

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 , et sciences de la terre et de l'univers
Département d'écologie et environnement



MEMOIRE

Présenté par : **Mlle Ais Marwa safa et Melle Boughazzel mariem**

En vue de l'obtention du
Diplôme De Master En Sciences Écologiques

Option : Toxicologie Industrielle Et Environnementale

Thème

**Étude phytochimique, activité antiradicalaire et pouvoir
hémolytique de deux plantes toxiques à effets thérapeutiques**

(Echinops spinosus et Aquilaria malaccensis)

Soutenu publiquement, le 08 / 07 / 2024, devant le jury composé de :

Président :	Dr. CHAUCHE Tarik	M.C.A. Université de Tlemcen
Examinatrice :	Dr. MEZOUAR Dounia	M.C.A. Université de Tlemcen
Encadrante :	Pr. CHAUCHE- HADDOUCHI Farah	Pr. Université de Tlemcen

Année universitaire : 2023/2024

Remerciement

Avant toute chose, nous tenons à remercier Dieu pour nous avoir donné la force et la patience nécessaires afin d'accomplir ce travail après cinq années d'efforts, au cours desquelles nous avons acquis de nombreuses compétences. Nous voilà arrivées à l'ultime étape avant l'obtention de nos diplômes.

*En premier lieu, nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à notre encadrante, **Pr. Chaouche- Haddouchi Farah**, professeur au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, et sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaid (Tlemcen), pour sa confiance, son attention, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils. Pour cela, nous lui exprimons toute notre gratitude.*

Nous remercions les membres du jury d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail. Nous vous en sommes très reconnaissantes et espérons être à la hauteur de votre confiance.

*Nous exprimons notre vive reconnaissance au **Dr. CHAUCHE Tarik**, maître de conférences à la faculté de SNV/STU (université de Tlemcen), d'avoir accepté l'honneur de présider le jury de ce travail.*

*Nous remercions **Dr. MEZOUAR Dounia**, maître de conférences à la faculté de SNV/STU (université de Tlemcen), d'avoir accepté d'examiner ce travail. Nous vous en sommes très reconnaissantes.*

*Nous remercions particulièrement **Mlle GUELLAI Imane**, doctorante à l'université de Tlemcen, pour son aide précieuse au laboratoire des produits naturels, sa disponibilité, sa gentillesse et ses conseils.*

Enfin, un grand merci à tous les enseignants de la formation Toxicologie industrielle et Environnementale pour leurs efforts et leur suivi tout au long de nos études.

À vous tous, un grand merci.

Dédicaces

*DU PROFOND DU MON CŒUR, JE DÉDIE CE TRAVAIL A TOUS CEUX QUI ME SONT CHERS
AVANT TOUT, JE REMERCIE DIEU, LE MISERICORDIEUX DE M'AVOIR DONNÉ LE COURAGE,
LA FORCE ET LA PATIENCE POUR RÉALISER CE MÉMOIRE.*

A MES CHERS PARENTS

*AUCUNE DEDICACE NE SAURAIT EXPRIMER MON RESPECT, MON AMOUR ÉTERNEL ET MA
CONSIDÉRATION POUR LES SACRIFICES QUE TOUS AVEZ CONSENTI POUR MON INSTRUCTION
ET MON BIEN ÊTRE.*

*A MA MÈRE QUI M'A ENTOURÉ DE TENDRESSE ET D'ESPOIR, LA SOURCE D'UN AMOUR
INEPUISABLE, A LA MÈRE DES SENTIMENTS FRAGILE QUI M'A BÉNIE PAR SES PRIÈRES.*

A MON DÉFUNT PÈRE QUI RESTE TOUJOURS VIVANTS DANS MA VIE ET MON CŒUR.

A MES CHERS SŒURS

*A MES CHERS DEUX SŒURS **NOUR EL HOUDA** ET **SAMAH ROUMAÏSSA** ET MA NIECE **NAJWA**
EN TÉMOIGNAGE DE L'ATTACHEMENT, DE L'AMOUR ET DE L'AFFECTATION QUE JE PORTE
POUR VOUS, VOUS ÊTES TOUJOURS DANS MON CŒUR JE VOUS REMERCIE D'ÊTRE
L'ÉPAULE SUR LAQUELLE JE PEUX TOUJOURS COMPTER.*

*A TOUS CEUX QUI M'ONT SOUTENU DANS CES MOMENTS DIFFICILES, JE VOUS OFFRE LA JOIE
DE MON DIPLÔME*

*NOUS N'AVONS POURSUIVI NOS DÉBUTS QUE GRÂCE A SA FÉLICITATION, NOUS N'AVONS
CHERCHÉ LA FIN QUE GRÂCE A SON SUCCÈS ET NOUS N'AVONS ATTEINT NOS OBJECTIFS
QUE GRÂCE A SA GRÂCE.*

*A TOUS MA FAMILLE, CHERS COUSINES ET MES AMIES POUR LE SOUTIEN TOUT AU LONG DE
MON PARCOURS UNIVERSITAIRE*

A MON CHÈRE AMIE ET BINÔME

MERIEM

A MA PROMO DE TOXICOLOGIE INDUSTRIEL ET ENVIRONNEMENT 2024

TOUS CEUX QUI ONT CONTRIBUÉ DE PRES OU DE LOIN A LA RÉALISATION DE CE MÉMOIRE.

MERWA SAFA

Dédicaces

AVANT TOUT LES CHOSES, JE REMERCIE DIEU, POUR M'AVOIR DONNÉ LA FORCE, LE COURAGE, LA VOLONTE ET LA PATIENCE DE POURSUIVRE MES ÉTUDES ET ARRIVER À CE STADE.

UNE DÉDICACE PARTICULIÈRE ET SINCÈRE À NOTRE ENCADREUR M. CHAOUACHE HADDOUCHI FARAH ET LA DOCTORANTE IMANE JE VEUX JUSTE VOUS REMERCIER POUR VOS EFFORTS AVEC NOUS.

ALORS JE DÉDIÉ CE MODESTE TRAVAIL :

À L'HOMME DE MA VIE, POUR LEUR SACRIFICES, LEUR AMOUR, LEUR ENCOURAGEMENTS, LEUR TENDRESSE ET LEUR PRIÈRES TOUT AU LONG DE MES ÉTUDES ET MA VIE, À TOI MON PÈRE MOHAMMED.

SPÉCIALEMENT À MA MAMAN NAIMA LA LUMIÈRE DE MES YEUX ET JOURS, LA SOURCE DE MES EFFORTS QUI M'ENCOURAGER ET VEILLIR À MON BIEN ÊTRE DURANT TOUTES CES ANNÉES D'ÉTUDE, MALGRE QU'AUCUNE DEDICACE NE SAURAIT EXPRIMER MON RESPECT, MON AMOUR ÉTERNEL ET MA CONSIDÉRATION

« JE T'AIME MAMA ».

À MON TRÈS CHER FRÈRE ALAA JE VEUX JUSTE TE DIRE QUE TU ES MON SOUTIEN DANS LA VIE.

À MA DÉFUNTE TANTE ET SŒUR KHAIRA, QUI RESTERA TOUJOURS VIVANTE DANS MA MÉMOIRE.

MA CHÈRE BINÔME MARWA POUR SA PATIENCE INFINIE ET SYMPATHIE.

A TOUTES MA FAMILLE, CHERS ONCLES ET TANTES, MA CHÈRE GRANDE MERE , AUSSI TOUTES LES PROCHES DE MON CŒUR ; MES COLLEGUES MERCI POUR LES MOMENTS INOUBLIABLES PASSÉS ENSEMBLE, POUR VOTRE AMITIE.

Meriem

المخلص

التجارب المعروضة في هذا العمل تساهم في الدراسة الكيميائية النباتية وكذلك في تقييم النشاط المضاد للجذور السائبة وسمية مستخلصات: لحاء جذع *Aquilaria malaccensis* وجذور *Echinops spinosus*. دراسة السمية شجعتنا على تفضيل تحضيرات قائمة على الماء، تستخدم عادة في شاي الأعشاب، وفق طريقتين مختلفتين: الغليان لمدة 20 دقيقة والغليان نفسه متبوعاً بالنقع البارد لمدة 24 ساعة. كانت مردودات مستخلصات الغليان لمدة 20 دقيقة أعلى من تلك الناتجة عن النقع البارد لمدة 24 ساعة.

الكشوفات الكيميائية النباتية تكشف عن وجود القلويات، التانينات، الفلافونويدات، التيربينويدات، الصابونينات والجليكوسيدات القلبية في كلا النباتين. أظهرت التحاليل أن مستخلصات *A. malaccensis* تحتوي على تركيزات أعلى بكثير من البوليفينولات والفلافونويدات الكلية مقارنة بجذور *E. spinosus*، التي كانت أغنى بالتانينات المكثفة.

يشير كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة إلى أن معظم المركبات شائعة في كلا الحالتين الاستخلاص. وتظهر الطور المتحرك المستخدم المزيد من المركبات في مستخلصات *A. malaccensis* مقارنة بمستخلصات *E. spinosus*.

A. malaccensis يظهر أيضاً نشاطاً مضاداً للجذور السائبة واعدًا، لا سيما المستخلص الذي تم نقعه لمدة 24 ساعة والذي أظهر قيمة IC_{50} تبلغ 0.0227 مجم/مل. ومع ذلك، تبقى هذه المستخلصات أقل فعالية من BHT وBHA. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت هذه النوعية قدرة تحلل دموي أكثر قليلاً، حيث وصلت إلى 39.65% من تحلل الدم عند 200 مجم/مل للمستخلص الذي تم نقعه لمدة 24 ساعة.

الكلمات المفتاحية: *Aquilaria malaccensis*، *Echinops spinosus*، الكشوفات الكيميائية النباتية، المركبات الفينولية، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، النشاط المضاد للجذور السائبة، IC_{50} ، القدرة على تحلل الدم.

Résumé

Les expérimentations présentées dans ce travail contribuent à l'étude phytochimique ainsi qu'à l'évaluation de l'activité anti radicalaire et de la toxicité des extraits de : l'écorce du tronc d'*Aquilaria malaccensis* et les racines d'*Echinops spinosus*.

L'étude de la toxicité nous a encouragés à privilégier des préparations à base d'eau, couramment utilisé pour les tisanes, selon deux méthodes différentes : la décoction de 20min et la même décoction suivie d'une macération de 24h à froid. Les rendements des extraits de la décoctions de 20 minutes sont supérieurs à ceux de la macération de 24 heures.

Les tests phytochimiques révèlent la présence d'alcaloïdes, de tanins, de flavonoïdes, de terpénoïdes, de saponosides et des glycosides cardiotoniques dans les deux plantes. Les dosages montrent que les extraits d'*A. malaccensis* présentent des concentrations significativement plus élevées en polyphénols totaux et en flavonoïdes par rapport aux racines d'*E. spinosus*, qui sont quant à elles plus riches en tanins condensés.

La chromatographie sur couche mince indique que la plupart des composés sont communs dans les deux conditions d'extraction. La phase mobile utilisée révèle davantage de composés dans les extraits d'*A. malaccensis* par rapport aux extraits d'*E. spinosus*.

A. malaccensis montre également une activité anti radicalaire prometteuse, notamment l'extrait de 24 heures présentant un CI_{50} de 0,0227 mg/ml. Cependant, ces extraits demeurent moins efficaces que le BHT et le BHA. De plus, cette espèce présente un pouvoir hémolytique légèrement plus marqué, atteignant 39,65% d'hémolyse à 200 mg/ml pour l'extrait de 24 heures.

