, D. B. (2002). Isoprenoid flavonoids are new leads in the modulation of chemoresistance. Phytochemistry Reviews, 1(3), 325-332.

Bekro, Y. A., Mamyrbekova, J. A., Boua, B. B., Bi, F. T., & Ehile, E. E. (2007). Etude ethnobotanique et screening phytochimique de Caesalpinia benthamiana (Baill.) Herend. Zarucchi (Caesalpiniaceae). Sciences & Nature, 4(2), 217-225.

Belabbes, R., Mami, I. R., Dib, M. E., Mejdoub, K., Tabti, B., Costa, J., Muselli, A. (2020). Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils of Echinops spinosus and Carlina vulgaris Rich in Polyacetylene Compounds. Curr Nutr Food Sci, 16(4), 563-570.

Belay, G., Tariku, Y., Kebede, T., Hymete, A., and Mekonnen, Y. (2011). Ethnopharmacological investigations of essential oils isolated from five ethiopian medicinal plants against eleven pathogenic bacterial strains. *Phytopharmacology* 1, 133–143.

Belay, G., Tariku, Y., Kebede, T., Hymete, A., Mekonnen, Y. (2011). Ethnopharmacological investigations of essential oils isolated from five Ethiopian medicinal plants against eleven pathogenic bacterial strains. Phytopharmacology 1, 133–143.

Belfekih, F., El Yahyaoui, O., Chleh, M., Abdellahi, O. L., Sammama, A., Lrhorfi, A. L., Bengueddour, R. (2017). Phytochemical Screening of Arbutus unedo L. American Journal of Innovative Research and Applied Sciences. 5 (3): 237-245.

Bellakhdar J.,(1997). Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle au Maroc : la situation actuelle, les produits les sources du savoir. Thèse de doctorat : Science de la vie. Université de Metz, 234 p.

Belyagoubi-Benhammou, N., Belyagoubi, L., Gismondi, A., Di Marco, G., Canini, A., & Bekkara, F. A. (2019). GC/MS analysis, and antioxidant and antimicrobial activities of alkaloids extracted by polar and apolar solvents from the stems of Anabasis articulata. Medicinal Chemistry Research, 28(5), 754-767.

Benaissa M., (2010). Contribution à l'Etude du comportement du genre Pistacia dans l'étage bioclimatique aride (Cas de la région de Naâma). Mém. Mag. Foresterie. Univ. Tlemcen. 111p.

Benhammou -Belyagoubi N., (2011). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de Doctorat d'état, Univ. Aboubakr Belkaïd-Tlemcen (Algérie), 113 p.

Bessa, L. J., Fazii, P., Di Giulio, M., and Cellini, L. (2015). Bacterial isolates from infected wounds and their antibiotic susceptibility pattern: some remarks about wound infection. Int Wound J, 12(1), 47-52.

Bitew, H., Hymete, A. (2019). The genus Echinops: Phytochemistry and biological activities: A review. Frontiers in Pharmacology, 10.

Bnouham, M., Mekhfi, H., Legssyer, A., Ziyyat, A. (2002). Ethnopharmacology Forum Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. Int J Diabetes & Metabolism, 10, 33-50.

Bouattour, E., Fakhfakh, J., Frikha Dammak, D., Jabou, K., Damak, M., Mezghani Jarraya, R. (2016). Hexane extract of Echinops Spinosissimus Turra subsp. spinosus from tunisia: a potential source of acetylated sterols–investigation of its Biological Activities. Chem Biodiversity, 13(12), 1674-1684.

Bouba, A., Njintang, Y. N., Scher, J., Mbofung, C. M. F. (2010). Phenolic compounds and radical scavenging potential of twenty cameroonian spices. *Agric. Biol. J. N. Am.* 1, 213–224.

Boukef M K.,(1986). Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne agence de coopération culturelle et technique, Paris 350.

Boulos, L., Gohary, M. (1983). Medicinal plants of north Africa. . Reference Publications Inc., Algonac, MI, p 286, 1983.

Boumaraf, M., Benyahia, S., Mekkiou, R., Benayache, S., Benayache, F. (2016). Flavonoids from ethyl acetate extract of Echinops spinosus (Asteraceae). Der Pharma Chemica, 8(8), 158-60.

Bourgou, S., Beji, R. S., Medini, F., Ksouri, R. (2016). Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'Euphorbia helioscopia. Journal of New Sciences, 28.

British Herbal Medicine Association, British Herbal Medicine Pharmacopoeia, Biddles Ltd., London 1996.

Bruneton J., (2009)- Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème Edition. Lavoisier, Paris, 1288 p.

Bryant, R., Nix, D. P. (2012). Acute and Chronic Wounds: Current Management Concepts. St Louis, MO.

Cai, Y-Z., Sun, M., Xing, J., Luo, Q., Corke, H. (2006). Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. Life Sci,78: 2872-2888.

Cañedo-Dorantes, L., Cañedo-Ayala, M. (2019). Skin acute wound healing: a comprehensive review. International journal of inflammation .

Cha, S., Kim, G., Cha, J. (2016). Synergistic antimicrobial activity of apigenin against oral pathogens. International Journal of Engineering Research and Science, 2, 27-37.

Chabot S, Bel-Rhlid R, Chenevert R, Piche Y (1992) . Hyphal growth promotion in vitro of the VA mycorrhizal fungus, Gigaspora margarita Becker and Hall, by the activity of structurally specific flavonoid compounds under CO2-enriched conditions. New Phytol 122: 461–7.

Chadwick, M., Trewin, H., Gawthrop, F., Wagstaff, C. (2013). Sesquiterpenoids lactones: benefits to plants and people. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 12780–12805.

Chao, C. Y., Cheing, G. L. (2009). Microvascular dysfunction in diabetic foot disease and ulceration. Diabetes/metabolism research and reviews, 25(7), 604-614.

Chaturvedi, M., Mali, P. C., and Dexit, V. P. (1995). Antifertility effects of the roots of *echinops echinatus* (Roxb.) in male rats. *J. Phytol. Res.* 8, 115–118.

Chaudhuri P.K. ; (1992). 7-hydroxyechinozolinone, a new alkaloid from the flowers of Echinops echinatus. J. Nat. Prod, 55 (2), 249–250.

Chaudhuri, P. K. (1987). Echinozolinone, an alkaloid from *echinops echinatus*. *Phytochemistry* 26, 587–589.

Chermat S, Gharzouli R (2015). Ethnobotanical study of medicinal flora in the North-East of Algeria—an empirical knowledge in Djebel Zdimm (Setif). J Mater Sci Eng A; 5(1–2):50–9.

Cho S, Lee C, Ahn Y, Kim H, Kim H, Ahn C, Yang K, Lee S. (2004). Redox regulation of PTEN and protein tyrosine phosphatases in H2O2-mediated cell signaling. FEBS Letters 560:7-13.

Choi Y.M., Noh D.O., Cho S.Y., Suh H.J., Kim K.M., Kim J.M., (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of Propolis from several regions of Korea. LWT- Food Science and Technology, 39: 756- 761.

Choi, S., Youn, J., Kim, K., Joo, D. H., Shin, S., Lee, J., Ahn, K. J. (2016). Apigenin inhibits UVA-induced cytotoxicity in vitro and prevents signs of skin aging in vivo. Int J Mol Med, 38(2), 627-634.

Clericuzio, M., Tinello, S., Burlando, B., Ranzato, E., Martinotti, S., Cornara, L., La Rocca, A. (2012). Flavonoid oligoglycosides from Ophioglossum vulgatum L. having wound healing properties. Planta Medica, 78(15), 1639–1644.

CLSI. (2015). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved standardTwelfth Edition. CLSI document M02-A12. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Conseil canadien de protection des animaux (1999). lignes directrices ;formation des utilisateurs d'animaux dans les institutions..

Cotran, RS, Abbas AK, Fausto N, Robbins SL, Kumar V. Robbins Cotran.(2005). Patologia - Bases Patológicas das Doenças. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier,1592 p.

Cruz, B. G., Dos Santos, H. S., Bandeira, P. N., Rodrigues, T. H. S., Matos, M. G. C., Nascimento, M. F., Coutinho, H. D. (2020). Evaluation of antibacterial and enhancement of antibiotic action by of flavonoid kaempferol 7-O-β-D-(6”-O-cumaroyl)-glucopyranoside isolated from Croton piauhiensis Müll. Microbial Pathogenesis, 104144.

Dali Yahia M K., (2017).Etude phytochimique bioguidée de plantes aromatiques sahariennes. Thèse de Doctorat d’état, Univ. Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen (Algérie), 172 p.

Dammak, D.F., Saad, H.B., Bouattour, E., Boudawara, O., Jarraya, R.M. (2020). Improvement on high-cholesterol diet induced atherosclerosis, lipid profile, oxidative stress and genotoxicity in the liver of mice by Echinops spinosissimus Turra subsp. spinosus. J Health Popul Nutr.

Deng, S. P., Yang, Y. L., Cheng, X. X., Li, W. R., & Cai, J. Y. (2019). Synthesis, Spectroscopic Study and Radical Scavenging Activity of Kaempferol Derivatives: Enhanced Water Solubility and Antioxidant Activity. International journal of molecular sciences, 20(4), 975.

Dessalegn, E., Rupasinghe, H.V. (2020). Quantification of Phenolic Compounds by HPLC-DAD and In vitro Antioxidant Activity of Root Extract of Echinops kebericho Mesfin (Asteraceae). Chem Process Eng Res, 62, 6-13.

Diegelmann, R. F., Evans, M. C., (2004). Wound healing: An overview of acute, fibrotic and delayed healing. Front. Biosci. 9, 283–289.

Djeussi D, Noumedem J, Seukep J, Fankam A, Voukeng I, Tankeo S, Nkuete A, Kuete V.(2013).Antibacterial activities of selected edible plants extracts against multidrugresistant Gram-negative bacteria. BMC Complementary and Alternative Medicine 13(1):1-8.

Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., Hassani L.M.I., A. Bodoc, Gmira N., (2003). Screening phytochimique d’une endemique Ibero-marocain, Thymelaea lytroides. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 142: 61- 78.

