



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Aboubakr Belkaïd– Tlemcen –
Faculté des sciences de la nature et de la vie, des sciences de la terre et de l'univers
Laboratoire des Produits Naturels « LAPRONA »



MEMOIRE

Présenté par : M^{elle} BELARBI AMEL et M^{elle} LOUZI ASMA

Pour obtenir le diplôme de master

En ECOLOGIE

Spécialité toxicologie industrielle et environnementale

Thème :

Pouvoir hémolytique et potentiel anti-hémolytique de deux extraits de racines de *Daucus crinitus* Desf. d'Algérie.

Soutenue le : 26 Juin 2023, Devant le jury composé de :

| | | |
|-------------------------------|---------------------|-------------------------------|
| Dr CHAOUECHE Tarik Mohammed | Président | MCA à l'Université de Tlemcen |
| Dr MEZOUAR Dounia | Examinatrice | MCA à l'Université de Tlemcen |
| Dr CHAOUECHE- HADDOUCHI Farah | Encadrante | MCA à l'Université de Tlemcen |

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Louange à ALLAH de nous avoir guidé dans le bon chemin en l'implorant dans nos prières afin de nous donner non seulement le courage, la force et la patience de réaliser ce travail.

*Nous souhaitons remercier mon encadrante, **Dr. CHAOUCHE-HADDOUCHI FARAH**, Maitre de conférences « A » à la Faculté de SNV / STU (Université de Tlemcen), d'avoir accepté encadrer ce modeste travail. Merci pour votre disponibilité, votre compréhension, votre grande gentillesse et pour la confiance que vous nous avez témoigné pendant la réalisation de ce travail. Malgré vos importantes obligations, vous étiez toujours présente pour nous recadrer dans la bonne direction et ceci était fondamental dans la bonne réalisation de ce travail. Soyez assurée de notre profonde gratitude*

*Nous exprimons notre vive reconnaissance au **Dr. CHAOUCHE Tarik Mohammed**, Maitre de conférences « A » à la Faculté de SNV / STU (Université de Tlemcen), d'avoir accepté de me faire l'honneur de présider le jury de ce travail.*

*Nous remercions **Dr MEZOUAR Dounia**, Maitre de conférences « A » à la Faculté de SNV / STU (Université de Tlemcen), d'avoir accepté d'examiner ce travail. Nous vous en suis très reconnaissantes.*

*Nous remercions particulièrement **M^{lle} GUELLAI Imène**, Doctorante à l'université de Tlemcen, pour son aide précieuse au laboratoire des Produits naturels, sa disponibilité, sa gentillesse et ses conseils.*

À vous tous, un grand Merci

Dédicace

A mes très chers parents.

Unique et irremplaçable, aucune dédicace ne saurait exprimer la reconnaissance, le respect et l'amour que je vous porte. Votre aide, vos encouragements et vos prières m'ont été d'un grand secours tout au long de mes études. Que Dieu vous garde et vous prête une longue vie et une bonne santé.

À mes chers frères pour leurs appuis et leur encouragement, les mots ne suffisent pas guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous, que Dieu les protège. A ma chère grande mère qui ma encouragée a toujours avancée.

À tous mes deux amis :Asma et Sihem

Et pour tous les proches de mon cœur

BELARBI AMEL

Dédicace

Avant tout, je remercie Dieu, le Miséricordieux de m'avoir donné le courage, la force et la patience pour réaliser ce mémoire.

Je dédie ce modeste travail à mon très cher père Mohamed qui m'a toujours soutenu et qui a été toujours présent pour moi.

A la plus chère au monde, ma mère Latifa qui m'a toujours offert ses aides morales durant mes études.

A mes sœurs : Naouel et Meriem

A mon frère : Mohamed Yassine

A tout ma famille et mais proches amis

A mon amie et binôme : Amel

A ma promotion de toxicologie industriel et environnement 2023.

Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

LOUZI ASMA

ملخص

Résumé

Abstract

Liste des photos

Liste des figures

Liste des tableaux

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Introduction | 2 |
| PARTIE 1 : Recherche bibliographique | 4 |
| Chapitre I : Pouvoir hémolytique et activité anti-hémolytique des plantes | 5 |
| 1. Pouvoir hémolytique des plantes | 6 |
| 1.1. La toxicité | 6 |
| 1.2. La toxicité des plantes..... | 6 |
| 1.3. Pouvoir hémolytique des plantes | 7 |
| 1.3.1. Composition du sang | 6 |
| 1.3.1.1. Les globules rouges (GR) ou les érythrocytes | 6 |
| 1.3.1.2. Les globules blanches ou leucocytes | 6 |
| 1.3.1.3. Les plaquettes sanguines | 7 |
| 1.3.1.4. L'hémoglobine(Hgb) | 7 |
| 1.4. Hémolysé | 7 |
| 1.4.1. Hémolysé pathologique | 8 |
| 1.4.2. Implication des plantes dans l'hémolysé | 8 |
| 3. Activité anti-hémolytiques des plantes | 9 |
| Chapitre II : Généralités sur les composés phénoliques | 11 |
| 1. Les métabolites secondaires | 12 |
| 2. Les composés phénoliques..... | 12 |
| 2.1. Généralités, structure et biosynthèse | 12 |
| 3. Classification polyphénols..... | 13 |
| 3.1. Les acides phénoliques | 13 |
| 3.1.1. Les acides hydroxybenzoïques | 13 |
| 3.1.2. Les acides hydroxycinnamiques | 13 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.2. Les flavonoïdes | 14 |
| 3.3. Les tanins | 15 |
| 3.3.1. Tanins hydrolysables | 15 |
| 3.3.2. Tanins condensés | 16 |
| 4. Activités biologiques des composés phénoliques..... | 17 |
| Chapitre III : La plante étudiée <i>Daucus crinitus</i> Desf..... | 18 |
| 1. La famille des Apiaceae | 19 |
| 2. Le genre <i>Daucus</i> | 19 |
| 3. L'espèce <i>Daucus crinitus</i> Desf. | 20 |
| 3.1. Description botanique | 20 |
| 3.2. Origine et distribution | 21 |
| 3.3. Classification systématique..... | 21 |
| 4. Noms de la plante | 21 |
| 5. Utilisation médicinale et traditionnelle | 22 |
| 6. Données phytochimiques | 22 |
| Partie expérimentale..... | 24 |
| Matériel et méthode..... | 25 |
| 1. Matériel végétal..... | 26 |
| 2. Méthodes | 27 |
| 2.1. Extraction solide - liquide par soxhlet..... | 27 |
| 2.2. Extraction liquide-liquide | 28 |
| 2.3. Dosage des composés phénoliques..... | 29 |
| 2.3.1. Dosage des polyphénols totaux..... | 29 |
| a) Principe..... | 29 |
| b) Protocole | 29 |
| 2.3.2. Dosage des Flavonoïdes totaux | 29 |
| a) Principe | 29 |
| b) Protocole : | 29 |
| 2.3.3. Tanins condensée | 30 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| a) Principe | 30 |
| b) Protocol | 30 |
| 2.4. Activité hémolytique..... | 28 |
| 2.4.1. Principe..... | 30 |
| 2.4.2. Préparation de la suspension sanguine: | 31 |
| 2.4.3. Protocol..... | 31 |
| 2.5. Evaluation de l'activité anti-hémolytique, <i>in vitro</i> , par la méthode de stabilisation membranaire des globules rouges | 31 |
| 2.5.1. Principe | 31 |
| 2.5.2. Protocol | 31 |
| 2.6. Analyses statistiques | 32 |
| Résultats et discussion | 33 |
| 1. Résultats et discussion | 34 |
| 1.1. Les rendements en extrait | 34 |
| 1.2. Dosages des composés phénoliques..... | 35 |
| 1.2.1. Dosage des polyphénols totaux | 35 |
| 1.2.2. Dosage des flavonoïdes | 36 |
| 1.2.3. Dosage des tanins condensés | 37 |
| 1.3. Activité hémolytique | 38 |
| 1.4. Etude de l'activité anti-hémolytique | 40 |
| Conclusion générale et perspectives | 44 |
| Références bibliographiques | 45 |

الملخص

تساهم التجارب المقدمة في هذا العمل من ناحية في دراسة انحلال الدم ومن ناحية أخرى في تقييم النشاط المضاد لانحلال الدم لمستخلصات جزأين (أبيض داخلي وقشرة) من جذر *Daucus crinitus Desf.* "بوزفور" من منطقة تلمسان (الجزائر)

يتطلب تحضير المستخلصات الاستخراج الهيدروميثانولي (20/80 ، v / v) مع متبوعا باستخراج v/v السائل مع الهكسان (50/50 ؛ v/v) ، من أجل ازالة المركبات القطبية. العائد المائي الميثانول ، بواسطة soxhlet ، من الجزء الأبيض الداخلي (18.88%) أكبر من القشرة (10.1%). يرجع الانخفاض في العائد بعد الاستخراج إلى مرور مستخلص زيتي المظهر في هذا المذيب. عائد هذه الزيوت هي: 3.25 ٪ للقشرة و 2.25 ٪ للجزء الأبيض الداخلي.

القياسات الطيفية للمركبات الفينولية تكشف أن محتويات البوليفينول والفلافونويد في مستخلص القشرة (49.28 ± 7,16 mg EC/g ES ; 12.82±0.78 mg EAG/g ES ، على التوالي) هي أعلى من تلك التي من مستخلص الجزء الأبيض. ومع ذلك ، فإن محتويات العفص المكثف منخفضة وقريبة في كلا الجزأين ، مع تفوق طيف في مستخلص القشرة (1.91±0.06 mg EC/g ES).

النسب المئوية لانحلال الدم، عن طريق استخدام نموذج كريات الدم الحمراء ، تتناسب مع الزيادة في التركيزات. الجزء الأبيض لديه أدنى معدل انحلال الدم، والتي بدأت فيا لزيادة بشكل ملحوظ فقط من 10 ملغ/مل 88.71 ٪ في 20 ملغ/مل، بعد 30 دقيقة من الحضارة.

بالنسبة للتركيز من 0.0156 ملغ/مل إلى 1.25 جزئي النبات، زادت نسبة مضادات من 56.4 إلى 80 ٪ للجزء الأبيض ومن 44.9 إلى 80 ٪ للقشرة. إلى جانب هذا التركيز، اختفت هذه الحماية للمستخلصين ولحمض الأسكوربيك .

المركبات الفينولية أقل وفرة في الجزء الأبيض الذي وجد أنه أقل انحلالاً للدم ومضاداً لانحلال الدم أكثر قليلاً من القشرة.

الكلمات المفتاحية: جذور *Daucus crinitus Desf.*، المركبات الفينولية، دراسة انحلال الدم، نشاط مضاد لانحلال الدم

Résumé

Les expérimentations présentées dans ce travail contribuent d'une part à l'étude du pouvoir hémolytique et d'autre part à l'évaluation de l'activité anti-hémolytique des extraits de deux parties (blanche interne et croûte) de la racine de *Daucus Crinitus* Desf. « bouzaffour » de la région de Tlemcen (Algérie).

La préparation des extraits a nécessité une extraction hydrométhanolique (80/20, v/v) par Soxhlet, suivie par une extraction liquide/liquide par l'hexane (50/50 ; v/v) pour éliminer les composés apolaires. Le rendement hydro-méthanolique, par Soxhlet, de la partie blanche interne (18,88%) est plus important que celui de la croûte (10,1%). La diminution des rendements après une extraction à l'hexane est due au passage d'un extrait d'aspect huileux dans ce solvant. Les rendements en ces huiles sont : 3.25% pour la croûte et 2.25% pour la partie blanche interne.

Des dosages spectrophotométriques des composés phénoliques révèlent que les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dans l'extrait de la croûte (49.28 ± 7.16 mg EAG/g ES ; 12.82 ± 0.78 mg EC/g ES, respectivement) sont supérieures à celles de l'extrait de la partie blanche. Cependant, les teneurs en tanins sont faibles et proches dans les deux parties, avec une légère supériorité dans l'extrait de la croûte (1.91 ± 0.06 mg EC/g ES).

Les pourcentages d'hémolyse, par l'utilisation de modèle érythrocytaire, sont proportionnels à l'augmentation des concentrations. La partie blanche a le taux d'hémolyse le plus faibles, qui n'a commencé à augmenter significativement qu'à partir de 10 mg/ml et est de 88,71% à 20 mg/ml, après 30 min d'incubation.

Pour des concentrations de 0,0156 à 1,25 mg/ml et pour les deux parties de la plante, le pourcentage anti-hémolytique est passé de 56,4 à 80% pour la partie blanche et de 44,9 à 80% pour la croûte. Au-delà de cette concentration cette protection disparue pour les deux extraits et pour l'acide ascorbique.

Les composés phénoliques sont moins abondants dans la partie blanche qui s'est révélée moins hémolytique et légèrement anti-hémolytique que la croûte.

Mots clés : Racines de *Daucus crinitus* Desf., Composés phénoliques, pouvoir hémolytique, Activité anti-hémolytique.

Abstract

The experiments presented in this work contribute, on the one hand, to the study of the hemolytic power, on the other, to the evaluation of the anti-hemolytic activity of the extracts of two parts (inner white and rind) of the root of *Daucus crinitus* Desf. « Bouzeffour » from Tlemcen (Algeria)

Preparation of the extracts involved hydro-methanolic extraction (80/20, V/V) by soxhlet followed by liquid/liquid extraction with hexane (50/50; V/V), to remove apolar compounds.

The hydro-methanolic yield by soxhlet, of the inner white part (18,88%) is higher than that of the crust (10,1%). Lower yields after hexane extraction are due the passage of an oiliness extract through this solvent. The yields of these oils are: 3, 25% for the crust and 2,25% for the inner white part.

Spectrophotometric analyses of phenolic compounds revealed that polyphenols and flavonoids in crustal extract (49.28 ± 7.16 mg EAG/g ES ; 12.82 ± 0.78 mg EC/g ES ,respectively) are higher than those in the white part extract .However ,tannins contents are low and close in both parts , with a slight superiority in the crust extract (1.91 ± 0.06 mg EC/g ES).

Hemolysis percentages, using erythrocyte models ,are proportional to increasing concentration .The white part has the lowest hemolysis rate, which only began to increasing significantly at 10mg/ml and is 88,71 % at 20 mg/ml ,after 30 min incubation .

For concentrations ranging from 0,0156 to 1,25 mg/ml and for both parts of the plant ,the anti-hemolytic percentage rose from 56,4 to 80% for the white part and from 44,9 to 80% for the crust .Above this concentration ,this protection disappeared for both extract and ascorbic acid.

Phenolic compounds are less abundant in the white part, which was found to be less hemolytic and slightly anti-hemolytic than the crust.

Key words: *Daucus crinitus* Desf. roots, phenolic compounds, hemolytic power ,anti-hemolytic activity .