Mots clés : *Aquilaria malaccensis*, *Echinops spinosus*, tests phytochimiques, composées phénoliques, CCM, activité anti radicalaire, CI_{50} , pouvoir hémolytique.

Abstract

The experiments presented in this study contribute to the phytochemical investigation and evaluation of antioxidant activity and toxicity of extracts from the trunk bark of *Aquilaria malaccensis* and the roots of *Echinops spinosus*.

Toxicity studies prompted us to prefer water-based preparations, commonly used for herbal teas, employing two different methods: a 20 minute decoction and the same decoction followed by 24-hour cold maceration. Yields of extracts from the 20 minute decoction were higher than those from the 24 hour maceration.

Phytochemical tests reveal the presence of alkaloids, tannins, flavonoids, terpenoids, saponins, and cardiac glycosides in both plants. Quantitative analysis shows that extracts from *A. malaccensis* have significantly higher concentrations of total polyphenols and flavonoids compared to *E. spinosus* roots, which are richer in condensed tannins.

Thin-layer chromatography indicates that most compounds are common in both extraction conditions, but the mobile phase used reveals more compounds in *A. malaccensis* extracts compared to *E. spinosus* extracts.

A. malaccensis also exhibits promising antioxidant activity, especially the 24 hour extract with a IC_{50} of 0.0227 mg/ml. However, these extracts are less effective than BHT and BHA. Furthermore, this species shows a slightly stronger hemolytic activity, reaching 39.65% hemolysis at 200 mg/ml for the 24 hour extract.

Keywords: *Aquilaria malaccensis*, *Echinops spinosus*, phytochemical tests, phenolic compounds, TLC, antioxidant activity, IC_{50} , hemolytic activity.

Liste des photos

Photo 01 : <i>Echinops Spinosus</i>	20
Photo 02 : <i>Aquilaria malaccensis</i>	25
Photo 03 : Racines (A) et poudre (B) d' <i>Echinops Spinosus</i>	32
Photo 04 : Écorce (A) et poudre (B) d' <i>Aquilaria malaccensis</i>	33
Photo 05 : Étapes de la méthode de décoction	34
Photo 06 : Étapes de la méthode de décoction suivie de macération.....	34
Photo 07 : Migration des constituants lors d'une CCM	38
Photo 08 : Dépôt des quatre extraits des deux plantes sur la plaque de chromatographie sur couche mince.....	38
Photo 09 : Tests phytochimiques réalisés sur <i>E. spinosus</i> (T 20min).....	45
Photo 10 : Tests phytochimiques réalisés sur <i>E. spinosus</i> (T 24h).....	45
Photo 11 : Tests phytochimiques réalisés sur <i>A. malaccensis</i> (G 20min).....	46
Photo 12 :Tests phytochimiques réalisés sur <i>A. malaccensis</i> (G 24h).....	46
Photo 13 : Gamme de l'acide gallique.....	48
Photo 14 : Gamme de la catéchine pour les flavonoïdes.....	49
Photo 15 :Gamme de la catéchine pour les tanins.....	50
Photo 16 : Observation du chromatogramme à l'œil nu.....	53
Photo 17 : Observation du chromatogramme à 365nm.....	53
Photo 18 : Observation du chromatogramme à 254nm.....	54
Photo 19 : Test de DDPH.....	57.
Photo 20 : Résultat du pouvoir hémolytique de l'extrait d' <i>A. malaccensis</i> (G20min).....	63

Liste des tableaux

Tableau 1 : Distribution et localisation des principes toxiques dans les végétaux.....	14
Tableau 2 : Classification de <i>Echinops spinosus</i>	22
Tableau 3 : Classification <i>Aquilaria malaccensis</i>	27
Tableau 4 : Rendements, aspects et couleurs des extraits aqueux.....	44
Tableau 5 : Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les extraits des deux plantes.....	45
Tableau 6 : Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits des deux plantes.....	51
Tableau 7 : Teneurs en flavonoïdes dans les extraits des deux plantes.....	52
Tableau 8 : Teneurs en tanins condensés dans les extraits des deux plantes.....	53
Tableau 9 : Résultats de la CCM des extraits des racines d' <i>E. spinosus</i>	55
Tableau 10 : Résultats de la CCM des extraits de l'écorce du tronc d' <i>A. malaccensis</i>	56

Tableau 11: Travaux antérieurs sur la CCM des composés phénoliques.....	58
Tableau 12: Valeurs des CI ₅₀ des quatre extraits et des standards.....	61
Tableau 13: Pourcentages d'hémolyse des extraits à différentes concentrations.....	63

Liste des figures

Figure 1: Structure de base des composés phénoliques	10
Figure 2: Structure de base des flavonoïdes	10
Figure 3: Structure des tanins hydrolysables (a) et condensés (b)	11
Figure 4: Structure de l'unité isoprénique	12
Figure 5: Composition du sang.....	17
Figure 06: Forme réduite du radical DPPH°.....	40
Figure 7: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux... ..	48
Figure 8: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.....	49
Figure 9: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.....	50
Figure 10: Histogramme présentant les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés dans les extraits des deux plantes.....	53
Figure 11: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH pour le standard BHA.....	59
Figure 12: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH pour le standard BHT.....	59
Figure 13: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH pour l'extrait G20min.....	60
Figure 14: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH pour l'extrait G24h.....	60
Figure 15: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH pour l'extrait T20min.....	60
Figure 16: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH pour l'extrait T24h.....	61
Figure 17: Histogramme des CI ₅₀ des quatre extraits et des standards.....	62
Figure 18: Pourcentages d'hémolyse des extraits à différentes concentrations.....	63

Sommaire

المخلص

Résumé

Abstract

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des photos

Introduction générale.....	02
La synthèse bibliographique.....	05
Chapitre 01 : La toxicité des plantes.....	05
1 Introduction.....	05
2 Toxicité des plantes.....	05
2.1 Généralités sur la toxicité.....	05
2.1.1 Toxicité aiguë (à court terme).....	06
2.1.2 Toxicité subaiguë.....	06
2.1.3 Toxicité chronique (à long terme)	07
2.2 Toxicité par les plantes.....	07
2.2.1 Causes de toxicité par les plantes.....	07
2.2.2 Conduite à tenir devant une intoxication par les plantes.....	07
2.3 Principes actifs responsables de la toxicité des plantes.....	07
2.3.1 Métabolites primaires.....	08
2.3.2 Métabolites secondaires.....	08
2.3.2.1 Classification.....	08
2.3.2.2 Distribution et localisation des métabolites secondaires toxiques dans les végétaux.....	13
2.4 Monographie des plantes toxiques les plus utilisées en phytothérapie.....	14
Chapitre 02 : Hémyolyse et pouvoir hémyolytique des plantes.....	17
1 Hémyolyse.....	17
2 Composition du sang.....	17
3 Facteurs influençant le pouvoir hémyolytique.....	17
3.1 Nature de l'agent hémyolytique.....	18
3.2 Facteurs intrinsèques aux globules rouges.....	18
3.3 Condition du milieu.....	18
4 Le mode d'action des molécules hémyolytiques.....	18
5 Implication des plantes dans l'hémyolyse.....	19
6 Travaux antérieurs sur l'effet hémyolytique des plantes.....	19
Chapitre 03 : Les plantes étudiées.....	21
1 <i>Echinops spinosus</i> de la famille des Astéracées.....	21
1.1 Description botanique.....	21
1.2 Origine et distribution.....	22
2.3.2.1 Classification.....	22
1.4 Noms vernaculaires.....	22
1.5 Composition chimiques.....	23
1.6 Utilisation traditionnelle et médicinale	23
1.7 Toxicité de la plante.....	24

1.7.1 Principes actifs responsables de cette toxicité.....	24
1.7.2 Dose toxique.....	25
1.7.3 Les signes cliniques et biologiques de l'intoxication par <i>E. spinosus</i>	25
2 <i>Aquilaria malaccensis</i> de la famille des Thymelaeacées.....	26
2.1 Description botanique	26
2.2 Origine et distribution.....	27
2.3 Classification botanique.....	27
2.4 Noms vernaculaires.....	28
2.5 Composition chimiques.....	28
2.6 Utilisation traditionnelle et médicinale.....	28
2.7 Toxicité de la plante.....	29
2.7.1 Principes actifs responsables de cette toxicité.....	30
2.7.2 Dose toxique.....	30
2.7.3 Signes cliniques et biologiques de l'intoxication.....	31
2.7.3.1 Les signes cliniques.....	31
2.7.3.2 Les signes biologiques.....	31
Matériel et Méthodes.....	33
1 Matériel végétal.....	33
2 Méthodes utilisées.....	34
2.1 Extractions.....	34
2.1.1 La décoction.....	34
2.1.2 La décoction suivie d'une macération à froid.....	35
3 Tests phytochimiques.....	35
3.1 Les composés azotés.....	35
3.1.1 Les alcaloïdes.....	35
3.2 Les composés phénoliques.....	36
3.2.1 Les saponines	36
3.2.2 Les terpénoïdes.....	36
3.2.3 Glycosides cardiotoniques.....	36
4 Dosage des composés phénoliques.....	36
4.1 Polyphénols totaux.....	36
4.2 Flavonoïdes totaux.....	37
4.3 Tanins condensés.....	37
5 Chromatographie sur couche mince.....	38
6 Estimation de l'activité antioxydante, <i>in vitro</i>, par la méthode de piégeage du radical DPPH°...	39
7 Estimation du pouvoir hémolytique, <i>in vitro</i>.....	41
8 Analyses statistiques.....	42
Résultats et discussion.....	44
1 Les rendements en extraits.....	44
2 Les tests phytochimiques.....	45
3 Dosage des composés phénoliques.....	48
3.1 Courbes d'étalonnage.....	48
3.2 Calcul des teneurs en composés phénoliques.....	51
4 Chromatographie sur couche mince (CCM).....	53
5 Estimation de l'activité antioxydant, <i>in vitro</i>, par la méthode de piégeage du radical DPPH°.....	58

6 Pouvoir hémolytique.....	62
Conclusion Générale.....	66
Références bibliographiques.....	69
Annexes	



Introduction Générale

Les plantes sont un réservoir de molécules bioactives, parmi lesquelles les composés phénoliques occupent une place importante. Ces composés sont largement utilisés en thérapeutique pour leurs puissantes propriétés antioxydantes (**Yakhlaf, 2010; Chaouche et al., 2015**).

Cependant, certaines plantes peuvent présenter un risque de toxicité et leur utilisation peut provoquer des troubles plus ou moins graves, voire mortels. Ces plantes contiennent une ou plusieurs substances nuisibles pour l'homme ou l'animal (**Fournier, 2001**). Parmi les effets toxiques, l'effet hémolytique est particulièrement recherché. Les globules rouges sont les cellules les plus utilisées dans l'évaluation de la toxicité des plantes, via l'hémolyse, en raison de leur disponibilité et de la facilité avec laquelle leur lyse cellulaire peut être surveillée grâce à la libération de l'hémoglobine (**Wajeman et al., 1992**).

La flore végétale est riche et diversifiée. Dans cette flore, on trouve des espèces largement utilisées en médecine traditionnelle avec moins de valorisation scientifique en phytochimie et en pharmacologie (**Halimi, 2014 ; Miara et al., 2019**). Il est crucial de valoriser les plantes de l'Algérie, ainsi que celles non originaires du pays et vendues par les herboristes, car ce sont celles qui sont le plus souvent consommées par la population. Cette valorisation permettrait non seulement de confirmer scientifiquement leurs propriétés médicinales, mais aussi d'assurer leur sécurité d'utilisation et de promouvoir la richesse botanique locale et importée pour des applications thérapeutiques.