Dong, L.I., Ning, L.I., Wan, X.I., Peng, Z.H., Zhong-jun, M.A., Xian, L.I. (2008). Chemical constituents of the root of Echinops grijisii Hance. J Shenyang Pharm Univ, 8, 007.

Dong, M., Cong, B., Yu, S. H., Sauriol, F., Huo, C. H., Shi, Q. W., GU, Y., Zamir, L., Kiyota, H. (2008). Echinopines A and B: sesquiterpenoids possessing an unprecedented skeleton from Echinops spinosus. Organic letters, 10(5), 701-704.

Dopke W., Fritsch G. (1969). Echinine a dihydroquinoline alkaloid from Echinops ritro seeds. Pharmacie 24 (12), 782.

Dorsett- Martin, W. A. (2004). Rat models of skin wound healing: a review. Wound Repair and Regeneration, 12(6), 591-599.

Dréno, B. (2009). Anatomie et physiologie de la peau et de ses annexes. In Annales de Dermatologie et de Vénéréologie (Vol. 136, pp. S247-S251). Elsevier Masson.

Dupont S. (2015). L'anatomie et la physiologie pour les infirmier(e)s. France : Elsevier Health Sciences France. P 19.

Ebenezer G. M. Polydefkis.(2014). "Epidermal innervation in diabetes," Handbook of Clinical Neurology, vol. 126, pp. 261–274.

El Shoubaky, G. A., Abdel-Daim, M. M., Mansour, M. H., Salem, E. A. (2016). Isolation and identification of a flavone apigenin from marine red alga Acanthophora spicifera with antinociceptive and anti-inflammatory activities. J Exp Neurosci, 10(1), 21–29.

El-Ghazali, G. E., Al-Khalifa, K. S., Saleem, G. A., Abdallah, E. M. (2010). Traditional medicinal plants indigenous to Al-Rass province, Saudi Arabia. Journal of Medicinal Plants Research, 4(24), 2680-2683.

El-Mergawi, R. A., Ibrahim, G., Al-Humaid, A. (2018). Screening for Antifungal Potential of Plant Extracts of Fifteen Plant Species Against Four Pathogenic Fungi Species. Gesunde Pflanz, 70(4), 217-224.

Erenler, R., Yilmaz, S., Aksit, H., Sen, O., Genc, N., Elmastas, M., Demirtas, I. (2014). Antioxidant activities of chemical constituents isolated from Echinops orientalis Trauv. Rec Nat Prod, 8(1), 32.

Eswaran, S., Adhikari, A.V., Chowdhury, I.H., Pal, N.K., Thomas, K.D., (2010). New quinoline derivatives: synthesis and investigation of antibacterial and antituberculosis properties. Eur. J. Med. Chem. 45, 3374–3383.

Farnsworth N.R., Akerele O., Bingel A.S., Soejarto D.D., Guo Z., (1986)- Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé, 64 (2) : 159- 164.

Fokialakis, N., Cantrell, C., Duke, S. O., Skaltsounis, A. L., Wedge, D. E. (2006a). Antifungal activity of thiophenes from echinops ritro. J. Agric. Food Chem. 54, 1651–1655.

Fokialakis, N., Osbrink, W. L., Mamonov, L. K., Gemejieva, N. G., Mims, A. B., Skaltsounis, A. L., Cantrell, C. L. (2006b). Antifeedant and toxicity effects of thiophenes from four Echinops species against the Formosan subterranean termite, Coptotermes formosanus. Pest Manag Sci, 62(9), 832-838.

Funk, V.A., Bayer, R.J., Keeley, S., Chan, R., Watson, L., Gemeinholzer, B., Schilling, E., Panero, J. L., Baldwin, B.G., Garcia-Jacas, N., Susanna, A., Jansen,

R.K. (2005). Everywhere but Antarctica: Using a supertree to understand the diversity and distribution of the Compositae. Biol. Skr, 55: 343-373.

Gan, J., Feng, Y., He, Z., Li, X., Zhang, H. (2017). Correlations between antioxidant activity and alkaloids and phenols of maca (Lepidium meyenii). Journal of Food Quality.

Garnatje, T., Martin, J. (2007). Pollen studies in the genus Echinops L. and Xeranthemum group (Asteraceae). Botanical Journal of the Linnean Society, 154(4), 549-557.

Garros, I. D. C., Campos, A. C. L., Tâmbara, E. M., Tenório, S. B., Torres, O. J. M., Agulham, M. Â., Arruda, E. C. D. M. (2006). Extrato de Passiflora edulis na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. Acta cir. bras. 55-65.

George Broughton, I. I., Janis, J. E., & Attinger, C. E. (2006). The basic science of wound healing. Plastic and reconstructive surgery, 117(7S), 12S-34S.

Ghasemi Pirbalouti, A., Momeni, M., and Bahmani, M. (2013). Ethnobotanical study of medicinal plants used by Kurd tribe in Dehloran and Abdanan districts, Ilam province, Iran. Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med. 10, 368– 385.

Gheffour, K., Boucherit, K., Boucherit-Otmani, Z. (2015). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits d'Echinops spinosus. Rev Phytother, 13(5):288–94.

Gonzalez, A. C. D. O., Costa, T. F., Andrade, Z. D. A., Medrado, A. R. A. P. (2016). Wound healing-A literature review. Anais brasileiros de dermatologia, 91(5), 614-620.

Gopinath, D.; Ahmed, M.R.; Gomathi, K.; Chitra, K.; Sehgal, P.K.; Jayakumar, R. Dermal wound healing processes with curcumin incorporated collagen films. Biomaterials 2004, 25, 1911–1917.

Gouda, Y. G., Abdallah, Q. M., Elbadawy, M. F., Basha, A. A., Alorabi, A. K., Altowerqe, A. S., Mohamed, K. M. (2014). Cytotoxic and antimicrobial activities of some Compositae plants growing in Taif area, Saudi Arabia. Int JPharm Sci Invent, 3, 43-48.

Greeff, J., Joubert, J., Malan, S. F., Van Dyk, S. (2012). Antioxidant properties of 4-quinolones and structurally related flavones. Bioorganic & medicinal chemistry, 20(2), 809-818.

Greshoff, M. (1900). Recherches sur I' echinopsine, novel alcaloide crystalise, Rec. Trav. Chim, 19: 360.

Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. (2011). Eighth Edition, Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals Institute for Laboratory Animal Research Division on Earth and Life Studies,national research council of the national academies .

Gulumian, M., Yahaya, E. S., Steenkamp, V. (2018). African herbal remedies with antioxidant activity: A potential resource base for wound treatment. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2018.

Guo, D. A., Lou, Z. C., and Liu, Z. A. (1994). Chemical components of volatile oil from *Echinops grijisii* Hance. *Zhongguo. Zhong. Yao. Za. Zhi.* 19, 100–101.

Gupta, N., Jain, U. K. (2010). Prominent wound healing properties of indigenous medicines. Journal of Natural Pharmaceuticals, 1(1).

Gutierrez, R. P. (2006). Evaluation of the wound healing properties of Acalypha langiana in diabetic rats. Fitoterapia, 77(4), 286-289.

Hadjadj S., (2017). Analyses phytochimiques et activités biologiques des extraits de deux plantes médicinales du Sahara septentrional Est Algérien. Thèse de Doctorat d'état, Univ. Kasdi Merbah- Ouargla (Algérie), 99 p.

Halim, A.F., Afify, M. S., Ahmed, A.F., Mira, A.S. (2011). The Fact About Echinopsine And First Isolation Of Echinorine From Echinops Spinosus L. J Environ Sci, 40(2), 173-181.

Hamayun, M., Khan, M. A., Chudhary, M. F., and Ahmad, H. (2006). Studies on traditional knowledge of medicinal herbs of swat kohistan, District Swat, Pakistan. J. Herbs. Spices. Med. Plants. 12, 11–28.

Hammiche, V., Maiza, K. (2006). Traditional medicine in Central Sahara: pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. Journal of ethnopharmacology, 105(3), 358-367.

Hegnauer, R. (1964). Chemotaxonomy der Pflanzen, Band 3, Dicotyledoneae: Acanthaceae- Cyrillaceae, Birkhauser Verlag Basl und Stuttgart, p: 516.

Heinrich, M. (2000). Ethnobotany and its role in drug development. Phytother Res. 14 (7):479-88.

Heller D. Heyn C. C. 1993. — Conspectus Florae Orientalis: An Annotated Catalogue of the Flora of the Middle East. The Israel Academy of Sciences and Humanities, Jerusalem, 129 p.

Houghton, P. J., Hylands, P. J., Mensah, A. Y., Hensel, A., Deters, A. M. (2005). In vitro tests and ethnopharmacological investigations: wound healing as an example. *Journal of ethnopharmacology*, *100*(1-2), 100-107.

Hseini, S., Kahouadji, A. (2007). Étude ethnobotanique de la flore médicinale dans la région de Rabat (Maroc occidental). Lazaroa, 28, 79-93.

Hymete, A., Iversen, T. H., Rohloff, J., Erko, B. (2005). Screening of Echinops ellenbeckii and Echinops longisetus for biological activities and chemical constituents. Phytomedicine, 12(9), 675-679.

Hymete, A., Rohloff, J., and Iversen, T. H. (2004). Chemical constituents of volatile fractions from *echinops ellenbeckii* O. Hoffm. *J. Essent. Oil. Bear Pl.* 7, 9–15.

Iba, Y., Shibata, A., Kato, M., & Masukawa, T. (2004). Possible involvement of mast cells in collagen remodeling in the late phase of cutaneous wound healing in mice. International immunopharmacology, 4(14), 1873-1880.

Ibrahim, H., Moaty, A. (2016). Chemical constituents of Echinops spinosissimus Turra. Int J Adv Res; 4(7):1129–36.

Ibrahim, N. I., Wong, S. K., Mohamed, I. N., Mohamed, N., Chin, K. Y., Ima-Nirwana, S., Shuid, A. N. (2018). Wound healing properties of selected natural products. International journal of environmental research and public health, 15(11), 2360.