Liste des photos

| | | |
|------------------|-----------------------------------------------------------------|----|
| Photo 01: | Ombelle de <i>Daucus crinitus</i> | 20 |
| Photo 02: | Partie souterraine et aérienne de la plante étudiée | 21 |
| Photo 03: | <i>Daucus crinitus</i> Desf..... | 26 |
| Photo 04: | Extraction par Soxhlet..... | 27 |
| Photo 05: | Extrait d'hexane (huile) | 35 |
| Photo 06: | Résultats de l'activité anti-hémolytique la partie blanche..... | 40 |
| Photo 07: | Résultats de l'activité anti-hémolytique la partie croute..... | 40 |

Liste des figures

| | | |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 1: | Structure des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques..... | 13 |
| Figure 2: | Squelette de base des flavonoïdes..... | 14 |
| Figure 3: | Structures chimiques des flavonoïdes..... | 14 |
| Figure 4: | Structure des tanins..... | 15 |
| Figure 5: | Structure de base des tanins hydrolysables..... | 16 |
| Figure 6: | Structure chimique de quelques tanins hydrolysables..... | 16 |
| Figure 7: | Structure chimique des tanins condensés..... | 16 |
| Figure 8: | Répartition géographique mondiale des Apiaceae..... | 19 |
| Figure 9: | Situation géographique de la région Béni Mester (Tlemcen)..... | 26 |
| Figure 10: | Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.. | 36 |
| Figure 11: | Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes..... | 36 |
| Figure 12: | Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés..... | 37 |
| Figure 13: | Pourcentages d'hémolyse des extraits de la racine de <i>D. crinitus Desf.</i> et de l'acide ascorbique..... | 39 |
| Figure 14: | Pourcentages de stabilisation de la partie croute à des concentrations différentes | 41 |
| Figure 15: | Pourcentages de stabilisation de la partie blanche à des concentrations différentes | 41 |
| Figure 16: | Pourcentages de stabilisation d'acide ascorbique à des concentrations différente | 42 |

Liste des tableaux

| | | |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tableau 1: | Quelques exemples de plantes médicinales douées d'activité anti-hémolytique..... | 10 |
| Tableau 2: | Travaux antérieurs sur <i>Daucus crinitus</i> Desf. d'Algérie..... | 22 |
| Tableau 3: | Rendements en extraits..... | 34 |
| Tableau 4: | Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés (moyenne \pm écart type) dans les deux parties de <i>D. crinitus</i> Desf..... | 37 |

Introduction générale

Les humains ont toujours utilisé l'environnement, en particulier les plantes, qui sont une riche source de composés naturels utilisés depuis des siècles pour traiter une variété de maladies (*Karmakar et al., 2011*).

Les plantes sont un réservoir de molécules bioactives largement utilisés en thérapeutique comme agents antimicrobiens, antioxydants et anti-hémolytiques (*Chaouche et al., 2015 et Yakhlef, 2010*). Cependant, certaines plantes peuvent présenter un risque de toxicité et leur utilisation provoque des troubles plus moins graves voire mortelles. Ces plantes contiennent une ou multiples substances nuisibles soit pour l'homme ou pour l'animal (*Fournier, 2001*). Les globules rouges sont les cellules les plus utilisées dans l'évaluation de la toxicité des plantes « hémolyse » à cause de leur disponibilité, et la facilité de leur surveillance au cours de la lyse cellulaire grâce à la libération de l'hémoglobine (*Wajeman et al., 1992*).

Il est donc intéressant d'étudier les propriétés anti-hémolytiques des plantes pour remplacer les agents anti-hémolytiques synthétiques. A cet effet, le domaine de la recherche scientifique a étudié de nouvelles substances anti-hémolytiques d'origine végétale, ces dernières années, Il s'agit par exemple des composés phénoliques qui sont des antioxydants naturels et qui stabilisent les membranes des globules rouges pour empêcher la lyse osmotique (*Chaudhuri et al., 2007*). Cependant, le mécanisme d'action de ces molécules est mal compris (*Devjani et Barkha, 2011 ; Belkhir, 2017*).

L'Algérie, la porte de l'Afrique, par son climat très varié (la mer méditerranéenne au Nord et le Sahara dans le sud) et sa situation géographique particulière bénéficie d'une flore très riche et diversifiée répartie sur tout le territoire algérien. En effet, le Nord algérien présente une large gamme des espèces endémiques adaptées au climat de la zone et appartiennent aux différentes familles botaniques (*Quézel et Santa, 1963*). L'intérêt porté à ces plantes n'a pas cessé de croître au cours de ces dernières années.

C'est dans ce contexte que le présent travail a pris naissance, sur l'évaluation du pouvoir hémolytique et de l'activité anti- hémolytique d'une plante du nord de l'Algérie (Beni Mester-Tlemcen). Il s'agit de *Daucus crinitus* Desf. de la famille des Apiaceae, une famille anciennement connus sous le nom d'ombellifères.

Ce travail a été réalisé en trois parties :

- La première partie résume les données bibliographiques sur les connaissances botaniques et phytochimiques de l'espèce étudiée, *Daucus crinitus* Desf. Cette section comprend également des informations générales sur les composés phénoliques, la cytotoxicité et l'activité anti-hémolytique;
- La deuxième partie est consacrée à la partie expérimentale qui décrit les techniques d'extraction, les méthodes des dosages des composés phénoliques et les méthodes d'évaluation du pouvoir hémolytique et de l'activité anti-hémolytique ;
- La troisième partie consiste en une analyse des résultats obtenus et une discussion soulignant leur importance.

Enfin, le manuscrit se termine par une conclusion générale et des perspectives.

Partie bibliographique

Chapitre 01

Pouvoir hémolytique et activité anti-hémolytique des plantes

1. Pouvoir hémolytique des plantes :

1.1. La toxicité :

La toxicité se définit comme un groupe d'effets indésirables qui peuvent être une altération de la forme et de la fonction corporelle, causée par une dose unique relativement élevée ou une dose répétée à long terme d'une substance (*Hodgson, 2004*).

1.2. La toxicité des plantes :

Les plantes dites toxiques peuvent provoquer diverses maladies plus ou moins graves et même la mort si elles contiennent une ou plusieurs substances nocives pour l'homme et pour les animaux (*Fournier, 2001*).

Dans les plantes médicinales, diverses molécules aux activités biologiques notoires telles que les alcaloïdes, les glycosides, les tanins, les anthocyanes et les stéroïdes sont distribuées dans tous les organes de la plante, en particulier les graines et les racines. Ces ingrédients peuvent présenter une toxicité inhérente à certaines concentrations (*Ouedraogo, 2001*).

1.3. Pouvoir hémolytique des plantes :

1.3.1. Composition du sang :

C'est un fluide corporel dont la fonction principale est de transporter l'oxygène vers les tissus vivants. Il joue également un rôle important dans le système immunitaire. Les cellules sanguines comprennent les érythrocytes ou les globules rouges (environ 99 %), les globules blancs (0,2 %) et les plaquettes (0,6 à 1 %) (*Hoffman, 2007*).

1.3.1.1. Les globules rouges (GR) ou les érythrocytes :

Il y a environ 5 millions de cellules par millimètre cube de globules rouges (ou hématies) dans le sang. Ces cellules non nucléées ont un diamètre de 7,65 µm et une épaisseur de 2,84 µm. Ils transportent l'oxygène des tissus vers les alvéoles pulmonaires et le dioxyde de carbone des tissus vers les alvéoles (*Cohen et al., 2008 ; Robert et al., 1997*).

1.3.1.2. Les globules blancs ou leucocytes :

Les globules blancs sont des cellules du système immunitaire et jouent principalement un rôle dans la défense de l'organisme contre les agents agresseurs qu'ils soient endogènes ou exogènes. Ce sont de véritables cellules mémoires qui assurent principalement la sécurité au niveau des organes (*Ifrah et al., 1995*). Il existe 3 classes de globules blancs: les granulocytes (polynucléaires), les monocytes et les lymphocytes (*Susan et al., 2002*).

1.3.1.3. Les plaquettes sanguines :

Les plaquettes au repos ont une forme discoïde avec un volume de 8 à 10 fl. Les deux tiers de la population de plaquettes circulent à une concentration de 150 à 400 10⁹ plaquettes/l, tandis que le reste est séquestré dans la rate. Lorsqu'elles sont phagocytées par les macrophages de la rate et du foie, leur durée de vie moyenne est de 8 à 10 jours (*Schaff, 2012*). Leur rôle est primordiale dans les processus de coagulation et peuvent adhérer au collagène lorsque l'endothélium est endommagé (*Theml et al, 2006*).

1.3.1.4. L'hémoglobine(Hgb) :

C'est une hétéroprotéine, également appelée chromoprotéine, qui forme le pigment respiratoire des globules rouges (*Domart et Bourneuf, 1984*). C'est une molécule composée de deux parties : une partie hème, constituée de fer, et une partie globine, un composant protéique (*Wilson et al., 2010*).

L'hémoglobine permet aux globules rouges d'accomplir leur fonction principale de transport de l'oxygène des poumons vers les tissus. La réaction chimique dans laquelle l'oxygène se lie aux atomes de fer contenus dans l'hème est appelée oxydation. Ce phénomène, responsable de la couleur rouge du sang (*Lewis et al., 2011*). La concentration d'hémoglobine dans un liquide interne affecte grandement sa viscosité (*Bull et al, 1995*).

1.4. Hémo lyse :

Hémo lyse (hémo : sang ; lyse : trouble) est un phénomène physiologique irréversible qui peut conduire à la rupture de la membrane des globules rouges, après une durée de vie normale de 120 jours. Elle se produit dans la circulation sanguine mais à une faible proportion. Elle conduit à la libération d'éléments de ceux-ci dans le plasma, en particulier l'hémoglobine (*Mezzou et al., 2006 ; Thomas et al., 2013*) et est donc caractérisée par une augmentation des taux d'hémoglobine sérique, accompagnée d'une augmentation de la lactate déshydrogénase(LHD), du phosphate et de la créatine kinase (CK). En outre, il y a une baisse des taux d'hémoglobine ,d'haptoglobine et d'hémoglobine glycosylée (*Ali et al, 2014*).

Chez les individus normaux, la plupart des globules rouges sont détruits par les macrophages qui phagocytent les vieux globules rouges. L'hémo lyse restante est distribuée dans tout le corps, spécifiquement dans la rate et le foie. Cette phagocytose porte sur des GR dont le vieillissement s'est traduit par des modifications biochimiques (teneur en enzymes réduite, métabolisme ralenti, perte de lipides membranaires, phénomènes oxydatifs), un trouble de l'échange d'ions (sodium et potassium), des modifications morphologiques (tendance à la

sphéricité due à une surface membranaire réduite et/ou à une hyperhydratation) et des modifications de la plasticité (*Beaumont et Hergaux.,2005*).

Ce phénomène peut être observé à la fois visuellement par l'apparition d'une coloration rose à rouge dans l'échantillon après centrifugation et par spectrophotométrie qui mesure la densité optique du surnageant (hémoglobine) (*Mezzou et al., 2006*).

1.4.1. Hémolyse pathologique :

C'est la destruction précoce et exagérée des globules rouges circulants par un processus hémolytique qui peut être interne (hémolyse corpusculaire) ou externe (hémolyse corpusculaire). Ce processus peut être congénital ou acquis (auto-immune, empoisonnement ou traumatisme). Il touche toujours l'un des composants essentiels des GR : membrane, enzyme et hémoglobine (*Beaumont et Hergaux, 2005*).

Les signes biologiques d'hémolyse sont : une augmentation des taux de bilirubine non conjuguée associée à la dégradation de l'haptoglobine et élévation de l'acide lactique déshydrogénase (LDH).

La sphérocytose héréditaire est une anémie hémolytique génétique secondaire à des anomalies de la membrane des GR qui deviennent petits, sphériques et fragiles. Avant d'orienter le diagnostic vers la sphérocytose héréditaire, les autres causes d'anémie hémolytique doivent être exclues, en particulier l'anémie hémolytique qui est un sujet relativement compliqué, qui nécessite un enquête spéciale pour déterminer le traitement approprié (*Guillon et al .,2008*). Cependant, l'hémolyse peut être causée par des facteurs externes, tels qu'une réaction anormale du système immunitaire, la formation de caillots sanguins dans les petits vaisseaux sanguins, certaines infections et les effets secondaires de certains médicaments (céphalosporines, anti-inflammatoires non stéroïdiens, pénicilline et ses dérivés, phénazopyridine, quinidine et lévofloxacine) (*Mintzer et Billet., 2009*).

1.4.2. Implication des plantes dans l'hémolyse :

Il y a des preuves issues d'études antérieures sur l'effet indésirable hémolytique de quelques extraits de plantes médicinales, à savoir *Organum Vulgare*, *Lavandou Steochas* et *Ammoides verticillata*. Les résultats ont révélé une hémolyse significative observée à des concentrations élevées (*Hafiane et Ounnas ., 2017*).

3. Activité anti-hémolytiques des plantes :

Il y a de nombreux médicaments anti hémolytique, des substances qui peuvent retarder ou qui empêche la décomposition des globules rouges. Il s'agit de l'acide folique, les suppléments de fer, les corticostéroïdes et les suppléments de vitamine B (*Federici et al., 2007; Leporrier, 2008*).

Ces dernières années, le domaine de la recherche scientifique a étudié de nouvelles substances anti-hémolytiques d'origine végétale pour remplacer les agents anti-hémolytiques synthétiques. De nombreuses études sur différentes plantes ont démontré l'effet anti-hémolytique des extraits de plantes. Cependant, le mécanisme d'action des biomolécules est mal compris (*Devjani et Barkha, 2011 ; Belkhir, 2017*).

De nombreuses études sur différentes plantes ont montré l'effet anti-hémolytique des extraits de plantes, tels que les polyphénols qui sont des antioxydants naturels et qui stabilisent les membranes des globules rouges pour empêcher la lyse osmotique (*Chaudhuri et al., 2007*). Le tableau N°1 représente quelques exemples de plantes testées à cet effet. Cette activité est due à l'alignement de la partie hydrophile dans la couche lipidique externe de la membrane érythrocytaire sans altérer la fluidité de la partie hydrophobe. La localisation de ces composés sur la partie hydrophile de la membrane semble constituer une barrière protectrice de la cellule contre les substances toxiques, notamment les formes réactives de l'oxygène (*Bonarska-Kujawa et al., 2010*). D'autre part, des travaux ont montré que les polyphénols réduisent la concentration membranaire de cholestérol, améliorant ainsi la fluidité des membranes des globules rouges. Les polyphénols peuvent se lier à la surface de la membrane des globules rouges, affectant ainsi la position du cholestérol (*Aberraneet al., 2019*).

L'effet anti-hémolytique des extraits végétaux est évalué, in vitro, à l'aide d'un modèle érythrocytaire. Ces derniers sont facilement isolés du sang et leurs membranes présentent des similitudes avec d'autres membranes cellulaires (*Shobana et Vidhya, 2016*).

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

| Espèce végétale | Hémolyse induite par | Activité antihémolytique | Références |
|--------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| <i>Annona muricata</i> | TritonX100 | 85,7% à 500 µg/ml d'extrait | <i>Muthu et Duraira, 2015</i> |
| <i>Oryza stavia</i> | NaCl | IC ₅₀ =500µg /ml | <i>Rahman et Eswaraiah, 2015</i> |
| <i>Cassia auriculata</i> | | IC ₅₀ =500µg /ml | <i>Rani et al., 2014</i> |
| <i>Piper betel</i> | H ₂ O ₂ | 40.6% à 5mg/ml | <i>Chakraborty et Shah, 2011</i> |
| <i>Acaciahydasypica</i> | | 79,3 % à 1000 µg/ml | <i>Afsar et al.,2016</i> |
| Propolis | HgCl ₂ (<i>in vivo</i>) | 13,20 % à 200 mg/kg/jour | <i>Ercis et al.,2015</i> |

Chapitre 02
Généralités sur les
composés
Phénoliques

1. Les métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes accumulées en faible quantité par les plantes autotrophes (*Boudjouref, 2011*). Ces métabolites sont biosynthétisés à partir des métabolites primaires et jouent un rôle défensif et un rôle dans les interactions et l'association d'une plante avec son environnement et même dans la survie de l'organisme dans son écosystème (*Peeking et al, 1987*). Ils sont présents dans toutes les parties des plantes mais leur répartition varie d'une plante à une autre (*Merghem, 2009*).