Echinops spinosus, de la famille des Astéracées, est une plante médicinale que l'on trouve en Algérie (**Bellakhdar, 1987**). *Aquilaria malaccensis* (Bois d'agar) originaire d'Asie et de la famille des Thymelaeacées, n'est pas présente naturellement en Algérie, mais se vend dans le pays. Cependant, le point commun entre les deux est leur toxicité (**Hmamouchi, 1999; Ahmouda et Moussaoui, 2019**), notamment leur utilisation par la population locale pour leurs propriétés abortives (**Caia et al., 2004; Lahsissene et al., 2009**).

À la lumière de ces informations, notre objectif pour ce travail est d'étudier phytochimiquement ces deux plantes sélectionnées (*A. malaccensis*, *E. spinosus*) et d'évaluer leur toxicité. Nous les avons testées pour leur pouvoir antioxydant ainsi que pour leur effet hémolytique. Notre travail se divise en trois parties :

- La première partie consiste en une synthèse bibliographique résumant les données sur la toxicité des plantes, l'hémolyse et le pouvoir hémolytique et sur les plantes étudiées;

Introduction générale

- La deuxième partie est expérimentale et comprend le matériel et les méthodes utilisés;
- La troisième partie est consacrée à la présentation et à la discussion des résultats obtenus.

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



La synthèse bibliographique :

Chapitre 01

La toxicité des plantes

1 Introduction:

L'utilisation traditionnelle des plantes à des fins médicinales, par voie interne ou externe, est connue sous le nom de phytothérapie (**Margaret et al., 2000**). Ce terme provient de deux mots grecs « python » et « thérapie » qui désignent respectivement « plante » et « traitement » (**Woong, 2012**). En phytothérapie, on utilise différentes parties de la plante, chacune ayant ses propres propriétés curatives. Les parties les plus courantes de la plante utilisée en phytothérapie sont:

- Les fleurs : Elles contiennent souvent des huiles essentielles et des flavonoïdes. Elles peuvent être utilisées pour des tisanes, des teintures et des sirops (**Grouzis et Albergel, 1989**).
- Les feuilles : C'est la partie des plantes la plus utilisée. Elles contiennent des vitamines, des minéraux et des antioxydants. Elles peuvent être utilisées pour préparer des tisanes, des teintures.
- Les fruits : Ils contiennent souvent des vitamines, des minéraux et des fibres. Ils peuvent être consommés frais, séchés ou transformés en jus et sirops.
- Les graines : Elles contiennent souvent des huiles essentielles, des acides gras et des protéines. Elles peuvent être consommées crues, grillées ou transformées en huile.
- Les racines : Elles contiennent souvent des alcaloïdes, des glycosides et des tanins. Elles peuvent être utilisées pour préparer des tisanes, des teintures.
- Les écorce : Elles contiennent souvent des tanins et des stéroïdes. Elles peuvent être utilisées pour préparer des tisanes et des capsules (**Bradley et Chevallier, 2012**).
- Rhizome : C'est une tige souterraine qui contient souvent des amidons, des sucres et des huiles essentielles. Ils peuvent être utilisés pour préparer des tisanes des teintures et des capsules (**Vidal, 2023**).

Le mode de préparation en phytothérapie peut avoir un effet sur la quantité du principe actif présent. Il existe plusieurs méthodes en fonction, de l'effet thérapeutiques recherché : poudre, jus, sirop, vinaigre, pommade, lotions, infusion, décoction et macération. L'infusion est la méthode la plus courante et la plus classique de préparation des tisanes, généralement appliqué aux organes sensibles des plantes (fleurs, feuilles). La décoction s'applique essentiellement pour les parties dures comme les racines et les écorces qui libèrent difficilement leur principe actif lors d'une infusion. La macération consiste à immerger les plantes médicinales sèches ou bien fraîche dans un solvant approprié comme l'eau, pendant un temps déterminés, tout en agitant pour faciliter la dissolution des principes solubles (**Lori**

et Devan, 2005; Nogaret –Ehrhart, 2003). La phytothérapie est basée sur les avancés et les preuves scientifiques qui recherchent des extraits actifs des plantes conduisant aux phyto-médicaments (Fauron et al., 1989). Toutefois, il est important de noter que certaines plantes peuvent être toxiques et doivent être utilisées avec précaution pour éviter des effets indésirables (Hammiche et al., 2013; Jean valnet, 2016).

2 Toxicité des plantes:

2.1 Généralités sur la toxicité:

La toxicité désigne un agent chimique, extérieur à l'organisme (xénobiotique), qui provoque un dysfonctionnement à l'échelle moléculaire, cellulaire et organique et qui perturbe l'organisme en créant une relation dose- dépendance. Cette toxicité est une caractéristique biologique qui dépend de la structure du composé, de son interaction avec la matière vivante et de la dose nécessaire pour produire un effet néfaste (Chéour, 2020).

La DL50 (Dose Létale 50) est l'un des paramètres les plus utilisés en toxicologie pour évaluer la toxicité aiguë d'une substance. C'est la dose d'un composé qui provoque une mortalité de 50% dans une population mise en expérience (Meghraoui-Bentchikou, 2017). À partir de cette dose, la toxicité des substances peut être classée en trois catégories principales : aiguë, subaiguë et chronique, en fonction de l'intensité et de la durée des effets observés après l'exposition.

2.1.1 Toxicité aiguë (à court terme) :

Elle se réfère à une exposition soudaine à une substance toxique en une seule dose ou sur une courte période, entraînant des effets nocifs immédiats ou à court terme. Les symptômes varient selon la substance et la dose ingérée, allant de légers maux de tête et nausées à des troubles respiratoires graves, voire la mort (Klaassen, 2019).

2.1.2 Toxicité subaiguë :

Dans ce cas, le toxique est administré plusieurs fois pendant une période plus longue, n'excédant pas trois mois (Amara et Djerroud, 2012). Cette toxicité diffère de la précédente (toxicité aiguë) par le fait qu'une proportion significative de la population survie à l'intoxication bien que tous les individus présentent des signes cliniques à court terme sur des organes cibles (Elkoli, 2017).

2.1.3 Toxicité chronique (à long terme) :

Dans ce cas, certains effets néfastes peuvent prendre plusieurs semaines ou de nombreuses années avant d'être diagnostiqués et éventuellement se révéler irréversibles (Lapointe, 2004).

2.2 Toxicité par les plantes :

De nombreuses plantes médicinales, bien que connues pour leurs vertus thérapeutiques, peuvent présenter des effets secondaires parfois importantes si elles ne sont pas utilisées avec prudence (Bradeley et al., 2012).

2.2.1 Causes de toxicité par les plantes:

Les causes de toxicité par des plantes, les plus courantes, sont: la toxicité intrinsèque des constituants, l'identification imprécise des composants, les altérations chimiques des préparations, les contaminations par des substances toxiques comme les pesticides et les métaux lourds (Alami, 2021; Zeggwagh et al., 2013).

La toxicité d'une plante dépend de plusieurs facteurs : l'espèce végétale, la partie de la plante, le mode de consommation, les facteurs individuels (Age, grossesse, allaitement, prise de certains médicaments...) et la quantité ingérée (Aké –Assi et al., 2015; Michel Chauvet, 2018).

2.2.2 Conduite à tenir devant une intoxication par les plantes :

C'est l'ensemble de plusieurs éléments qui permet, avec l'aide d'un centre antipoison, de proposer un conduit à tenir : l'identification du végétal, la quantité ingérée et le délai entre l'ingestion et la consultation médicale. En milieu hospitalier, L'administration de charbon active peut être proposée en cas d'ingestion d'une quantité importante d'une plante toxique ou très toxique. Le traitement est le plus souvent symptomatique : anti- convulsions, réhydratation et atropine en cas de bradycardie, par exemple. Dans quelques rares cas, ils peuvent être utilisés des antidotes (Flesch, 2005).

2.3 Principes actifs responsables de la toxicité des plantes:

Les plantes produisent une multitude de composés chimiques pour assurer leur survie, leur croissance et leur reproduction. On peut classer ces composés en deux grandes catégories : les métabolites primaires et les métabolites secondaires (Wink et al., 2014).

2.3.1 Métabolites primaires:

Ils se trouvent dans toutes les cellules et leur présence est nécessaire à la survie des plantes (Croteau et al., 2000), ils sont classés en :

- Glucides : une source d'énergie surtout au niveau des parois cellulaires.
- Lipides : une source d'énergie présente dans les membranes cellulaires.
- Acides aminés : une source de construction des protéines (Zaiter, 2017 ; Badiaga, 2011).

En dehors des lectine (glycoprotéine), de quelques protéines très toxiques comme l'Abrine et de quelques acides gras toxiques (acide ricinoléique de ricin, acides gras hydroxylés constitutifs des hétérosides macrocycliques, acides gras cyclopropéniques), ces substances ne sont guère en cause, dans les phénomènes d'intoxication (Pierre et al., 2019).

2.3.2 Métabolites secondaires:

Ce sont des molécules organiques complexes accumulées en faible quantité par les plantes autotrophes et sont présents dans toutes les parties des plantes mais leur répartition varie d'une plante à une autre (Boudjouref, 2001).

Ces métabolites sont bio synthétisés à partir des métabolites primaires, mais contrairement à ces derniers qui sont essentiels à la survie et à la croissance de la plante. Ils ne jouent pas un rôle direct dans ces processus fondamentaux. Ils jouent un rôle défensif et un rôle dans l'interaction et l'association d'une plante avec son environnement et même dans la survie de l'organisme dans son écosystème (Peeking et al., 1987 ; Cooper et Roberts, 2001). Ils ont des propriétés d'attractions de pollinisateur, de défense contre des agents pathogènes, des prédateurs ou contre des facteurs de contrainte liées à leur environnement direct (Al Naser, 2018).

Ils constituent une grande source de médicaments en raison de leur innocuité, de leur facilité d'accès, de leurs effets précieux sur le corps humain et leur grande valeur médicinale (Maffei, 2016). Ils se distinguent par leur diversité structurale remarquable. Il existe de nombreux métabolites secondaires différents notamment : les composés azotés, les Isoprénoides et les composées phénoliques (Macheix et al., 2005).

2.3.2.1 Classification:

a) Les composés azotés :

Ils constituent un groupe vaste et hétérogène de composées organique produits par les végétaux. Cette famille regroupe plusieurs classes de molécules qui se distinguent par leur structure moléculaire. Il s'agit des Alcaloïdes qui constituent la plupart des composés azotés,

des Glucosinolates, des Bétalaïnes et des Glycosides cyanogéniques. Celles qui sont toxiques sont les alcaloïdes et les Glycosides cyanogéniques (**Sebih, 2019**).

Les alcaloïdes sont des substances azotées organiques cycliques, le plus souvent d'origine végétale (**Sebih, 2019**). Ils représentent environ 20% des métabolites secondaires des plantes. On distingue: les alcaloïdes vrais, les pseudo-alcaloïdes et les proto alcaloïdes qui se différencient par leur origine biosynthétique et par la manière dont l'azote est inclus dans leur structure moléculaire (**Heinrich, 2021**). Selon la nature de leur précurseur, les principaux hétérocycles de base sont différents et on distingue les groupes alcaloïdes suivants: Isoquinoléiques, Pyridiques et pipéridiques, Indoliques, Quinoléiques, Tropaniques et Stéroïdes (**Brigitte et al., 2008**).

