

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCCEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire de la faculté SNV-STU, Université Abou BekrBelkaid -Tlemcen

MEMOIRE

Présenté par

*Derrar Wissam
Sidhoum Amina*

En vue de l'obtention du
Diplôme de MASTER
En Infectiologie

Thème

Etude de l'activité hémolytique et anti-hémolytique
de *Zygophyllum Geslini*

Soutenu le 22/09/2020, devant le jury composé de :

Président	Dr. BOUALI W	MCB	Université de Tlemcen
Encadreur	Dr .MEDJDOUB H	MCB	Université de Tlemcen
Examineur	Dr. GHALEM M.	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire 2019/2020

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE : souidi Fatima

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes cotés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le dieu te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

A MON TRÈS CHER PÈRE : Derrar Abdallah

Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Que Dieu te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.

A Mes chers grands pères paternels et Ma chère grand-mère maternelle :

Que ce modeste travail, , soit l'expression des vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières. Que Dieu vous préserve santé et longue vie.

A la mémoire de mon grand père maternel,

puisse dieu l'accueillir dans son infinie miséricorde. Qui est été toujours dans mon esprit et dans mon cœur

A ma chère tante :

Qu'est ma deuxième mère pour son encouragement permanent, et son soutien moral

A mon cher frère et ma chère adorable sœur

merci d'être toujours à mes cotés, par votre présence, par votre amour dévoué et votre tendresse pour donner du gout et du sens à ma vie

A mes chères adorables copines

agréables sœurs qu'elles étaient et qu'elles resteront pour moi . Pour une sincérité si merveilleuse jamais oubliable, en vous souhaitant tout le succès et tout le bonheur

A tout ma grande famille Derrar , Souidi

A ma chère binôme sidhoum Amina

qui sans son aide ce travail n'auras jamais vu le jour

Wissam

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE :

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

A MON TRÈS CHER PÈRE :

Qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

A MES SŒURS ET MON FRÈRE :

Latifa, Soad, Khadidja, Chaïmaâ et Smail de leur soutien, aide, encouragement et de leurs conseils. A tous les membres de ma famille, petits et grands.

A ma chère binôme Derrar Wissam :

Qui elle a ajouté plus de distinction à notre travail avec ses idées brillantes et l'a permis d'ouvrir la voie par laquelle nous cherchons le succès, si Dieu le veut

A tous mes amis que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de mon cursus à l'université

Amina

Remerciement :

En guise de reconnaissance, nous tenons à témoigner nos sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribués de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail et de terminer ce manuscrit

Nous tenons tout d'abord à remercier chaleureusement Madame MEDJDOUB Houria maître de conférences « B » à l'université Abou Bakr belkaid de Tlemcen. Mes sincères gratitudes madame pour votre encadrement, votre disponibilité et votre réactivité. Pour le temps que vous nous avez consacré. Pour vos conseils avisés et précieux. Pour vos supervisions éclairées tout au long de la rédaction du mémoire.

Vous avez su apprécier avec justesse nos difficultés et apaiser nos doutes en proposant sans imposer. Nous vous en remercier. Nous avons eu beaucoup de plaisir à travailler à vos côtés.

Nous adressons toute nos reconnaissance à Dr. BOUALI W à l'université Abou Bakr belkaid de Tlemcen, de nous avoir fait l'honneur d'accepté de présider ce jury.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à Dr .Ghalem M, maitre de conférences « A » à l'université Abou Bakr belkaid de Tlemcen de nous avoir fait l'honneur d'accepté d'examiner ce travail

Nous aimerions aussi gratifier les efforts de Mr Ferouani M., Mr Habi S., Melle Zazoua Leila et Mme Bouali Samira, ingénieurs aux laboratoires de la faculté SNV-STU, qu'ont eu l'amabilité de répondre à nos questions et de fournir les conseils et les explications nécessaires.

Enfin, nous n'oserions oublier de remercier notre responsable de Master Infectiologie Mme Boukli Hassen Latifa maitre de conférences « A » à l'université de Tlemcen et tout le corps professoral de notre spécialité pour le travail énorme qu'il effectue pour nous créer les conditions les plus favorables pour le déroulement de nos études.

المخلص

تم تسجيل هذا العمل كجزء من تقييم تأثير مستخلصات *Zygophyllum Geslini* على نشاط كريات الدم الحمراء. ينقسم بحثنا إلى ثلاثة أجزاء: جزء نظري، تطبيقي و معالجة مقال. يحتوي الجزء الأول على 3 فصول ، يتحدث عن فسيولوجيا خلايا الدم الحمراء ، و انحلالها ، قدمنا في الفصل الثالث معلومات وخصائص النبات الذي نحن بصدد دراسته *Zygophyllum Geslini*. في الجزء الثاني قمنا بتصنيف مراحل التجارب التي أجريناها ، وتهدف هذه التجارب إلى دراسة النشاط الانحلالي والمضاد للانحلال للجزء الهوائي من *Zygophyllum geslini* عن طريق تحضير ثم اختبار مستخلصين إيثانول وأسيتون تم الحصول عليها من أجل نشاطها الانحلالي والمضاد للدم. أخيراً ، في الجزء الثالث ، تناولنا مقالاً بعنوان تقييم القدرة المثبطة في المختبر لـ α -amylase و α -glucosidase والتأثير الانحلالي للكسور المخصبة في الفينول في الجزء الهوائي من سالقيا أوفيسيناليس ل.

الكلمات المفتاحية: *Zygophyllum geslini* ، خلايا الدم الحمراء ، النشاط الانحلالي ، النشاط المضاد للدم

Résumé

Ce travail est enregistré dans le cadre de l'évaluation de l'effet des extraits de *Zygophyllum Geslini* sur l'activité érythrocytaire. Notre recherche est divisée en trois parties: partie bibliographique, matériel et méthode et un traitement d'un article. Dans la partie bibliographique en a 3 chapitres, le premier parle sur la physiologie des globules rouges , le deuxième parle sur l'hémolyse érythrocytaire, quand au troisième chapitre on a donné des informations et les caractéristique de la plante étudié la *Zygophyllum Geslini*. Dans la 2ème partie : matériel et méthode on a classé les étapes des expériences que nous avons faites , ces expériences en son but d'étudiés l'activité hémolytique et anti- hémolytique de la partie aérienne de *Zygophyllum geslini* par extraction de mucilage et préparation de deux extraits éthanolique et acétonique ces extraits obtenus sont testé pour leur activité hémolytique et anti hémolytique. enfin ,dans la troisième partie nous avons traité un article sur le titre Évaluation du potentiel inhibiteur in vitro de l'a-amylase et de l'a-glucosidase et l'effet hémolytique des fractions enrichies en phénol de la partie aérienne de *Salvia officinalis* L.

Mots clés : *Zygophyllum geslini*, globules rouges, activité hémolytique, activité anti-hémolytique

Abstract

This work is recorded as part of the evaluation of the effect of extracts of *Zygophyllum Geslini* on erythrocyte activity. Our research is divided into three parts: bibliographic part, material and method and a treatment of an article. In the bibliographical part have 3 chapters, the first talks about the physiology of red blood cells, the second talks about erythrocyte hemolytic, when in the third chapter we have given information and the characteristics of the plant studied *Zygophyllum Geslini*. In the 2nd part: material and method we have classified the stages of the experiments that we have made, these experiments are aimed at studying the hemolytic and anti-hemolytic activity of the aerial part of *Zygophyllum geslini* by extraction of mucilage and preparation of two ethanolic and acetone extracts these extracts obtained are tested for their hemolytic and anti-hemolytic activity. Finally, in the third part we dealt with an article on the title Evaluation of the inhibitory potential in vitro of α -amylase and α -glucosidase and the hemolytic effect of fractions enriched in phenol from the aerial part of *Salvia officinalis* L.

Key words: *Zygophyllum geslini*, red blood cells, hemolytic activity, anti-hemolytic activity

Liste des figures :

Figure 1: Géométrie d'une hématie humaine normale	5
Figure 2: Structure de l'hémoglobine	6
Figure3 : Structure de l'hème	6
Figure 4 : Représentation schématique de la membrane et du squelette érythrocytaire	8
Figure 5 : Shunt des hexoses mono phosphates	9
Figure 6 : la formation et la destruction d'érythrocytes	11
Figure7: <i>Zygophyllum Geslini</i>	15
Figure 8 : extraction du mucilage totaux	19
Figure9 : la décoction de la plante avec chloroforme	20
Figure 10: filtration de la plante	20
Figure11 : des troubles représentant le mucilage	21
Figure12 : mucilage total (culot, surnageant)	21
Figure13 : préparation d'eau physiologie	22
Figure14 : Taux d'hémolyse de l'extrait d'hydro-méthanolique de <i>S.officinalis</i> et de ses fractions d'acétate d'éthyle et de n-butanol	26

Liste des tableaux :

Tableau1 : Quelques exemples de plantes médicinales douées d'activité anti-hémolytique.....	13
Tableau 2 : préparation des extraits ethanoliqes.....	22
Tableau 3 : les étapes suivies pour l'évaluation de l'effet hémolytique et les points de différences entre les deux méthodes.....	25

Liste des abréviations

GR : globule rouge

Hb : hémoglobine

ATP : acide adénosine triphosphorique

IC50 : La concentration inhibitrice demi-maximale

GSSG : glutathion oxydé

GSH : glutathion réduit

BPS : solution saline tamponnée au phosphate

SM : solution mère

EPO : l'érythropoïétine

Glu-6-PDH : glucose-6-phosphate déshydrogénase

SOMMAIRE

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Physiologie des globules rouge

1 Le sang.....	3
2 L'érythropoïèse	4
3 Morphologie d'érythrocyte :.....	4
4 L'hémoglobine :	5
5 Membrane érythrocytaire :	6
<u>5.1</u> Structure et fonction :.....	6
<u>5.2</u> Domaine lipidique.....	7
<u>5.3</u> Cytosquelette	7
6 Source d'énergie :.....	8
8. Destruction d'hématies	9

Chapitre II : L'hémolyse érythrocytaire

1. Généralité :	11
2. Hémolyse physiologique.....	11
3. Hémolyse pathologique.....	11
4. Anémies hémolytiques.....	11
5. Substance anti-hémolytique :.....	12

Chapitre III : La plante étudiée

1. Déf de zygothylaceae :	14
2. Position systématique des Zygothylaceae	14
3. Caractéristiques botaniques :	14

SOMMAIRE

4. Zygophyllum Geslini :	15
5. Position systématique de Zygophyllum :.....	16
6. Caractéristique botanique :	16
7. Propriétés biologiques :	16
7.1 Activité cytotoxique.....	16
7.2 Activité antidiabétique.....	17
7.3 Intérêt et usage traditionnel	17
8. Répartition géographique :	17

Deuxième partie : partie expérimentale

Matériels Et Méthodes

1 Objectif

2 Matériel végétal et extraction:

2.1. Matériel végétal.....	18
2.2 Extraction.....	18
2.2.1 Extraction de chlorophylle.....	20
2.2.2 Extraction de mucilage	20

3 Effet hémolytique.....

3.1 Préparation des solutions.....	22
3.2 Préparation des extraits.....	22
3.2.1 Mucilage éthanolique.....	22
3.2.2 Extrait acétonique.....	23
3.3 Essais d'hémolyse.....	23

Traitement d'article

1-Le titre d'article.....	24
2-Problématique.....	24
3-Les activités réalisées dans ce travail.....	24
4-le protocole suivi.....	25
5- Interprétation.....	26
6-discussion.....	26

Conclusion.....27

Référence bibliographiques.....28

Introduction

Générale

Introduction

L'hémolyse désigne le processus visant la destruction des globules rouges, ou hématies, par les macrophages. Ces derniers sont des globules blancs spécifiques, localisés au niveau du foie et de la moelle osseuse. Avec une durée de vie moyenne de 100 jours, l'hématie est ensuite recyclée pour produire de nouveaux globules rouges. Si elle est généralement normale, l'hémolyse peut devenir pathologique et entraîner la destruction prématurée des globules rouges. (Horde, 2014). On peut distinguer deux types d'hémolyses, l'une est physiologique et l'autre est pathologique (hyper hémolyse) (LIPPI *et al*, 2011).