IUCN. (2005). A guide of medicinal plants in North Africa. Centre for Mediterranean Cooperation, Malaga, Spain, pp 132–3.

Jenwitheesuk, K., Rojsanga, P., Chowchuen, B., Surakunprapha, P. (2018). A prospective randomized, controlled, double-blind trial of the efficacy using centella cream for scar improvement. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.

Jones N.P., Arnason J.T., Abou-Zaid M., Akpagana K., Sanchez-Vindas P., Smith M.L., (2000).Antifungal activity of extracts from medicinal plants used by First Nations Peoples of eastern Canada". Journal of Ethnopharmacology, 73 (1-2) : 191- 198.

Julkunen-Tiitto, R. (1985). Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. J Agric Food Chem, 33(2), 213-217.

Kamila, G. (2018). In Vitro Antihemolytic Activity of Echinops spinosus Tannins Extracts against Human Erythrocytes. Asian Journal of Pharmaceutics (AJP, 12(03).

Kang TG.(2003). Microscopic identification of Chinese Material Medica, China Press of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, China.

Kant, V., Gopal, A., Kumar, D., Pathak, N. N., Ram, M., Jangir, B. L., Kumar, D. (2015). Curcumin-induced angiogenesis hastens wound healing in diabetic rats. Journal of Surgical Research, 193(2), 978-988.

Karimov, U. T., Aisa, H. A. (2013). Hydrocarbons and fatty acids from *echinops integrifolius*. *Chem. Nat. Compd* 49, 920–921.

Kevin, K., John, K., Carolyn, N., Derrick, S., Lubega, A. (2018). *In* vitro anti-tuberculosis activity of total crude extract of *echinops amplexicaulis* against multi-drug resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Health. Sci* 6, 296–303.

Kevin, K., John, K., Carolyn, N., Derrick, S., Lubega, A. (2018). In vitro antituberculosis activity of total crude extract of Echinops amplexicaulis against multi-drug resistant Mycobacterium tuberculosis. J. Health. Sci 6, 296–303.

Khadhim E. J. (2001). Phytochemical investigation and testing the effect of iraqi Echinops Heterophylus family compositae on wound healing. Doctoral thesis in pharmacognosy, university of pharmacy, Baghdad, 120 p.

Khadim, E. J., Abdulrasool, A. A., Awad, Z. J. (2014). Phytochemical investigation of alkaloids in the Iraqi Echinops heterophyllus (Compositae). Iraqi Journal of Pharmaceutical Sciences, 23(1), 26-34.

Kheder, O., Moussaoui, Y., Bensalem, R. (2014). Solvent effects on phenolic contents and antioxidant activities of the Echinops spinosus and the Limoniastrum monopeltatum. Res J Pharm Biol Chem Sci, 5(2):66–76.

Kierszenbaum A.L. (2007). Histology and cell biology : An introduction to pathology. Philadelphie, PA : Mosby Elsevier.

Kim, J., Shin, Y. K., Kim, K. Y. (2018). Promotion of keratinocyte proliferation by tracheloside through ERK1/2 stimulation. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.

Kim, S., Woo, E. R., Lee, D. G. (2020). Apigenin promotes antibacterial activity via regulation of nitric oxide and superoxide anion production. Journal of Basic Microbiology, 60(10), 862-872.

Kiyekbayeva, L. N., Akhtaeva, N. Z., Datkhayev, U. M., Omarkhan, A. B., Litvinenko, Y. A., Tynybekov, B. M., Berkenov, A. K. (2017). Pharmacognosy signs of aerial parts medicinal plant echinops albicaulis kar. Et kir. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 10(6), 346-348.

Kiyekbayeva, L., Mohamed, N. M., Yerkebulan, O., Mohamed, E. I., Ubaidilla, D., Nursulu, A., Ross, S. A. (2018). Phytochemical constituents and antioxidant activity of Echinops albicaulis. Nat Prod Res, 32(10), 1203-1207.

Kodati D. R, Burra S, Kumar, D. P. (2011). Evaluation of wound healing activity o methanolic root extract of Plumbago zeylanica L. in Wistar albino rats. Asian Journal of Plant Science and Research 1(2):26-34.

Komakech, R., Matsabisa, M. G., Kang, Y. (2019). The wound healing potential of Aspilia africana (Pers.) CD Adams (Asteraceae). Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.

Ksouri R, Megdiche W, Falleh H, Trabelsi N, Boulaaba M, Smaoui A, Abdelly C. (2008).Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. Comptes Rendus Biologies 331:865-873.

Kuete, V., Wiench, B., Hegazy, M. E. F., Mohamed, T. A., Fankam, A. G., Shahat, A. A., Efferth, T. (2012). Antibacterial activity and cytotoxicity of selected Egyptian medicinal plants. Planta Medica, 78(02), 193-199.

Kumar, H., Khajuria, A. K., and Bisht, N. S. (2018). Traditional phytoremedies used to treatment urolithiasis in Pauri (Garhwal) Uttarakhand India. J. Pharmacogn. Phytochem. 7, 2941–2944.

Kundu, A., Ghosh, A., Singh, N. K., Singh, G. K., Seth, A., Maurya, S. K., ... & Laloo, D. (2016). Wound healing activity of the ethanol root extract and polyphenolic rich fraction from Potentilla fulgens. Pharmaceutical biology, 54(11), 2383-2393.

Kupper, T. S., Fuhlbrigge, R. C. (2004). Immune surveillance in the skin: mechanisms and clinical consequences. Nature Reviews Immunology, 4(3), 211-222.

Lacombe M. (2006). Abrégé d'anatomie et de physiologie humaines : Les fondamentaux. Rueil-Malmaison : Lamarre.

Lahsissene, H., Kahouadji, A., Hseini, S. (2009). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc occidental). Lejeunia, revue de botanique.

Landén, N. X., Li, D., & Ståhle, M. (2016). Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. Cellular and Molecular Life Sciences, 73(20), 3861-3885.

Landis, S. J. (2008). Chronic wound infection and antimicrobial use. Adv Skin Wound Care, 21(11), 531-540.

Langlois-Wills I, Lepresle E. (2001). Le corps humain etude, structre et fonction : Le rôle infirmier dans la pratique clinique. 2ème dition. Bruxelles : De Boeck. P 441.

Lee, J.-H., Zhou, H.Y., Cho, S.Y., Kim, Y.S., Lee, Y.S., Jeong, C.S. (2007). Antiinflammatory mechanisms of apigenin: Inhibition of cyclooxygenase-2 expression, adhesion of monocytes to human umbilical vein endothelial cells, and expression of cellular adhesion molecules. Arch Pharm Res, 30(10), 1318–1327.

Leitão, G. G., Pereira, J. P. B., Carvalho, P. R. D., Ropero, D. R., Fernandes, P. D., Boylan, F. (2017). Isolation of quinoline alkaloids from three Choisya species by high-speed countercurrent chromatography and the determination of their antioxidant capacity. Revista Brasileira de Farmacognosia, 27(3), 297-301.

Li, J., Chen, J., Kirsener, R.(2007). Pathophysiology of acute wound healing. Clin. Dermatol. 25:9-18.

Li, L. B., Xiao, G. D., Xiang, W., Yang, X., Cao, K. X., and Huang, R. S. (2019). Novel substituted thiophenes and sulf-polyacetylene ester from *Echinops ritro* L. *Molecules* 24, 805.

Lin, C. C., Lin, C. H., Chiu, H. F., and Hu, M. F. (1992). Pharmacological and pathological studies on taiwan folk medicine (VII): the anti-inflammatory effect of *Echinops grijissi*. *Am. J. Chin. Med. XX*, 20, 127–134.

Lopez, S., Lima, B., Agüero, M.B., Lopez, M.L., Hadad, H., Zygadlo, J., Caballero, D., Stariolo, R., Suero, E., Feresin, G.E. Tapia, A. (2018). Chemical composition, antibacterial and repellent activities of Azorella trifurcata, Senecio pogonias, and Senecio oreophyton essential oils. Arabian. J. Chem. 11, 181–187.

Luna L. (1968). Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. New York : Blakiston Division, McGraw-Hill. P 76.

Machado, G. H. A., Marques, T. R., de Carvalho, T. C. L., Duarte, A. C., de Oliveira, F. C., Gonçalves, M. C., Corrêa, A. D. (2018). Antibacterial activity and in vivo wound healing potential of phenolic extracts from jaboticaba skin. Chem Biol Drug Des, 92(1), 1333-1343.

Mahmoud, T., and Gairola, S. (2013). Journal of medicinal plants studies traditional knowledge and use of medicinal plants in the eastern desert of egypt : a case study from Wadi El-Gemal National Park. J. Med. Plants. Stud. 1, 10–17.

Martin, P. (1997). Wound healing--aiming for perfect skin regeneration. Science, 276(5309), 75-81.

Martínez, C. A., Mosquera, O. M., Niño, J. (2016). Apigenin glycoside: an antioxidant isolated from Alchornea coelophylla pax & k. Hoffm.(euphorbiaceae) leaf extract. Universitas Scientiarum, 21(3), 247-257.

Materska, M. (2015). Flavone C-glycosides from Capsicum annuum L.: relationships between antioxidant activity and lipophilicity. European Food Research and Technology, 240(3), 549-557.

Miao, C. G., Zhou, G. L., Qin, M. S., Chen, J. Z., Li, C. F., and Zhang, B. (2015). Treatment of rheumatoid arthritis with flavonoids of *echinps latifolius* tausch in rat model. *Zhejiang. Da. Xue. Xue. Bao. Yi. Xue. Ban.* 44, 43–48.

Miara, M. D., Hammou, M. A., Aoul, S. H. (2013). Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). Phytothérapie, 11(4), 206-218.

Middleton, E., Kandaswami, C., & Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. Pharmacological reviews, 52(4), 673-751.

Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chem, 85: 231–237.

Ming, D., Wang, D., Cao, F., Xiang, H., Mu, D., Cao, J., Wang, L. (2017). Kaempferol inhibits the primary attachment phase of biofilm formation in Staphylococcus aureus. Frontiers in Microbiology, 8, 2263.