Il existe de nombreux métabolites secondaires différents, notamment : les alcaloïdes, les isoprénoïdes et les composés phénoliques (*Jean et al, 2005*). Dans le présent travail nous nous intéressons au groupe des composés phénoliques, le groupe le plus abondant dans les plantes, en particulier les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins (*Ludovic et al, 2002*).

2. Les composés phénoliques:

2.1. Généralités, structure et biosynthèse :

Les polyphénols sont les produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins un cycle benzénique, qui est directement relié à au moins un groupement hydroxyle libre, ou participe à une autre fonction telle que : éther, ester, glycoside,... etc (*Bruneton, 1999 ; Lugasi et al., 2003*).

Les composés phénoliques se trouvent dans toutes les parties de la plante et sont largement distribués dans le règne végétal. Ils constituent une des grandes familles de molécules avec plus de 8000 structures phénoliques (*kabran et al., 2014*).

Ces molécules sont issues de deux voies majeures de génération du cycle aromatique, la voie du shikimate (également impliquée dans la synthèse des acides aminés Phe et Tyr) et la voie du polyacétate, qui consiste en la condensation de l'acétyl coenzyme A. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande variété de molécules propres aux espèces végétales, aux organes et aux tissus (*Guignard, 2000 ; Bruneton, 2008*). Il constitue un moyen de défense contre les rayons UV et les attaques d'agents pathogènes et ils contribuent à la pigmentation végétale (*Manachet et al., 2004; Ignat et al., 2011*).

3. Classification des polyphénols:

Les principales classes de composants phénoliques sont : acides phénoliques flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, tanins, coumarines... (King et Young., 1999 ; Tapiero et al., 2002).

3.1. Les acides phénoliques :

Un acide phénolique est un composé organique qui possède au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique dans sa structure .Ils appartiennent à deux groupes, les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques (Lafay et Gil-Izquierdo, 2008).

3.1.1. Les acides hydroxybenzoïques : C'est un acide de formule de base C₆-C₁. Parmi les composés présents dans les hydroxybenzoïques, l'acide protocatéchique, l'acide ellagique et l'acide gallique sont les plus courants (Figure 1) (Macheix et al., 2005).

3.1.2. Les acides hydroxycinnamiques : Ils ont une structure de base de C₆-C₃. Leur squelette est un noyau benzénique avec une chaîne aliphatique de 3 atomes de carbone, souvent estérifié au niveau d'un ou plusieurs groupes hydroxyles pour former des esters d'alcools aliphatiques (Figure 1). Les acides cinnamiques et hydroxycinnamiques sont souvent appelés phénylpropanoïdes (Macheix et al., 2005).

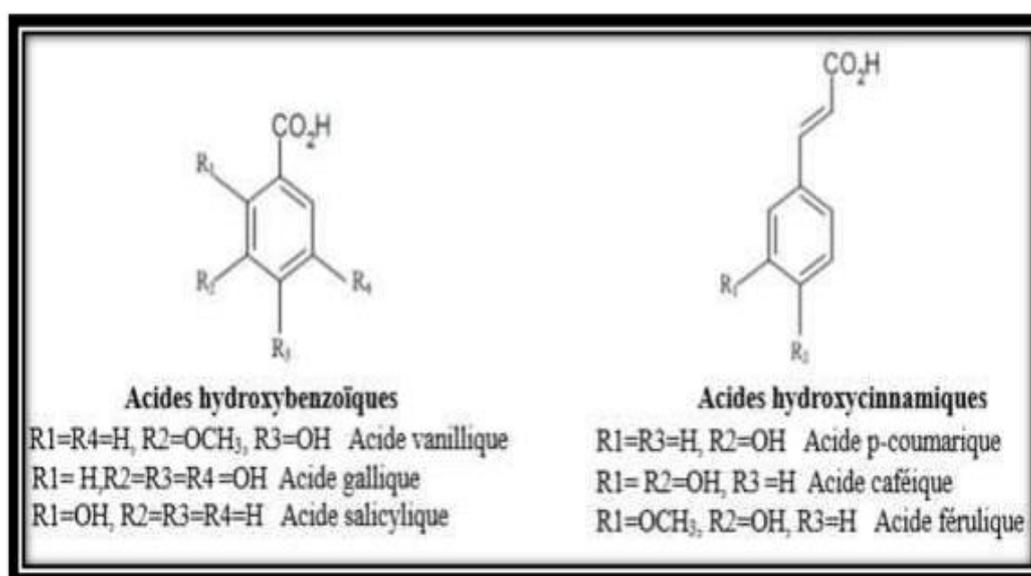


Figure 1: Structure des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques

3.2. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des polyphénols qui partagent toutes la même structure de base nommée « Flavane ». Elles sont formées par de deux cycles aromatiques reliés par une chaîne en trois carbones : C₆-C₃-C₆, souvent fermée par un hétérocycle oxygéné (**Figure 2**) (*Milane, 2004*).

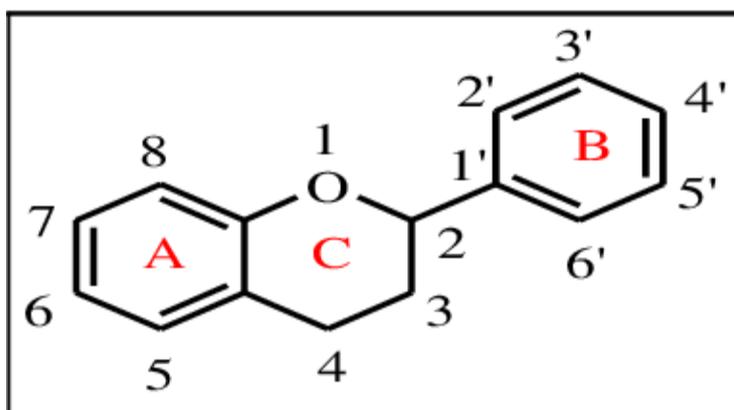


Figure 2: Squelette de base des flavonoïdes

En effet, plus de 6400 structures ont été identifiées (**Harborne et Williams, 2000**). D'un point de vue structurel, les flavonoïdes sont divisés en plusieurs types de molécules. Il y a six classes de flavonoïdes qui diffèrent par leurs structures chimiques: flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones et les anthocyanidines (anthocyanols) (**Figure 3**) (*Khireddine, 2014*).

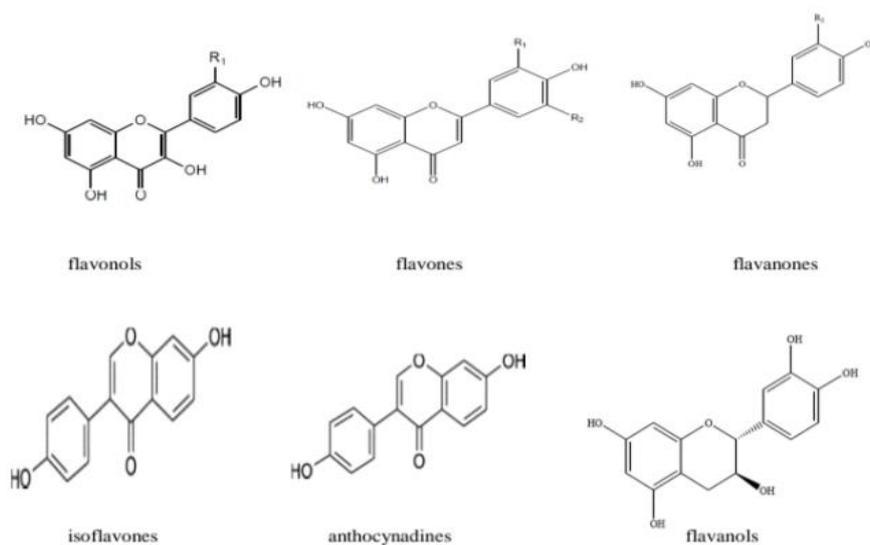


Figure 3 : Structures chimiques des flavonoïdes

3.3. Les tanins :

Les tanins sont des polyphénols de structure variée (**Figure 4**) et de poids moléculaire compris entre 500 à 3000 Dalton (*Paris et Hurabielle, 1981*). Ils sont très présents dans le règne végétal, mais sont surtout abondants dans certaines familles comme les Conifères, les Fagaceae et les Rosacées (*Ghestern et al., 2001*). Ils peuvent exister dans les écorces, les feuilles, les fruits, les racines et les graines (*Khanbabae et Ree, 2001*).

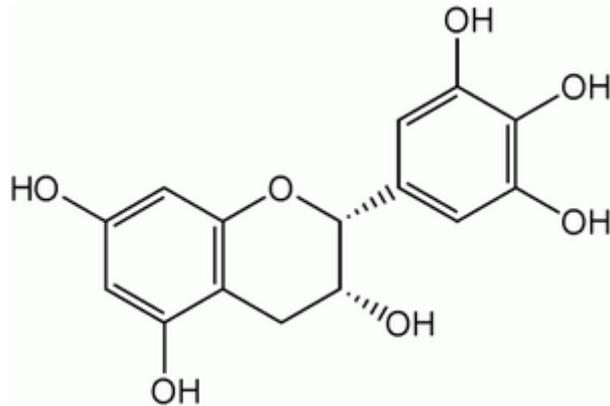


Figure 4 : Structure des tanins

Ces molécules partagent la propriété de tanner la peau. Cette capacité est liée à leur propriété de se combiner avec des protéines. Ils sont largement utilisés dans l'industrie du cuir, notamment dans les vernis et les peintures. Grâce à ces propriétés astringentes, les tanins sont utilisés comme anti-diarrhéique, vasoconstricteur et anticoagulants et surtout comme revêtements veineux dans le traitement des varices et des hémorroïdes (*Paris et Hurabielle, 1981*).

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs deux groupes basés sur des différences structurales : les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables (*Fiorucci, 2006*) :

3.3.1. Tanins hydrolysables :

Comme leur nom l'indique, les tanins hydrolysables se caractérisent par le fait qu'ils dans des milieux acides et alcalins ou dans des enzymes telles que la tannase (*Quideau, 2009*). Ce sont des esters d'acide phénolique et de sucre généralement le glucose (**figure 5**).

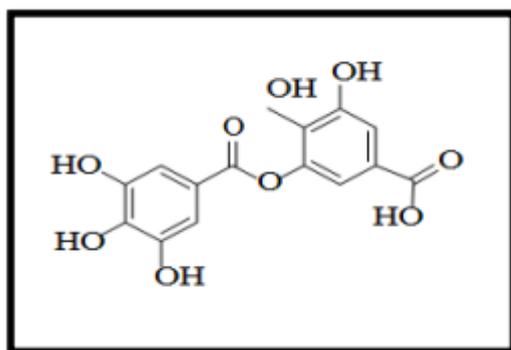
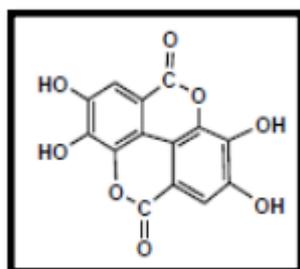
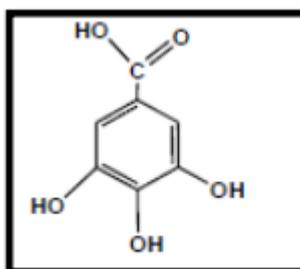


Figure 5: Structure de base des tanins hydrolysables

Selon la nature de l'acide phénolique on distingue: Les tanins galliques qui sont les esters d'oses et d'acides galliques; et les tanins éllagiques qui sont des esters d'oses et d'acide éllagiques (**Figure 6**), (*Atefeibu, 2002 ; Asres et al., 2005*).



Acide éllagique



Acide gallique

Figure 6 : Structure chimique de quelques tanins hydrolysables

3.3.2 Tanins condensés :

Les tanins condensés sont des oligomères de flavan-3-ols (anthocyanidines) et de flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidines) (**Figure7**), dérivés des catéchines ou de leurs nombreux isomères (*Stevanovic et Perrin, 2009*).

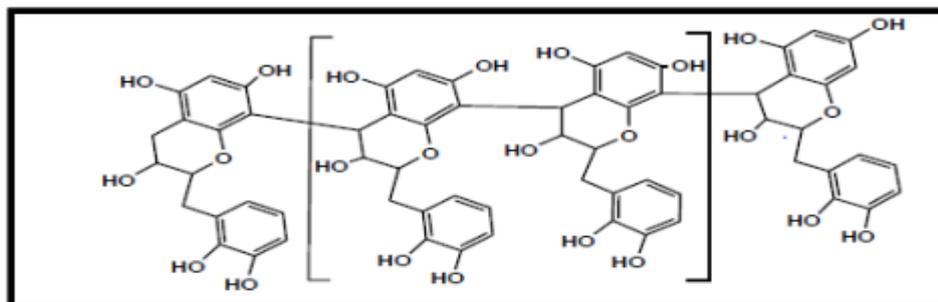


Figure 7 : Structure chimique des tanins condensés

4. Activités biologiques des composés phénoliques

Ces dernières années, l'importance des composés phénoliques a considérablement augmenté en raison de leur propriétés cardioprotectrices, anticancérigènes, antioxydants, anti-apoptotiques et anti-inflammatoires (*Abbas et al., 2017 ; Mihanfar et al., 2021*).

Le monde de la biologie et de la médecine a été envahi par un nouveau concept, à savoir le stress oxydatif toxique présents en excès et les propriétés antioxydants (*Desmier, 2016*).

Plusieurs études ont montré que les composés phénoliques ont des propriétés antioxydantes qui peuvent neutraliser ou réduire les dommages causés par les radicaux libres à de faibles concentrations. La structure chimique de ces molécules aide à comprendre leur mécanisme d'action (*Santos-Sánchez et al., 2019*).

De même, il a été suggéré que les polyphénols ont la capacité de stabiliser les membranes des globules rouges contre la lyse osmotique. Cette activité est exercée par la distribution des composés phénoliques dans la membrane cellulaire, et la mobilité membranaire restreinte qui en résulte peut entraver stériquement la diffusion des radicaux libres, ralentissant la vitesse des réactions radicalaires (*Suwalsky et al., 2007*).

Chapitre 03
La plante étudiée
***Daucus crinitus* Desf**

1. La famille des Apiaceae :

Les Apiaceae, anciennement connus sous le nom d'ombellifères, étaient déjà connus des anciennes civilisations chinoises et indiennes du Mexique, ainsi que des Grecs et des Romains. Ils semblent être la première famille de plantes à fleurs reconnue comme telle par les botanistes à la fin du XVI^e siècle. C'était aussi le premier groupe de plantes à être étudié systématiquement, publié en 1672 par Robert Morison (*Heywood et al., 1996*).