La destruction des érythrocytes est un phénomène normal qui a lieu dans la rate lorsque les globules rouges sont en fin de vie, l'hémolyse anormale du sang peut avoir différentes causes. Il peut s'agir d'une pathologie qui aboutit à la destruction des globules rouges dans les vaisseaux sanguins, cas de certaines anémies (hémolytiques), des accidents transfusionnels ou du paludisme. (Beaumont et Hergaux, 2005). L'anémie est une pathologie se caractérisant par une baisse de la concentration de l'hémoglobine, très souvent associée à une diminution de la masse de globules rouges circulant, affecte surtout les femmes et les enfants d'âge préscolaire.

Un bon nombre de remèdes sont connus pour soigner une baisse anormale de taux d'hémoglobine ou la destruction anormale des hématies. Dans tout les cas le traitement doit tenir compte du facteur causal. Mais en raison des effets secondaires des médicaments les patients cherchent des traitements d'origine végétale ou phytothérapie.

Depuis des milliers d'années, l'homme utilisé les plantes trouvées dans la nature pour traiter et soigner des maladies (SANAGO, 2006).

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

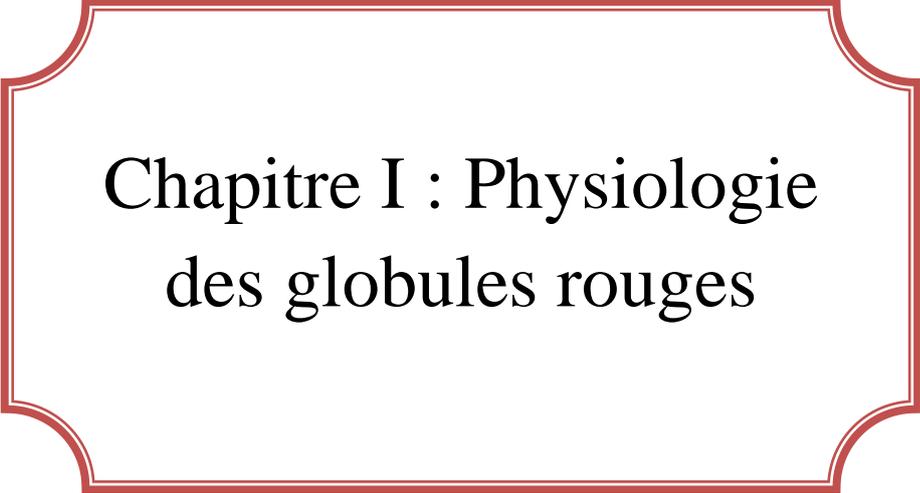
A cet effet nous avons, par la présente étude, essayé de déterminer l'effet hémolytique et anti-hémolytique d'une plante médicinale, en Algérie, plusieurs plantes sont utilisées traditionnellement pour traiter des différentes maladies parmi elles le *Zygophyllum geslini* Coss « Aggaya ». [Smati *et al*, 2004].

Introduction

Le *Zygophyllum geslini* l'objet de notre travail est une Zygophyllacée vivace de la classe des Magnoliopsides, de l'ordre des Sapindales, Des études réalisées sur cette plante montrent que l'extrait aqueux peut diminuer la glycémie des rats rendus diabétiques (Jouhari et *al*, 2000).

Le but de notre étude est la détermination de l'effet hémolytique et anti hémolytique de l'extrait de la partie aérienne de *zygophyllum geslini* et ses fractions.

Première partie
Synthèse
bibliographique



Chapitre I : Physiologie des globules rouges

Chapitre I : Physiologie des globules rouges

1. Le sang

. Le sang est un tissu conjonctif spécialisé dont la matrice extracellulaire est liquide c'est le plasma sanguin, où baignent une population cellulaire libre très diversifiée (Gautrand, 2003).

Le sang, représente près de 10% de la masse corporelle. C'est la moelle osseuse qui produit les cellules sanguines au cours d'un processus appelé hématopoïèse.

Les principales fonctions du sang résident dans le transport du gaz (CO₂, O₂..), des hormones, également des produits de métabolisme ainsi que des cellules au cours de migration, aussi d'autres substances sont transportées par le flux sanguin. Il s'agit d'électrolytes, de glucose et des nutriments. Il assure aussi un rôle de tampon en capturant les ions H⁺ produits par le métabolisme cellulaire (Duncan et Parasse, 1986).

Cela explique l'importance de ce tissu dans le diagnostic des pathologies. La morphologie, le nombre et les proportions de chaque type cellulaires sont des indicateurs pour de nombreuses modifications biologiques (Ratnoff, 1987).

Le plasma est composé d'eau, de sels minéraux, de protéines et de molécules organiques. Après coagulation, le plasma sans fibrinogène constitue le sérum. D'un point de vue biochimique, les protéines plasmatiques peuvent être divisées en deux types en fonction de leur mobilité électrophorétique: l'albumine et la globuline, représentant des niveaux de 55% et 45%, respectivement (Norbert I *et al*, 1995).

Les globules sanguins sont divisés en trois familles principales: globules blancs (ou leucocytes), plaquettes (ou thrombocytes) et globules rouges (hématies ou érythrocytes). elles circulent dans le réseau de vaisseaux sanguins pour assurer leurs fonctions de base respectives. Par conséquent, les globules rouges assurent le transport des gaz entre les tissus et les poumons (l'oxygène pénètre dans les tissus, le dioxyde de carbone atteint les poumons), les globules blancs jouent un rôle décisif dans le système immunitaire et les plaquettes participent à ce phénomène de Hémostase et coagulation - mais participent également à l'inflammation et protègent l'endothélium Contrairement aux autres cellules (Perkins, 1999), les cellules sanguines sont constamment renouvelées par le processus hématopoïétique. (Geay, 1995)

Chapitre I : Physiologie des globules rouges

2. L'érythropoïèse

L'érythropoïèse est l'ensemble des phénomènes aboutissant à la formation du GR), assurant le maintien du nombre de GR et du taux d'hémoglobine dans des limites physiologiques très étroites, (BELHANI, 1987).

Les érythrocytes sont synthétisés au niveau de la moelle osseuse. Leur formation nécessite un processus complexe. Les globules rouges sont issus de plusieurs mécanismes cellulaires à partir de cellules souches indifférenciées. Cette production est régie par une hormone : l'érythropoïétine (EPO), qui est souvent plus connue pour son usage comme agent dopant. ;(Nicard, 2017).

Ce processus commence par une cellule précurseur nommée proérythroblaste. À la fin du processus une cellule immature son noyau est formée. Cette cellule prend le nom de réticulocyte. L'absence de noyau cause l'affaissement de la cellule, ce qui donne à l'érythrocyte leur forme biconcave caractéristique. Les réticulocytes composés à environ 34% d'hémoglobine, conservent en partie les mitochondries, les ribosomes et le réticulum endoplasmique : ils passent de la moelle osseuse à la circulation sanguine. Ils se convertissent habituellement en érythrocytes matures un ou deux jours après avoir quitté la moelle osseuse rouge. Normalement les vitesses de formation et de destruction des érythrocytes sont à peu près les même. Si la capacité de sang à transporter l'oxygène diminue parce que l'érythropoïèse est plus lente que la destruction des érythrocytes (Marie, 2009)

3. L'érythrocyte :

La concentration de globules rouges (également appelés hématies) présente dans le sang est d'environ 5 millions de cellules par millimètre cube. Ce sont de petites cellules non nucléées d'un diamètre de 7,65 μm et d'une épaisseur de 2,84 μm . Leur fonction est de transporter l'oxygène des alvéoles pulmonaires vers les tissus et le dioxyde de carbone des tissus vers les alvéoles (Cohen *et al*, 2008 ; Robert *et al*, 1997)

La viscosité du liquide interne contenant de l'hémoglobine dépend largement de la concentration de ce dernier (Bull *et al*, 1995). La liaison de l'hémoglobine avec l'oxygène est responsable de la couleur rouge du sang (Cohen *et al*, 2008 ; Robert *et al*, 1997).

Chapitre I : Physiologie des globules rouges

L'analyse du contenu cellulaire a montré la présence de molécules d'hémoglobine (25%), d'eau (70%), de minéraux et de composants organiques ionisées (potassium, protéines) (5%). Le globule rouge est une cellule sans noyaux et organites intracellulaires. Sous une pression osmotique normale (300 mOsmoles/L), le volume érythrocytaire moyen de globules rouges est de $98 \mu\text{m}^3$, et la surface est d'environ $130 \mu\text{m}^2$. Les globules rouges sont des sphères rétrécies sous la forme de doubles disques concaves (Fung *et al.*, 1981).

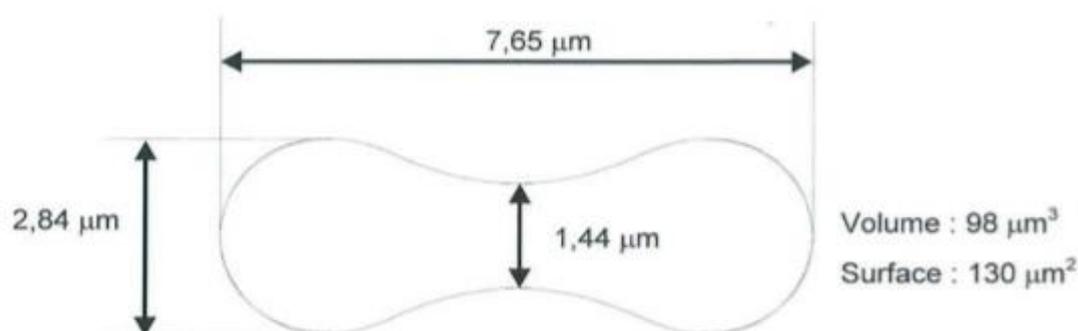


Figure 1: Géométrie d'une hématie humaine normale (d'après Fung *et al.*, 1981).