Mira, L., Tereza Fernandez, M., Santos, M., Rocha, R., Helena Florêncio, M., Jennings, K. R. (2002). Interactions of flavonoids with iron and copper ions: a mechanism for their antioxidant activity. Free radical research, 36(11), 1199-1208.

Mogford, J. E. (2001). Experimental models of wound healing. Cutaneous wound healing, 109-122.

Mohseni, S., Sani, A. M., Tavakoli, M., Raoufi, A. M. (2017). Effect of extraction conditions on antioxidant activities of Echinops persicus. J Essent Oil Bear Plants, 20(6), 1633-1644.

Moniz, T., Costa Lima, S. A., Reis, S. (2020). Human skin models: From healthy to disease- mimetic systems; characteristics and applications. British Journal of Pharmacology, 177(19), 4314-4329.

Mothana, R. A., Kriegisch, S., Harms, M., Wende, K., Lindequist, U. (2011). Assessment of selected Yemeni medicinal plants for their in vitro antimicrobial, anticancer, and antioxidant activities. Pharm Biol, 49(2), 200-210.

Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Dominguez, J. M., Sineiro, J., Dominguez, H., Núñez, M.J., Parajo, J. C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. Food Chem, 72:145–171.

Munekata, P., Franco, D., Trindade, M., Lorenzo, J. (2016). Characterization of phenolic composition in chestnut leaves and beer residue by LC-DAD-ESI-MS. LWT - Food Sci Technol, 68, 52–58.

Murthy, S., Gautam, M. K., Goel, S., Purohit, V., Sharma, H., Goel, R. K. (2013). Evaluation of in vivo wound healing activity of Bacopa monniera on different wound model in rats. BioMed Research International .

Mustafa, B., Hajdari, A., Krasniqi, F., Hoxha, E., Ademi, H., Quave, C. L. (2012). Medical ethnobotany of the albanian alps in kosovo. J. Ethnobiol. Ethnomed. 8, 1–14.

Mustoe, T. A., O'Shaughnessy, K., Kloeters, O. (2006). Chronic wound pathogenesis and current treatment strategies: a unifying hypothesis. Plastic and reconstructive surgery, 117(7S), 35S-41S.

Mustoe, T.A. (2004). Understanding chronic wounds: a unifying hypothesis on their pathogenesis and implications for therapy. Am J Surg, 187(5), S65-S70.

Nagappa, A. N., Cheriyan, B. (2001). Wound healing activity of the aqueous extract of Thespesia populnea fruit. *Fitoterapia*, *72*(5), 503-506.

Nagesh, H., Basavanna, P., Kishore, M. (2015). Evaluation of wound healing activity of ethanolic extract of Azadirachta indica leaves on incision and excision wound models in Wistar albino rats. International Journal of Basic and Clinical Pharmacology, 4,1178–1182.

Nahata, A., Dixit, V. K. (2014). Evaluation of 5α-reductase inhibitory activity of certain herbs useful as antiandrogens. *Andrologia*. 46, 592–601.

Naili, M. B., Alghazeer, R. O., Saleh, N. A., Al-Najjar, A. Y. (2010). Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of Artemisia campestris (Astraceae) and Ziziphus lotus (Rhamnacea). Arabian Journal of Chemistry, 3(2), 79-84.

Nakano, H., Cantrell, C. L., Mamonov, L. K., Kustova, T. S., Fronczek, F. R., Ross, S. A. (2012). Chemical constituents from Echinops nanus and Echinops transiliensis. Biochemical Systematics and Ecology, 45, 127-129.

Nascimento, J. E. T. D., Rodrigues, A. L. M., Lisboa, D. S. D., Liberato, H. R., Falcão, M. J. C., da Silva, C. R., de Morais, S. M. (2018). Chemical Composition and Antifungal In Vitro and In Silico, Antioxidant, and Anticholinesterase Activities of extracts and Constituents of Ouratea fieldingiana (DC.) Baill. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.

Nawash, O., Shudiefat, M., Al-Tabini, R., and Al-Khalidi, K. (2013). Ethnobotanical study of medicinal plants commonly used by local bedouins in the badia region of Jordan. J. Ethnopharmacol. 148, 921–925.

Nayak, BS, Sandiford, S, Maxwell, A. (2009). Evaluation of the wound-healing activity of ethanolic extract of Morinda citrifolia L. leaf. Evid Based Complement Alternat Med. 6:351–35.

NCCLS, "National Committee for Clinical Laboratory Standards". 1997. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard. National Committee for Clinical Laboratory Standard, Wayne, PA, USA, M27-A.

NCCLS, "National Committee for Clinical Laboratory Standards". 2001. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: eleventh informational supplement. M100- S11. Wayne. PA. USA.

Nejati, R., Kovacic, D., Slominski, A. (2013). Neuro-immune-endocrine functions of the skin: an overview.

Ni, Z.Y., Nagashima, Y., Zhang, M. L., Wang, Y. F., Dong, M., Sauriol, F., Huo, CH., Shi, Q.W., Gu, Y.C., Kiyota, H. (2013). 11-Hydroxyisocom-2-en-5-one, a new sesquiterpenoid from Echinops spinosissimus. Chem Nat Compd, 49(4), 632-634.

Ober W.C, Garisson C.W, Welch K, Hutchings R.T, Ireland K. (2005). Anatomy and physiology. Singapour : Pearson Education South Asia Pte. Ltd. P 113-115.

Okello, J., and Ssegawa, P. (2007). Medicinal plants used by communities of Ngai Subcounty, Apac District, northern Ugand. Afr. J. Ecol. 45, 76–83.

Okoro I. O, Osagie A, Asibor O. E. (2010). Antioxidant and antimicrobial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Nigeria. African Journal of Biotechnology 9:2989-2993.

Omar, A. A. (1980). Apigenin-7-Oglucoside and echinopsine from Echinops spinosissimus Turra, Scientia Pharmaceutica, 48: 43-45.

Ouarghidi, A., Martin, G. J., Powell, B., Esser, G., Abbad, A. (2013). Botanical identification of medicinal roots collected and traded in Morocco and comparison to the existing literature. Journal of ethnobiology and ethnomedicine, 9(1), 59.

Ozenda, P. (2004). Flore et végétation du Sahara. 3rd edition, CNRS Edition, Paris, p 446.

Padashetty, S. A., Mishra, S. H. (2007). Effect of terpenoidal fraction of *Echinops echinatus* roots on reproductive parameters of male rats. *J. Nat. Med.* 61, 452–457.

Panchatcharam, M., Miriyala, S., Gayathri, V. S., Suguna, L. (2006). Curcumin improves wound healing by modulating collagen and decreasing reactive oxygen species. Molecular and cellular biochemistry, 290(1-2), 87-96.

Papadopoulou, P., Couladis, M., and Tzakou, O. (2006). Essential Oil Composition of two Greek *Echinops* species: *E. graecus* Miller and *E. ritro* L. *J. Essent. Oil. Res.* 18, 242–243.

Pápay, Z. E., Antal, I. (2014). Study on the antioxidant activity during the formulation of biological active ingredient. European Scientific Journal.3, 1857- 7431.

Parhat, R., Makabel, B., Nurhabek, U., Tohonrbek, A., Song, F. F., Baysanbek, A., Zou, Z. M. (2014). Overview of application and research of Echinops genus in Chinese medicine. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. China journal of Chinese materia medica, 39(19), 3865-3869.

Park, C. H., Min, S. Y., Yu, H. W., Kim, K., Kim, S., Lee, H. J., Park, Y. J. (2020). Effects of Apigenin on RBL-2H3, RAW264. 7, and HaCaT Cells: Anti-Allergic, Anti-Inflammatory, and Skin-Protective Activities. Int J Mol Sci, 21(13), 4620.

Pasparakis, M., Haase, I., Nestle, F. O. (2014). Mechanisms regulating skin immunity and inflammation. Nature reviews immunology, 14(5), 289-301.

Pavela, R., Maggi, F., Mbuntcha, H., Woguem, V., Fogang, H. P. D., Womeni, H. M., Benelli, G. (2016). Traditional herbal remedies and dietary spices from Cameroon as novel sources of larvicides against filariasis mosquitoes.Parasitology research, 115(12), 4617-4626.

Peate I, Glencross W.(2015). Wound care at a glance. New York : John Wiley & Sons Ltd. p 18-41.

Perron N, Brumaghim J. (2009). A Review of the Antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. Cell Biochemistry and Biophysics 53:75-100.

Pierce, G. F. (2001). Inflammation in nonhealing diabetic wounds: the space-time continuum does matter. The American journal of pathology, 159(2), 399.

Popovici C., Saykova I., Tylkowski B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de Génie Industriel, 4 : 25- 39.

Prasad, S. K., Kumar, R., Patel, D. K., Hemalatha, S. (2010). Wound healing activity of Withania coagulans in streptozotocin-induced diabetic rats. Pharmaceutical Biology, 48(12), 1397-1404.

Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Anal Biochem, 269(2), 337-341.

Prior, R.I.., WU, X.L., Schaich, K. (2005). Standardisez methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. J. Agric Food Chem, 53 (10): 4290-4302.

Pushparaj, P. N. (2004). Herbal Medicines for Diabetes and Cancer-A Global Perspective. *Asia-Pacific Biotech News*, *8*(23), 1307-1312.

Qiu, Y., He, D., Yang, J., Ma, L., Zhu, K., Cao, Y. (2020). Kaempferol separated from Camellia oleifera meal by high-speed countercurrent chromatography for antibacterial application. European Food Research and Technology, 1-15.

Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionale. Tome II.CNRS Editions, Paris, p 995.

Quideau S, Deffieux D, Douat-Casassus C, Pouysegu L. (2011). Cheminform abstract : plant polyphenols : chemical properties, biological activities, and synthesis. ChemInform, 42(17), 586-621.

Qureshi, R., Bhatti, G. R. (2008). Ethnobotany of plants used by the Thari people of Nara Desert, Pakistan. Fitoterapia. 79, 468–473.