C'est une classe importante de substances bioactives. Ils peuvent être analgésiques (morphine), antipaludiques (quinine), anticancéreux (vinblastine, vincristine) ; stimulants (cocaïne, caféine) (**Michel Wink, 2018**), utile en ophtalmologie (atropine dilate les pupilles, ce qui facilite les examens ophtalmologiques), antibactériens (clausenol, la squalamine), Antiasthmatique (Théophylline du thé), Antihyperglycémique (Trigonelline du fenugrec) (**Arpita, 2017**).

Cependant, la toxicité des alcaloïdes varie grandement en fonction de leur structure chimique et de la dose ingérée. Ils ont des effets sur le système nerveux (stimulants dépressif), sur le système digestif (nausées et vomissements, diarrhées), sur le système cardiovasculaires (hypotension, troubles de rythme cardiaque), sur le foie et les reins (lésions hépatique et rénales) (**Michel Wink, 2013**).

b) Les composées phénoliques :

Ce sont les produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins un cycle benzénique dans leur structure (**figure 01**). Ils 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 des milliers de structures phénoliques (**Kabran et al., 2014**).

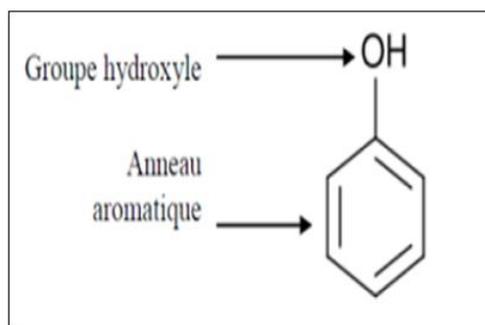


Figure 1: Structure de base des composés phénoliques (Dacosa, 2003).

Ils sont surtout abondants dans certaines familles comme les Astéracée, les Rosacée, les Fabaceae et les Thymelaceae (Tawaha et al., 2017). Cette famille regroupe plusieurs classes de molécules qui se distinguent par leur structure moléculaire. Parmi lesquelles, nous citons :

- **Acides phénoliques** : qui possèdent au moins une fonction carboxylique et un hydroxyde phénolique dans sa structure. Il y a deux groupes, les acides hydroxy benzoïques et les acides hydroxycinnamiques (Macheix et al., 2005).
- **Flavonoïdes (C₆-C₃-C₆)**: Ce sont des polyphénols formés par deux cycles aromatiques reliés par une chaîne en trois carbones souvent fermée par un hétérocycle oxygéné (Figure 02) (Milane, 2004). Ils sont très présents dans le règne végétal, mais sont surtout abondants dans certaines familles comme les Fabaceae, les Rutaceae, les Thymelaceae et les Astéracée (Rice et Packer, 2003). Ils peuvent exister dans les feuilles, les fruits, les racines et les graines (Merghem et al., 2009).

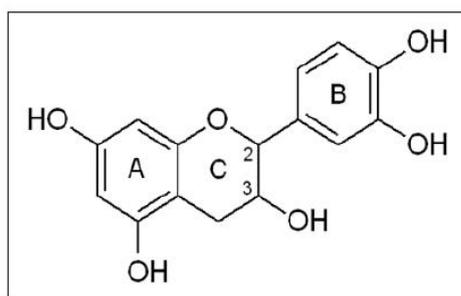


Figure 2: Structure de base des flavonoïdes (Heim et al., 2002).

- **Tanins** : Ce sont des polyphénols de structure variée et de poids moléculaire élevé. On distingue deux groupes basés sur des différences structurales : les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables (condensés) (Figure 03) (Fiorucci, 2006). Ils sont très présents dans le règne végétal, mais sont surtout abondants dans certaines familles comme les Conifères, les Fagacées et les Rosacées (Ghestern et al., 2001). Ils peuvent

exister dans les écorces, les feuilles, les fruits, les racines et les graines (**Khanbabaert, 2000**). Ils ont la capacité 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.

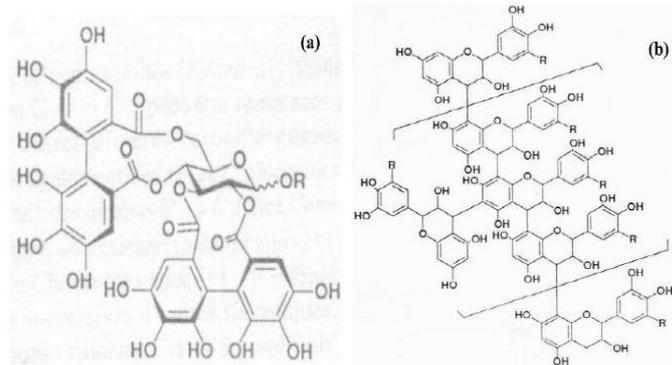


Figure 3: Structure des tanins hydrolysables (a) et condensés (b) (Sereme et al., 2010).

- **Coumarines** : Elles se forment par substitution sur un cycle aromatique similaire à celui des dérivés de l'acide cinnamique (**Richter, 1993 ; Guignard, 1996**). Dans cette classe on trouve les furanocoumarines présents dans de nombreuses plantes (**Leitao, 2004**).

Ces dernières années, l'importance des composés phénoliques a considérablement augmenté en raison de leurs propriétés anti-diarrhéique, vasoconstrictrice et anticoagulantes (**Paris et Hurabielle, 1981**). Cardioprotectrices, anti-cancérigènes, antioxydants, anti-apoptiques et anti-inflammatoires... (**Abbas et al., 2017; Mihanfar et al., 2021**). De manière générale, ces composés ne sont pas dangereux mais peuvent être peu toxiques et entraîner des effets secondaires dans certains cas, comme la toxicité hépatique et la bronchite (**Boumediou et Addoun, 2017**).

c) Les isoprénoides :

Les terpènes sont produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères. Ce sont des dérivés de l'isoprène C_5H_8 (**figure 04**) et ont pour formule de base des multiples de cette molécule. (**Ramar et Ponnampalam, 2010 ; Mazid et al., 2011**). **Laisser une seule référence** Les terpénoïdes jouent divers rôles dans les plantes et les stérols entrent dans la composition de membranes végétales (**Ejaz et al., 2017**).

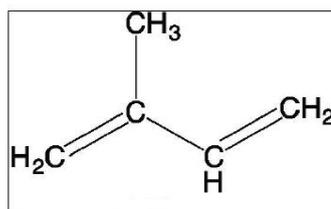


Figure 4: Structure de l'unité isoprénique (Qureshi et Porter, 1981).

Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprènes en : monoterpènes (2), sesquiterpènes (3), diterpènes (4), triterpènes (6) (saponosides, stéroïdes), Tétraterpènes (8) (caroténoïdes) et enfin polyterpènes (n) (**Bruneton, 1996; Anulika et al., 2016**). Plusieurs milliers de composés terpéniques (stéroïdes inclus) ont été décrits parmi de nombreux toxiques. Nous citons:

- Des huiles essentielles (formées de mono- et sesquiterpènes) neurotoxiques (**Buchabauer et al., 2017**).
- Des lactones sesquiterpéniques, majoritairement présents chez les Asteraceae, allergisantes (**Bruneton, 1996**) et parfois toxiques au niveau du système nerveux.
- Des furanosesquiterpènes sont particulièrement toxiques pour le bétail (**Botha et al., 2005**).
- Des diterpènes toxiques induisant des troubles digestifs violents ou des irritations cutanées ou oculaires graves ont été isolés d'Euphorbiacée et de Thymelaceae (**Mahata et al., 2010**).
- Des carboxyatractylosides (diterpènes glycoside) hypoglycémiants (**Majumdar et al., 2014**).

d) Les hétérosides :

Pour les produits toxiques appartenant à ces trois familles de métabolites secondaires, des hétérosides peuvent être formés, ce qui permet d'augmenter leur solubilité et de limiter leur toxicité pour la cellule (**Bensakhria, 2018**). Un hétéroside est une molécule qui résulte de la combinaison avec élimination d'une molécule d'eau, d'un ose et d'une molécule non osidique appelée génine ou aglycone. Parmi les hétérosides, nous citons les :

- **Hétérosides cardiotoniques (digitaliques cardiotoniques) :** Ils possèdent une génine stéroïdique responsable de l'activité pharmacologique liée à un ose qui module cette activité en modifiant la biodisponibilité. Ce sont des molécules qui exercent sur le cœur une action inotrope positive. Ils augmentent la force des contractions du muscle cardiaque.

- **Hétérosides cyanogènes** : comme le qualificatif de cyanogène l'indique, l'hydrolyse de ces hétérosides conduit à la libération de cyanure d'hydrogène (**Bruneton, 1996**).
- **Hétérosides soufrés (Glucosinolates)** : Forment un groupe relativement restreint de molécules Thio saccharidiques soufrées. Ils sont responsables des odeurs fortes et caractéristiques dégagées par les Brassicaceae (moutarde, radis, choux, navet, ...) (**Aires et al., 2011**).
- **Saponosides** : un vaste groupe d'hétérosides classés en deux groupes selon la nature de leur génine qui peut être stéroïdique (6 cycles) ou tri terpénique (5 cycles). Ils forment des solutions colloïdales et moussantes lorsqu'ils sont dissous dans l'eau et lorsqu'elles sont agitées, elles produisent de la mousse (**Kabera et al., 2014**).

Certains hétérosides présentent néanmoins une toxicité significative. C'est le cas :

- Des digitaliques cardiotoniques peuvent avoir des effets toxiques graves en cas de surdosage. Exemples des cucurbitacines (généralement caractéristiques de la famille des Cucurbitacée), toxiques et amères (**Baud et al., 2016**) et de la dioxine qui, à une concentration excessive, peut entraîner des arythmies cardiaques potentiellement mortelles (**Van et al., 2006**).
- Les saponosides sont toxiques pour les animaux à sang froid et en particulier pour les poissons et les mollusques (**Chea et al., 2021**).
- Certains hétérosides cyanogéniques, présents dans des plantes comme le manioc ou les noyaux d'abricot, libèrent de l'acide cyanhydrique lorsqu'ils sont métabolisés, un composé hautement toxique pouvant causer des empoisonnements grave (**John et Michael, 2013**).

2.3.2.2 Distribution et localisation des métabolites secondaires toxiques dans les végétaux:

La distribution et la localisation des substances toxiques dans les végétaux varient considérablement d'une espèce à une autre (**tableau 01**) :

Tableau 1: Distribution et localisation des principes toxiques dans les végétaux.

Principe actif	Famille	Localisation	Références
Alcaloïdes	Solanacées (pomme de terre, tomate), Papavéracées (pavot), Liliacées (muguet)	Feuilles, tiges, fleurs, graines.	Bruneton (1996; 2009); Taïz et Zeiger (2010); Ozcan et al. (2014)
Hétérosides cyanogénétiques	Rosacées (amande amère), Euphorbiacées (manioc), Fabacées (trèfle)	Noyaux, graines, feuilles	
Hétérosides cardiotoniques	Apocyceae, Liliacées, Brassicaceae, Crassulacée, Tiliacées.	Feuilles, graines, écorces, racines et rhizomes	
Hétérosides soufrés	Apiaceae, Asteraceae, Lamiacéae, Rutacée,	Feuilles, graines, tiges, racines	
Coumarines	Apiaceae, Rutaceae	Écorce, Feuilles, Fruits, Racines, Graines	
Saponosides	Fabacées (haricots rouges), Caryphylacées (œillets), Solanacées (pomme de terre)	Feuilles, Graines, Racines	
Tanins	Fagacées (chêne, châtaignier), Théacées (thé)	Feuilles, Écorces, Fruits	

2.4 Monographie des plantes toxiques les plus utilisées en phytothérapie:

Les plantes toxiques appartiennent à de nombreuses familles botaniques, dont certaines se distinguent par leur concentration plus élevée de substances toxiques (**Jean et Pascal, 2017**) (tableaux 1-1, 1-2, 1-3, Annexe 01).