4. Hémoglobine :

C'est une hétéroprotéine, également connue sous le nom de chromoprotéine, qui constitue le pigment respiratoire des globules rouges (Domart et Bourneuf, 1984). Les globules rouges normaux contiennent 640 millions de molécules d'Hb, ce qui rend le sang rouge (Steiger, 2005). La concentration moyenne d'Hb dans le sang des femmes est de 14g/dl, et la moyenne pour les hommes est de 16g/dl (Horn *et al.*, 2005). Il existe quatre variantes physiologiques de l'hémoglobine dans le corps humain et il existe de nombreuses formes pathologiques. Chez l'adulte, l'hémoglobine A ou A0 représente le type principal (97% à 98%), l'hémoglobine mineure A2 représente 2% à 3% de l'hémoglobine totale et l'hémoglobine foetale est appelée hémoglobine F. Toute l'hémoglobine contient 0,34% de fer, ce qui signifie que le poids moléculaire de chaque atome de fer est de 16 500 Daltons. Le poids moléculaire de l'hémoglobine est d'environ 67 000 Daltons (Vanbourdolle *et al.*, 2007). La molécule d'hémoglobine est un tétramère composé de deux types de chaînes de globine et ont une structure similaire: l'une est de type α et l'autre de type β . Chacune de ces quatre chaînes contient un noyau central appelé (hème) avec un atome de fer. La chaîne de globuline

Chapitre I : Physiologie des globules rouges

détermine le nom de chaque molécule d'hémoglobine. L'hémoglobine est constituée des éléments suivants:

-Quatre chaînes polypeptidiques: 2 chaînes alpha composées de 141 AA et 2 chaînes β contenant 146 AA ($\alpha_2\beta_2$).

-Quatre molécules d'hème (Crossley et Orkin, 1993). Malgré leurs différentes séquences d'acides aminés, ces chaînes α et β se replient en une structure tridimensionnelle avec une conformation similaire, et chaque chaîne contient un hème, une petite molécule cyclique de porphyrine. Dans le cas de l'hémoglobine, la porphyrine entourant l'atome de fer est la protoporphyrine, qui est une molécule planaire hautement conjuguée et donneuse d'électrons. (De Franceschi et Corroche, 2004). L'hème est composé d'un cycle d'atomes de carbone, d'azote et d'hydrogène, et un atome de fer est attaché au centre du cycle. Le polypeptide avec son hème forme une sous-unité appelée monomère de la molécule d'hémoglobine. Par conséquent, cela intègre quatre sous-unités dans un tétramère (Perutz, 2018).

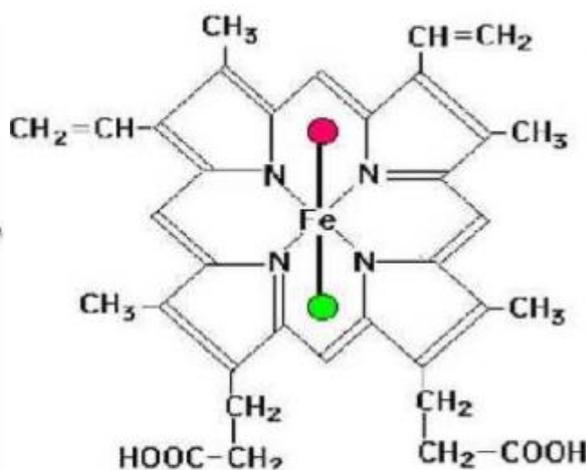
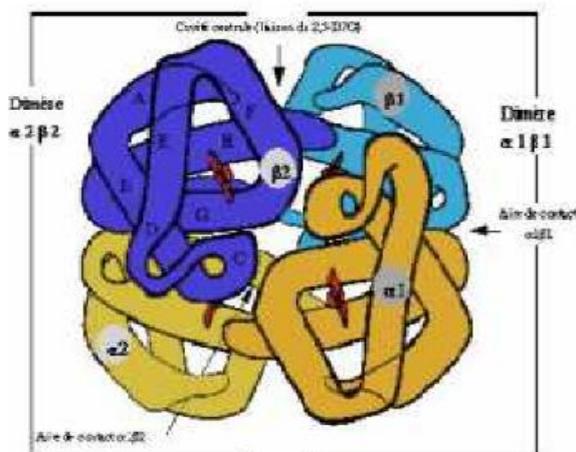


Figure 2 : Structure de l'hémoglobine (Serge, 2004) **Figure3 :** Structure de l'hème (Diakité, 2005).

5. Membrane érythrocytaire :

5.1 Structure et fonction :

La membrane érythrocytaire est constituée de deux domaines, une bicouche lipidique et le cytosquelette.

Le domaine lipidique est structurellement similaire à celle que l'on trouve dans la plupart des cellules de mammifères. Le cytosquelette diffère de ce qui est considéré comme cytosquelette dans d'autres cellules car il ne contient la protéine structurelle de la tubuline et ne sont pas impliqués dans la motilité cellulaire ou la phagocytose. (Smith, 1987)

Chapitre I : Physiologie des globules rouges

5.2 Domaine lipidique :

Le domaine lipidique est composé de parties presque égales de lipides et de protéines. Les principaux lipides sont le cholestérol et les phospholipides. Bien que le cholestérol semble tout aussi répartis entre les deux moitiés ou les prospectus de la bicouche lipidique, les autres lipides sont distribués de façon asymétrique. Glycolipides, phosphatidylcholine, et la sphingomyéline sont situés dans la moitié extérieure de la bicouche ; les phosphatidylinositols, la phosphatidyléthanolamine et la phosphatidylsérine se trouvent du coté cytosolique (Smith, 1987)

Les protéines du domaine lipidique s'étendent généralement de l'intérieur de l'érythrocyte vers l'extérieur. Ces protéines membranaires peuvent être divisées structurellement en une partie hydrophile interne, une partie hydrophobe à travers la membrane et une partie hydrophile externe avec glucides attachés. Certains groupes sanguins sont déterminée par la structure de ces glucides externes (Smith, 1987).

5.3 Cytosquelette :

Le cytosquelette érythrocytaire est constitué de plusieurs protéines qui forment un réseau filamenteux sous la bicouche lipidique. Le réseau est composé de la spectrine, ankyrine, actine et protéine 4.1.

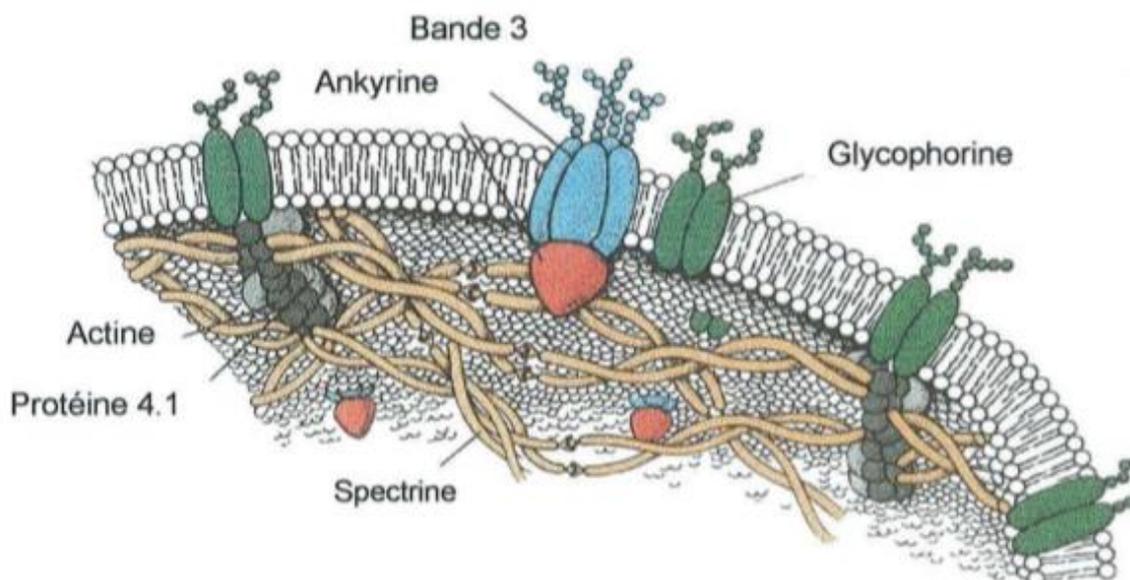


Figure 4 : Représentation schématique de la membrane et du squelette érythrocytaire (Stryer, 1997).

Chapitre I : Physiologie des globules rouges

Les protéines cytosquelettiques interagissent avec les protéines et les lipides intégraux de la bicouche pour maintenir l'intégrité de la membrane. Le cytosquelette a un rôle important dans la forme des érythrocytes, la flexibilité et la spectrine est la plus abondante des protéines de la membrane (30 % des protéines totales). C'est un hétérodimère formé de deux chaînes polypeptidiques: chaîne alpha de 240 kDa et chaîne bêta de 220 kDa. Ces deux chaînes enroulées l'une sur l'autre sont hautement flexibles et mesurent environ 100 nm. Dans la membrane, deux hétérodimères sont joints par une de leurs extrémités dites « tête» pour constituer le tétramère de spectrine, forme physiologique de la protéine (Speicher *et al.*, 1982 ; Smith, 1987).

6. Source d'énergie :

Le globule rouge vit sur ses réserves énergétiques qui s'épuisent progressivement au cours de sa vie. La principale source d'adénosine triphosphorique (ATP) est représentée par la glycolyse anaérobie de la voie d'Embden-Meyerhof. Une voie secondaire dite voie de Dickens-Horecker ou shunt des hexoses mono phosphates (figure5). 90 % du glucose passe par la voie d'Embden-Meyerhof et 10 % par le shunt mais ce pourcentage peut augmenter pour différentes causes. Tout déficit enzymatique congénital est susceptible de raccourcir la durée de vie des globules rouges concernés (Dorche, 2000)