Rahman, S. A., Abd-Ellatif, S. A., Deraz, S. F., and Khalil, A. A. (2011). Antibacterial activity of some wild medicinal plants collected from western Mediterranean coast, Egypt: Natural alternatives for infectious disease treatment. Afr J Biotechnol, 10(52), 10733-10743.

Rajendra, S. B., Shukla, Y. N. and Tha- ajendra, S. B., Shukla, Y. N. and Thakur, R. S. (1990). Alkaloid and lipid constituents of Echinops niveus, Phytochemistry, 29: 2697-2698.

Ramsewak, R. S., DeWitt, D. L., Nair, M. G. (2000). Cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of curcumins I–III from Curcuma longa. Phytomedicine, 7(4), 303-308.

Rathore, S., Tiwari, J. K., Malik, Z. A. (2015). Ethnomedicinal survey of herbaceous flora traditionally used in health care practices by inhabitants of dhundsir gad watershed of garhwal himalaya, India. Global. J. Res. Med. Plants. Indigen. Med. 4, 65–78.

Regassa, R. (2013). Assessment of indigenous knowledge of medicinal plant practice and mode of service delivery in Hawassa city, southern Ethiopia. J. Med. Plants. 7, 517–535.

Reinke JM, Sorg H (2012) .Wound repair and regeneration. Eur Surg Res 49(1):35–43.

Remila S, Atmani-Kilani D, Delemasure S, Connat J, Azib L, Richard T, Atmani D. (2015).Antioxidant, cytoprotective, anti-inflammatory and anticancer activities of Pistacia lentiscus (Anacardiaceae) leaf and fruit extracts. European Journal of Integrative Medicine 7:274-286.

Rijswik, L., Harding, K., Bacilious, N. (2000). Issues and clinical implications. Ostomy Wound Manage, 46(1A), 59S.

Rimbau, V., Cerdan, C., Vila, R., Iglesias, J. (1999). Antiinflammatory activity of some extracts from plants used in the traditional medicine of North- African countries

(II). Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 13(2), 128-132.

Rimbau, V., Risco, E., Canigueral, S., Iglesias, J. (1996). Antiinflammatory activity of some extracts from plants used in the traditional medicine of North- African countries. Phytotherapy Research, 10(5), 421-423.

Rousselle, P., Braye, F., Dayan, G. (2019). Re-epithelialization of adult skin wounds: cellular mechanisms and therapeutic strategies. Advanced drug delivery reviews, 146, 344-365.

Saeed N, Khan M, Shabbir M. (2012). Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts Torilis leptophylla L. BMC Complementary and Alternative Medicine 12(221):1-12.

Sahki, A., Boutamine Sahki, R. (2004). Le Hoggar: promenade botanique. Éd. Ésope. Chamonix, Lyon, p 185.

Saiah, H., Mokhtar, M., Saiah, W., Aichouni, A., EL Kebir, F. Z., Allem, R. (2018). In vivo wound healing potential and HPLC- PDA- ESI- MS profiling of Zizyphus lotus L. (Desf.) leaves methanol extract. J Food Biochem, 42(5), e12570.

Sajjad, A., Adnan, S., Hasnain Alam, H., and Mohamed, E. A. R. (2017). Ethno botanical study of traditional native plants in Al Ain UAE. Int. J. Adv. Res. Biol. Sci. 4, 165–174.

Samir, H., Abbas, M. S., Soliman, A. S., Lotfy, R. A. (2018). Phytochemical Screening, Antioxidant and Cytotoxic Activities Of Some Plants Species Derived From The Northwestern Coast Of Egypt. Res J Pharm BiolChem Sci, 9(6), 82-94.

Sanchez-Moreno C.(2002). Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. Food Science and Technology International, 8(3): 121- 137.

Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A., Saura-Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. J. Sci Food. Agric, 76: 270–276.

Sbai-Jouilil H, Fadli A, Zidane L.(2017). Survey of ethnomedicinal plants used for the treatment of gastrointestinal disorders in Seksaoua region (Western High Moroccan Atlas). Annu Res Rev Biol 2017; 16(5):1–9.

Scalbert A .(1991). Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry 30: 3875–83.

Schroeder P., Luckner M. (1968). Physiology of formation of the quinoline alkaloid echinorine in Echinops ritro. Planta Med. 16 (1), 99–108.

Schroeder, P., Luckner, M. (1966). Echinorine, a quinoline alkaloid from the fruits of Echinops ritro, Pharmazie, 21: 642.

Sen CK, Gordillo GM, Roy S, Kirsner R, Lambert L, Hunt TK, Gottrup F, Gurtner GC, Longaker MT. (2009). Human skin wounds: a major and snowballing threat to public health and the economy. Wound Repair Regen 17(6):763–771.

Senejoux, F., Demougeot, C., Karimov, U., Muyard, F., Kerram, P., Aisa, H. A., Girard-Thernier, C. (2013). Chemical constituents from Echinops integrifolius. Biochem Syst Ecol, 47, 42-44.

Serra, M. B., Barroso, W. A., Silva, N. N. D., Silva, S. D. N., Borges, A. C. R., Abreu, I. C., Borges, M. O. D. R. (2017). From inflammation to current and alternative therapies involved in wound healing. International Journal of Inflammation .

Shang, X. F., Morris- Natschke, S. L., Yang, G. Z., Liu, Y. Q., Guo, X., Xu, X. S., Lee, K. H. (2018). Biologically active quinoline and quinazoline alkaloids part II. Medicinal research reviews, 38(5), 1614-1660.

Sharma, V. (2013). Microscopic studies and preliminary pharmacognostical evaluation of Euphorbia neriifolia L. leaves. Indian J Nat Prod Res , 4(4): 348-357.

Shaw TJ, Martin P.(2009). Wound repair at a glance. J Cell Sci.;122:3209-13.

Shon M, Choi S, Kahng G, Nam S, Sung N. (2004). Antimutagenic, antioxidant and free radical scavenging activity of ethyl acetate extracts from white, yellow and red onions. Food and Chemical Toxicology 42:659-666.

Sibbald RG, Orsted H, Schultz GS. (2003).Preparing the wound bed: focus on infection and inflammation. Ostomy Wound Manage 2003; 49: 24–51.

Sing, B., Ram, S. N., Pandeys, V. B., Joshis, V. K., and Gambhir, S. S. (1991). Studies on antiinflammatory activity of taraxasterol acetate from *echinops echinatus* in rats and mice. *Phytother. Res.* 5, 103–106.

Singh, B., Gambhir, S. S., Pandjwb, V. B., and Joshf, V. K. (1989). Anti-inflammatory activity of *Echinops echinatus*. *J. Ethnopharmacol.* 25, 189–199.

Singh, R. P., Pandey, V. B. (1994). Further flavonoids of Echinops niveus. Fitoterapia, 65, 374-374.

Singh, S., Upadhyay, R. K., Pandey, M. B., Singh, J. P., Pandey, V. B. (2006). Flavonoids from Echinops echinatus: note. J Asian Nat Prod Res, 8(3), 197-200.

Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Vitic, 16: 144–158.

Soni, H., Singhai, A. K. (2012). A recent update of botanicals for wound healing activity. Int Res J Pharm, 3(7), 1-7.

Souza, A. A., Dias, N. A. A., Piccoli, R. H., Bertolucci, S. K. V. (2016). Determination of minimum bactericidal concentration of sixteen essential oils on enterotoxigenic Escherichia coli. Rev Bras de Plantas Med, 18(1), 105-112.

Souza, M.V.N.D., Pais, K.C., Kaiser, C.R., Peralta, M.A., Ferreira, M.D.L., Lourenco, M.C.S. (2009). Synthesis and in vitro antitubercular activity of a series of quinoline derivatives. Bioorg. Med. Chem. 17, 1474–1480.

State Administration of Chinese Medicine, «Chinese materia medica (I–IX)», Shanghai. Science and Technology Publishing House, Shanghai, China 1999.

Suami, H., Scaglioni, M. F. (2018). Lymphedema Management: Anatomy of the Lymphatic System and the Lymphosome Concept with Reference to Lymphedema. In Seminars in plastic surgery. Thieme Medical Publishers .32, 1, p. 5.

Sun, T., Ho, C-H. (2005). Antioxidant activities of buckwheat extracts. Food Chem, 90: 743–749.

Suntar, I.P., Akkol, E.K., Yilmazer, D., Baykal, T., Kirmizibekmez, H., Alper, M.,Yesilada, E. (2010). Investigations on the in vivo wound healing potential of Hypericum perforatum L. J Ethnopharmacol. 127:468–477.

Talhouk, R. S., Karam, C., Fostok, S., El-Jouni, W., Barbour, E. K. (2007). Anti-inflammatory bioactivities in plant extracts. Journal of medicinal food, 10(1), 1-10.

Tan, L., Shi, Q., Liu, C., Zhang, J., Wang, H., & Zhai, J. (2018). Traditional Chinese medicine injections in the treatment of diabetic foot: A systematic review and meta-analysis. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.

Tbatou, M. A., Belahyan, A. B., and Belahsen, R. E. (2016). Wild edible plants traditionally used in the countryside of El Jadida, coastal area in the Center of Morocco. Life. Sci. Leafl. 75, 28–48.

Teixeira, J., Gaspar, A., Garrido, E. M., Garrido, J., Borges, F. (2013). Hydroxycinnamic acid antioxidants: an electrochemical overview. BioMed research international .

Tekwu, E. M., Askun, T., Kuete, V., Nkengfack, A. F., Nyasse, B., Etoa, F. X. (2012). Antibacterial activity of selected cameroonian dietary spices ethno-medically used against strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *J. ethnopharmacol.* 142, 374–382.

Tene, M., Tane, P., Sondengam, B. L., Connolly, J. D. (2004). Lignans from the roots of *echinops giganteus*. *phytochemistry* 65, 2101–2105.

The Pharmacopoeia Committee of the Ministry of Health of the People Republic of China, Pharmacopoeia of the People's Republic of China, vol. 1, People's Heath Publishing House, Chemical Industry Publishing House, Beijing 2000.