En Algérie, on recense plusieurs espèces végétales toxiques, dont certaines sont indigènes et d'autres introduites. Ces plantes poussent dans divers habitats, des forêts et des montagnes aux zones arides et aux zones côtières. Parmi les familles les plus dangereuses en Algérie, on trouve : Apocynaceae, Euphorbiaceae, Solanaceae (**Oudjehane, 2012**),

Asteraceae, Apiaceae, Acéracée, Lamiacées, Rosacée et Brassicaceae (**Bruneton, 1996**). Dans une enquête effectuée à Tlemcen, dix plantes toxiques ont été citées, soit 19.6% de toutes les plantes médicinales recensées. Il s'agit de : *Atractylis gummifera*, *Berberis vulgaris*, *Nerium oléandre*, *Ruta Montana L*, *Arum italicum*, *Peganum harmale*, *Aristolochiée pauci*, *Utica urnes* et *Ecballium lactarium*. Ce résultat présente une nette similitude avec ce qui a été rapporté par les résultats d'une enquête réalisée à Fès (Maroc), qui a révélé 5 plantes, parmi celles citées précédemment, et qui sont potentiellement toxiques (**Zeggwagh et al., 2013**).



Chapitre 02

Hémolyse et pouvoir hémolytique des plantes

1 Hémolyse:

L'hémolyse 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 et conduit à la libération d'éléments dans le plasma (Mezzou et al., 2006 ; Thomas et al., 2013). Cependant, l'hémolyse physiologique doit être différenciée de l'hémolyse pathologique qui peut être congénitale ou acquise (auto-immune, empoisonnement ou traumatisme) (Dahmani et al., 2000) et qui cause des pathologies spécifiques telles que les maladies vasculaires aiguës et chroniques, l'inflammation, la thrombose et l'insuffisance rénale (Schaer et al., 2013). Des facteurs proprement corpusculaires comme l'état de la membrane, la structure de l'hémoglobine, règlent le degré de l'hémolyse (Aguilar, 2007).

2 Composition du sang :

Les cellules sanguines comprennent le plasma (55%), les érythrocytes ou les globules rouges (40- 45%), les globules blancs ou leucocytes (moins de 1%) et les plaquettes (0,6 à 1%) (Figure 05) (Haffman, 2007).

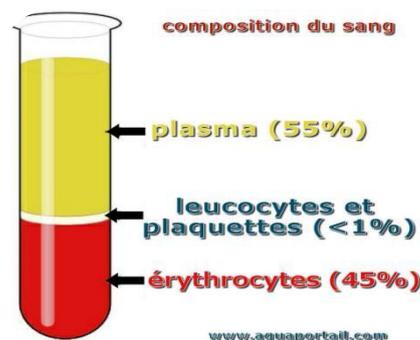


Figure 5: Composition du sang.

Dans un milieu hypotonique, quand la concentration en NaCl dans le plasma diminue par rapport à celle des globules rouges (GR), l'hémolyse se déclenche et l'hémoglobine est libérée, (par contre dans un milieu hypertonique) (Gwlter, 1992). 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 de l'hémoglobine dans le surnageant (Mezzou et al., 2006). Cette hétéroprotéine, également appelée chromoprotéine, forme le pigment respiratoire des globules rouges (Damart et Bourneuf, 1984).

3 Facteurs influençant le pouvoir hémolytique :

Le pouvoir hémolytique est influencé par plusieurs facteurs. On peut les classer :

3.1 Nature de l'agent hémolytique:

- Agent physique : la chaleur, le froid, les radiations qui peuvent lyser les globules rouges.
- Agents chimiques : les détergents, les saponines, certains médicaments (comme les antibiotiques) peuvent également lyser les globules rouges.
- Agents biologiques : certaines toxines bactériennes et certains venins de serpents peuvent lyser les globules rouges (**Bovis et al., 1968**).

3.2 Facteurs intrinsèques aux globules rouges:

- Espèce : la sensibilité des globules rouges à l'hémolyse varie selon l'espèce.
- Age des globules rouges : les globules rouges plus âgés sont plus sensibles à l'hémolyse.
- Anomalies génétiques : certaines anomalies génétiques, comme la sphérocytose héréditaire, peuvent rendre les globules rouges plus sensibles à l'hémolyse (**Claude et al., 2017**).

3.3 Condition du milieu :

- pH : le pH optimal pour l'hémolyse est généralement compris entre 7 et 8.
- Température : l'hémolyse est généralement plus rapide à des températures élevées.
- Force ionique : la force ionique du milieu peut influencer l'hémolyse (**Bovis et al., 1968**).
- La concentration en ions : la présence de certains ions, tels que les ions calcium (Ca^{2+}), peut augmenter l'activité hémolytique de certaines substances. En revanche, d'autres ions, tels que les ions magnésium (Mg^{2+}), peuvent avoir un effet inhibiteur.
- La présence d'autres substances : la présence de certains composés, comme les protéines ou les lipides, peut également influencer l'activité hémolytique. Par exemple, les protéines peuvent se lier à l'agent hémolytique et en réduire son efficacité, tandis que les lipides peuvent stabiliser la membrane des globules rouges et les rendre plus résistants à la lyse (**Grieco et al., 2013**).

4 Le mode d'action des molécules hémolytiques :

Les molécules hémolytiques peuvent détruire les globules rouges de plusieurs manières. Elles peuvent rompre la membrane cellulaire, libérer le contenu des globules rouges dans le sang ou provoquer la formation de caillots sanguins (**Evans, 2009**). Elles peuvent être classées en plusieurs catégories en fonction de leur mode d'action :

- Les détergents membranaires : ces molécules perturbent la structure phospholipidique de la membrane cellulaire, provoquant sa rupture et la libération de son contenu.
- Les agents lytiques créent des pores dans la membrane cellulaire, permettant la fuite de ions de molécules.
- Certaines toxines bactériennes et fongiques peuvent lyser les globules rouges en inhibant des enzymes essentielles ou en perturbant les structures membranaires importantes tels que la toxine hémolytique staphylococcique.
- Les anticorps et compléments : les anticorps spécifiques à des antigènes présents à la surface des globules rouges peuvent se lier et activer le système du complément qui est un ensemble de protéines sériques et membranaires qui interagissent pour déclencher une cascade d'événements inflammatoires et lytiques. Cela peut conduire à la formation de pores dans la membrane cellulaire des globules rouges, entraînant leur lyse (hémolyse) par des mécanismes immunitaires **(Dupont, 2020)**.

5 Implication des plantes dans l'hémolyse :

Le Pouvoir hémolytique des plantes est leur capacité à lyser les globules rouges. Ce phénomène peut être causé par divers composés présents dans les plantes. Il s'agit des saponines, des tanins, des alcaloïdes, des phénols et des flavonoïdes **(Estrada-orozco et al., 2019)**. Certaines plantes peuvent lyser les globules rouges. Tandis que d'autres peuvent être utilisées pour traiter l'hémolyse en raison de leur propriétés antioxydant et anti-inflammatoire et protectrices des cellules **(Estrada-orozco et al., 2019)**.

Les saponosides peuvent rompre la membrane cellulaire des globules rouges et provoquer leur destruction. D'autres molécules issues de plantes, telles que les alcaloïdes, peuvent interférer avec le transport de l'oxygène dans les globules rouges et provoquer leur destruction **(Ojewole et Adebayo, 2008)**.

6 Travaux antérieurs sur l'effet hémolytique des plantes :

Le tableau 2-1 est donné en **Annexe 02**. Il résume quelques travaux antérieurs réalisés sur l'effet hémolytique de quelques plantes.



Chapitre 03

Les plantes étudiées

1 *Echinops spinosus* de la famille des Astéracées:

Les Astéracées, aussi appelées composées, constituent l'une des familles de plantes à fleurs les plus importantes et les plus diversifiées du règne végétal, avec un nombre important de genres et d'espèces. Elle est classée au deuxième rang en nombre d'espèces après les Orchidacées (**Durand et Labeyrie, 2001**). Elle présente une grande diversité de formes, de tailles et de couleurs. On y trouve des herbes, des arbustes, des lianes, et même des arbres. Les espèces de cette famille ont également une grande importance économique et écologique et nombreuses espèces sont cultivées pour leurs fruits comestibles. D'autres sont utilisées comme plantes médicinales (**Gillet et Galland, 2010**).

Le genre *Echinops* appartient à cette famille de plantes et comprend de nombreuses espèces réparties dans diverses régions du monde. Un tableau (**Tableau 3-1**) est donné en annexe **03**. Il présente quelques régions où l'on trouve des espèces de ce genre. Parmi les espèces de ce genre, *Echinops spinosus*, une plante connue pour ses utilisations thérapeutiques et sa toxicité que nous allons traiter dans ce chapitre.

1.1 Description botanique:

Echinops spinosus est une plante herbacée, vivace qui mesure jusqu'à un mètre de haut, avec des tiges dressées de couleur brune à rougeâtre, ainsi que quelques feuilles longues épineuses (**Photo 01**). Pendant la période de floraison, l'inflorescence est généralement un unique globe hémisphérique mesurant jusqu'à 5 cm de diamètre (**Agyare et al., 2013**). Les fruits sont des akènes turbinés à couronné raid et laciniée (**Boullard, 2001**).



Photo 01: *Echinops spinosus*.

1.2 Origine et distribution :

Echinops spinosus est originaire des sols arides en Afrique du nord comme l'Algérie, en Afrique tropicale et en Arabie. Elle est répandue dans la partie la plus occidentale du tell, de Ténès à la frontière marocaine. Elle est distribuée aussi dans la zone Ibérique, surtout dans le sud de l'Espagne. Cette plante, se rencontre aussi dans le sud de l'Europe et en Europe méridionale, ainsi qu'en Asie occidentale, y compris en Sibérie (**Bouzabata et al., 2018**).

En Algérie, cette espèce s'étend du sud de la région méditerranéenne jusqu'au Sahara. Elles sont assez communes dans les zones arides et sur les sols caillouteux (**Aouichet et al., 2012**).

1.3 Classification botanique:

Selon le système de classification APG (angiosperme phylogeny group), *Echinops spinosus* est classée comme suit (**Tableau 2**) (**Chase et al., 2016**) :

Tableau 2: Classification d'*Echinops spinosus*.

Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Astérales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Echinops</i>
Genre espèce	<i>E. spinosus L</i>

1.4 Noms vernaculaires:

- ✧ En français: *Echinops spinosus* est appelée chardon bleu, Oursin bleu ou Echinops.
- ✧ En arabe, elle est appelée :
 - Fougla el djemel, chouk el djemel, chouk el hamir, chicaoou.
 - Qounfoudzia » (de hérisson), qui est la transcription en grec de « ekhinos ».
 - Ri ayi El-ibil qui signifie « pâturage de chameaux ».

✧ En Algérie, elle est connue dans la langue berbère sous les noms de Tasakra, teskera, tascha, Tasakra Ameskelit (**Miara et al., 2019**).