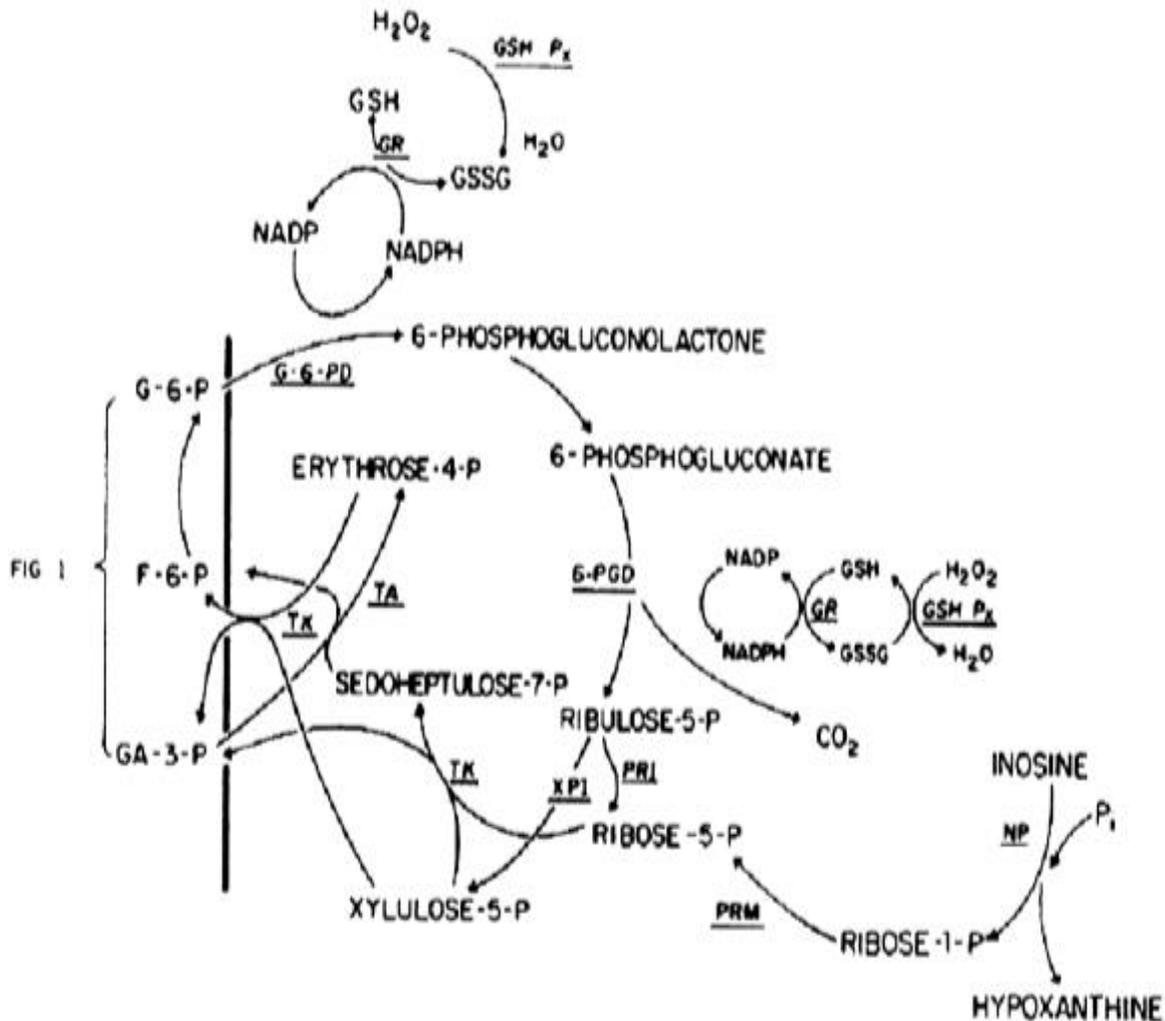


Figure 5 : Shunt des hexoses mono phosphates (Dorche, 2000)

7. Destruction d'hématies

La sénescence des globules rouges se produit progressivement par la perte de contenu enzymatique et le changement de membrane au cours de la vie des globules rouges. La lyse érythrocytaire (hémolyse physiologique) des globules rouges arrivés en fin de leur vie portent des anomalies structurales et morphologiques. Ils sont englutis dans le système tissulaire réticuloendothélial. Le principal site de destruction des globules rouges est la moelle osseuse (le système des phagocytes mononucléaires y détruit 50% des globules rouges). Les autres sont détruits dans le foie et la rate (Aguilar-Martinez, 2007).

Les globules rouges survivent pendant environ 120 jours, après leurs destruction, leurs composants sont convertis en composants simples, qui peuvent être immédiatement utilisés

Chapitre I : Physiologie des globules rouges

par la moelle osseuse. Une fois les globules rouges détruits, le fer dans l'hémoglobine sera récupéré et l'hème restant sera utilisé pour la synthèse des pigments biliaires dans le foie. Chaque seconde, 3 millions de globules rouges meurent. (Canfield, 1998; Bacha, 2000).

Au cours de la destruction des érythrocytes l'hème de l'hémoglobine est séparée de la globine, cette dernière est dégradée en acides aminés, par contre l'hème est libéré dans la circulation, la dégradation de l'hème est l'un des rares processus naturels produisant du monoxyde de carbone dans le corps humain et est responsable de la présence de CO dans le sang d'individus respirant même l'air le plus pur. Le noyau de Fer est récupéré puis associée à une protéine comme la ferritine ou l'hémosidérine et emmagasiné en vue d'une réutilisation ultérieure. Le reste du groupement hémique « proto porphyrine » est métabolisé en biliverdine, puis bilirubine, de couleur jaune. Insoluble, elle est libérée par les macrophages dans le plasma sanguin, où elle se lie au sérumalbumine, qui la transporte jusqu'aux hépatocytes. Ces derniers la solubilisent par conjugaison avec l'acide glucuronique et la sécrètent dans les intestins avec la bile. Les intestins métabolisent la bilirubine en urobilinogène, qui est excrété dans les fèces sous forme de stercobiline ainsi que dans les urines. Lorsque la bilirubine ne peut être excrétée, sa concentration sanguine augmente et elle éliminée essentiellement par les urines, qui deviennent foncées tandis que les fèces sont décolorées (Kikuch *et al.*, 2005).

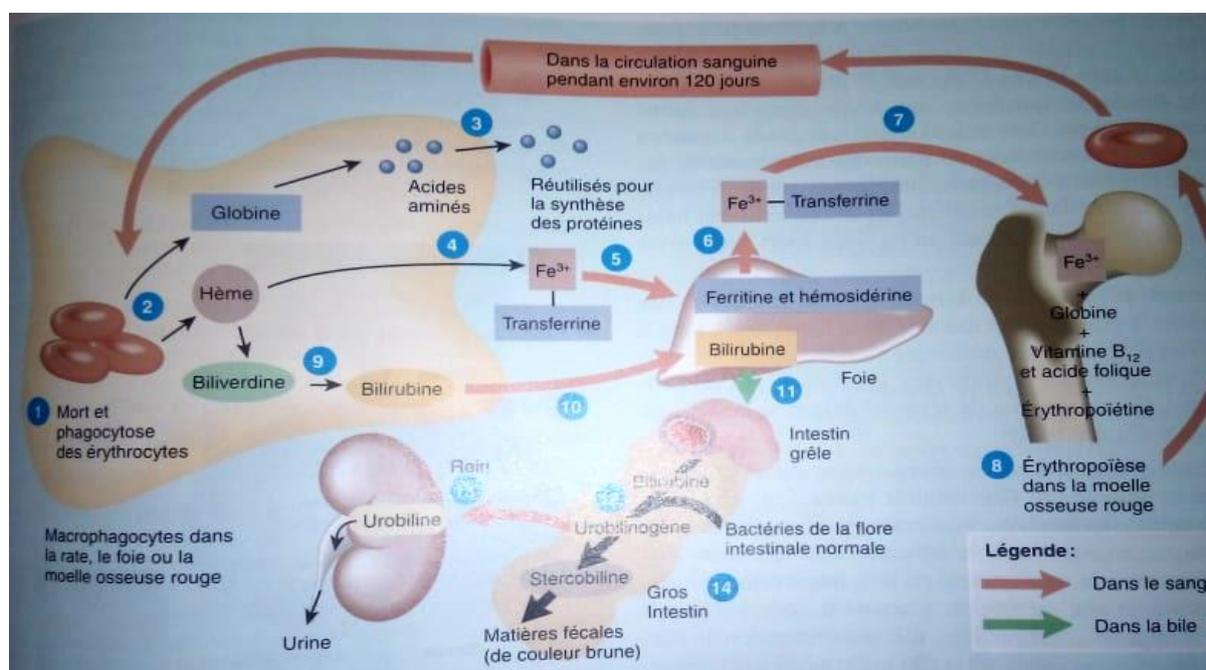


Figure 6 : la formation et la destruction d'érythrocytes, et le recyclage des composants de l'hémoglobine (Marie *et al.*, 2009)

***Chapitre II : L'hémolyse
érythrocytaire***

CHAPITRE II : L'HEMOLYSE ERYTHROCYTAIRE

1. Généralité :

Les érythrocytes ne peuvent atteindre leur durée de vie normale que lorsque leur déformabilité, leur résistance osmotique et mécanique, leur potentiel réducteur et leur approvisionnement en énergie sont normaux. Si l'une de ces propriétés est défectueuse, on peut aboutir à un raccourcissement de la durée de vie des globules rouges (jusqu'à atteindre quelques jours), ces derniers vont être éliminés par hémolyse (Silbemag *et al.*, 2002).

2. Hémolyse physiologique :

L'hémolyse (hémo : sang; lyse: perturbation) est un phénomène physiologique irréversible qui peut provoquer la rupture des membranes des globules rouges, entraînant la libération d'éléments des hématies dans le plasma, en particulier la libération d'hémoglobine. Ce phénomène peut être observé à l'œil nu par l'apparition de la teinte rose à rouge dans l'échantillon après centrifugation ou par spectrophotométrie en mesurant la densité optique du surnageant (hémoglobine) (Mezzou *et al.*, 2006). L'hémolyse est caractérisée par une augmentation des taux sériques d'hémoglobine associée à une augmentation de la lactate déshydrogénase (LDH), du phosphate et de la créatine kinase (CK), et une diminution des taux d'hémoglobine. Taux d'haptoglobine et d'hémoglobine glycosylée (Ali *et al.*, 2014),

3. Hémolyse pathologique :

L'hémolyse pathologique est la destruction précoce et excessive de GR circulante sous l'influence du processus d'hémolyse, qui peut être interne (hémolyse corpusculaire) ou externe (hémolyse extra-corpusculaire). Ce processus peut être congénital ou acquis et affecte toujours l'un des composants importants des GR: les membranes, les enzymes et l'hémoglobine (Hb) (Beaumont et Hergaux, 2005).

4. Anémies hémolytiques :

L'anémie hémolytique se caractérise par une réduction de la durée de vie des globules rouges inférieure à 120 jours, le plus souvent à moins de 30 jours. Cela est due à une hyperhémolyse qui consiste en une destruction exagérée des hématies, ces derniers sont libérés dans le sang ou les tissus de l'hémoglobine en raison de cette destruction anormale (Rebar, 1991 ; Suter, 1992 ; Gautrand, 2003)

Dans la plupart des anémies hémolytiques, les érythrocytes seront phagocytés de façon normale par des macrophages de la rate, de la moelle et du foie puis digérés (hémolyse extravasculaire), le fer sera réutilisé. Dans une faible proportion, l'Hb libérée dans la lumière vasculaire sera fixée par l'haptoglobine. Lors d'une hémolyse intravasculaire aiguë (l'hapto-

CHAPITRE II : L'HEMOLYSE ERYTHROCYTAIRE

globine sera surchargée et l'hémoglobine libre filtrée au niveau rénal. Ce phénomène peut non seulement provoquer une hémoglobinurie mais peut également induire une obturation des tubules et une insuffisance rénale aiguë. Une hémoglobinurie chronique a en plus pour conséquence une anémie par carence en fer, le débit cardiaque augmente et l'hémolyse mécanique provoquée par ces conditions boucle le cercle vicieux. Les fragments érythrocytaires provenant de l'hémolyse intravasculaire vont finalement provoquer des thromboses et des embolies, qui peuvent entraîner des ischémies cérébrales, cardiaques, rénales ou dans d'autres organes (Silbemag *et al*, 2002).