C'est une grande famille d'angiosperme cosmopolites, comprenant 466 genres acceptés et environ 3820 espèces. Aujourd'hui, ils sont les plus diversifiés dans les régions tempérées et surtout arides de l'hémisphère nord. Ils sont relativement rares dans les tropiques humides (**Figure 8**) (*Plunkett et al., 2018*).

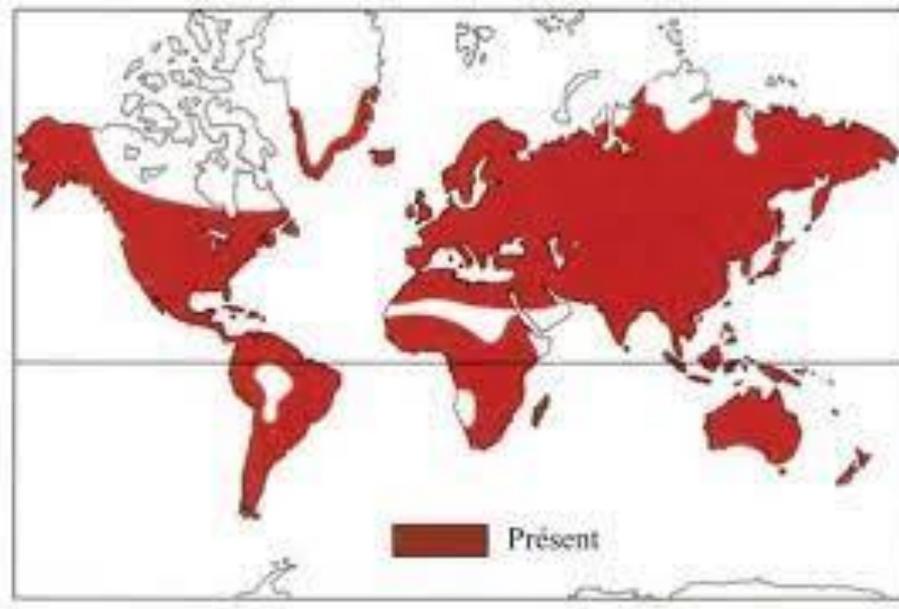


Figure 8 : Répartition géographique mondiale des Apiaceae

C'est une famille riche en métabolites secondaires, notamment les coumarines, les flavonoïdes, les polyphénols, les composés acétyléniques et les lactones sesquiterpéniques (*Sáenz, 1981*).

2. Le genre *Daucus* :

Daucus est un genre de la sous-famille Apioideae, famille des Apiacées. C'est un genre très polymorphe et comprend environ 60 espèces annuelles répandues dans le monde entier. La plupart de ces espèces sont présentes en Europe, en Afrique, en Asie occidentale, en Amérique du Nord et en Australie (*Taharetal, 2011*).

Le centre de distribution de ce genre semble être dans la région méditerranéenne, en particulier en Afrique du Nord, où une forte spéciation s'est produite. En plus de *D. carota* L., une carotte cultivée dans le monde entier, il existe une espèce australienne qui aurait été amenée en Europe par bateau, et trois autres espèces des Amériques. Le reste appartient à la région méditerranéenne (*Sáenz Laín, 1981*).

En Algérie, le genre *Daucus* est représenté par des espèces habitant des zones sèches, le long de la côte ouest de l'Algérie (*Mazzoni et Tomi., 1999*).

3. L'espèce *Daucus crinitus* Desf. :

Le nom latin "*Daucus crinitus*" veut dire une carotte à semences chevelues dans l'encyclopédie méthodique botanique 1811 (*Lamarck et Poiret., 1811*).

3.1. Description botanique :

Arbustes à ombelles pédonculées, fructifères à rayons inégaux (**figure 9**). Feuilles à pourtour linéaire, 2-3 pennatiséquées à segments filiformes aigus, vivace à souche épaisse. Bractées de l'involucre et de l'involucelle entières ou à peine divisées (*Saad et al, 1995*). Feuilles radicales s'étalant en rosettes, glabres, coniques supérieures. Fruits finement pubescents à côtes toutes munies d'une rangée d'aiguillons mous jaunis ou rosés égalant 1,5 à 2 fois le diamètre du fruit (*Bendiabdellah, 2014*). Ses racines tubéreuses, se caractérisent par une longueur de 6 cm (*Lanfranchi et al ., 2010*) (**Photo 01 ; Photo 02**)



Photo 01: Ombelle de *Daucus crinitus* (*Lanfranchi et al., 2010*).



Photo 02: Partie souterraine et aérienne de la plante étudiée (photo original de notre plante)

3.2. Origine et distribution :

C'est une plante spacieusement distribuée en Algérie, au Maroc, en Espagne et au Portugal. Elles croient aux montagnes de l'Atlas et aux collines non développées autour de Mascara et Tlemcen (*Bendiabdellah., 2014*).

3.3. Classification systématique:

La Classification de *Daucus crinitus* selon *Brands (2000)* :

Embranchement : Tracheophyta

Sous-embranchement : Euphyllophytina

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Cornidae

Ordre : Araliales

Famille : Apiaceae

Sous-famille : Apioideae

Genre : *Daucus*

Espèce : *Daucus crinitus* Desf.

4. Noms de la plante :

Nom en français : Carottes à semence chevelue (*Brands ., 2000*);

Nom vernaculaire en arabe : Bouzaffour (*brands ., 2000*),Eurq Sidi Messaoud (*Bendiabdellah, 2014*).

5. Utilisation médicinale et traditionnelle :

Selon une enquête réalisée par des herboristes, il a été observé que dans la médecine traditionnelle, on utilise les racines de *Daucus crinitus* Desf. en décoction afin de faciliter l'expulsion de placenta après l'accouchement, et également comme tonique (Dib et al., 2010). Une étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans la région de Zerhoun au Maroc révèle l'utilisation médicinale de cette espèce en rhumatologie et pour les problèmes du tube digestif (Slimani et al., 2016)

6. Données phytochimiques :

Le tableau suivant représente les travaux antérieurs sur les composés chimiques et les activités étudiées de *Daucus crinitus* Desf. :

Tableau 2 : Travaux antérieurs sur *Daucus crinitus* Desf. d'Algérie

| Etude sur | résultats | références |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| Les composés volatils des racines | - Le composé essentiel de l'huile essentielle est un composé aliphatique (87.0%-90.1%). | Dib et al., 2010 |
| Composition chimique et activité antimicrobienne | - Présence d'acide gras dans les racines, les tiges et les feuilles. - Activité antimicrobienne contre quelques bactéries dangereuses | |
| Criblage phytochimique préliminaire (Dosage des composés phénoliques) et activités antioxydantes (activité du piégeage du radical libre DPPH) | - Potentiel antioxydant, <i>in vitro</i> , des extraits | Bendiabdellah et al., 2012 ; 2013 |
| Activité antibactérienne des huiles essentielles tout au long de la vie végétative de la plante | - Présence de composés phénolique et de composés aliphatiques comme des composés importants au début de la phase végétative. | |
| Etudes chimique et biologique des extraits de trois <i>Daucus</i> | - Une forte teneur en huile obtenue à la pleine florescence | |

| | | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| <p>(<i>D. crinitus</i>, <i>D. muricatus</i> et <i>D. carota ssp hispanicus</i>) de la région de Tlemcen</p> | <ul style="list-style-type: none"> - Le groupe phénolique est le groupe le plus abondant - Une activité antimicrobienne forte contre les bactéries dangereuses | |
| <p>Activité antifongique de l'huile essentielles contre cinq agents pathogènes de la tomate</p> | <ul style="list-style-type: none"> - Identification de 30 composés qui représentent 91,3 % de la composition totale - L'huile essentiel a montré une activité antifongique forte contre <i>Penicillium sp.</i> | <p><i>Bouayad Alam et al., 2013</i></p> |
| <p>Activités antimicrobiennes et insecticides contre <i>Tuta absoluta</i> et la microflore pathogène de la tomate <i>Lycopersicum esculentum</i></p> | <ul style="list-style-type: none"> - L'extrait provoque une inhibition totale de la croissance de tous les champignons testés - <i>D. crinitus</i> montre un degré de sensibilité différent vis-à-vis des bactéries testées | <p><i>Benyahia, 2015</i></p> |
| <p>Caractérisation chimique et transformation synthétique et hémi synthétique des composés volatils</p> | <ul style="list-style-type: none"> - Les racines sont riches en composé aliphatique et la partie aérienne est riche en phénylpropanoïdes. - L'huile essentiel de la partie aérienne ainsi que le dodécyle acétate (composé principale de la racine) non pas d'activité inhibitrice notable sur la germination. - Les huiles essentielles n'ont pas une activité herbicide significative. | <p><i>Merad, 2022</i></p> |

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1. Matériel végétal:

L'espèce végétale *Daucus crinitus* Desf. a été récolté en février 2023, à Béni Mester, situé au centre de la wilaya de Tlemcen (Latitude : 34°54', Longitude : 1°21', altitude : 700m climat : semi-aride à hiver doux).

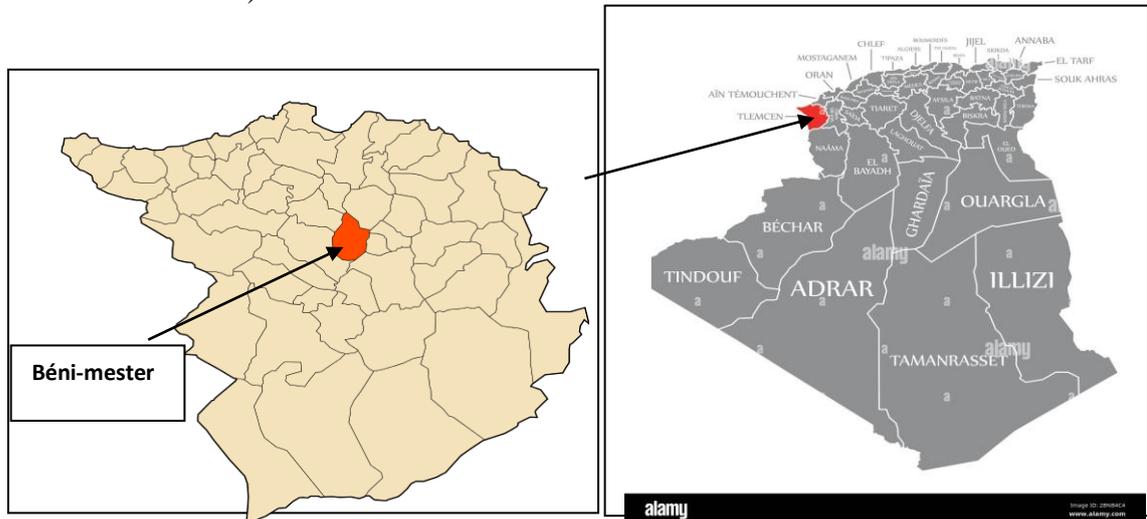


Figure 9 : Situation géographique de la région Béni Mester (Tlemcen)

(Alamy banque d'images vectorielles)

La partie souterraine (**photo 3**) de la plante a été nettoyée et divisée en deux parties : la croute (partie externe) et la partie blanche (partie interne). Chaque partie a été séchée à l'ombre, à température ambiante pendant 10 jours.



Photo 3: *Daucus crinitus* Desf.

2. Méthodes :

2.2.. Extraction solide - liquide par soxhlet:

Dans ce travail, on s'est intéressé à l'extraction des composés phénoliques solubles dans des solvants polaires comme le méthanol. Le choix du mélange méthanol/eau, considéré comme un mélange à polarité élevée, est basé sur les résultats de plusieurs travaux antérieurs qui ont montré que la nature du solvant exerce un grand pouvoir dans les capacités d'extraction phénoliques chez de nombreuses espèces (*Vazquez et al., 2008 ; Mussatto et al., 2011*). Plus précisément, l'addition d'eau à 20% aux solvants polaires améliore cette extraction (*Trabelsi et al., 2010*). Nous avons choisi d'utiliser un appareil de Soxhlet déjà utilisé sur des problématiques similaires pour extraire les polyphénols (*Vazquez et al., 2008*). De même, ce type d'extraction favorise une extraction relativement complète des métabolites présents dans la matrice végétale (*Romanik et al., 2007*).

Pour les deux parties, croute et partie blanche de la racine, l'extraction au Soxhlet consiste à placer 40g de la poudre de la plante à l'intérieur d'une cartouche en cellulose puis dans l'extracteur, qui est relié à un ballon contenant 400ml de solution (Méthanol/eau distillée : 80/20) et un condenseur (**photo 4**). Le solvant est chauffé et évaporé, la vapeur de solvant chaude se déplace ensuite jusqu'au condenseur, où elle se refroidit et tombe sur l'échantillon dans la cartouche. La chambre contenant l'échantillon se remplit lentement de solvant condensé. Une fois pleine, elle est vidée par une action de siphonage dans le ballon de solvant. L'extraction a duré 3 heures. L'extrait est évaporé à sec au rotavapor.



Photo 4 : Extraction par Soxhlet

- **Calcul du rendement** : le rendement (Rdt) en extrait est calculé par le rapport suivant:

$$\text{Rdt (\%)} = (P_1 - P_2 / P_3) * 100$$

P₁ : poids de ballon après évaporation

P₂ : poids de ballon avant évaporation (ballon vide)

P₃ : poids de la matière végétale sèche de départ.

Les deux extraits obtenus (croute et partie blanche) ont un aspect huileux, ce qui a nécessité une extraction liquide/liquide en utilisant l'hexane comme solvant d'extraction.

2.2. Extraction liquide-liquide :

Dans le but d'obtenir une meilleure sélectivité dans l'extraction, nous avons choisi d'éliminer les molécules apolaires responsables de l'aspect huileux des deux extraits par l'hexane en regard des classes de substances potentiellement extractibles par ce solvant apolaire (lipides, stérols, essences, cires, caroténoïdes,...) (*Wichtl et Anton, 2003*).

A cet effet et pour les deux parties de racines, les extraits obtenus dans la première extraction sont ré-solubilisés, séparément, dans 50 ml du mélange méthanol- eau (40/10- V/V). Chaque solution est transférée dans une ampoule à décanter. L'extraction liquide-liquide est réalisée comme suit :

- 50 ml d'hexane sont ajoutés pour éliminer les composés solubles dans ce solvant apolaire à savoir, les huiles essentielles et les acides gras. L'opération est répétée 3 fois ;
- La phase hydro-méthanolique est séparée de celle d'hexane ;
- Chaque phase est évaporée au rotavapor jusqu'à l'obtention d'un extrait sec pour la solution hydro-méthanolique et d'une huile pour l'extrait d'hexane.
- **Calcul du rendement** : le rendement (Rdt) en extrait est calculé par le rapport suivant:

$$\text{Rdt (\%)} = (P_1 - P_2 / P_3) * 100$$

P₁ : poids de ballon après évaporation

P₂ : poids de ballon avant évaporation (ballon vide)

P₃ : poids de la matière végétale sèche de départ.