1.5 Composition chimiques:

Le genre *Echinops* est l'un des taxons possédant des alcaloïdes caractérisés au sein de la famille des Astéracées (**hymetes et al., 2005**). Les études sur la Phytochimie d'*E. spinosus* de l'Algérie sont très restreintes, avec seulement deux études menées (**Gheffour et al., 2015 ; Boumaraf et al., 2016**).

Des recherches phytochimiques sur *E. spinosus* d'Afrique du nord au Maroc, en Algérie, en Tunisie et en Egypte ont conduit à l'isolement et à l'identification de 42 métabolites appartenant aux classes phytochimiques des alcaloïdes de la quinoléine (**Halim et al., 2011**), des sesquiterpénoides (**Dong et al., 2008**), des flavonoïdes (**Boumaraf et al., 2016/Ibrahim et al., 2016**), des stérols (**Ibrahim et al., 2016; Brahim et Saad, 2020**), des polyphénols et des tanins (**Brahim et Saad, 2020**), des composées réducteurs et des quinones (**Kobbi et taieb, 2019**). Cette plante contient de l'Echinopsine, de l'apigénol et du chrysoériol (**Boudersa et bendali, 2022**).

1.6 Utilisation traditionnelle et médicinale:

Echinops spinosus est largement utilisée et a fait l'objet de plusieurs travaux antérieurs sur son utilisation (**Tableau 3-2, Annexe 03**).

En thérapie humaine, cette plante a été employée pour traiter les hémorroïdes, les varices et les métrorragies (**Bos et al., 1954**). Elle a des actions abortives, diurétiques et dépuratives sanguines (**Bellakhdar, 1978**). Elle est également utilisée comme agent diurétique et hyper glycémique, pour les problèmes de foie, les soins post-partum et pour ses effets sur le système digestif (**Bouzabata et al., 2019**).

Elle est appréciée pour ses propriétés vaso-constrictives. Elle contribue également à la circulation sanguine grâce à la présence de dérivés de l'apigénol et du chrysoériol. L'Echinopsine présent dans cette plante est un stimulant du système nerveux (**Boudersa et bendali, 2022**).

La racine, en décoction est utilisée également contre les douleurs stomacales, les mauvaises digestions, le refroidissement, les maux urinaires et les règles douloureuses et administrée aux femmes avant l'accouchement (**Lahsissene et al., 2009**). Cette décoction est aussi utilisée pour traiter la toux et l'irritation des poumons (**Asadi et al., 2014**).

Des travaux publiés montrent que des extraits de cette plante ont une activité anti-inflammatoire (Kaou et al., 2016 ; Gheffour et al., 2018) et une activité antioxydant (Bouzabataa et al., 2018 ; Gheffour et al., 2018). L'activité antioxydant de flavonoïdes et des tanins extraits de la partie aérienne (tige et feuilles) et des racines a été évaluée par deux méthodes : la réduction de fer et le piégeage du radical libre (DPPH). Cette étude a montré que l'extrait de l'acétate d'éthyle des parties aériennes avait une capacité plus élevée à réduire le fer et aussi à piéger le radical DPPH (Bouzabataa et al., 2018).

E. spinosus a une activité inhibitrice du cholinestérase qui est une enzyme essentielle à la neurotransmission cholinergique, explique l'utilisation de cette plante dans le traitement de la maladie d'Alzheimer et troubles de la mémoire (Bouyahyaoui et al., 2014).

Elle possède également des propriétés diurétiques, ce qui signifie qu'elle favorise la production d'urine et l'élimination des toxines du corps. Cette action est attribuée à la présence de composés tels que les flavonoïdes et les saponosides, qui augmentent la perméabilité des reins à l'eau. Elle est traditionnellement utilisée aussi pour traiter l'hypertension artérielle et l'insuffisance rénale (Hmouz et al., 2011).

Les activités antibactériennes et antifongiques de la matière insaponifiable, et d'une fraction isolée de l'extrait d'*E. spinosus* ont été évalués contre huit bactéries GRAM positif et GRAM négatif. L'activité antibactérienne est très faible, avec des valeurs CMI supérieures ou égales 125 ug/ml contre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Micrococcus luteus* (Bouzabata et al., 2018).

1.7 Toxicité de la plante:

Nombreuses espèces de la famille des Astéracées peuvent être toxiques et même dangereuses. Cette toxicité est liée à leurs structures chimiques variées (jean Brunton, 1996).

Echinops spinosus est une plante qui peut être toxique pour les animaux et les humains s'ils en consomment une quantité importante (Elgorashi et al., 1997). Elle provoque plusieurs effets toxiques tel que les effets abortives et diurétiques (Lahsissene et al., 2009).

La toxicité de cette plante peut varier en fonction de plusieurs facteurs tels que la partie de la plante consommée. Les racines, les feuilles et les graines contiennent des niveaux différents de toxine et ils sont généralement considérés comme plus toxiques que les fleurs (Meghraoui et bentchikou, 2017). Le mode de préparation des extraits, la dose ingérée (Boudersa et al., 2022) et l'état de santé de la personne (Meghraoui et Bentchikou, 2017), peut avoir aussi un effet sur cette toxicité.

1.7.1 Principes actifs responsables de cette toxicité :

Les principales composées qui peuvent être responsable de la toxicité de *E. spinosus* sont (Chemakh et al., 2012):

- Alcaloïdes : Echinopsine, Echinopsine N-méthylée, Echinopsine N, N-diméthyle, Echinopsine N-oxyde, Echinopsine N, N-diméthyl-N-oxyde.
- Flavonoïdes : Kaempférol, quercétine, apigénine, lutéoline.
- Saponines : Echinopsosides.

1.7.2 Dose toxique:

Certaines études ont été menées pour évaluer la toxicité de la plante. Il s'agit de:

- Une étude a rapporté qu'*E. spinosus* a développé des symptômes graves après avoir consommées environ 100g de feuilles (Bounatir et lahsen, 1981).
- Une autre étude réalisée, sur des souris a montré que la DL₅₀ d'un extrait d'*E. spinosus* était de 1500 mg/kg de poids corporelle (Meghraoui et Bentchikou, 2017).

1.7.3 Les signes cliniques et biologiques de l'intoxication par *E. spinosus*:

L'intoxication par *E. spinosus*, est rare mais potentiellement grave. Elle peut survenir après avoir ingéré la plante ou avoir été en contact avec ses épines. La plante contient des substances toxiques présentes qui peuvent entraîner une diversité de symptômes cliniques et biologiques.

1.7.3.1 Les signes cliniques:

Les symptômes cliniques de l'intoxication par *E. spinosus* peuvent apparaître dans les 6 à 24h suivant de l'ingestion de la plante ou le contact avec ses épines. Il s'agit de:

- Troubles gastro-intestinaux : nausées, vomissement, diarrhée, douleurs abdominales.
- Troubles neurologiques : maux de tête, vertiges confusion, convulsion, coma.
- Troubles cardio-respiratoires: tachycardie, hypotension, insuffisance respiratoire.
- Troubles hépatiques, insuffisance rénale (Bouaziz et al., 2008).

1.7.3.2 Les signes biologiques:

Les signes biologiques de l'intoxication par *E. spinosus* peuvent inclure :

- Augmentation des enzymes hépatiques
- Augmentation de la bilirubine

- Insuffisance rénale : augmentation de la créatinine et de l'urée.
- Troubles électrolytiques : hypokaliémie, hyponatrémie (Ouldali et al., 2011).

2 *Aquilaria malaccensis* de la famille des Thymelaeacées:

La famille des Thymelaeacées est une famille de plantes qui comprend de nombreuses espèces réparties en 50 genres. Elle regroupe des arbres, des arbustes, des lianes et des plantes herbacées, avec des feuilles simples et entières, souvent opposées ou alternées (Anton, 1999). Les Thymelaeacées recèlent un riche panel de composés phytochimiques, dont certains confèrent aux plantes des propriétés médicinales ornementales et écologiques (Mabberley, 2009).

Le genre *Aquilaria* appartient à cette famille de plantes. 15 espèces sont présentes en Malaisie (Whitmore, 1972 ; Chang et al., 2001), parmi lesquelles *A. malaccensis* qui est considérée comme l'une des espèces les plus exploitées en Malaisie en raison de sa grande valeur économique. C'est une plante connue pour ses utilisations thérapeutiques et sa toxicité que nous allons traiter dans ce chapitre.

2.1 Description botanique:

Aquilaria malaccensis est un arbre à feuillage persistant qui peut atteindre une hauteur de 40 mètres avec un tronc de 60cm de diamètre. Le bois de cette espèce est généralement blanc, léger et peu densément dense (Oguyen et Nguyen, 1999). Après une stimulation de la production de résine, le bois riche en résine devient sombre, lourd, et dur. En général, les arbres atteignent leur maturité après environ 6-7 ans, ce qui permet aux fleurs de commencer à fleurir, lors de la formation et de la mise en place de semences (Oguyen et Nguyen, 1999 ; Chua et Sumatra, 2008). Les fleurs d'un vert jaunâtre ou d'un blanc sont issus de branches plus jeunes (Photo 02) (Adelina et al., 2004). Les fruits sont de couleur verte et ovoïdes (Irnayuli et al., 2011).



Photo 02: *Aquilaria malaccensis*.

2.2 Origine et distribution:

L'espèce est originaire d'Asie Du Sud-Est, plus précisément des îles Moluques et de la Nouvelle-Guinée. Elle est répandue dans en Bangladesh, Bhoutan, Inde, Indonésie, Malaisie, Myanmar, Philippines, Singapour et Thaïlande (**Goldfield et Mackensen, 1998**).

Malgré cette large aire de répartition, l'espèce *A. malaccensis* se rencontre souvent en faible densité et peuvent être trouvées dans les forêts primaires et secondaires à des altitudes comprises entre 0 et 1000 mètres au-dessus du niveau de la mer (**Oguyen et Nguyen, 1999 ; Chua et Sumatra, 2008**). Son taux de croissance chez les espèces indigènes du en Malaisie est assez faible. La **Frankie (1994)** a signalé une augmentation moyenne du diamètre de troncs d'arbres de 0.33 cm par an.

2.3 Classification botanique:

Selon le système de classification APG, *Aquilaria malaccensis* est classée comme suit (**Tableau 3**) (**Chase et al., 2016**) :

Tableau 3: Classification d'*Aquilaria malaccensis*.

Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones vraies
Ordre	Malvales
Famille	Thymelaeacées
Genre	<i>Aquilaria</i>
Genre espèce	<i>A. malaccensis</i> L.

Synonymes : *A. malaccensis* Lam est également appelée *Aquilaria agallocha*, *Aquilaria secundaria*, *Aquilaria agallochum*, *Aquilaria ovata*.

2.4 Noms vernaculaires:

- ✧ En français : bois d'agar, Aquilaire, bois d'aigle, Agallochum
- ✧ En arabe, elle est appelée El oud (Bellakhal, 2010).
- ✧ En Algérie, elle est connue dans la langue berbère sous les noms de Oud, Oud el jazaeiri et Ghris (Benkhellil et Kadi, 2014).

2.5 Composition chimique:

Les résines d'agrwood, sont les principaux composants chimiques d'*A. malaccensis*. Elles sont formées par un processus complexe de dégradation du bois sous l'action de champignons et de bactéries. Elles sont composées de divers composés organiques en particuliers des terpénoides (sesqui- et les di- terpènes) et des des dérivés de 2-(2-phényléthyl)-4H-chromen-4-one (Chen et al., 2012; Yang et al., 2014). Les sesquiterpènes sont les principaux composants du bois de ces arbres (Yang et al., 2014). L'agarol est un composé sesquiterpéniques unique à cette espèce. Il est considéré comme le principal composant responsable de l'odeur et des propriétés médicinales du bois.