✓ Hémoglobinopathie :

-Hémoglobinose : anomalie qualitative de synthèse (mutation remplaçant un acide aminé de la globine par un autre) c'est drépanocytose

-Thalassémie : anomalie quantitative de synthèse d'une chaîne de globine

✓ Certains défauts enzymatiques altèrent le métabolisme érythrocytaire du glucose :

-Si c'est la pyruvate kinase qui est atteinte, l'approvisionnement en ATP s'arrête ; la carence en énergie bloque la Na^+/K^+ ATPase, provoquant un gonflement des cellules auquel les érythrocytes sont plus sensibles ce qui entraîne alors une hémolyse précoce (Silbemag *et al*, 2002)

- Une déficience en glucose-6-phosphate déshydrogénase (Glu-6-PDH), ralentit le cycle des pentoses, de sorte que lors d'un stress oxydatif, le glutathion oxydé formé (GSSG) ne peut pas être régénéré à une vitesse suffisante en GSH réduit. Les ponts disulfures des enzymes et des protéines membranaires ainsi que les phospholipides ne sont pas assez protégés de l'oxydation, ce qui conduit à une hémolyse prématurée. Certaines nourritures (fèves favisme) ou certains médicaments (par ex., primaquine ou sulfonamide) augmentent le stress oxydatif et aggravent donc la situation .

-une déficience en hexokinase entraîne à la fois une carence en ATP et une déficience en GSH (Silbemag *et al*, 2002)

5.Substances anti-hémolytiques :

Le traitement de l'anémie hémolytique est inévitablement effectué en traitant la cause de l'anémie. Par conséquent, il existe presque autant de traitements qu'il y a de causes. Il existe de nombreux médicaments anti-hémolytiques, des substances qui peuvent retarder ou inhiber la lyse des globules rouges. L'acide folique, les suppléments de fer, les

CHAPITRE II : L'HEMOLYSE ERYTHROCYTAIRE

corticostéroïdes et les suppléments de vitamine B peuvent être utilisés pour traiter l'anémie hémolytique (federici *et al*, 2007; leporrier, 2008)

Ces dernières années, le domaine de la recherche de nouvelles substances anti-hémolytiques à base de plantes a prospéré. La recherche sur ces itinéraires est menée par de nombreux laboratoires de recherche à travers le monde. Le tableau suivant représente quelques exemples de plantes testées à cet effet:

Tableau 1 : Quelques exemples de plantes médicinales douées d'activité anti-hémolytique

Matrice végétale	Tests utilisés	Effets	Références
Feuilles et tiges d' <i>Ammoides verticillata</i>	Hémolyse provoquée par l'eau distillée	Effet hémolytique (IC ₅₀ = 0,0422mg/ml)	Haoulia, 2015
Extrait de <i>Oryza stavia</i>	Hémolyse induite par le NaCl	Effet Anti-hémolytique (IC ₅₀ =500µg /ml)	Rahman Eswaraiyah <i>et al.</i> , 2015
Partie aérienne de <i>Mentha longifolia</i>	Hémolyse induite par H ₂ O ₂	Effet anti hémolytique IC ₅₀ = 951,4 µg/ml	Ebrahim Zadeh <i>et al.</i> , 2010
Fleur de <i>Cassia auriculata</i>	Hémolyse induite par Na Cl	Effet Anti-hémolytique (IC ₅₀ =500µg /ml)	Rani <i>et al.</i> , 2014

*Chapitre III : La plante
étudiée*

CHAPITRE III : LA PLANTE ETUDIEE

1. Zygophyllaceae :

Les Zygophyllaceae est une famille contient d'environ 27 genres et 285 espèces, qui se subdivisent en sous familles : Peganoideae, Nitrarioideae, Balanitoideae, Tribuloideae, Zygophylloideae. Les Zygophylloideae, constituent la sous famille la plus large avec 180 espèces (Sheahan et Chase, 1996). Les genres les plus importants de Zygophyllaceae sont : *Zygophyllum* (80 espèces), *Fagonia* (40 espèces), *Balanites* (20 espèces) et *Tribulus* (20 espèces), on rencontre les genres américains *Guaiacum* (6 espèces), *Kallstroemia*, *Larrea*, *Porlieria*, *Tribulus* (Judd *et al*, 2002 ; Michel, 2010).

Les Zygophyllaceae se composent d'arbustes, d'herbes et rarement d'arbre (Hussein *et al*, 2011 ; Suleman Khan *et al*, 2014). Il convient de noter que plusieurs Zygophyllaceae sont toxiques pour l'homme comme (Harmel, Chaparral...) et pour les animaux comme (*Tribulus*) (Bruneton, 2002). On trouve que les Zygophyllacées forment plus de 3% de la flore de notre désert (Ozenda, 1991).

2. Position systématique des Zygophyllaceae

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta (Plantes vasculaires)

Sous-embranchement : Magnoliophytina (Angiospermes)

Classe : Magnoliopsida (Dicotyledones)

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Sapindales

Famille : Zygophyllaceae

3. Caractéristiques botaniques :

Ce sont de petits arbres, des arbrisseaux ou des herbes, présentant des tiges à développement sympodial et articulées aux nœuds

Les feuilles, fréquemment persistantes, pourvues de stipules, très polymorphes, sont en principes opposées (justifiant le nom de la famille), composées paripennées, souvent à 2 folioles mais nombreuses chez *Tribulus*, et à folioles entières (Michel, 2010).

Les fleurs sont blanches et blanchâtres, de 4 à 5 mères, isolées ou inflorescences, la corolle, est également de 4 à 5 mères, et parfois nulle. Généralement, ces plantes renferment 10 étamines, le plus souvent, à stipules unies, un ovaire de 4 à 5 carpelles, à un ou plusieurs ovules par loge (Michel, 2010).

CHAPITRE III : LA PLANTE ETUDIEE

Le fruit est une capsule septicide ou loculicide, ou encore un fruit schizocarpé, éventuellement épineux (*Tribulus*) ou ailé (*Bulnesia*) (Michel, 2010), se dissociant en coques, parfois bacciformes, ou drupacés (Quezel et Sanata, 1963). La graine est albuminée, parfois pourvue d'un arille.

4. *Zygophyllum geslini* :

Le *Zygophyllum geslini* est une Zygophyllacée, une espèce endémique du Sahara septentrional algérien, plus de 3% de la flore saharienne (Ozenda, 1977). Plusieurs espèces du même genre et le *Zygophyllum geslini* ont le même nom commun de "Aggaya" telles que *Z. album*, *Z. cornutum* (Baba Aïssa, 1999), *Z. gaetulum* et *Z. waterlott* (Jouad *et al*, 2001; Eddouks, 2002)

Les tests phytochimiques réalisés sur la partie aérienne de *Z. geslini* montrent la présence de saponosides, acides aminés, tannins, alcaloïdes, glucosides cardiotoniques, mucilages, flavonoïdes, coumarines, anthracénosides, huiles volatiles et acides gras. De plus, 63% d'humidité, près de 5% de sucres, 10% de cellulose et environ 5% de composés phénoliques. Ces teneurs ont été confirmées par les tests phytochimiques qui ont montré une richesse en mucilages et tannins (Medjdoub, 2013).

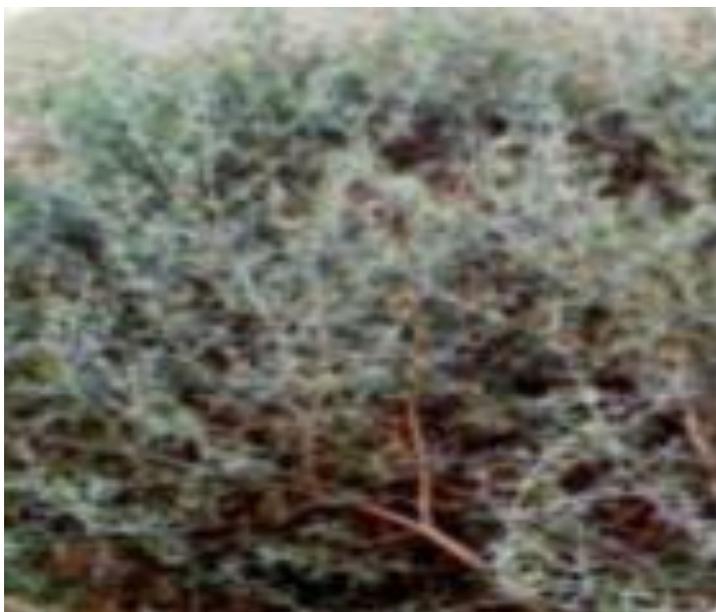


Figure 7: *Zygophyllum geslini* (Boudjelthia *et al*, 2017)

5. Position systématique de *Zygophyllum geslini*:

Règne : Plante.

Division : Magnoliophyta.

CHAPITRE III : LA PLANTE ETUDIEE

Classe : Magnoliopsida.

Ordre : Sapindales.

Famille : Zygophyllaceae.

Sous famille : Zygophylloideaes.

Genre : *Zygophyllum*.

Espèce : *Zygophyllum geslini* (P. Quezel, 1963).

6. Caractéristique botanique :

Le *Zygophyllum geslini* est un sous-arbrisseau à petites feuilles charnues d'un vert clair, parfois jaunes, il est caractéristique des terrains salés du Sahara algérien où il constitue des touffes buissonneuses couvrant souvent de grands espaces. Ses fleurs sont petites et blanches, composées de deux folioles, avec un petit pédicelle, et le fruit existe toujours sous forme d'épines après la perte du fruit (Russell, 1932). Le fruit est lobé, et la forme de poire s'étend régulièrement du bas vers le haut mais il n'y a pas de coins incurvés en forme de crochet. Il est une fois et demie plus long que large.

Le pédoncule est fructifère, aussi long que le fruit. La portion libre des carpelles est trois à quatre fois plus courte que la portion soudée, faisant à peine saillie (Majdoub, 2013).

7. Propriétés biologiques :

Beaucoup d'espèces de genre *Zygophyllum* sont menées des propriétés biologiques remarquables notamment antiseptiques, carminatif (Atta *et al*, 2004), antibactérienne, antifongique, anti-eczéma et antidiabétique (Sasmakov *et al*, 2001), antispasmodique (Bellakadhar *et al*, 1981) et cytotoxique (Smati *et al*, 2004).

7.1. Activité cytotoxique :

L'extrait dichlorométhanique des racines de *Z. geslini* montre un effet cytotoxique significatif contre les cellules KB « carcinome de l'épiderme buccal humain ». Cette activité est due à un produit actif : le β -(3,4-dihydroxycinnamoyl)-érythradiol (Smati *et al*, 2004).

7.2. Activité antidiabétique :

Le *Zygophyllum* est largement utilisé au Maroc pour lutter contre le diabète. Des études menées sur cette plante ont montré que les extraits aqueux peuvent abaisser la glycémie chez les rats diabétiques (Jouhari *et al*, 2000). Il est également efficace pour les patients atteints de diabète de type 2 (Jouhari *et al*, 1999).

Il en va de même pour *Zygophyllum cornutum*, Aggaya, en Tunisie, où l'espèce a été jugée très efficace lorsqu'elle a été testée sur des lapins (Perez et Paris, 1958)

CHAPITRE III : LA PLANTE ETUDIEE

Des études menées par Medjdoub (2006) ont également montré que les extraits à l'éthanol de la portion aérienne de *Z. geslini* ont une activité antidiabétique contre les rats Wistar atteints de diabète à base de streptozotocine. Les travaux menés par Boudjelthia *et al.* (2017) ont montré que les extraits méthanoliques et aqueux de *Zygophyllum geslini* ont des effets antioxydants et antidiabétiques significatifs.