Les dosages des composés phénoliques, le pouvoir hémolytique et l'activité anti-hémolytique sont par la suite réalisés pour les deux extraits secs hydrométhanoliques. Cependant, les huiles obtenues feront l'objet d'une autre étude ultérieure.

2.3. Dosage des composés phénoliques

2.3.1.. Dosage des polyphénols totaux

a) Principe:

Le réactif utilisé, le «Folin-Ciocalteu», est un mélange de complexes d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif. Cette oxydation entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 750 nm. Ce dosage est effectué par la comparaison de la D.O observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue

b) Protocol :

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé selon la méthode décrite par (*Vermerris et al.2006*): Une prise de 100 μ l de l'extrait est mélangée avec 2 ml d'une solution de carbonate de sodium à 2% fraîchement préparée, le tout est agité par un vortex. Après 5 min, 100 μ l du réactif de Folin-Ciocalteu (1N) sont ajoutés au mélange, le tout est laissé pendant 30 min à la température ambiante et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 750 nm.

Une gamme étalon à base de l'acide gallique est également préparée à des concentrations allant de 62-500 μ g/ml. Les teneurs en polyphénols totaux des extraits sont alors exprimées en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES).

2.3.2. Flavonoïdes totaux :

a) Principe :

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par deux réactifs incolores, le nitrite de sodium ($NaNO_2$) et le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Elle entraîne la formation d'un complexe brunâtre qui absorbe à 510 nm. La comparaison de la D.O observée à celle obtenue par un étalon de catéchine de concentration connue permet d'évaluer la teneur totale en flavonoïdes.

b) Protocol :

La quantification des flavonoïdes est faite selon une méthode colorimétrique décrite par (*Dewanto et al.2002*).

Une prise de 250 µL d'extrait diluée est additionnée de 75 µL d'une solution de NaNO₂ à 5%. Après 6 mn d'incubation à température ambiante, 150 µL d'une solution fraîchement préparée de chlorure d'aluminium (AlCl₃, 10%) sont ajoutés au mélange. Après 5 mn de repos à température ambiante, 500 µL de soude (NaOH, 1M) sont apportés au mélange, et le volume final est porté à 2.5 mL avec de l'eau distillée. L'absorbance de cette préparation est mesurée contre un blanc à 510 nm. Une gamme étalon à base de catéchine est également préparée à des concentrations allant de 31,2 -250 µg/ml. Les teneurs en flavonoïdes des extraits sont alors exprimées en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait sec (mg EC/g MS).

2.3.3. Tanins condensée :

a) Principe :

En présence d'acide chlorhydrique, les tanins condensés se dépolymérisent et, par réaction avec la vanilline, se transforment en anthocyanidols de couleur rouge, mesurables par spectrophotométrie à 500 nm (*Sun et al. 1998*).

b) Protocol :

La quantification des tanins est faite selon une méthode colorimétrique décrite par *Sun et al. (1998)* :

Une prise de 50 µl d'extrait est ajoutée à 3 ml de vanilline à 4% et 1.5 ml d'acide chlorhydrique concentré. Après homogénéisation, le mélange est mis en incubation à température ambiante pendant 15 mn. L'absorbance est mesurée contre un blanc à 500 nm. Les teneurs en tanins condensés, déterminées en se référant à une gamme étalon de catéchine (Une prise de 50 µl d'extrait est ajoutée à 3 ml de vanilline à 4% et 1.5 ml d'acide sulfurique concentré. Après homogénéisation, le mélange est mis en incubation à température ambiante pendant 15 mn. L'absorbance est mesurée contre un blanc à 500 nm. Les teneurs en tanins condensés, déterminées en se référant à une gamme étalon de catéchine (62,5 - 1000 µg/ml), sont exprimées en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait sec (mg EC/ g ES).

2.4. Activité hémolytique:

2.4.1. Principe:

Un test d'effet hémolytique, *in vitro*, est fait en utilisant la méthode décrite par *Bulmus et al. (2013)*. Le principe consiste à mettre en suspension des globules rouges humains (GRh) et différentes concentrations d'extrait dans une solution isotonique. La fuite d'hémoglobine, qui reflète l'éclatement des globules rouges, est ensuite mesurée. La couleur rouge du sang dans le

surnageant reflète la toxicité de l'extrait. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir hémolytique de l'extrait testé.

2.4.2. Préparation de la suspension sanguine:

Pour cette préparation, on suit les étapes suivantes :

- Prélèvement du sang d'un sujet sain sur un tube EDTA ;
- Centrifugation à 3000 tour/10 min ;
- Elimination du surnageant ;
- Lavage du culot, trois fois, avec une solution tampon phosphate (PBS) à pH=7,35;
- Préparation d'une suspension sanguine de 10% : à 1mg du sang, on ajoute 9mg du PBS.

2.4.3. Protocol : Le Protocol utilisé est décrit par (*Bulmus et al., 2003*):

A un volume de 1,6 ml de l'extrait de plante de l'acide gallique on ajoute un volume de 0,4 ml de la suspension sanguine (10%). Ce mélange réactionnel est incubé à une température de 37°C pendant 30min. Après une centrifugation à 3000 rpm/10min, l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 560 nm. En parallèle, on prépare des contrôles dans les même conditions en remplaçant l'extrait par l'eau physiologique (contrôle négatif), ou par de l'eau distillée (contrôle positif correspond à 100% d'hémolyse).

Expression des résultats :

Les taux d'hémolyse ont été déterminés par l'équation suivante :

$$\text{Taux d'hémolyse (\%)} = (A_{\text{Extrait}} / A_{\text{Contrôle positif}}) \times 100$$

A : Absorbance

2.5. Evaluation de l'activité anti-hémolytique, *in vitro*, par la méthode de stabilisation membranaire des globules rouges :

2.5.1. Principe :

Le principe de cette méthode est basé sur la capacité de l'extrait à empêcher l'hémolyse des GRh, induite par l'hypotonie et la chaleur, et donc prévenir la libération de l'hémoglobine. Ce test a été réalisé selon la méthode décrite par *Sadique et al. (1989) et Oyedapo et al. (2010)*.

2.5.2. Protocol :

Le milieu réactionnel contenant 0,5 mL de l'extrait et l'acide gallique à différentes concentrations (0,078 -10mg/ml), mélangé avec 1,5mL du tampon phosphate PBS (0,9% NaCl à 137mM, 2,7mM KCl , 10mM Na₂HPO₄, 1,76 Mm KH₂PO₄, pH=7.2-7,4) et 2ml

d'une solution hypo-saline (0,36 % NaCl), a été incubé à 37°C pendant 20 min. ensuite 0,5 mL de la suspension de GRh (10%) ont été ajoutés à chaque concentration et une deuxième incubation a été réalisée à 56°C pendant 1h. Au final, les tubes ont été refroidit sous l'eau courante et suivie par une centrifugation à 2500 rpm pendant 5min et les absorbances du surnageant ont été mesurées à 560 nm. En parallèle un contrôle a été réalisé en remplaçant l'extrait avec 0,5 mL du tampon phosphate.

Les taux de stabilisation ont été déterminés par l'équation suivante :

$$\text{Taux de stabilisation (\%)} = ((A_{\text{Control positif}} - A_{\text{Extrait}}) / A_{\text{Control positif}}) * 100$$

A : Absorbance

2.6. Analyses statistiques :

Les valeurs indiquées dans les tableaux sont des moyennes \pm écarts-types des trois mesures parallèles en utilisant EXCEL (2013). Les valeurs ont été calculées à partir des équations linéaires des courbes tracées sur EXCEL.

Résultats et discussion

1. Résultat et discussions :

1.1. Les rendements en extrait :

La méthode d'extraction doit pouvoir extraire complètement le composé d'intérêt et éviter les modifications chimiques (*Turkman et al., 2006 ; Hayouni et al ., 2007*). La préparation des extraits hydro-méthanoliques des deux parties des racines de *D. crinitus Desf.*, la croûte et la partie blanche interne, a été réalisée en utilisant la méthode Soxhlet suivie par une extraction liquide/liquide pour éliminer les molécules solubles dans l'hexane. Les rendements d'extraction sont calculés par rapport au poids de la matière végétale sèche et sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Rendements en extraits

| Type d'extraction | | Rendements (%) | |
|-------------------------------------------|----------------------------|----------------|---------------------------|
| | | La croûte | La partie blanche interne |
| Extraction hydro-méthanolique par Soxhlet | | 10,1 | 18,88 |
| Extraction liquide/liquide | Extrait hydro-méthanolique | 6,18 | 16,01 |
| | Extrait d'hexane (huile) | 3.25 | 2.25 |

Les résultats obtenus montrent que le rendement hydro-méthanolique par Soxhlet de la partie blanche interne (18,88%) est plus important que celui de la croûte (10,1%). Ces rendements ont diminué après passage par une extraction à l'hexane. Donc, ce solvant entraîne une perte de rendement dans la croûte et dans la partie blanche interne bien que la diminution est moins importante pour la partie blanche (16.01%). Les extraits d'hexane de couleur jaune, ont un aspect huileux lié à la richesse des racines de cette espèce en lipides et en huiles essentielles (**photo 5**). Les rendements en ces extraits (3.25% pour la croûte et 2.25% pour la partie blanche interne) sont représentatifs des rendements espérés pour une étude ultérieure.



Photo 5 : Extrait d'hexane (huile)

Pour les deux parties (crouste et partie blanche) de la racine de *D. crinitus* étudiée, les rendements en extraits obtenus sont largement supérieurs par rapport aux rendements obtenus dans des travaux antérieurs réalisés sur des extraits de racines entières de la même espèce, préparés par des solvants organiques et par Soxhlet. Il s'agit d'un extrait méthanoliques (1.8%) et d'un extrait de l'éther de pétrole (1.5 %), obtenus séparément (*Dib et al., 2010*) et des extraits aqueux (5.51%), chloroformique (1.34%) et éthanolique (2,16%), obtenus successivement (*Abdoune et al., 2013*).

Ces résultats confirment les données de la littérature concernant les rendements d'extraction qui varient selon le solvant et la méthode d'extraction.

1.2. Dosages des composés phénoliques

1.2.1. Dosage des polyphénols totaux :

Les teneurs en polyphénols totaux, par la méthode de Folin-Ciocalteu, ont été déterminées en utilisant l'équation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**figure 10**). Les quantités en polyphénols totaux sont exprimées en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES).

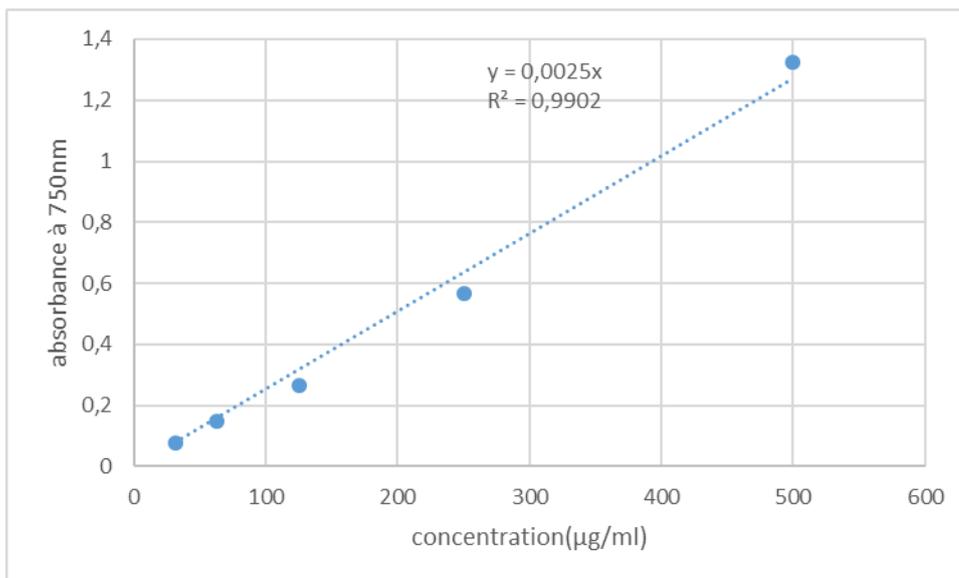


Figure 10: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

1.2-2. Dosage des flavonoïdes :

Ce dosage a été réalisé par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3). Les teneurs en flavonoïde sont été déterminés dans les extraits des deux parties de *D. crinitus* Desf. A partir de la courbe d'étalonnage de la catéchine (**figure 11**). Les quantités en flavonoïdes sont exprimées en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait sec (mg EC/g ES).

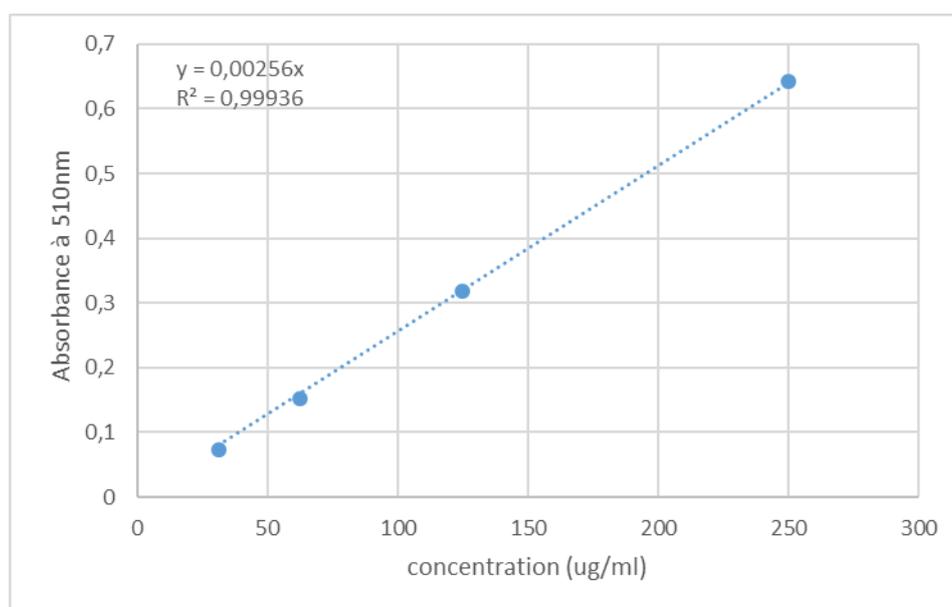


Figure 11: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

1.2.3. Dosage des tanins condensés :

Les teneurs en tanins condensés à été estimée en utilisant la méthode de la vanilline et sont calculés à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage de la catéchine (**figure 12**). Les quantités en tanins sont exprimées en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait sec (mg EC/g ES).