The Plant list.version 1.1. (2020). Jardins botaniques royaux de Kew et le jardin botanique du Missouri. http://www.theplantlist.org/ .

Thomas, S. N., Rohner, N. A., Edwards, E. E. (2016). Implications of lymphatic transport to lymph nodes in immunity and immunotherapy. Annual review of biomedical engineering, 18, 207-233.

Toroğlu, S., Keskin, D., Vural, C., Kertmen, M., and Cenet, M. (2012). Comparison of antimicrobial activity of *echinops viscosus* subsp. *bithynicus* and *E. microcephalus* leaves and flowers extracts from turkey. *Int. J. Agric. Biol.* 14, 637–640.

Trevisanato, S. I., Kim, Y. I. (2000). Tea and health. Nutrition Reviews, 58(1), 1–10.

Trindade Medeiros, M.F., Da Silva, P.S., De Albuquerque U.P. (2011).Quantification in ethnobotanical research: an overview of indices used from 1995 to 2009. Sitientibus série Ciências Biológicas. 11,(2) : 211–230.

Tsafantakis, N., Zelianeos, K., Termentzi, A., Vontzalidou, A., Aligiannis, N., & Fokialakis, N. (2019). Triterpenes from Echinops spinosissimus Turra subsp. spinosissimus. Phytochemistry Letters, 30, 273-277.

Tu, F., Pang, Q., Chen, X., Huang, T., Liu, M., Zhai, Q. (2017). Angiogenic effects of apigenin on endothelial cells after hypoxia-reoxygenation via the caveolin-1 pathway. Int J Mol Med, 40(6), 1639-1648.

Union internationale pour la conservation de la nature et de ses ressources IUCN. (2005). A guide to medicinal plants in North Africa.

Upadhayaya, R.S., Vandavasi, J.K., Vasireddy, N.R., Sharma, V., Dixit, S.S., Chattopadhyaya, J. (2009). Design, synthesis, biological evaluation and molecular modelling studies of novel quinoline derivatives against Mycobacterium tuberculosis. Bioorg. Med. Chem. 17, 2830–2841.

Upton, R., Petrone, C. (1999). American Herbal Pharmacopoeia and Therapeutic Compendium, Astragalus Root, Astragalus membranaceus and Astragalus membranaceus var. mongholicus, Analytical, Quality Control, and Therapeutic Monograph. Santa Cruz: American Herbal Pharmacopoeia.

Vidinsky, B., Gàl, P., Toporcer, T., Longauer, F., Lenhardt, L., Bobrov, N., Sabo, J.(2006). Histological Study of the First Seven Days of Skin Wound Healing in RatsActa.Vet. Brno., 75 :197–202.

Vitali, L.A., Beghelli, D., Nya, P.C.B., Bistoni, O., Cappellacci, L., Damiano, S., Lupidi, G., Maggi, F., Orsomando, G., Papa, F., Petrelli, D., Petrelli, R., Quassinti, L., Sorci, L., Zadeh, M.M., Bramucci, M. (2016). Diverse biological effects of the essential oil from Iranian Trachyspermum ammi. Arabian. J. Chem. 9, 775–786.

Wagh, V. V., and Jain, A. K. (2018). Status of ethnobotanical invasive plants in western Madhya Pradesh, India. S. Afr. J. Bot. 114, 171–180.

Wang W, Vignani R, Scali M, Cresti M. (2006). A universal and rapid protocol for protein extraction from recalcitrant plant tissues for proteomic analysis. Electrophoresis 27:2782-2786.

Wang, J., Liu, Y. T., Xiao, L., Zhu, L., Wang, Q., Yan, T. (2014). Anti-inflammatory effects of apigenin in lipopolysaccharide-induced inflammatory in acute lung injury by suppressing COX-2 and NF-kB pathway. Inflammation, 37(6), 2085–2090.

Wang, M., Firrman, J., Liu, L., Yam, K. (2019). A review on flavonoid apigenin: Dietary intake, ADME, antimicrobial effects, and interactions with human gut microbiota. BioMed research international, 2019.

Wassel, G. M. and Baghdadi, H. H. assel, G. M. and Baghdadi, H. H. (1980). The constituents of the wild Egyptian plant Echinops spinosissimus Turra, Herba Hungarica, 19: 7-10.

Wu, X. B., Luo, X. Q., Gu, S. Y., Xu, J. H. (2012). The effects of Polygonum cuspidatum extract on wound healing in rats. J Ethnopharmacol, 141(3), 934-937.

Wu, Y., Li, S., Zhang, Z., Sauriol, F., Shi, Q., Yang, J. (2017). New Thiophene Acetylene from Echinops spinosissimus subsp. spinosus. ChemNat Compd, 53(5), 933-934.

Xiao, P. G. (2002). New compendium of Chinese materia medica (II). Beijing: Chemical Industry, 749-752.

Yadav K. C. H, Kumar, J. R, Basha S. I, Deshmukh G. R, Gujjula R, Santhamma B. (2012).Wound healing activity of topical application of Aloe vera gel in experimental animal models. International Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences 3(2):63-72.

Yadava, R. N., and Singh, S. K. (2006). New anti-inflammatory active flavanone glycoside from the *Echinops echiantus* Roxb. *Indian. J. Chem.* 45, 1004–1008.

Yahyaoui, A., Khedher, O., Rigane, G., Salem, R. B., Moussaoui, Y. (2018). Chemical analysis of essential oil from Echinops spinosus L. roots: Antimicrobial and antioxidant activities. Rev. Roum. Chim, 63(3), 199-204.

Yeoh, S. (2000). The influence of iron and free radicals on chronic leg ulceration. Primary Intention, 8, 47-56.

Yoon, M. A., Jeong, T. S., Park, D. S., Xu, M. Z., Oh, H. W., Song, K. B., Park, H. Y. (2006). Antioxidant effects of quinoline alkaloids and 2, 4-di-tert-butylphenol isolated from Scolopendra subspinipes. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 29(4), 735-739.

Yousef, H., Alhajj, M., Sharma, S. (2017). Anatomy, skin (integument). Epidermis Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.

Youssef, F., Ashour, M., Ebada, S., Sobeh, M., El-Beshbishy, H., Singab, A., Wink, M. (2017). Antihyperglycaemic activity of the methanol extract from leaves of Eremophila maculata (Scrophulariaceae) in streptozotocin-induced diabetic rats. J Pharm, 69(6), 733–742.

Yucel, A. F., Kanter, M., Pergel, A., Erboga, M., Guzel, A. (2011). The role of curcumin on intestinal oxidative stress, cell proliferation and apoptosis after ischemia/reperfusion injury in rats. Journal of molecular histology, 42(6), 579.

Zhang, X., Wang, G., Gurley, E. C., Zhou, H. (2014). Flavonoid apigenin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response through multiple mechanisms in Macrophages. PLoS One, 9(9), e107072.

Zhao, Z. Z., Hu, Y. N., Wong, Y. W., Wong, W. C. G., Wu, K., Jiang, Z. H., Kang, T. (2005). Application of microscopy in authentication of Chinese patent medicine—Bo Ying compound. Microscopy research and technique, 67(6), 305-311.

Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem, 64 (4) : 555–559.

Zhu, R., Wang, Y., Zhang, L., and Guo, Q. (2012). Oxidative stress and liver disease. *Hepatol. Res.* 42, 741–749.

Annexes

Annexe 1 : Fiche enquête ethnobotanique en français

Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella — Date :

Faculté de Médecine d'Oran — N° de relevé :

Département de Pharmacie — Wilaya :

Laboratoire de Pharmacognosie — Lieu (quartier) :

Enquête ethnobotanique

Nom scientifique : *Echinops spinosus* L. (Astéraceae)

Noms vernaculaires : Teskra, Taskra, Teskera, Tasekra, Asekra, Ikchir, Chicaou, Kachir, Sor, Isnanen, Isânânane (Kabylie), Timat, L-hersûf, Chouk el hamir, Sûk el himar (Maroc), Fouga el djemel, Chouk el djemel, Sûk ej-jmâl, Bâdâward, Sûk aj-jmal, Sawk al gimal

Questionnaire

Dans le cadre d'une étude portant sur l'enquête ethnobotanique de la plante citée ci-dessus, nous vous remercions madame, monsieur de bien répondre au questionnaire et de mettre une croix dans la case que vous estimez convenable.

Profil des herboristes / tradipraticiens

- Age : ❒ < 20 ans ❒ [20-30] ❒ [30-40] ❒ [40-50] ❒ >50 ans
- Sexe : ❒ Homme ❒ Femme
- Niveau académique : ❒ Analphabète ❒ Primaire ❒ Secondaire ❒ Universitaire
- Nombre d'années d'exercice : ❒ < 5 ❒ [5-10] ❒ [10-15] ❒ >15

Matière végétale

1- Connaissez-vous la plante appelée vernaculairement :
Teskra, Taskra, Teskera, Tasekra, Asekra, Ikchir, Chicaou, Kachir, Sor, Isnanen, Isânânane (Kabylie), Timat, L-hersûf, Chouk el hamir, Sûk el himar (Maroc), Fouga el djemel, Chouk el djemel, Sûk ej-jmâl, Bâdâward, Sûk aj-jmal, Sawk al gimal.

❒ Oui ❒ Non

2- Quel nom vernaculaire utilisez-vous le plus pour la conseiller :
❒ Teskra ❒ Taskra ❒ Teskera ❒ Tasekra ❒ Asekra ❒ Ikchir ❒ Chicaou,
❒ Kachir ❒ Sor ❒ Isnanen ❒ Isânânane ❒ Chouk el hamir ❒ Chouk el djemel
❒ Sûk ej-jmâl ❒ Sûk el himar ❒ Fouga el djemel ❒Bâdâward ❒ Sûk aj-jmal
❒ Sawk al gimal ❒ Timat ❒ L-hersûf
Si autre lequel……..

3- Connaissez-vous le nom en langue française / langue arabe de cette plante

❒ Oui ❒ Non

Si oui, quel est son nom .....