7.3. Intérêt et usage traditionnel :

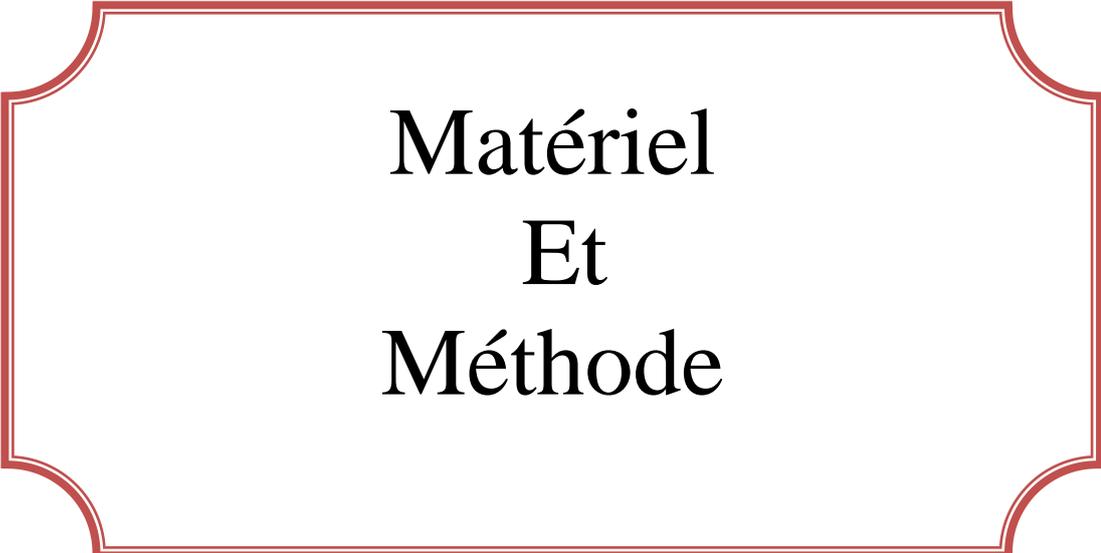
Le *Zygophyllum* est utilisé comme médicament pour diverses maladies en médecine traditionnelle comme remèdes de différentes affections, en particulier pour les rhumatismes, la goutte, l'hypertension et le diabète (Eskander *et al.*, 1995). Il s'est avéré être un agent antispasmodique, antiseptique, antibactérien et antifongique efficace (Sasmakov *et al.*, 2001)

8. Répartition géographique :

Les zygophyllacées sont représentée dans tous les continents mais principalement distribué dans les régions arides. Parmi ces Zygophyllacées de la tribu du Sahara, plus d'un tiers des espèces du Sahara sont de types différents. En d'autres termes, en termes de localité et de l'endémisme, ce groupe est le plus intéressant de toute la flore nord-africaine (Ozenda, 1977). Aussi Les zygophyllacées sont largement distribuées dans les régions, semi-arides des régions tropicales et subtropicales, les terrains salés, et les pâturages désertiques (Quezel *et al.*, 1963; Sheahan *et al.*, Chase, 2000)

Deuxième partie

Expérimentale



Matériel
Et
Méthode

1 Objectif :

Le présent travail est réalisé dans les laboratoires pédagogiques de biochimie, Faculté SNV-STU, Université Abou BekrBelkaid –Tlemcen.

L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'effet hémolytique et antihémolytique des polysaccharides (mucilages) de la partie aérienne de *Zygophyllum geslini*

2 Matériel végétal et extraction:

2.1. Matériel végétal

L'espèce *Zygophyllum geslini* a été obtenue auprès de la région d'Ougrout, située à 120 km du Nord-est de la wilaya d'Adrar (sud-ouest de l'Algérie) durant le mois de Mars 2018. Après le nettoyage et le séchage de la plante, toute la partie aérienne (feuille, tige et fleures, grain) a été broyée avec un moulin électrique. La poudre a été conservée dans des flacons en verre fermés afin de garder leur odeur, gout, et couleur, jusqu'à son utilisation.

2.2 Extraction

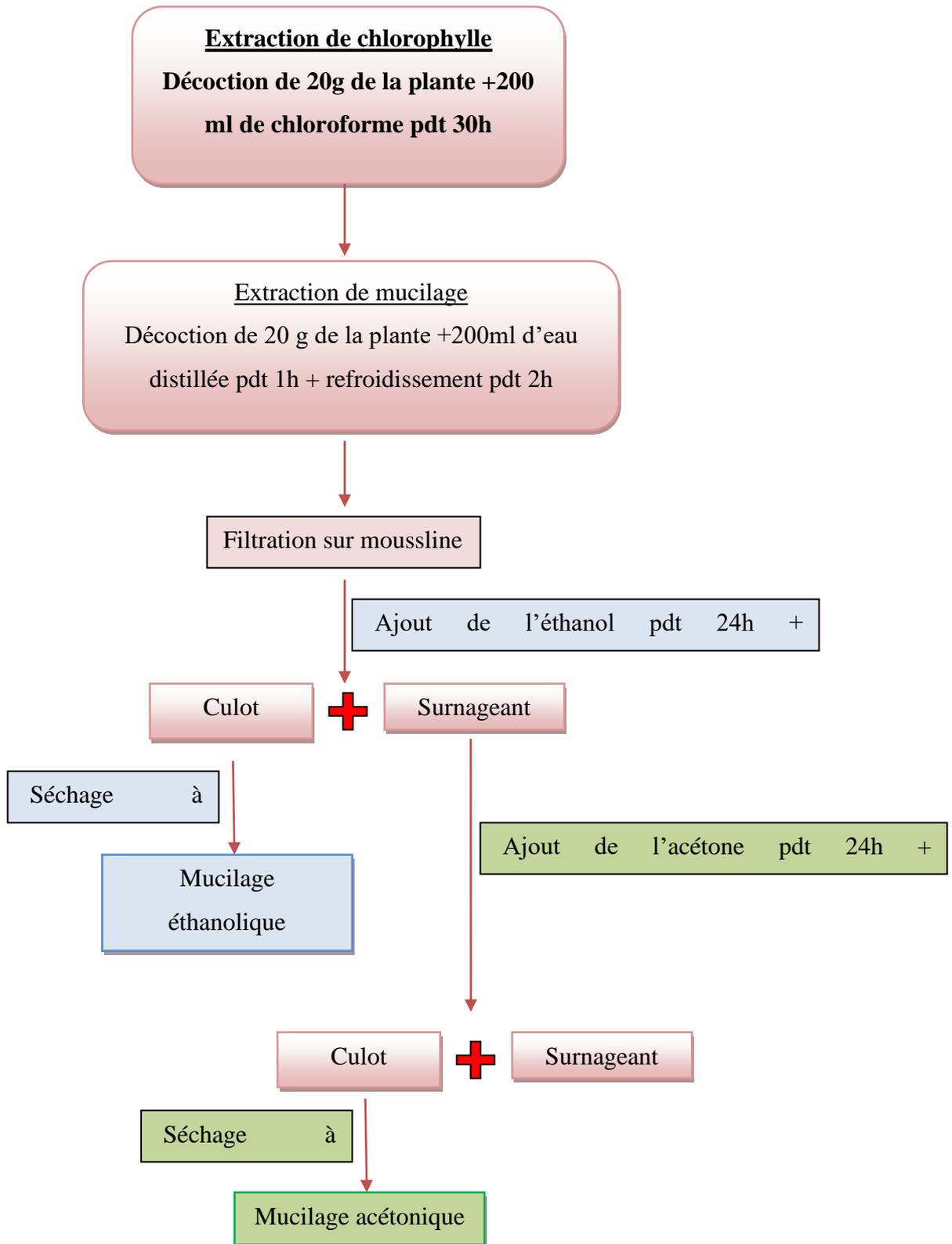


Figure 8 : extraction du mucilage totaux.

2.2.1 Extraction de chlorophylle :

- 20 g de la plante sont mis dans 200ml de chloroforme, dans un ballon rodé surmonté d'un réfrigérant et en présence de 2 à 3 pierres de ponce afin de réguler la température
- Extraction par décoction pendant 30 min.
- Refroidissement au niveau de chauffe ballon avant de retirer. (Shan et al ; 2008)



Figure 9 : la décoction de la plante avec chloroforme

- Filtration sur papier filtre.



Figure 10: filtration de la plante

- L'extraction est répétée deux fois afin d'extraire le maximum de la chlorophylle.

2.2.2 Extraction de mucilage :

- 20 g de la plante sont mis dans 200 ml d'eau distillé.
- Extraction par décoction pendant 1 heure.
- Refroidissement au niveau de chauffe ballon pendant 2 heures.
- Filtration sur mousseline.

- En ajoutant un volume d'éthanol équivalent au volume de filtrat (200ml)
- Refroidissement de mélange dans le réfrigérateur (4°C) pendant une nuit.
- 1^{ère} centrifugation à 3500 tours/min durant 15 min (Shan et *al* ; 2008)



Figure 11 : des troubles représentant le mucilage



Figure 12 : préparation des tubes pour la centrifugation

- Obtention de culot et surnageant



Figure 12 : mucilage total (culot, surnageant)

3 Effet hémolytique

3.1 Préparation des solutions :

- L'eau physiologie :

Dans un bécher (1L), 0,09 g de NaCl sont mis avec 200 ml d'eau distillé, la solution est agitée par agitateur en utilisant le barreau magnétique ; puis le volume de solution est ajusté à 1L avec l'eau distillé et conservé dans le réfrigérateur jusqu'à son utilisation.

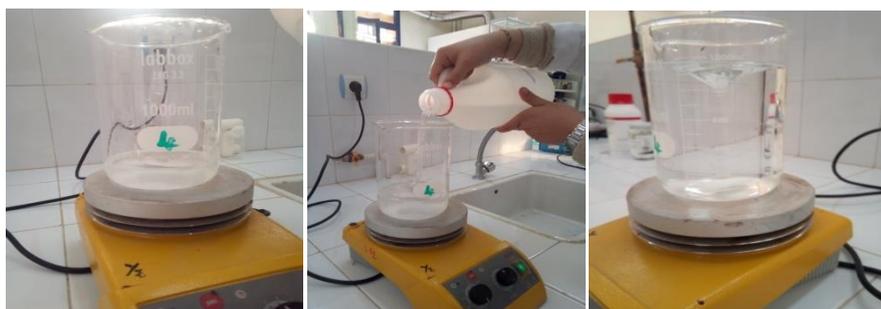


Figure 13 : préparation d'eau physiologie

- BPS :

Dans un bécher (1L), 0.2g de KCl est dispersé dans 400ml d'eau distillée, en ajoutant 8g de NaCl, 1.44g Na_2HPO_4 , 0.24g KH_2PO_4 sous agitation ; la solution obtenu est ajustée à 1L avec l'eau distillée au pH souhaité (pH=7.4). Le réactif obtenu est conservé au réfrigérateur jusqu'à son utilisation.