L'huile essentielle d'*A. malaccensis* est aussi riche en sesquiterpènes et en autres composés aromatiques. Elle a une odeur boisée et douce et est utilisée en parfumerie et en aromathérapie. Cette espèce contient également d'autres composés chimiques tels que des flavonoïdes, polysaccharides, des protéines et des minéraux (Chen et al., 2016).

2.6 Utilisation traditionnelles et médicinales :

On brûle le bois d'agrwood pour obtenir un parfum plaisant et il est utilisée à des fins religieuses par les musulmans, les bouddhistes et les Hindo (Tabin et al., 2014). Il est râpé en Malaisie et utilisé à des fins cosmétiques (Lumpur, 2006). Il a également été largement documenté que l'écorce du bois d'agar a été utilisée comme matériau d'écriture pour les livres religieux importants et sacrés. Ce bois est généralement trop clair et fibreux à être convenable pour meubles, de la construction ou même la sculpture pour produire des statues et objets religieux à Taiwan. La poudre de bois d'agar est réputée pour être utilisée comme un insectifuge efficace contre les puces, les poux sur les vêtements et les peaux (Adelina et al., 2004).

Depuis des milliards d'années, le bois d'agar a été employé à des fins médicales dans la médecine ayurvédique, tibétaine et la pleurésie (**Person, 2007**). Il est utilisé pour traiter une variété de maladies grâce à ses propriétés diverses notamment, calmantes et relaxantes qui peuvent aider à réduire l'anxiété et la dépression, analgésiques, anti-inflammatoires, antibactériennes, antifongiques et anticancéreuses (**Matsu naga et al., 2017**).

Dans la médecine traditionnelle asiatique, il est recommandé pour soulager la douleur, notamment pendant la grossesse, après l'accouchement et pour les affections des organes génitaux féminins, vomissements, arrestation par le réchauffement de l'estomac, et pour soulager l'asthme. Il est également employé dans la fabrication de teintures pharmaceutiques (**Adelina et al., 2004**).

En Egypte, l'Arabie Saoudite et tout au long de la partie Nord-Est du Bangladesh, ce bois est décrit comme un stimulant, tonique cardiaque et carminatif (**Tabin et al., 2014**).

La plante est utilisée comme stimulant, diurétique, pour traiter la variole, le rhumatisme, spasmes surtout dans les systèmes respiratoires et digestif, douleur abdominale, les coliques, la congestion thoracique, la diarrhée, des nausées, le hoquet, des nerfs et la régurgitation (**Tabin et al., 2014**).

Les études antérieures réalisées sur cette espèce montre qu'elle des activités:

- **Anticancéreuses** : Les composés actifs du bois d'Agar peuvent avoir des effets anticancéreux en induisant la mort des cellules cancéreuses et en inhibant la croissance tumorale (**Zhou et al., 2014**).
- **Antimicrobiennes** : Les composés actifs du bois d'Agar peuvent avoir des effets antimicrobiens contre un large éventail de bactéries et de champignons (**Wei et al., 2015**).
- **Antioxydants** : Les composés phénoliques du bois d'Agar peuvent protéger les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres (**Chen et al., 2016**).
- **Modulatrices du système immunitaire** : Les composés actifs du bois d'Agar peuvent moduler le système immunitaire en augmentant l'activité des cellules immunitaires et en réduisant l'inflammation (**Li et al., 2017**).

Les travaux antérieurs sur l'extraction, les composés phénoliques et l'activité antioxydants de quelques extraits d'*A. malaccensis* sont représentés dans **Tableau 3-3, l'annexe 03**.

2.7 Toxicité:

L'intoxication par *A. malaccensis* est un problème de la santé publique dans certaines régions d'Asie. Cette plante a plusieurs effets toxiques tels que des troubles neurologiques, des problèmes cardiaques et des lésions hépatiques (**Chen et Wong, 2012**).

Des cas d'intoxication ont été rapportés chez des personnes qui ont ingérée l'écorce ou le bois de l'arbre. Les symptômes d'intoxication comprennent des nausées, des vomissements, de la diarrhée, des douleurs abdominales, des convulsions et dans certain cas grave, la mort (**Lee et al., 2013; Joussaoui, 2019**).

En outre, des cas d'avortement spontanés ont été signalée chez des femmes qui ont consommées cette plante (**Chen et al., 2009**). Une étude est publiée par **Singh et al. (2020)** sur l'utilisation d'*A. malaccensis* chez des femmes enceintes désirant avorter. Les résultats suggèrent que l'utilisation de la plante a conduit à un taux de d'avortement de 60%.

Le contact cutané avec le bois d'agar peut provoquer une irritation, des rougeurs, des démangeaisons et aussi des cas de dermatite de contact (**Lee, Sang-hoon et al., 2009**).

L'inhalation de la poussière de bois d'agar peut irriter les voies respiratoires et provoquer des symptômes tel que la toux, l'éternuement et la difficulté à respirer (**Moh Ziani et al., 2006**) et même des cas d'asthme (**Tham et al., 2006**).

Les mécanismes exacts de cette toxicité ne sont pas entièrement compris. On pense que la résine contient des composés toxiques qui peuvent endommager la fois, les reins et d'autres organes. Les feuilles peuvent également contenir des substances toxiques, mais leur toxicité est moins bien étudiée (**James Duke, 2007**).

2.7.1 Principes actifs responsables de cette toxicité :

Les principales composées qui peuvent être responsable de la toxicité d'*A. malaccensis* sont (**Mohd Yusoff et al., 2010; Chen et Wong, 2012**):

- Agarol : un sesquiterpène qui peut provoquer des convulsions, des tremblements, et une paralysie.
- Aquilarine : un alcaloïde qui peut provoquer des troubles du rythme cardiaque et une insuffisance cardiaque.
- Acides gras: , tels que l'acide l'aurique et l'acide palmitique, peuvent provoquer des lésions hépatiques et une insuffisance hépatique, à des concentrations élevées.
- Acide agallochique : un triterpène qui peut provoquer des irritations de la peau, des muqueuses et du système digestif.

2.7.2 Dose toxique:

Selon les résultats de recherche fournis, aucune dose toxique des extraits d'*A. malaccensis* n'a pas été clairement définie. Généralement, l'ingestion de bois d'agar ne provoque pas d'effet toxique chez l'homme. Cependant des cas gastro-intestinales ont été observées après consommation d'une grand quantité (Nurhayati et al., 2012). Cependant des cas d'intoxication ont été rapportés même après l'ingestion de petites quantités de résine ou de feuilles. (Ahmouda et Moussaoui, 2019; Chin-Chieh Chen et al., 2020).

2.7.3 Signes cliniques et biologiques de l'intoxication:

2.7.3.1 Signes cliniques :

L'intoxication par *A. malaccensis*, peut entraîner une variété de symptômes cliniques, notamment (Van den Berg, 2000) :

- Troubles gastro-intestinaux : Nausées, vomissements, diarrhée, douleurs abdominales.
- Troubles respiratoires : Difficulté à respirer, toux, douleur thoracique.
- Troubles cardiovasculaires : hypotension, tachycardie, arythmie cardiaque.
- Troubles neurologiques : confusion, agitation, convulsions, coma.
- Lésions hépatiques et rénales : augmentation des enzymes hépatiques, insuffisance rénale.

2.7.3.1 Signes biologiques :

Les signes biologiques de l'intoxication par *A. malaccensis* peuvent inclure (Koné Kassi, 2014):

- Anomalies hépatiques : Augmentation des transaminases, Augmentation de la bilirubine.
- Anomalies rénales : Augmentation de la créatinine, Insuffisance rénale aiguë (dans les cas graves).
- Anomalies hématologiques : Anémie, Thrombopénie, Coagulation intra-vasculaire disséminée.



Matériel et Méthodes

Le présent travail a été réalisé au niveau du laboratoire de recherche de produits naturels « LAPRONA » à l'Université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen.

1. Matériel végétal :

Les enquêtes ethnobotaniques sont le premier maillon d'une démarche scientifique. Elles incluent des recherches d'informations sur l'utilisation des plantes, les techniques d'utilisation, les noms, les traitements et les origines. L'enquête directe est la source d'information la plus importante et la plus satisfaisante (Adouane, 2016).

Deux plantes sélectionnées pour une étude phytochimique et une étude de toxicité, sont *Echinops spinosus* et *Aquilaria malaccensis*. Cette sélection est basée sur une enquête préliminaire qui a identifié ces plantes médicinales comme potentiellement toxiques et capables de provoquer l'avortement.

Ces plantes sont achetées chez un herboriste, à Maghnia, en Février 2024. Il s'agit des écorces du tronc d'*Aquilaria malaccensis* et des racines d'*Echinops spinosus* sèches. Elles sont broyées avec un mixeur jusqu'à l'obtention d'une poudre fine (Photo 03 et 04). Les poudres d'*A. malaccensis* et d'*E. spinosus* sont ensuite conservées à température ambiante dans des contenants hermétiques, à l'abri de la lumière vive, jusqu'au début de l'expérimentation.



Photo 03: Racines (A) et poudre (B) d'*Echinops spinosus*.



Photo 04: Écorce (A) et poudre (B) d'*Aquilaria malaccensis*

2. Méthodes utilisées:

2.1 Extractions:

Pour la partie de chaque plante, nous avons procédé aux extractions solide-liquide suivantes:

2.1.1 La décoction:

Peser 20 g de la matière végétale et les ajouter dans un ballon contenant 200 mL d'eau distillée, Placer ensuite le mélange dans un chauffe ballon pendant 20 minutes à ébullition, laisser le mélange refroidir puis filtrer le mélange à l'aide de papier filtre pour obtenir un extrait brut, peser les boîtes de Pétri, y verser le filtrat, et placer les boîtes dans une étuve à 45°C pour évaporer et sécher l'extrait. Après séchage, peser de nouveau les boîtes de Pétri contenant l'extrait, récupérer l'extrait brut et le mettre dans un tube en verre (**Photo 05**). Calculer le rendement de l'extrait en utilisant la formule suivante:

$$\text{Rendement (\%)} = (\text{Poids de l'extrait sec} / \text{poids de la matière végétale sèche de départ}) * 100$$



Décoction (20min)



Filtration



Evaporation (45°C)



Récupération

Photo 05: Étapes de la méthode de décoction.

2.1.2 La décoction suivie d'une macération à froid:

Peser 20 g de la matière végétale et les ajouter dans un ballon contenant 200 ml d'eau distillée, placer ensuite le mélange dans un chauffe ballon pendant 20 minutes à ébullition, laisser le mélange refroidir, puis le couvrir avec du film plastique et du papier d'aluminium, laisser le mélange macéré à 4°C pendant 24h. Filtrer le mélange à l'aide de papier filtre pour obtenir un extrait brut. Peser les boîtes de Pétri, y verser le filtrat, et placer les boîtes dans une étuve pour évaporer et sécher l'extrait. Après séchage, peser de nouveau les boîtes de Pétri contenant l'extrait, Récupérer l'extrait brut et le mettre dans un tube en verre (**Photo 06**). Calculer le rendement de l'extrait en utilisant la formule suivante:

$$\text{Rendement (\%)} = (\text{Poids de l'extrait sec} / \text{poids de la matière végétale sèche de départ}) * 100$$



*Décoction
(20min)*



*Macération
(24h, 4°C)*



Filtration



*Evaporation
(45°C)*



Récupération

Photo 06: Étapes de la méthode de décoction suivie de macération.