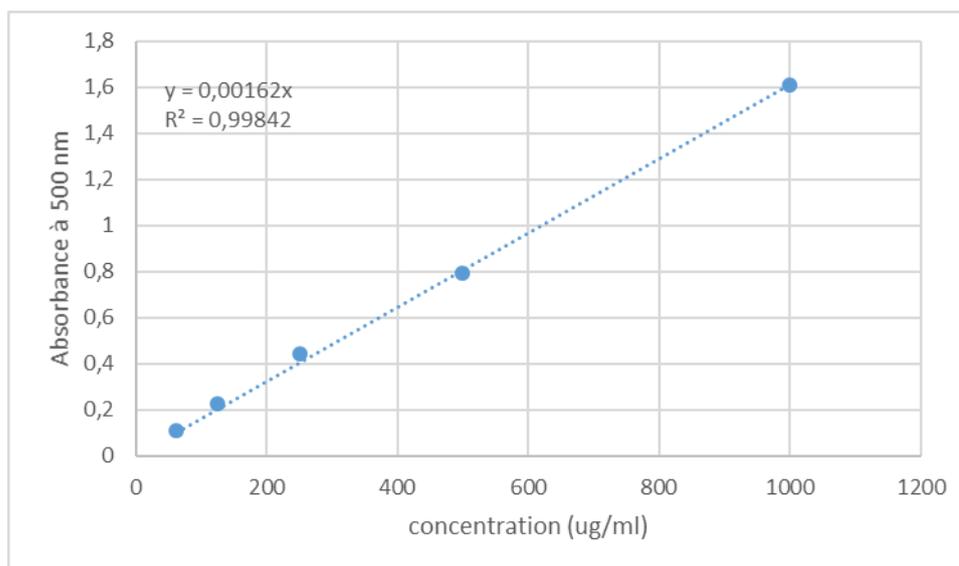


Figure 12 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.

Les teneurs en polyphénols totaux (PPT), en flavonoïdes (Fv) et en tanins (Tn) dans les deux parties, croûte et partie blanche, sont représentées dans le **tableau 4**. Les résultats indiquent que l'extrait de la croûte a une teneur en PPT de $49.28 \pm 7,16$ mg EAG/g ES, supérieure à celle de l'extrait de la partie blanche. Sa teneur en FV de 12.82 ± 0.78 mg EC/g ES, presque deux fois supérieure à celle de l'extrait de la partie blanche. Cependant, les teneurs en Tn sont proches dans les deux parties, avec une légère supériorité dans l'extrait de la croûte (1.91 ± 0.06 mg EC/g ES).

Tableau 4: Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés (moyenne \pm écart type) dans les deux parties de *D. crinitus* Desf.

| Teneurs en | Extraits de <i>D. crinitus</i> | |
|--------------------------|--------------------------------|-------------------|
| | La croûte | La partie blanche |
| PPT (mg EAG/g ES) | 49.28 ± 7.16 | 16.99 ± 1.07 |
| Flavonoïdes (mg EC/g ES) | 12.82 ± 0.78 | 6.90 ± 3.62 |
| Tanins (mg EC/g ES) | 1.91 ± 0.06 | 1.68 ± 0.41 |

Ces résultats montrent que la partie croûte est riche en composés phénoliques, comparée à la partie blanche. Les teneurs en tanins, proches dans les deux parties, sont faibles en comparaison avec celles des polyphénols et des flavonoïdes. Cela vient confirmer la faible teneur en ces molécules dans différentes espèces d'Apiacées déjà étudiée comme dans le cas d'*Ammi visnaga* (Brahmi, 2015), puisque aucun travail n'a été trouvé sur le dosage de ces molécules dans les espèces de ce genre.

Un travail antérieur a été réalisé sur les composés phénoliques des racines et de la partie aérienne de *D. crinitus* (Kaddar, 2012) et qui révèle l'abondance de ces composés dans l'extrait méthanolique comparé à celui aqueux, dans les racines (PPT : 83,13 et 38,43 mg EAG/g extrait; Fv : 38,18 et 33,86 mg EC/g extrait) et dans la partie aériennes (PPT : 110.19 et 99.80 mg EAG/g extrait ; Fv : 89.72 et 59.77 mg EC/g extrait). Un autre travail antérieur a été réalisé sur les extraits méthanoliques et aqueux de la partie aérienne (tiges et feuilles) de cette espèce. L'extrait méthanolique s'est toujours révélé plus riche en polyphénols totaux et en flavonoïdes que l'extrait aqueux (PPT : 130±5 et 89,80±3 mg EAG/g d'extrait ; FV : 86,72± 4 et 49,77±2 mg EC/g d'extrait) (Bendiabdellah et al., 2012). Ces teneurs sont plus importantes que les nôtres.

Ces résultats peuvent indiquer que la localisation des composés phénoliques au sein de la plante n'est pas homogène entre tiges, feuilles et racines et que la partie aérienne est peut-être plus riche en ces composés, raison pour laquelle elle a suscité plus d'intérêt dans les recherches antérieures. De même, la teneur en polyphénols ou en flavonoïdes dépend du solvant d'extraction c'est-à-dire de sa polarité, ce qui suggère que le méthanol est parmi les meilleurs solvants pour solubiliser les polyphénols totaux. De plus, la méthode, le temps et la température d'extraction jouent un rôle important dans la protection de ces molécules de la dénaturation (Lié et al., 2003).

1.3. Activité hémolytique :

Les érythrocytes sont le modèle de choix en biologie cellulaire et moléculaire pour étudier la cytotoxicité, *in vitro*, en raison de leur facilité et simplicité d'isolement (Wajeman et al., 1992).

Le test d'effet hémolytique a été réalisé sur les deux extraits de *D. crinitus* Desf. Les taux d'hémolyse ont été mesurés après 30 min d'incubation avec des érythrocytes humains à une température de 37°, dans une solution PBS (PH=7,35). Ils sont exprimés en pourcentages à différentes concentrations (0.6 à 200 mg /ml) d'extraits et d'acide ascorbique (figure 13).

Les résultats obtenus montrent que les pourcentages d'hémolyse sont directement proportionnels à l'augmentation des concentrations. Pour la partie blanche et l'acide ascorbique, les taux d'hémolyse sont faibles à des concentrations allant de 0,6 à 2,5mg/ml. Il augmente significativement à partir de 2.5 mg/ml pour la croute, de 5mg/ml pour l'acide ascorbique et de 10mg/ml pour la partie blanche. Il atteint 99,57 % pour la partie croute, 96,97% pour l'acide ascorbique et 88,71% pour la partie blanche à 20 mg/ml.

Ces résultats montrent que les deux extraits de *Daucus crinitus* Desf. ont un pouvoir cytotoxique potentiellement dommageable pour les globules rouges à partir d'une certaine concentration.

En comparaison avec une recherche antérieure on constate que, à 20 mg/ml, nos extraits présente un effet hémolytique très élevé par rapport aux extraits de *Nerium oleander* (9,84%), *Ammiodes verticillata* qui est une Apiacée (2,98%) et *Citrullus colocynthis* (26,61%), après 45 min d'incubation (*Bourek ; 2013*).

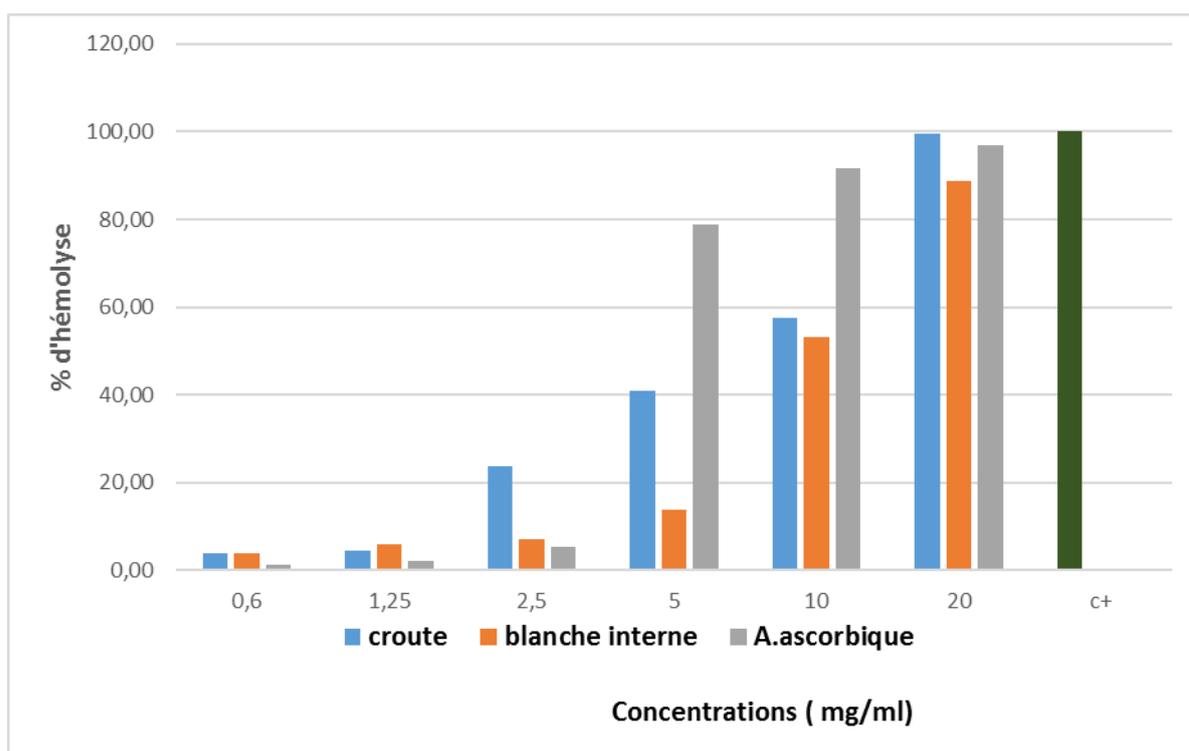


Figure 13 : Pourcentages d'hémolyse des extraits de la racine de *D. crinitus* Desf. et de l'acide ascorbique

c+ : contrôle positif correspondant à l'hémolyse totale

1.4 .Etude de l'activité anti-hémolytique :

L'étude de l'effet protecteur des globules rouges vise à évaluer l'activité anti-hémolytique, *in vitro*, des extraits de deux parties croute et blanche de la plante étudiée en utilisant une méthode de stabilisation de la membrane de globules rouges. Ces derniers sont facilement isolés du sang et dont les membranes présentent des similitudes avec d'autres membranes cellulaires (*Shobana et Vidhya, 2016*). La mesure des pourcentages de stabilisation de membrane a été effectuée en mesurant le taux de libération d'hémoglobine (**photo 6 et 7**) à 560 nm pour chaque concentration des extraits étudiés et de l'acide gallique .Les résultats sont exprimés sous forme d'histogrammes (**figures 14,15 ,16**).



Photo 6 : Résultats de l'activité anti-hémolytique la partie blanche

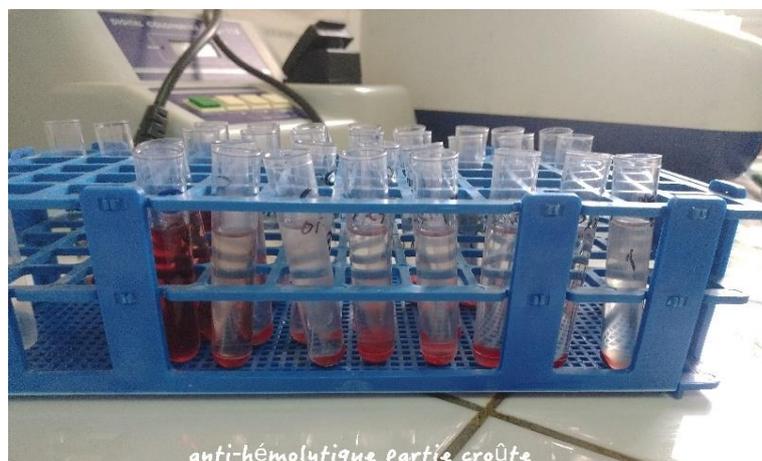


Photo 7: Résultats de l'activité anti-hémolytique la partie croute

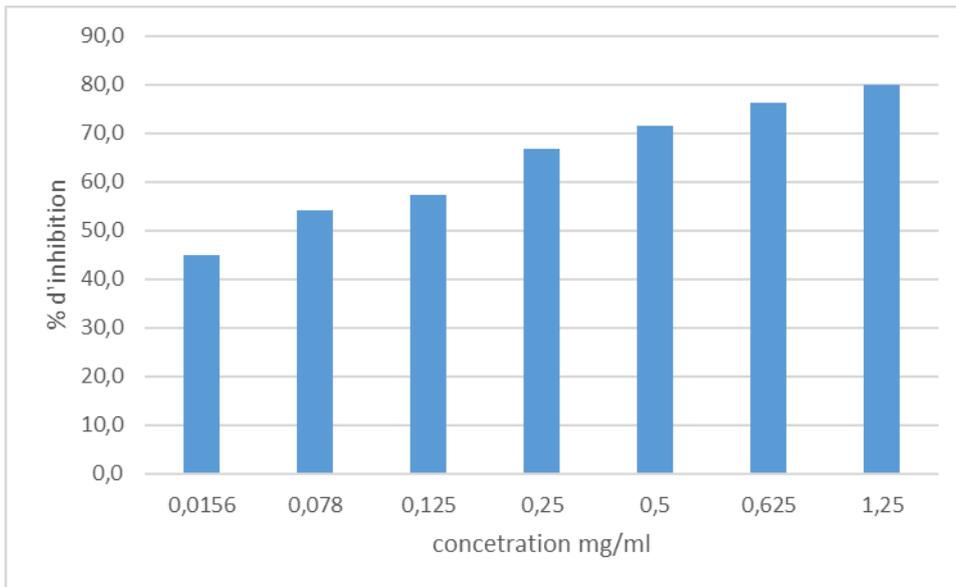


Figure 14 : Pourcentages de stabilisation de la partie croute à des concentrations différentes

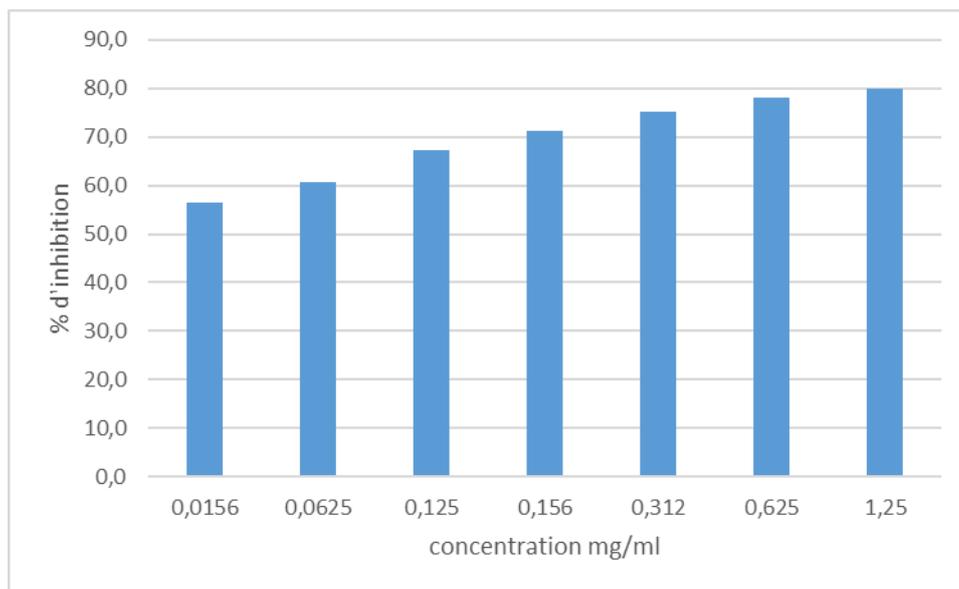


Figure 15 : Pourcentages de stabilisation de la partie blanche à des concentrations différentes

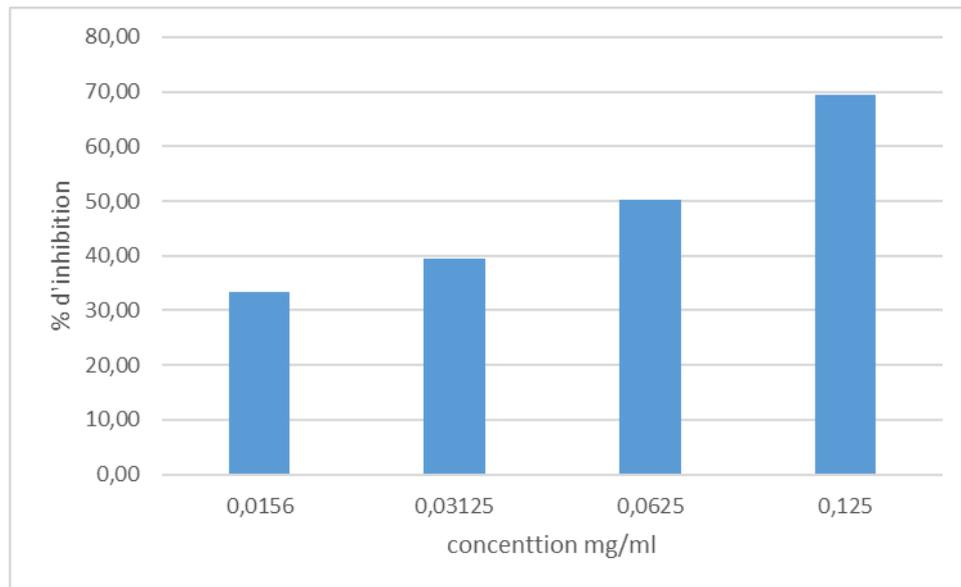


Figure 16 : Pourcentages de stabilisation d'acide ascorbique à des concentrations différentes

Ces résultats représentent les pourcentages de stabilisation de la membrane dans les deux parties, blanche et croute, de la racine. On remarque que les pourcentages de stabilisation sont proches pour les deux extraits avec au début une légère supériorité dans l'extrait de la partie blanche, ensuite les pourcentages sont proches à 0,625mg/ml et deviennent égales à 1,25 mg/ml (80%).