4- Cette plante est-t-elle : ❒ Sauvage ❒ Cultivée ❒ Je ne sais pas ❒ Autre (Préciser)

5- Récolte : ❒ Manuelle ❒ Mécanique ❒ Je ne sais pas ❒Autre (Préciser)

6- Moment de récolte : ❒ Automne ❒ Hiver ❒ Printemps ❒ Eté

7- Nombre de récolte : ❒ Toute l'année ❒ 1 fois /an ❒ 2 fois /an

❒ Je ne sais pas ❒ Autre (Préciser)

8- Etat de la plante ❒ Fraîche ❒Sèche ❒ Je ne sais pas

9- Partie utilisée : ❒ Racine ❒ Tige ❒ Feuille ❒ Fleur ❒ Fruit ❒ Graine

❒ Parties aériennes ❒ Plante entière ❒ Autre (Préciser)

10- Cette plante est utilisée traditionnellement pour :

❒ Effet diurétique
❒ Effet épuratif
❒ Effet abortif
❒ Maladie du foie
❒ Prostatisme
❒ Dysménorrhées
❒ Hémorroïdes
❒ Varices
❒ Métrorragies
❒ Hypertension
❒ Avant l'accouchement (Accélérer la délivrance en cas d'inertie)
❒ Après l'accouchement (Expulsion du placenta)
❒ Affections urinaires
❒ Douleurs stomacales
❒ Indigestion
❒ Manque d'appétit
❒ Diabète
❒ Améliorer la circulatoire
❒ Cancer
❒ Verrues
❒ Cheveux
❒ Médecine vétérinaire (évacuer de placenta)
❒ Je ne sais pas
❒ Si autre préciser……

11- Suite à la dispensation de cette plante, vous avez constaté / on vous a rapporté :

❒ Une guérison
❒ Pas d'effet thérapeutique
❒ Une intoxication
❒ Je ne sais pas (perdu de vue)
❒ Autre
❒ Si vous avez constaté des effets secondaires, pouvez- vous les citer :

…….....

12- Modalités de préparation :

❒ Poudre ❒ Décocté ❒ Décocté huileux
❒ Oléat ❒ Cataplasme ❒ Autre (Préciser)

13- En pratique, à quoi associez-vous cette plante ?

……...

14- Mode d'administration : ❒ Usage interne ❒ Usage externe
❒ Je ne sais pas ❒ Autre (Préciser)

15- Quantité de plante utilisée : ❒ Cuillère à café ❒ Cuillère à soupe
❒ Je ne sais pas ❒ Autre (Préciser)

16- Cette plante peut être administrée :

❒ Enfants / Adolescents ❒ Hommes ❒ Femmes ❒ Personnes âgées

17- Durée du traitement : ❒ 1 jour ❒ 1 semaine ❒ 1 mois
❒ Jusqu'à la guérison ❒ Je ne sais pas ❒ Autre

Annexe 2 : Fiche enquête ethnobotanique en arabe

جامعة وهران 1 أحمد بن بلة
كلية الطب بوهران
قسم الصيدلة

رقم الإستبيان :
الولاية :
الحي (المنطقة) :

إستبيان حول نبتة

تاسكرة - أسكرة - شوك الجمال - إقشير- شيكاو - كاشير- سر- إسنانن - تيماة
حارسوف - شوك الحمير- شوك الحمار- فقاع الجمل - شوك الجمل - بدة ورد

في إطار دراسة للنبتة المذكورة أعلاه ، نشكركم سيداتي سادتي ، للإجابة على الاستبيان ووضع علامة في المربع الذي تراه مناسب.

طبيب الأعشاب / معالج تقليدي

العمر: ❐ < 20 ❐ [30-20] ❐ [40-30] ❐ [50-40] ❐ >50

الجنس: ❐ أنثى ❐ ذكر

المستوى الأكاديمي: ❐ أمي ❐ ابتدائي ❐ ثانوي ❐جامعي

عدد سنوات الخبرة : ❐< 5 ❐ [10-5] ❐ [15-10] ❐ >15

المادة نباتية

1- هل تعرف النبتة التي تسمى بالعامية :
تاسكرة – أسكرة – إقشير- شيكاو - كاشير- سر- إسنانن - تيماة - حارسوف - شوك الحمير- شوك الحمار- فقاع الجمل - شوك الجمل - بدة ورد - شوك الجمال

❐ نعم ❐لا

2- ما هو الاسم العامي الذي تستخدمه أكثر لتقديم هذه النبتة:

❐ تاسكرة ❐ شوك الحمير ❐حارسوف ❐ تيماة ❐ إسنانن ❐ سر ❐ كاشير ❐شيكاو ❐إقشير ❐ أسكرة
❐ شوك الجمال ❐ بدة ورد ❐ شوك الجمل ❐ فقاع الجمل ❐ شوك الحمار ❐
إسم آخر.....

3- هل تعرف الاسم باللغة الفرنسية لهذه النبتة :

❐ نعم ❐لا

إذا كان الجواب بنعم، ما هو اسمها.....

4- هل هذه النبتة: ☐مزروعة ☐ برية ☐ جواب آخر.....

5-كيفية الحصاد: ☐ يدويا ☐ميكانيكيا

6- وقت الحصاد: ☐الخريف ☐الشتاء ☐ الربيع ☐ الصيف

☐ على مدار السنة ☐ مرة واحدة في السنة ☐ مرتين في السنة ☐جواب آخر.....

7- حالة النبتة : ☐ خضراء (طازجة – جديدة) ☐ يابسة

8 - الجزء المستعمل ☐ الجذور ☐ الساق ☐ الورقة ☐ الوردة ☐ الفاكهة
☐ الحبوب ☐الجزء العلوي للنبات (الجوي) ☐جواب آخر.....

9- تستعمل هذه النبتة تقليديا في :

☐ زيادة في خروج البول
☐ تنقية الجسم
☐ الإجهاض
☐ أمراض الكبد
☐ أمراض البروستات
☐ آلام العادة الشهرية
☐البواسير
☐ نزيف في الرحم
☐ ضغط مرتفع (↗ tension)
☐ قبل الولادة (يساعد على خروج الجنين)
☐بعد الولادة (يساعد على خروج المشيمة)
☐أمراض الجهاز البولي
☐ آلام في المعدة
☐صعوبات في الهضم
☐ نقص في الشهية
☐ الدوالي (توسع الأوردة و ظهورها على سطح الجلد - Varices)
☐ الداء السكري
☐ تحسين الدورة الدموية
☐ السرطان
☐الثولال (verrues)
☐ الشعر
☐الطب البيطري (vétérinaire)
☐ لا أعرف
☐ جواب آخر.....

10- بعد بيع هذه النبتة، لاحظت / ذكرنا لك :

☐ علاج
☐ عدم تأثير علاجي
☐ تسمم
☐ لا أعرف (فقدت البصر عن الزبون)
☐ جواب آخر.....
☐ إذا لاحظت آثار جانبية (آثار ضارة) ، يمكنك تسميتها: .....

Annexe 3 : Composition et préparation des Réactifs

1/ Le Réactif de Gazet du Chatelier

Acide lactique pur..... 60 ml
Acide lactique saturé de Soudan III..... 45 ml
Sulfate d'aniline..... 1,1 g
Iode bisublimé..... 0,1 g
Iodure de potassium..... 1 g
Alcool à 95°..... 10 ml
HCl concentré..... 6 ml
Eau distillée..... 80 ml

Mélangez les deux acides lactiques dans une fiole conique de 250 ml. Faites dissoudre à part le sulfate d'aniline dans 70 ml d'eau distillée chaude ; laissez refroidir. Mélangez cette solution à la solution acide. Faites dissoudre l'iodure de potassium dans l'eau distillée ; ajoutez l'alcool puis l'iode ; mélangez. Ajoutez l'HCl pur. Mélangez les différentes solutions et filtrez.

2/ Réactif de Bouchardat

Solution aqueuse iodo-iodurée préparée en dissolvant 2 g d'iodure de potassium et 2 g iode dans de l'eau distillée en quantité suffisante pour 100 ml. Quelques gouttes du réactif additionnées à 1 ml d'une solution d'extrait légèrement acidifiée avec une solution d'acide sulfurique à 10%, donnent un précipité brun en présence d'alcaloïdes.

3/Réactif de Dragendorff

Solution aqueuse d'iodobismuthate de potassium utilisée pour mettre en évidence les alcaloïdes. Quelques gouttes du réactif additionnées à un millilitre d'une solution d'extrait légèrement acidifiée avec de l'acide sulfurique à 10%, donnent un précipité rouge-orangé en présence d'alcaloïdes. Très sensible, ce réactif donne aussi des faux positifs avec les composés aminés. Le réactif de Dragendorff est préparé après chauffage et filtration du mélange suivant :

Sous nitrate basique de bismuth..... 0,85 g
Iodure de potassium..... 8 g
Acide acétique glacial..... 10 ml
Eau distillée..... 70 ml

4/Réactif de Lieberman

Réactif à base d'anhydride acétique et l'acide sulfurique concentré permettant de rechercher certains terpénoïdes : Dissoudre l'extrait à tester dans un millilitre d'anhydride acétique avant d'ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique. L'apparition d'un anneau pourpre indique la présence de triterpènes tandis que le virage en une coloration verdâtre dénote la présence de stéroïdes.

5/Réactif de Stiasny

Solution de formol chlorhydrique préparée en dissolvant 40 g de formaldéhyde dans 100 ml d'eau distillée avant d'ajouter un volume égal d'acide chlorhydrique concentré. L'extrait à tester est dissout dans 5 ml de réactif. La solution est chauffée pendant 30 Minutes au bain-marie à 100°C. La formation d'un précipité indique la présence de tanins Condensés (ou tanins catéchiques). Pour vérifier s'il y a présence concomitante de tanins hydrolysables : on procède à une filtration pour ne récupérer que la phase liquide laquelle est neutralisée par un excès d'acétate de sodium avant de lui additionner la solution de chlorure ferrique à 2%. Le développement d'une teinte bleu-noirâtre indique la présence de tanins galliques ou de tanins éllagiques.