3.2 Préparation des extraits :

3.2.1 Mucilage éthanologique :

Solution mère (SM) : 2mg /ml	Dilution (S1) : [1mg /ml]	Dilution (S2) : [0,5mg /ml]	Dilution (S3) : [0,25mg /ml]	Dilution (S4) : [0,125mg /ml]
0,02g de fraction éthanologique (poudre) + 10 ml d'eau physiologie.	5ml (SM) + 5ml d'eau physiologie.	5ml (S1) + 5ml d'eau physiologie.	5ml (S2) + 5ml d'eau physiologie.	5ml (S3) + 5ml d'eau physiologie.

Tableau 2 : préparation des extraits éthanologiques

3.2.2 Extrait acétonique :

Dans un tube on a solubilisé 0,02g de fraction acétonique dans 10 ml d'eau physiologie afin d'obtenir la concentration de 2mg/ml (SM). Pour les dilutions, nous avons suivis les mêmes calculs que ceux suivis pour les mucilages éthanolique.

3.3 Essais d'hémolyse :

a. Préparation de la suspension érythrocytaire

Le sang est prélevé dans un tube héparine à partir d'un donneur sain. Ensuite, il est centrifugé à 3000 rpm durant 10 min. Le plasma (surnageant) est éliminé.

Le culot (la suspension érythrocytaire, GRh) est lavé trois (3) fois par le PBS pour être resolubilisé à nouveau par 1 ml de PBS.

b. Effet hémolytique

Le test d'effet hémolytique de la plante étudiée est réalisé selon la méthode de Bulmus et ses collaborateurs (2003).

-Mette dans tubes à hémolyse 0,4ml de la suspension GRh (10 %) avec 1,6 ml de l'extrait à différentes concentrations.

-Incuber les tubes à 37°C pendant 30 min.

-Centrifuger les tubes à 3000 rpm pendant 10 min.

-La lecture est réalisée à une longueur d'onde de 540nm, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible contre un blanc contenant de PBS.

En parallèle, un tube contrôle négatif en remplaçant l'extrait avec de l'eau physiologique est préparé. Dans les mêmes conditions, un tube contrôle positif correspondant à 100% d'hémolyse est préparé en remplaçant l'extrait par l'eau distillée.

Le pourcentage d'hémolyse a été calculé à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ d'hémolyse} = (A_t / A_c) \times 100$$

Ac = Absorbance du contrôle

At = Absorbance du test

A decorative red border with rounded corners and a double-line effect, enclosing the text.

Traitement D'article

1-Le titre d'article :

*Évaluation du potentiel inhibiteur in vitro de l' α -amylase et de l' α -glucosidase et l'effet hémolytique des fractions enrichies en phénols de la partie aérienne de *Salvia officinalis* L.*

2-Problématique :

Le diabète sucré est une maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie chronique qui peut causer diverses complications. Un bon contrôle glycémique permet de d'éviter ou de ralentir la survenue de ces complications.

Dans le même contexte, l'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet inhibiteur in vitro de *S. officinalis* L sur les enzymes digestives associées au diabète de type 2 et de déterminer son effet hémolytique. Cela permet d'évaluer l'activité antidiabétique de cette plante du moment que l'inhibition de ces deux enzymes est impliquée dans le traitement du diabète sucré.

3-Les activités réalisées dans ce travail :

Le travail comprend trois parties :

3.1. Analyse phytochimique : est un ensemble des méthodes et techniques de préparation et d'analyse des substances organiques naturelles de la plante. qui se déroule en 4 essais.

- Extraction des composés phénoliques : Les composés phénoliques sont extraits par décoction dans un mélange hydro-méthanol.

-Tests phytochimiques : réaliser selon la méthode de (Harbone, 1998) et de (Bruneton, 1999) dont l'objectif est la mise en évidence de certains composés.

- Dosage des composés phénoliques et flavonoïdes.

3.2. Activité antidiabétique : comprend 2 essais *in vitro*

-Test de l'inhibition de l'enzyme α -amylase par l'extrait d'hydro-méthanolique, la fraction d'acétate d'éthyle (EA) et la fraction n-butanol (n-B). Selon la méthode de (Thalapaneni et al ; 2008)

- Test de l'inhibition de l'enzyme l' α -glucosidase selon la technique de (Shibano et al ; 1997)

3.3. Activité hémolytique : des tests *in vitro*, suivant le protocole de (Henneberg, 2013) ce qui permettant d'évaluer l'effet hémolytique de l'extrait hydro-méthanolique et ses fractions de *Salvia officinalis* L.

4-le protocole suivi :

Afin d'évaluer l'effet hémolytique de l'extrait hydro-méthanolique de *Salvia officinalis* L et ses fractions, les chercheurs ont suivi le protocole de (Henneberg, 2013) . Cette méthode permet d'évaluer cet effet par des tests effectués sur les globules rouges. On constate que c'est la même méthode qu'on est suivi (Bulmus et al, 2003) dans notre partie expérimentale, on excepte quelques différences.

Le tableau ci-dessous résume les étapes suivies et les points de différences :

Méthode de Henneberg, 2013	Méthode de Bulmus et al, 2003
<ul style="list-style-type: none"> • lavage des hématies 3 fois avec PBS • <u>préparation des différentes concentrations d'extrait de <i>S.officinalis</i> et ses deux fractions à 25, 50, 100 et 200 mg/ml</u> • <u>incubation de 1980ml de suspension érythrocytaire mélangé avec 20 ml d'échantillon (37 C / 60 min)</u> • mesure de l'absorbance d'hémoglobine par spectrophotomètre à 540 nm • contrôle positif par l'eau • <u>contrôle négatif par PBS</u> 	<ul style="list-style-type: none"> • lavage des hématies 3 fois avec PBS • <u>préparation des différentes concentrations des extraits de <i>Z.geslini</i> à 2 ; 1 ; 0,5 ; 0,25 ; 0,125 mg/ml.</u> • <u>incubation de 0,4ml de suspension érythrocytaire mélangé avec 1,6ml d'échantillon (37 C / 30 min).</u> • mesure de l'absorbance d'hémoglobine par spectrophotomètre à 540 nm. • contrôle positif par l'eau. • <u>contrôle négatif par l'eau physiologie.</u>

Tableau 3 : les étapes suivies pour l'évaluation de l'effet hémolytique et les points de différences entre les deux méthodes

5- Interprétation :

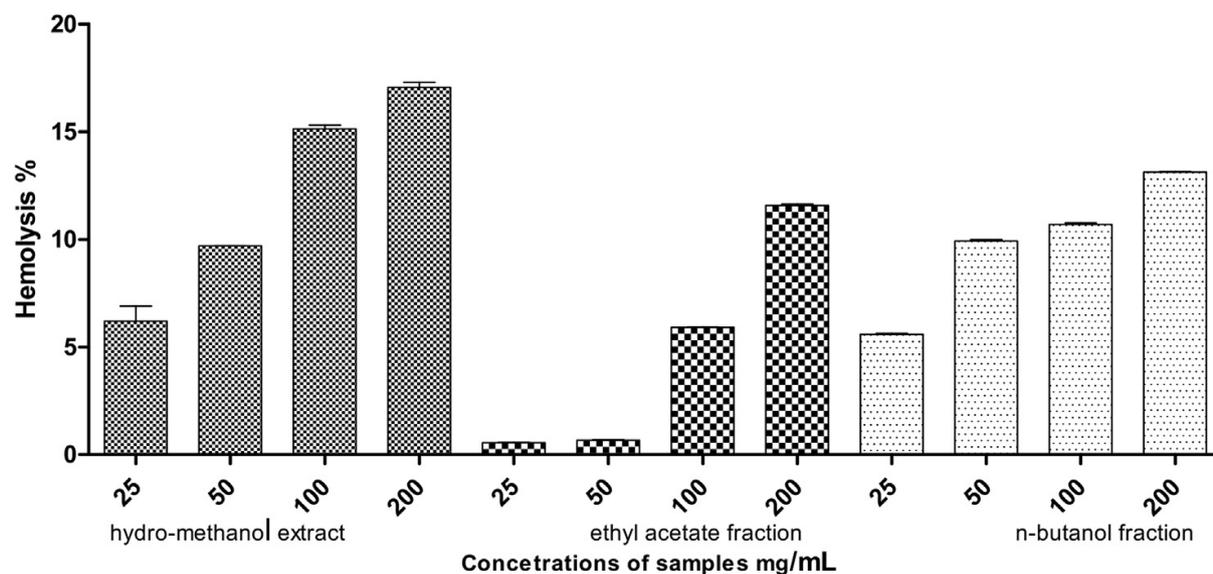


Fig14 : Taux d'hémolyse de l'extrait d'hydro-méthanolique de *S.officinalis* et de ses fractions d'acétate d'éthyle et de n-butanol

Ce graphe représente les résultats de l'effet hémolytique de l'extrait hydrométhanol et ses fractions en fonction de la concentration.

-Tout d'abord on note que le pourcentage d'hémolyse est variable selon la concentration. Alors la figure montre que l'effet hémolytique augmente constamment avec l'élévation de la concentration.

- Ensuite on constate que la fraction EA représente le faible pourcentage d'hémolyse, pour une concentration maximale de 200mg/ml on a moyenne d'hémolyse de $11,58 \pm 0,1$ % tandis que l'effet hémolytique le plus important est celle de l'extrait hydrométhanolique avec un taux d'hémolyse maximum de $17,06 \pm 0,41$ % pour la dose de 200 mg/ml.

-Enfin on peut voir que la fraction acétate d'éthyle à une faible toxicité par rapport à l'extrait de hydrométhanolique et à la fraction n-B.

6-discussion :

Les résultats obtenus sont justifiés par le composant saponine dans l'extrait MW se qui provoque une augmentation de leur taux d'hémolyse.

- ce pendant la baisse d'effet hémolytique de fraction EA est expliqué par la présence de taux important de phénols.

Conclusion

Conclusion

Notre époque connaît une augmentation remarquable de l'incidence des maladies chroniques, ce qui a obligé de nombreux pays, même développés à revenir à la phytothérapie

L'objectif de notre travail est l'étude des activités hémolytiques et anti-hémolytique de *Zygophyllum Geslini* sur les érythrocytes humaines. Afin de réaliser cet objectif nous avons effectué plusieurs expériences in vitro, mais la situation sanitaire du pays nous a permis plus de les terminer ce que nous provoque à traiter un article.

Ce dernier traité l'activité antidiabétique de *Salvia officinalis* L et leur effet hémolytique sur les érythrocytes, d'après le traitement de l'article on conclut que ces deux plantes ont presque les mêmes composants, donc leurs activités sont pareils

Il y a une relation directe entre la concentration et le type de l'extrait et l'effet hémolytique, signifie que plus la concentration est faible, plus l'activité hémolytique est faible

Notre étude de l'activité de cette plante reste inexacte et incomplète, ainsi qu'incertaine, il est donc préférable de faire plusieurs autres recherches plus approfondies:

- Recherche d'autres activités biologiques de la plante.
- Réalisation des tests in vivo pour évaluer plus précisément l'activité anti-hémolytique de la plante utilisée.
- Etude de l'effet toxique des différents extraits de la plante sur les tissus.