Ces résultats montrent que les deux parties, croute et blanche, sont efficaces dans la protection des érythrocytes par rapport à l'acide ascorbique (69,33% à 1,25 mg/ml).

L'inhibition de l'hémolyse à une concentration de 1,25 mg/ml est très notable. Cependant, au-delà de cette concentration les absorbances de l'hémoglobine augmentent significativement et cette protection disparaît pour les deux extraits et pour l'acide ascorbique.

Pour une plage de concentration de 0,0156-1,25 mg/ml et pour les deux parties de la plante, le pourcentage de stabilisation est passé de 56,4 à 80% pour la partie blanche et de 44,9 à 80% pour la croute. Ces résultats sont comparables avec celles de l'étude réalisée par *Sini Baby en 2020* sur une Apiacée *Centella asiatica* (la plante entière) avec des pourcentages de stabilisation de 67,74 % à 94,97 % pour des concentrations allant de 0.02 à 2mg/ml.

Conclusion générale et perspectives

De nos jours, les plantes médicinales sont utilisées dans la phytothérapie grâce à leurs composés naturels bioactifs appelés « métabolites secondaires ». Certaines plantes ont été identifiées comme ayant des propriétés hémolytiques ou des activités anti-hémolytiques. La détermination de la toxicité des extraits par des essais de laboratoire, demeure donc une exigence très importante pour leur utilisation future.

Daucus crinitus Desf., appelée « Bouzeffour » est une espèce végétale appartenant à la famille des Apiacées, originaire des régions méditerranéennes et d'Afrique du Nord.

L'objectif de ce travail est d'étudier les composés phénoliques, l'effet hémolytique et l'activité anti-hémolytique des extraits de deux parties, blanche interne et croute, de *Daucus crinitus* Desf.

La partie blanche interne des racines de cette plante a des rendements en extraits hydro-méthanoliques plus élevés que ceux de la croute. Cependant, cette dernière a plus de composés apolaires solubles dans l'hexane (3.25%) et des teneurs en polyphénols (49.28 ± 7.16 mg EAG/g ES) et en flavonoïdes (12.82 ± 0.78 mg EC/g ES) plus importantes que dans la partie blanche interne. Les teneurs en tanins sont faibles et proches dans les deux parties, avec une légère supériorité dans l'extrait de la croûte (1.91 ± 0.06 mg EC/g ES).

Il y a une relation entre le pouvoir hémolytique et l'activité anti-hémolytique et la concentration en extrait. La partie blanche interne a les taux d'hémolyse les plus faibles, qui n'a commencé à augmenter significativement qu'à partir de 10 mg/ml et elles s'est montré légèrement plus protectrice des globules rouges humaines avec des pourcentages de stabilisation allant de 56,4 à 80% pour des concentrations de 0,0156 à 1,25 mg/ml même par rapport à l'acide ascorbique (69,33% à 1,25 mg/ml). Au-delà de cette concentration cette protection disparue pour les deux extraits et pour l'acide ascorbique.

Ces résultats nous amène à poser la question : est-ce que ce sont vraiment les composés phénoliques, les moins abondants dans la partie blanche de la racine, qui sont responsables de cet effet anti-hémolytique ? Notre étude reste incomplète et il est préférable de réaliser d'autres études plus approfondies :

- Séparation et identification de principes actifs par des techniques chromatographiques et spectrales :
- Tester leurs composés séparément, pour mettre en évidence le principe actif et/ou une éventuelle synergie entre les différents composés.
- Evaluer les expérimentations, *in vivo* ;
- Rechercher d'autres types de toxicité de cette plante à savoir la toxicité cutanée.

Références Bibliographiques

-A-

- Abbas M, Farhan S, Faqir Muhammad Anjum, Afzaal, M., Tabussam, T., Shakeel, M., B., Ishtiaq, A., Hussain, S., & Hafiz Ansar Rasul Suleria 2017. Natural polyphenols: An overview. *International Journal of Food Properties*, 20(8), 1689-1699
- Aberran .S et Mehalla M. 2019. Etude de l'activité anti-inflammatoire et anti-hémolytique de l'extrait aqueux de feuilles de *Malva Sylvestris.L*. Biochimie Appliquée. Biologie.
- Achat. S, 2013 .Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Université de Bejaia, Université d'Avignon et des pays Vaucluse. Thèse de Doctorat.
- Afsar .S, Razak .S, Khan .M.R , Mawash . S ,Almajwal .A, Shabir. M, UI Haq .I . 2016. « Evaluation of Antioxidant, Anti-Hemolytic and Anticancer Activity of Various Solvent Extracts of *Acacia Hydasypica R*. Parker Aerial Parts
- Ali, D., Sacchetto. É, Dumontet.E , Le carrer.D, Orsonneau.J, Delaroche.J, Bigot-corbel.E. 2014. Interférence de l'hémolyse sur le dosage de vingt-deux paramètres biochimiques. *Annales de biologie clinique* :72(3),297-311.
- Arbos. KA, Claro .LM, Borges .L, Santos .CAM, Weffort-Santos .AM, 2008. Human erythrocytes as a system for evaluating the antioxidant capacity of vegetable extracts. *Nutrition Research*, 28(7): 457-463
- Asres. K, Seyoum .A, Veereshan .C, Bucar. F, Gibbons. S. 2005. Naturally derived anti HIV agents. *Phytotherapy research: An International journal Devoted to pharmacological and Toxicological evaluation of natural product derivatives*. Res, 19(7), 557-581
- Atefeibu, ESI. 2002. Contribution à l'étude des tanins et de l'activité antibactérienne d'*Acacia Nilotica Var Andesonii.*, université cheikh Anta Diop de Dakar.33p. Thèse de Doctorat

-B-

- Beaumont C.,Hergaux-Canonne.F .2005 .Erythrophagocytose et recyclage du fer héminique dans les conditions normales et pathologiques ; régulation par l'hepcidine C. *Transfusion Clinique et Biologique. Journal de la société française de transfusion sanguine* 12(2), 123–130.

- Belkhiri F., Baghiani A., Zerroug M.M ,Arrar L. 2017. Investigation of antihemolytic, xanthine oxidase inhibition, antioxidant and antimicrobial properties of *Salvia verbenaca L.* aerial part extracts. *African. Journal of traditional, complementary and alternative medicine*;14 (2) : 273–281.
- Bendiabdellah, A. 2014. Etudes chimique et biologique des extraits de trois *Daucus* (*D. crinitus*, *D. muricatus* et *D. carota ssp hispanicus*) de la région de Tlemcen, , Université Abou Bakr Belkaid .Thèse de doctorat.
- Benhammou. N, 2012. Activité antioxydant des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien..Université Abou bakr Belkaid de Tlemcen . Thèse de Doctorat
- Benhireche R, Romani T, Ayat .A. 2022. L'effet anticoagulant des plantes médicinales *Globularia Alypum*, *Trigonella foenum greacum*, *Marrubium vulgare*.*Université larbi Ben m'hidi Oum El Bouaghi* .
- Bentouaf z et Reguig M. 2020. Mise au point méthodologique de l'extraction et du dosage des polyphénols de la patche de café .
- Bonarska-Kujawa, D. Pruchnik .H , Oszmianski J,Sarapuk .J, Kleszczynska .H. 2010. Changes Caused by Fruit Extracts in the Lipid Phase of Biological and Model Membranes. *Food Biophysics*. 2010, Vol. 6, 1, pp. 58–67.
- Bondia pons.I., Aura A-M., Vuorela.S., kolehmainen. M, Mykkanen H, Poutanen K. 2009. Rye phenolics in nutrition and health. *Journal of Cereal Science*.49(3) , 323-336.
- Boudjouref, M. 2011. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris L.* Université Ferhat Abbes, Sétif. Algérie. 99 p. Thèse de Magister en Biochimie.
- Bouhadjra. K, 2005. Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *oudneya africana R.Br.* Et *aristida pungens L.* Université Abou Bekr Belkaid. Thèse De Doctorat.
- Brands. S .J .Systema Naturae 2000, Amsterdam, The Netherlands, 1989-2005
- Bruneton, J. 1999. Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.
- Bruneton, J. (2008). Acides phénols. In: Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris. pp 198-260.

-C-

- Chakraborty, D, Shah . B.2011. "Antimicrobial, antioxidative and antihemolytic activity of Piper betel leaf extracts." *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 3(3): 192-199.
- Chaudhuri, S., et al. 2007. Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: antioxidant and antihemolytic effects. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2007, Vol. 41, 1, pp. 42-48.
- Cohen BJ, Taylor JJ. 2008. Structure et fonctions du corps humain. Anatomie et physiologie. Paris: Maloine.
- Crestini, C. & Lange, H. (2015). A novel and efficient immobilized tannase coated by the layer-by-layer technique in the hydrolysis of gallotannins and ellagitannins. *Microchemical Journal*, 123, 139–147.

-D-

- Derrar W., Sidhoum A.(2020). Etude de l'activité hémolytique et anti-hémolytique de *Zygophyllum Geslini*
- Desmier T.2016. Les antioxydants de nos jours : définition et applications., université de Limoges, France, 88 p. Thèse de doctorat d'état
- Debjani C et Barkha S. 2011. Antimicrobial, antioxidative and antihemolytic activity of piper betel leaf extracts. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 3(3),192-199
- Djerarda .H ,Boussadia.G, Bouafia.S 2022. Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits et de l'huile essentielle des racines de *Thapcia garganica*

-E-

- Ercis, K., S. Aydoğan, A. T. Atayoğlu, et S. Silici. 2015. « Effect of Propolis on Erythrocyte Rheology in Experimental Mercury Intoxication in Rats ». *Environmental Science and Pollution Research* 22(16): 12534-43

-F-

- Favier A. 2003. Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Biochimie* : 108 - 115.
- 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.

- Fiorucci, S. (2006). Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes: approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Nice. 211p. Thèse de doctorat..
- Fournier. P. 2001. Les quatre flores de France . Paris: Lachevalier
- Franz xavier .R .2002.Guide pratique de toxicologie 2ND EDITION .6

-G-

- Delporte.G, Mascolo. N, Izzo A.A . 1999. Life. Scien., 65(4), 337-53.
- Garric, J., Ferrari, B., Fraysse, B., Mons, R., Vollat, B. 2006. Effects of some human pharmaceuticals on fresh water organisms. Environnement, Risques & Santé, 5(4), p290-295
- Ghestem A., Seguin E., Paris M., and Orecchioni A.M. 2001. Le préparateur en pharmacie dossier 2èmeEd tec & doc. Paris. pp275. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- Gresele P., Cerletti C., Guglielmini G., Pignatelli P., De Gaetano.G, Violi.F. 2011. Effects of resveratrol and other wine polyphenols on vascular function: an update. *Journal of Nutrition Biochemistry*. 22 : 201–211.
- Guignard, J.L. 2000. Les composés aromatiques In : Biochimie végétale. Edition : Dunod. 161217.
- Guitton. C, Garcon. L, Cynober. T, Gauthier. F, Tchernia .G, Delaunay J., Leblanc .T,Thuret. I, Bader-meunier .B.2008. Sphérocytose héréditaire : recommandations pour le diagnostic et la prise en charge chez l'enfant. Archives de Pédiatrie 15(9),1464-1473.

-H-

- Hafian .N,Ounnas.D.2018 .Contribution à la recherche de l'effet indésirable (hémolytique) de la partie aérienne des trois plantes médicinales in vitro *Origanum Vulgare, Lavandula Steochas et Ammoide sverticillata* .
- Harborne J.B., Williams C.A. 2000. Advances in flavonoid research since 1992 *Phytochemistry*. 55: 481-504..
- Hartzfeld, P.W., Forkner, R., Hunter, M .D. & Hagerman, A .E. (2002). Determination of Hydrolyzable Tannins (Gallotannins and Ellagitannins) after Reaction with Potassium Iodate. *Journal of Agriculture*. Food Chemistry, 50, 1785-1790.
- Heywood .V. H, Moore .D. M., Richardson. I. B. K , Stearn .W. T.1996. Les plantes à fleurs 306 Familles de la flore mondiale P. 218- 219.
- Hodgson .E. 2004. A textbook of modern toxicology. 3TH EDITION. USA: Wiley Interscience. Pp. 525-541

- Hoffman R. M., 2008 .Imaging In Mice With Fluorescent Proteins: From Macro To Subcellular. Sensors,.vol. 8: p1157-117

-I-

- Ifrah.N ,Fauchet. R. 1995. Collection biologie Médicale :Hématologie .Edition :medicales internationales . France ,111p

-J-

- Jean. J, Macheix. A, Fleuriet. C, Jay. A. 2005. les composés phénoliques des végétaux un exemple de metabolites secondaires d'importance.

-K-

- Kabran .G. R. M , Mamyrbékova-Békro J.A, Pirat. J .L, Bekto .I. A, Sommerer.N , Verbaere.A , Meudec .E.2014. Identification de composés phénoliques extraits de deux plantes de la pharmacopée ivoirienne. Journal de la Societe. Quest-Africaine de la Chimie. 038:57-63
- Khanbabae .K Ree .T.R. 2001. Tannins:Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry*. 18: 641-649.
- Khireddine .H, 2014. Comprimés des poudres de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algerie .. Université M'hamed Bougera de Boumerdes. Mémoire de magister.
- King.A., Young.G. 1999. characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Journal of the American dietetic association*.99:213-218.