Résumé

L'objectif de notre travail est l'identification des composés phénoliques et des alcaloïdes d'une plante médicinale Algérienne (*Echinops spinosissimus* Turra ; Asteraceae), et l'évaluation de ses activités biologiques antioxydantes, antibactériennes in vitro et cicatrisantes in vivo. Les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes ont été déterminées à l'aide des méthodes de Folin-Ciocalteu et de chlorure d'aluminium, respectivement. L'activité antioxydante estimée par deux méthodes : le test de piégeage du radical libre (DPPH) et la capacité antioxydante totale (CAT) ainsi que l'activité antibactérienne contre trois souches bactériennes pathogènes (*Staphylococcus aureus,Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*) ont été déterminées pour les extraits acétate éthyle, méthanolique et aqueux provenant de deux régions nord et sud d'Algérie . La détermination du profil polyphénolique a été réalisée à l'aide d'une HPLC-MS et le potentiel cicatrisant de l'extrait méthanolique de la région de Mostaganem a été étudié en mesurant les différents paramètres biophysiques, et histologiques des tissus d'excision des rats de J4 a J16. L'étude de la composition phénolique de l'extrait sélectionné *d'E. spinosissimus* Turra a révélé qu'il est majoritairement composé de l'Apigénine et de ses dérivés et de kaempférol et ses dérivés. La meilleure teneur en polyphénols totaux est enregistrée avec l'extrait aqueux nord (282,24 ± 7,06) mg EAG/g suivi de l'extrait acétate éthyle sud (280,93 ± 6,92) mg EAG/g et enfin l'aqueux sud avec une teneur de (230,28 ± 14,75) mg EAG/g. La meilleure teneur en flavonoïdes et en tanins condensés est notée pour l'extrait acétate éthyle nord avec des teneurs de (72,29 ± 2,14) mg EC/g et (298,15 ± 12,75) mg EC/g respectivement. A une concentration de 10 mg/ml, les meilleurs effets antioxydants ont été observés avec l'extrait méthanolique de la région sud des racines d'*E.spinosissimus* (95.15 ± 1.04 %) et l'extrait aqueux de la région nord avec une valeur de (87.58 ± 0.05 %) exprimée en pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH. Tous les extraits ont manifesté un effet inhibiteur sur les souches bactériennes testées et l'extrait méthanolique nord a présenté les plus grandes zones d'inhibition (12.33±0.57 mm) pour *P. aeruginosa* ,suivi de l'extrait aqueux nord avec des diamètres d'inhibition variant de 8 à 12 mm et des CMI estimées à 12.5±0 , 41.66±0 et 25±0 mg/ml pour les souches *E.coli P.aeruginosa et S.aureus* respectivement . L'application topique de la pommade de l'extrait méthanolique nord (MEO) n'a pas augmenté de manière significative le taux de contraction des plaies par rapport aux groupes témoins. Par ailleurs, les résultats histologiques ont indiqué que Les zones des plaies traitées à l'extrait MEO, étaient complétement recouvertes de cellules épidermiques avec une cicatrisation complète du tissu qui avait une meilleure organisation que la plupart des autres groupes, un derme bien organisé ,un tissu conjonctif fibreux caractérisé par une bonne production de collagène a été aussi constaté.

Mots clés : *Echinops spinosissimus* Turra, polyphénols, alcaloïdes, HPLC/MS, activité antioxydante, antibactérienne, cicatrisante.

Abstract

The objective of our work is the identification of phenolic compounds and alkaloids of an Algerian medicinal plant (*Echinops spinosissimus* Turra; Asteraceae), and the evaluation of its biological antioxidant, antibacterial and healing activities in vivo. The contents of total phenols and flavonoids were determined using the methods of Folin-Ciocalteu and aluminum chloride, respectively. The antioxidant activity estimated by two methods: the free radical scavenging test (DPPH) and the total antioxidant capacity (CAT) as well as the antibacterial activity against three pathogenic bacterial strains (*Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa and Escherichia coli*) were determined for the ethyl acetate, methanolic and aqueous extracts from two regions north and south of Algeria. The polyphenolic profile was determined using HPLC-MS and the healing potential of the methanolic extract from the Mostaganem region was studied by measuring the various biophysical and histological parameters of the excision tissues of rats from Day 4 to Day16. The study of the phenolic composition of the selected extract of *E. spinosissimus* Turra has shown that it is predominantly composed of Apigenin and its derivatives and kaempferol and its derivatives. The best total polyphenol content is recorded with the northern aqueous extract (282.24 ± 7.06) mg EAG / g followed by the southern ethyl acetate extract (280.93 ± 6.92) mg EAG / g and finally the southern aqueous with a content of (230.28 ± 14.75) mg EAG / g. The best content of flavonoids and condensed tannins is noted for the north ethyl acetate extract with contents of (72.29 ± 2.14) mg EC / g and (298.15 ± 12.75) mg EC / g respectively. At a concentration of 10 mg / ml, the best antioxidant effects were observed with the methanolic extract from the southern region of the roots of *E.spinosissimus* (95.15 ± 1.04%) and the aqueous extract from the northern region with a value of (87.58 ± 0.05%) expressed as percentage inhibition of the free radical of DPPH. All extracts showed an inhibitory effect on the bacterial strains tested and the northern methanolic extract exhibited the largest zones of inhibition (12.33 ± 0.57 mm) for *P. aeruginosa*, followed by the northern aqueous extract with diameters of inhibition varying from 8 to 12 mm and MICs estimated at 12.5 ± 0 , 41.66 ± 0 and 25 ± 0 mg / ml for the *E. coli* , *P.aeruginosa* and *S. aureus* strains respectively. Topical application of northern methanolic extract (MEO) ointment did not significantly increase the rate of wound contraction compared to control groups. In addition, the histological results indicated that the areas of the wounds treated with the MEO extract, were completely covered with epidermal cells with complete healing of the tissue which had better organization than most of the other groups, a well organized dermis, a Fibrous connective tissue characterized by good collagen production has also been observed.

Key words: *Echinops spinosissimus* Turra, polyphenols, alkaloids, HPLC/MS, antioxidant, antibacterial, healing activity.

ملخص

الهدف من عملنا هو تحديد المركبات الفينولية والقلويدات لنبات طبي جزائري *Echinops spinosissimus* Turra) ؛ (Asteraceae، وتقييم مضادات الأكسدة البيولوجية ، ومضادات البكتيريا في المختبر وأنشطة الشفاء .تم تحديد محتويات الفينولات الكلية والفلافونويد باستخدام طرق Folin-Ciocalteu وكلوريد الألومنيوم على التوالي .تم تقدير النشاط المضاد للأكسدة بطريقتين :اختبار مسح الجذور الحرة (DPPH) والقدرة الكلية المضادة للأكسدة (CAT) بالإضافة إلى النشاط المضاد للبكتيريا ضد ثلاث سلالات بكتيرية ممرضة *Staphylococcus aureus*) و *Pseudomonas aeruginosa* و *Escherichia coli*).تم تقديرها لمستخلصات أسيتات الإيثيل والميثانول والمائي من منطقتين شمال وجنوب الجزائر .تم تحديد تم التركيبة البوليفينول باستخدام HPLC-MS ودُرست إمكانات الشفاء للمستخلص الميثانولي من منطقة مستغانم عن طريق قياس المعلمات الفيزيائية الحيوية والنسيجية المختلفة لأنسجة الفئران .من اليوم 4 إلى يوم .16 دراسة التركيب الفينولي للمستخلص المختار من E. *spinosissimus* Turra لقد أظهر أنه يتكون في الغالب من ابيجينين ومشتقاته و كايمبفيرول ومشتقاته .يتم تسجيل أفضل محتوى إجمالي من البوليفينول باستخدام المستخلص المائي الشمالي ± 282.24) (7.06مجم / EAG جم يليه مستخلص أسيتات الإيثيل الجنوبي (6.92 ± 280.93) مجم / EAG جم وأخيراً المائي الجنوبي بمحتوى (14.75 ± 230.28) مجم / EAG جم .لوحظ أفضل محتوى من مركبات الفلافونويد والعفص المكثف لمستخلص أسيتات الإيثيل الشمالي بمحتويات (2.14 ± 72.29) مجم / EC جم و (12.75 ± 298.15) مجم / EC جم على التوالي . بتركيز 10 مجم / مل ، لوحظ أفضل تأثير مضاد للأكسدة مع المستخلص الميثانولي من المنطقة الجنوبية لجذور*E.spinosissimus* (1.04 ± 95.15) ٪ (والمستخلص المائي من المنطقة الشمالية بقيمة من0.05 ± 87.58) ٪ (معبرًا عنها كنسبة مئوية من تثبيط الجذور الحرة لـ .DPPH أظهرت جميع المستخلصات تأثيرًا مثبطًا على السلالات البكتيرية التي تم اختبارها وأظهر المستخلص الميثانولي الشمالي أكبر مناطق تثبيط 0.57 ± 12.33) مم (لـ *P.aeuginosa*تراوح تثبيطها من 8 إلى 12 مم و MICs المقدرة بـ 0 ± 12.5 و 0 ± 41.66 و 0 ± 25 مجم / مل لسلالات *E. coli P.aeruginosa* و *S. aureus* على التوالي .لم يؤد التطبيق الموضعي لمستخلص الميثانول الشمالي (MEO)إلى زيادة معدل تقلص الجرح بشكل كبير مقارنة بمجموعات التحكم .علاوة على ذلك ، أشارت النتائج النسيجية إلى أن مناطق الجروح المعالجة بخلاصة MEO كانت مغطاة بالكامل بخلايا البشرة مع التئام كامل للأنسجة التي كان تنظيمها أفضل من معظم المجموعات الأخرى ، وهي الأدمة جيدة التنظيم ، و كما لوحظ النسيج الضام الليفي الذي يتميز بإنتاج الكولاجين الجيد.

الكلمات الأساسية *Echinops spinosissimus* Turra :، بوليفينول ، قلويدات ، HPLC / MS ، مضادات الأكسدة ، مضاد للجراثيم ، نشاط شفائي للجروح.