Références Bibliographiques

REFERENCE

- Aguilar_Martinez. (2007).H2-Erythrocytes_MB7 : Hémathologie H2_Faculté de médecine Montelieu_Nîmes.
- Ali, D., É, Sacchetto., E, Dumontet., D, carrer., J, Orsonneau., O, Delaroché., E, Bigot-corbel. (2014). Interférence de l'hémolyse sur le dosage de vingt-deux paramètres biochimiques. Annales de biologie clinique

B

- Bacha WJJ et Bacha LM.(2000) .Color Atlas of Veterinary Histology, 2nd Edition, Part 6: Blood Lippincott Williams and Wilkins, U. S. A.,.
- Beaumont F.,Hergaux C.,(2005) .Erythrophagocytose et recyclage du fer héminique dans les conditions normales et pathologiques ; régulation par l'hepcidine C. / Transfusion Clinique et Biologique.p 123–130.
- Bellakadhar J., Claisse R., Fleurotin J., Younos C. (1981). Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoea. Journal of Ethnopharmacology. 35: 123-143
- Boudjelthia K., Hammadi K., Kouidri M., Djebli N.(2017). Evaluation of Antidiabetic Activity of Two Plants Berberis vulgaris and Zygophyllum geslini. J Phys Chem Biophys. 7: 236.
- Bruneton J(1999) pharmacognosie, phytochimie médicinales, 3^{ème} édition, Édition Lavoisier TEC et DOC.
- Bruneton J.(2012).Pharmacognosie. phytochimie, plantes médicinales (4^e éd) Lavoisier.
- BULL, B.S. AND BRETON-GORIUS, J. (1995). Morphology of the erythron. Dans: Beutler, E. et al (Eds), Williams Hematology, Fifth Edition. International edition. McGraw-Hill, New York. 349-363.

C

- Canfield APJ. (1998) .Comparative Cell Morphology in the peripheral Blood Film From Exotic and Native Animals. Aust.Vet. J76 :793-800,.
- Cohen BJ, Taylor JJ. (2008).Structure et fonctions du corps humain. Anatomie et physiologie. Paris: Maloine.
- Crossley M., Orkin SH. (1993) .Regulation of the beta-globin locus.CurrOpin Genet Dev.3. 232-7

D

REFERENCE

- Defranceschi L., Corroche R. (2004) . Established and experimental treatments for sickle cell disease. *Haematologica*. 89. 348-56.
- Diakite S. (2005). Les mécanismes de protection de l'hémoglobine C contre les formes graves d'alpaludisme *A. P falciparum*, résultats d'études préliminaires in vitro. 41. 8 -100.
- DOMART A.,BOURNEUF J.(1984): Dictionnaire médicale, éditions Larousse., Paris 1,995p
- Dorche, C. (2000). Pathologie des enzymes de la glycolyse érythrocytaire. *Revue Française des Laboratoires*, 2000(324), 37 43.
- Duncan J.H et Prasse K. W .(2002). *Veterinary laboratory Medicine*, Iowa State-Unversity. 2éme Edition. 13 rue chpon. 75003.

E

- Eskander, E.F., Won Jun, H., 1995. Hypoglycemic and hyperinsulinic effects of some Egyptian herbs used for the treatment of diabetes mellitus (type II) in rats. *Egyptian Journal of Pharmaceutical Sciences*36, 331–342.

F

- Federici, L., N, H, Loukili., J, Zimmer., S, Affenberger., F, Maloisel., E, Andrés. (2007). "Manifestations hématologiques de la carence en vitamine B12: données personnelles et revue de la littérature." *La Revue de médecine interne* 28(4): 225-231.
- FUNG, Y.C., TSANG, W.C.O. AND PATITUCCI, P. (1981). High-resolution

G

- Gautrand C. (2003). les modalités de Prélèvement Sanguins. *Prat Méd* 38 : 15-18.
- Geay T.(1995). *Hématopoïèse Animale et Humaine, Utilisation Thérapetique des Facteurs de Croissance Hématopoïétiques*. Thèse Doctorat Veterinaries, Lyon, France.

H

REFERENCE

- Horde. P. (2014). Hémolyse – Définition. sante-medecine.commentcamarche.net.
- Horn F, Lindenneher G, Grilhosl C, Moc I, Berghold S, Schneider N, Munster B,2005. Biochimie Humaine. Medecine Science–Flammarion- . pp 484.

J

- Jouad H, Haloui M, Rhiouani H, El Hilaly J, Eddouks M. (2001). ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the north centre region of Morocco (Fez-Boulemane). J of Ethnopharmacology. 77:175182.
- Jaouhari JT, Lazrek HB, Seddik A, Jana M. (1999). hypoglycaemic response to Zygophyllum gaetulum extracts in patients with Non-Insulino-Dependent Diabetes Mellitus. J of Ethnopharmacology. 64:211-217.
- Jaouhari JT, Lazrek HB, Jana M. (2000). the hypoglycaemic activity of Zygophyllum gaetulum extracts in alloxan-induced hyperglycaemic rat. J of Ethnopharmacolog. 69:17-20.
- JUDD. W.S, CAMPBELL. C.S, KELLOGG. E.A, and STEVENS. P., 2002., Botanique Systématique: une perspective phylogénétique., Ed 1: DEBOECK., p: 84-336.

K

- Kikuchi G, Tadashi Yoshida et Masato Noguchi , 2005. « Heme oxygenase and heme degradation », Biochemical and Biophysical Research Communications. 338. 1, 9: 558-567.

L

- LIPPI G., AVANZINI P., PAVESI F., BARDI M., IPPOLITO L., ALOE R. et FAVALORO E.J. (2011). Studies on in vitro hemolysis and utility of corrective formulas for reporting results on hemolyzed specimens. Biochimica medica: 21, 297-305.

M

- Marie hélène, Courchesne et Catherine Ego, & Pierrette Mayer, Trad. (2009). Manuel d'anatomie et de physiologie humains ; 1re éd.renouveau pédagogique Inc.Paris..p594.
- .MAURICE N. (1997). L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe siècle. Ed. Tec et Doc, Paris. France. Pp 12-14.

REFERENCE

- M. BELHANI. (1987). Hématologie. TOME I. Alger, pp226
- Medjdoub H. (2006) . Etude phytochimique et activités biologiques de *Zygophyllum geslini* Coss. Mémoire de magistère, Université de Tlemcen.
- Medjdoub H.(2013).Contribution à la recherche d'éventuelles activités biologiques de *Zygophyllum geslini* Coss. Thèse de Doctorat en biologie. Faculté des sciences de la Nature et de la Vie. Université de Tlemcen..
- Mezzou, H., A, B, Khelifa., F, Neffati., W, Douki., A, Ben Amor., M, F, Najjar. (2006). "Détermination de l'hémoglobine plasmatique et évaluation spectrophotométrique de l'hémolyse en biochimie clinique." Revue Francophone des Laboratoires .386: 59-64.
- MICHEL B., 2010 : Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Tec et Doc, Lavoissier.Paris. 504 p.

N

- Nicard Quentin. (2017) . Hématies tout savoir sur globules rouges.
- Norbert I .Renée F. (1995). Collection biologie Médicale :Hématologie .Edition :Médicales Internationnales . France ,p111.

O

- Ozenda P.(1991). Flore et végétation du Sahara. 3ème édition, CNRS Edition, Paris, p 662. livre.
- Ozenda P.(1977).Flore du Sahara. 2ème Édition (Ed du Centre National de la Recherche scientifique). Paris. 318-320.

P

- PALEK, J. (1995). The red cell membrane. Dans: Beutler, E. et al (Eds), Williams Hematology, Fifth Edition. International edition. McGraw-Hill, New York. 406-417.
- PERKINS, S. (1999). Normal blood and bone marrow values in humans. Dans: Wintrobe's Clinical Hematology. 10th ed. Lee, G.R., Foerster, J.,
- Perutz Ferdinand.(2018). «HÉMOGLOBINE», Encyclopoedia Universalis.

REFERENCE

Q

- Quezel P., Santa S.(1963) .Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I, C.N.R.S. Paris.
- Quezel et al., 1963; Sheahan et Chase, 2000 Sheahan M.C., Chase M.W.(2000). Phylogenetic relationships within Zygophyllaceae based on DNA sequences of three plastid regions, with special emphasis on Zygophylloideae. Syst. Bot. 25: 371-384

R

- Rahman, H., M, C, Eswaraiah., A, M, Dutta. (2015). "In-vitro anti-inflammatory and anti-arthritic activity of Oryza sativa var. joha rice (an aromatic indigenous rice of assam)." American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences 15(1): 115-121.
- Rani, A, A., S, M, J, Punitha., M, Rema. (2014). "Anti-inflammatory activity of flower extract of Cassia auriculata-an in vitro study." Int. Res. J. Pharm. Appl. Sci. 4: 57-60.
- RATNOFF . (1987). Componentes de la sangre. Dans: Fisiologia,
- REBAR.A.H (1991) : Anémies. Dans : Conduite Diagnostique en Médecine Canine des Carnivores Domestiques. Editée par FORD.R.B. Edition du Point Vétérinaire, France, 75 – 100.
- Robert C, Vincent P. (1997). Biologie et physiologie humaines. Paris: Vuibert.
- Russell W. (1932).Note sur la structure de zygophyllum Geslini Gosson-In Revue de botanique appliquée et d'agriculture colonial, 12année.bulletin n°131, juillet.pp518-520.

S

- Sasmakov S.A., Putieva M.Zh., Saatov Z., Kachala V.V., Shashkov A.S.(2001). Triterpene glycosides of Zygophyllum eichwaldii C.A.M. Chemistry of Natural Compounds. 37: 91-92.
- Serge Pissard.(2004).Inter-relations métaboliques Physiopathologique Érythrocytaire et Métabolisme Énergétique.; 5. 23.
- Sheahan M.C., Chase M.W. (2000). Phylogenetic relationships within Zygophyllaceae based on DNA sequences of three plastid regions, with special emphasis on Zygophylloideae. Syst. Bot. 25: 371-384 article
- Silbemagi,Stefan, & lang, florian(2002). Atlas de poche physiopathologie .2e éd. Flammarion médecin science, Paris , p400.

REFERENCE

- Smati D, Longeon A, Guyot M. (2004). 3 β -(3, 4-Dihydroxycinnamoyl)-erythrodiol, a cytotoxic constituent of *Zygophyllum geslini* collected in the Algerian Sahara. *J of Ethnopharmacology*. 95: 405-407.
- Smith, J. E. (1987). Erythrocyte Membrane : Structure, Function, and Pathophysiology. *Veterinary Pathology*, 24(6), 471- 476.
- Speicher DW, Morrow JS, Knowles WJ , Marchesi VT. (1982).A structural model of human erythrocyte spectrin : Alignment of chemical and functional domains. *J Biol Chem* ; 257 : 9093-101.
- Steiger A,2015.Hémoglobinopathies. point de vue Hématologie:1
- STRYER, L. (1997). Biochimie, Lubert Stryer, 4th éd. Médecine-Sciences, Flammarion, Paris, 1065 pages.
- SUTER.P.F (1992) : Anémies et Diathèses Hémorragiques. Dans : Pratique de la Clinique Canine. Editée par : NIEMAND.H.G et SUTER.P.F. Edition Vigot, France, 413 – 437.
- .

V

- Vanbourdolle M., et collaborateurs. (2007). Biochimie hématologie. 6.1116.