-L-

- Lafay S. and Gil-izquierdo A. 2008. Bioavailability of phenolic acids. *Phytochemistry Review* . 7 : 301–311.
- Lamamra .M.2018. Activités biologiques et composition chimique des huiles essentielles *d'Ammio psisaristidis* Coss. (Syn. *Daucus aristidis* Coss.) et *d'Achillea santolinoides* Lag
- Lanfranchi .DA, Louer .H ,Elkolli.M ,Prado .S, Mauley baily.C ,Baldovini .N 2010.Biocatives phenylpropanoids from *daucus crinitus desf* from algeria .*Journal Agriculture food chemistry*.58:2174-2179.
- Lié. K. W, Kim .Y. J, Lié. J, Lié. C. 2003. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal Agriculture. Food Chemistry* 51:7292-7295.

- Leporrier.M. 2008. Anémies hémolytiques auto-immunes. *Hématologie* 14(6): 432-441.
 - Lewis.S.L, Dirksen .S R. ,Heitkemper .M.M.,Bucher .L , Camera .I.M.2011.Soins infirmiers médecine chirurgie 8E ED. Montréal, Chenelière éducation, , vol.1, p. 307-530 ; vol. 2, p. 413-449
 - Ludovic.R, Coralie.D, Agnès. Marsset. B., Claudette. B., Marie. N, Peyrat. M. 2002.Biodisponibilité des composés phénoliques et de leurs métabolites.
 - Lugasi .A, Hovari .J, SagiK, Biro. L. 2003. The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Journal Acta biologica. szegediensis.* 47 (1-4):119-125.
- M-**
- Macheix. J. J, Fleuriet. A, Jay-Allemand. C. 2005. Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques
 - Manach. C, Scalbert.A., Morand .C, Remesy .C, Amenez. L. 2004. Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American journal of Clinical Nutrition.* 79:727-747.
 - Mazzone.V., Tomi.F, Casanova. J. 1999. A daucane type sesquiterpene from *Daucus carota* seed oil. *Flavour and fragrance journal*, 14(5), 268-272.
 - Merghem.R. 2009. Eléments de biochimie végétale. Bahaeddine Editions.95-121.
 - Mezzou.H, Khelifa.A.B, Neffati.F, Douki.W, Ben Amor.A, Najjar.M.F 2006. Détermination de l'hémoglobine plasmatique et évaluation spectrophotométrique de l'hémolyse en biochimie clinique.*Revue Francophone des laboratoires* .386: 59-64.
 - Mihanfar.A, Nouri. M, Roshangar. L , Khadem-Ansari. MH .2021. Polyphénols : Composés naturels au potentiel prometteur dans le traitement du syndrome des ovaires polykystiques. *Biologie de la reproduction* , 21 (2), 100500.
 - Milane. H. 2004. La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Strasbourg. 263 p. Thèse de Doctorat.
 - Mintzer.D.M, Billet.S.N, Chmielewski.L.2009. Drug-induced hematologic syndromes. *Advances in hematology.* p 495 -863
 - Mussatto. SI, Ballesteros. LF, Martins .S, Teixeira .J.A. 2011. Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. *Separation and Purification Technology*, 83, 173-179.

- Muthu. S, B. Duraira.2015. "Inhibitory effect of hydroethanolic extracts of *Annona muricata* on human platelet aggregation and hemolysis in vitro. *International Journal Pharmacy*. Pharm Res 2: 207-213.

-O-

- Ouedraogo.Y. 2001.Evaluation in vivo et in vitro de la toxicité des extraits aqueux .pharmacy. *Medecin .trad .afr*;11:13-29

-P-

- Paris. M , Hurabielle. 1981. Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Edition Masson. Paris.pp: 102-103-104-107.
- Peeking.A,Picand.B, Hacene.K, Lokiec.F, Guerin.P. 1987. Oligimères procyanidoliques (Endotélon) et système lymphatique. Artères et Veines .*Publications médicales AGCF*, 6, 512-513.
- Plunkett. G.M, Pimonv.M.G ,Reduron.J-P ,kljuykov.E.V, Van wyk.B-E, Ostroumova .T.A, Henwood.M.J, Tilney.P.M, Spalik.K, Watson.F.M ,Lee.F.D,Pu, Webb.C.J, Hart.C.J ,Mitchell.A.D, Mucknstrum.B.2018 Apiaceae. In: Kadereit,J. and Bittrich, V.(eds)*The Families and 2018* .
- Pounds.N, Maclean. S, Webley. M, Pascoe. D, Hutchinson.T. 2008. Acute and chronic effects of ibuprofen in the mollusc *Planorbis carinatus* (Gastropoda: Planorbidae). *Ecotoxicology and environmental Safety*, 70(1), p47-52.

-Q-

- Quideau, S. (2009). Chemistry and Biology of an underestimated class of bioactive plant polyphenols Ellagitannins. World ScientificPublishing, 1-367.

-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.
- Robert C, Vincent P. (1997). *Biologie et physiologie humaines*. Paris: Vuibert
- Romanik G, Gilgenast E, Przyjazny A, Kamiński M, 2007. Techniques of preparing plant material for chromatographic separation and analysis. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 70(2): 253-261.

-S-

- Saad, H.E.A ElSharkawy, S.H. and Halim, A.F. (1995). Pharm . Acta helvetica, 70, 79
- Sáenz Laín C., (1981). Research on *Daucus L.* (Umbelliferae). Actas III Congreso Óptima. Anales Del Jardín Botánico de Madrid, 37: 481-534.
- Shobana, S et R, Vidhya (2016). "Evaluation of In Vitro Hemolytic Activity Of Different Parts of *Abutilon indicum* (Linn.)." World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 5(5): 1182-1196.
- Sini baby MS, Antony VA, Biniya J, Dr Deepa J (2020). Nirmala college of pharmacy, Muvattupuzha, Ernakulam District, Kerala, India.
- Stevanovic, T. & Perrin, D. (2009). Chimie du bois. Lausanne: Presses polytechniques et universitaires romandes, 179-180.
- Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M., & Spranger, I. (1998). Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. Journal of agricultural and foodchemistry, 46(10), 4267-4274.
- Susan E, Aiollo. Le Manuel veterinarier Merck. Veterinary laboratory Medicine, Iowa state-University. 2éme Edition. 13 ruechpon. 75003, 2002
- Suwalsky, Mario, José Duguet, et Hernán Speisky. 2017. « An In Vitro Study of the Antioxidant and Antihemolytic Properties of *Buddleja Globosa* (Matico) ». The Journal of Membrane Biology 250(3): 239-48.

-T-

- Tahar, S., Amar, Z., Pier Luig, C. and Guido, F.(2011). Myristicin-rich Essential Oilfrom *Daucus sahariensis* Growing in Algeria, Vol. 6, No. 6883 – 886.
- Tapiero H., Tew K.D., Nguyen B.G., and Mathé G. (2002). Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies? Biomed.pharmacother. 56: 200-207.(cited in DjemaiZoueglache S, 2008).
- Theml H ,Heinz H,Torsten H .2006 ;ATLAS DE POCHE D4HEMATOLOGIE . 2°édntion .médecine sciences publication .
- Trabelsi N, Megdiche W, Ksouri R, Falleh H, Oueslati S, Bourgou S, Hajlaoui H, Abdelly C, 2010. Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. *LWT, Food Science and Technology*, 43, 632-639.

-V-

- Vazquez G, Fontenla E, Santos J, Freire MS, Gonzalez-Alvarez J, Antorrena G. 2008. Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (*Castanea sativa*) shell and

eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. *Industrial crops and products*, 28, 279-285

- Vermerriss, W. & Nicholson, R. (2006). Phenolic compound Biochemistry. Springer.
- W-**
- Wajeman h., Lantz B., Girot R. (1992). - les maladies du globule rouge.- 2e édition ; Paris : INSERM.
 - Webb,S.F(2001).A data based perspective on the environmental risk assessment of human pharmaceuticals II_aquatic risk characterisation ;in pharmaceuticals in the environment Springer,Berlin ,Heidelberg.p203-219.
 - Wichtl M, Anton R. 2003. Plantes thérapeutiques - Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Éd. Tec et Doc et EMI.
 - Wilson D.D.,Lahaye S.,courchesne J.,(2010).Courchesne et E. Prégent. Examens paracliniques, Montréal, Chenelière /McGraw-Hill.p 696

الملخص

تساهم التجارب المقدمة في هذا العمل من ناحية في دراسة انحلال الدم ومن ناحية أخرى في تقييم النشاط المضاد لانحلال الدم لمستخلصات جزأين (أبيض داخلي وقشرة) من جذر *Daucus crinitus Desf.* "بوزفور" من منطقة تلمسان (الجزائر) يتطلب تحضير المستخلصات الاستخراج الهيدروميثانولي (20/80 ، v / v ، مع متبوعا باستخراج v/الساائل مع الهكسان (50/50 ؛ v/v) ، من أجل إزالة المركبات القطبية. العائد المائي الميثانول ، بواسطة soxhlet ، من الجزء الأبيض الداخلي (18.88%) أكبر من القشرة (10.1%). يرجع الانخفاض في العائد بعد الاستخراج إلى مرور مستخلص زيتي المظهر في هذا المذيب. عائد هذه الزيوت هي: 3.25 % للقشرة و 2.25 % للجزء الأبيض الداخلي.

القياسات الطيفية للمركبات الفينولية تكشف أن محتويات البوليفينول والفلافونويد في مستخلص القشرة (49.28 ±7,16 mg EAG/g ES ; 12.82±0.78 mg EC/g ES ، على التوالي) هي أعلى من تلك التي من مستخلص الجزء الأبيض. ومع ذلك ، فإن محتويات العفص المكثف منخفضة وقريبة في كلا الجزأين ، مع تفوق طفيف في مستخلص القشرة (1.91±0.06 mg EC/g ES).

النسب المئوية لانحلال الدم، عن طريق استخدام نموذج كريات الدم الحمراء ، تتناسب مع الزيادة في التركيزات. الجزء الأبيض لديه أدنى معدل انحلال الدم، والتي بدأت فيا لزيادة بشكل ملحوظ فقط من 10 ملغ/مل 88.71 % في 20 ملغ/مل، بعد 30 دقيقة من الحضارة.

بالنسبة للتركيز من 0.0156 ملغ/مل إلى 1.25 جزئي النبات، زادت نسبة مضادات من 56.4 إلى 80 % للجزء الأبيض ومن 44.9 إلى 80 % للقشرة . إلى جانب هذا التركيز، اختفت هذه الحماية للمستخلصين ولحمض الأسكوربيك .

المركبات الفينولية أقل وفرة في الجزء الأبيض الذي وجد أنه أقل انحلالاً للدم ومضاداً لانحلال الدم أكثر قليلاً من القشرة الكلمات المفتاحية: جنور. *Daucus crinitus Desf.*، المركبات الفينولية، دراسة انحلال الدم ،نشاط مضاد لانحلال الدم

Résumé

Les expérimentations présentées dans ce travail contribuent d'une part à l'étude du pouvoir hémolytique et d'autre part à l'évaluation de l'activité anti-hémolytique des extraits de deux parties (blanche interne et croûte) de la racine de *Daucus Crinitus Desf.* « bouzeffour » de la région de Tlemcen (Algérie).

La préparation des extraits a nécessité une extraction hydrométhanolique (80/20, v/v) par Soxhlet, suivie par une extraction liquide/liquide par l'hexane (50/50 ; v/v) pour éliminer les composés apolaires. Le rendement hydro-méthanolique, par Soxhlet, de la partie blanche interne (18,88%) est plus important que celui de la croûte (10,1%). La diminution des rendements après une extraction à l'hexane est due au passage d'un extrait d'aspect huileux dans ce solvant. Les rendements en ces huiles sont : 3.25% pour la croûte et 2.25% pour la partie blanche interne.

Des dosages spectrophotométriques des composés phénoliques révèlent que les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dans l'extrait de la croûte (49.28 ±7,16 mg EAG/g ES ; 12.82±0.78 mg EC/g ES, respectivement) sont supérieures à celles de l'extrait de la partie blanche. Cependant, les teneurs en tanins sont faibles et proches dans les deux parties, avec une légère supériorité dans l'extrait de la croûte (1.91±0.06 mg EC/g ES).

Les pourcentages d'hémolyse, par l'utilisation de modèle érythrocytaire, sont proportionnels à l'augmentation des concentrations. La partie blanche a le taux d'hémolyse le plus faibles, qui n'a commencé à augmenter significativement qu'à partir de 10 mg/ml et est de 88,71% à 20 mg/ml, après 30 min d'incubation.

Pour des concentrations de 0,0156 à 1,25 mg/ml et pour les deux parties de la plante, le pourcentage anti-hémolytique est passé de 56,4 à 80% pour la partie blanche et de 44,9 à 80% pour la croûte. Au-delà de cette concentration cette protection disparue pour les deux extraits et pour l'acide ascorbique.

Les composés phénoliques sont moins abondants dans la partie blanche qui s'est révélée moins hémolytique et légèrement anti-hémolytique que la croûte.

Mots clés : Racines de *Daucus crinitus Desf.*, Composés phénoliques, pouvoir hémolytique, Activité anti-hémolytique.

Abstract

The experiments presented in this work contribute, on the one hand, to the study of the hemolytic power, on the other, to the evaluation of the anti-hemolytic activity of the extracts of two parts (inner white and rind) of the root of *Daucus crinitus Desf.* « Bouzeffour » from Tlemcen (Algeria)

Preparation of the extracts involved hydro-methanolic extraction (80/20, V/V) by soxhlet followed by liquid/liquid extraction with hexane (50/50; V/V), to remove apolar compounds.

The hydro-methanolic yield by soxhlet, of the inner white part (18,88%) is higher than that of the crust (10,1%). Lower yields after hexane extraction are due the passage of an oiliness extract through this solvent. The yields of these oils are: 3, 25% for the crust and 2,25% for the inner white part.

Spectrophotometric analyses of phenolic compounds revealed that polyphenols and flavonoids in crustal extract (49.28 ±7,16 mg EAG/g ES ; 12.82±0.78 mg EC/g ES ,respectively) are higher than those in the white part extract .However ,tannins contents are low and close in both parts , with a slight superiority in the crust extract (1.91±0.06 mg EC/g ES).

Hemolysis percentages, using erythrocyte models ,are proportional to increasing concentration .The white part has the lowest hemolysis rate, which only began to increasing significantly at 10mg/ml and is 88,71 % at 20 mg/ml ,after 30 min incubation

For concentrations ranging from 0,0156 to 1,25 mg/ml and for both parts of the plant ,the anti-hemolytic percentage rose from 56,4 to 80% for the white part and from 44,9 to 80% for the crust .Above this concentration ,this protection disappeared for both extract and ascorbic acid.

Phenolic compounds are less abundant in the white part, which was found to be less hemolytic and slightly anti-hemolytic than the crust.

Key words: *Daucus crinitus Desf.* roots, phenolic compounds, hemolytic power ,anti-hemolytic activity .