3. Tests phytochimiques:

Dans le but de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaires dans les extraits des deux plantes étudiées, nous avons effectué des tests qualitatifs basés sur les réactions de coloration et de précipitation, selon les méthodes décrites par **Bruneton, 1999** et **Harbone, 1998**.

3.1. Les composés azotés:

3.1.1. Les alcaloïdes:

Introduire 0,5 mL de l'extrait à analyser dans trois tubes à essai distincts. Acidifier le milieu avec quelques gouttes de HCl (1%). Ajouter 0,5 mL de réactif de Mayer dans le

premier tube et 0,5 mL de réactif de Wagner dans le second tube. L'apparition d'un précipité blanc ou brun révèle respectivement la présence d'alcaloïdes. Le troisième tube est un témoin.

3.2. Les composés phénoliques :

3.2.1. Les tanins:

Introduire 1 mL d'extrait à analyser dans un tube à essai et ajouter 0,25 mL d'une solution aqueuse de FeCl_3 (1%). Incuber le mélange pendant 15 minutes à température ambiante. La présence de tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

3.2.2. Les flavonoïdes:

Introduire 1 mL d'extrait à analyser dans un tube à essai, ajouter 1 mL de HCl concentré et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose, rouge ou jaune prouve la présence de flavonoïdes.

3.3. Les Isoprénoides:

3.3.1. Les saponines (test de mousse):

Introduire 10 ml de l'extrait à analyser dans un tube à essai, agiter pendant 15 secondes et laisser reposer le mélange pendant 15 minutes. Une hauteur de mousse supérieure à 1 cm indique la présence de saponines.

3.3.2. Les terpénoïdes:

Pour le test de Liberman-Burchard, introduire 1 mL d'extrait à analyser dans un tube à essai et ajouter 0,1 mL d'anhydride acétique et 0,1 mL d'acide sulfurique. Incuber le mélange pendant 15 minutes. L'apparition d'une couleur mauve ou violette indique la présence de terpénoïdes.

3.3.3. Glycosides cardiotoniques:

1 ml d'acide acétique a été ajouté à 3 ml d'extrait. L'acide H_2SO_4 a été introduit au fond du tube. Un anneau brun rougeâtre ou brun violet à l'interface des deux liquides indique la présence de glycosides cardiaques.

4. Dosage des composés phénoliques:

4.1 Polyphénols totaux:

Le réactif utilisé, le *Folin-Ciocalteu*, est un mélange de complexes d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$), et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$) 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 l'absorbance observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue **(Boizot et al., 2006)**.

Le dosage des polyphénols est réalisé selon la méthode décrite par **Vermerris et al., (2006)**: Une prise de 100 µL 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 µL 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 0 à 500 µg/mL. Les teneurs en Polyphénols totaux des extraits sont exprimées en µg/mg d'extrait et en milligramme équivalent acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg EAG/g MS).

4.2 Flavonoïdes totaux:

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 l'absorbance observée à celle obtenue par un étalon de catéchine de concentration connue permet d'évaluer la teneur totale en flavonoïdes.

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 NaNO_2 à 5%. Après 6 mn d'incubation à température ambiante, 150 µl d'une solution fraîchement préparée de chlorure d'aluminium (AlCl_3 , 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 0 à 500 µg/mL. Les teneurs en flavonoïdes des extraits sont exprimées en µg/mg d'extrait et en milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/g MS).

4.3 Tanins condensés:

En présence d'acide sulfurique, les tanins condensés se dépolymérisent et, par réaction avec la vanilline, se transforment en anthocyanidols de couleur rouge, mesurables par spectrophotométrie à 500 nm.

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 de 0 à 500 µg/mL), sont exprimées en µg/mg d'extrait et en milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/g MS) (Sun et al., 1998).

5. Chromatographie sur couche mince (CCM):

C'est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse qui peut s'appliquer aux extraits (mélanges complexes de métabolites) et permet d'obtenir une vue d'ensemble des métabolites présents. Il s'agit d'une méthode physique de séparation, dans laquelle les composés à séparer sont distribués différemment, selon leurs caractéristiques particulières entre deux phases, l'une stationnaire et l'autre mobile. Cette dernière se déplace à travers la première phase dans une direction défini (Popl et al., 1990) (Photo 07).



Photo 07: Migration des constituants lors d'une CCM.

Pour la mise en œuvre de la CCM, nous avons utilisé des plaques de gel de silice à dos d'aluminium de 10 mm x 10 mm. Les plaques ont été marquées à 10 mm au-dessus du bas de la plaque (ligne de dépôt) et développées sur une distance maximale de 8 cm à partir du haut (le front). Le développement a été réalisé dans une cuve chromatographique, un récipient en verre fermé par un couvercle étanche. La plaque a été disposée verticalement

dans un système de solvant minimal (Fair et Kormos, 2008). Le système de solvant utilisé était choisi selon les travaux de Snyder (1978) et Males et al. (2001), avec des modifications. Il est composé d'acétate d'éthyle, de dichlorométhane, de méthanol, d'acide acétique et d'eau distillée (3/6.5/5/1/2; v/v/v/v/v). Pour assurer une bonne élution, la cuve contenait un solvant saturé. Les échantillons ont été déposés sous forme de points sur la plaque absorbante à l'aide de tubes capillaires flambés et tirés, permettant une application précise et minimisant l'élargissement des taches pendant l'application de l'échantillon (Photo 08).



Photo 08: Dépôt des quatre extraits des deux plantes sur la plaque de chromatographie sur couche mince.

Une fois le développement chromatographique terminé, la plaque a été séchée à température ambiante, puis examinée à l'œil nu et sous UV à des longueurs d'onde de $\lambda=254$ nm et 365 nm. La détection des constituants s'est également faite à l'aide d'un révélateur chimique spécifique pour certaines classes de composés phénoliques, à savoir le FeCl_3 (1% dans le méthanol) (Merk, 1980). Pour chaque constituant, le rapport frontal (RF) a été déterminé comme suit :

RF = distance entre l'origine (le dépôt) et la tâche du produit / distance entre l'origine (le dépôt) et le front du solvant.

$$\text{RF} = \frac{\text{Distance entre le dépôt et la tâche du produit}}{\text{Distance entre le dépôt et le front du solvant}}$$

6. Estimation de l'activité antioxydante, *in vitro*, par la méthode de piégeage du radical DPPH° :

Le DPPH° (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydant en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse. Il absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520 nm (Gouveia et Castilho, 2012). La méthode de DPPH° présente plusieurs avantages du fait qu'elle soit indépendante, simple et rapide. Le test consiste à mettre le radical DPPH° (de couleur violette), en présence des molécules dites « antioxydants » afin de mesurer leur capacité à réduire ce radical (figure 06). La forme réduite (de couleur jaune) n'absorbe plus, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde.

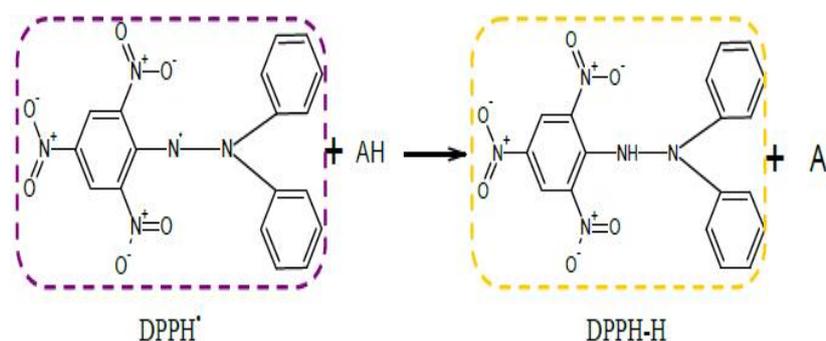


Figure 06: Forme réduite du radical DPPH°.

Le protocole expérimental suivi est celui d'Atoui et al., 2005: À différentes concentrations, 50 μL de chaque extrait, sont ajoutés à 1950 μL d'une solution méthanolique de DPPH° à 6.34×10^{-5} M (0.0025 g dans 100 mL méthanol). Pour chaque concentration un blanc est préparé. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé, en parallèle, en mélangeant 50 μL du méthanol avec 1950 μL d'une solution méthanolique de DPPH° à la même concentration utilisée.

Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante, la réduction du DPPH° s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune de la solution. La lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Les témoins positifs utilisés sont le butylhydroxytoluène (BHT) et l'hydroxyanisole butylé (BHA). Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition, calculés suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange, selon la formule:

$$PI = \frac{DOc - DOe}{DOc} \times 100$$

PI : pourcentage d'inhibition. *DOc* : absorbance du témoin négatif. *DOe* : absorbance de l'extrait.

L'étude de la variation de l'activité anti radicalaire en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (CI_{50}). Une valeur de CI_{50} faible correspond à une grande efficacité de l'extrait.

7. Estimation du pouvoir hémolytique, *in vitro*:

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 humain (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.

Pour la préparation de la suspension sanguine, on suit les étapes suivantes:

1. Prélever du sang d'un sujet sain dans un tube contenant de l'EDTA.
2. Centrifuger à 3000 tours/min pendant 10 minutes.
3. Éliminer le surnageant.
4. Laver le culot deux fois avec une solution tampon phosphate (PBS) à pH 7,45, contenant 1,76 mM de KH_2PO_4 et 10 mM de Na_2HPO_4 .
5. Préparer une solution érythrocytaire en diluant 20 fois : ajouter 19 mL de PBS à 1 mL de sang.

Pour évaluer l'effet hémolytique, *in vitro*, nous avons suivi la méthode de **Henneberg et al., 2013**. Des érythrocytes humains normaux ont été lavés trois fois avec une solution saline tamponnée au phosphate (PBS) glacée à 10 mM et pH 7,4. Les extraits ont été préparés à des concentrations de 25, 50, 100 et 200 mg/ml en triplicata. 20 μ L de chaque dilution d'échantillon ont été ajoutés à 1980 μ L de solution d'érythrocytes et incubés à 37°C pendant 60 minutes. Le taux d'hémolyse a été évalué en mesurant l'absorbance de l'hémoglobine dans le surnageant à 540 nm. Un contrôle positif (hémolyse totale) a été préparé en remplaçant les échantillons par de l'eau distillée, tandis qu'une solution de sang rouge dans du PBS a été

utilisée comme contrôle négatif. Pour chaque échantillon, le taux d'hémolyse a été calculé en utilisant la formule suivante:

$$\text{Taux d'hémolyse} = \frac{\text{Absorbance d'hémolys-control négatif d'absorbance}}{\text{Absorbance du control positif}} \times 100$$

8. Analyses statistiques:

EXCEL (2016) a été utilisé pour les analyses statistiques. Il s'agit de :

- Teneurs en composés phénoliques, calculées à partir des équations linéaires des courbes d'étalonnage tracées.
- Valeurs des concentrations CI_{50} (Piégeage des radicaux DPPH), calculées à partir des équations logarithmiques et linéaires des courbes tracées.
- Histogramme des pourcentages hémolytiques, tracé en fonction des différentes concentrations

Les valeurs indiquées dans les tableaux sont des moyennes \pm écarts-types des trois mesures parallèles.



Résultats et Discussion

1. Les rendements en extraits:

Les différentes étapes d'extraction des écorces du tronc d'*Aquilaria malaccensis* et des racines d'*Echinops spinosus*, ont conduit à l'obtention de quatre extraits préparés par :

- Décoction à chaud de 20min : G 20min et T 20min.
- Décoction à chaud de 20min suivi d'une macération à froid de 24h : G 24h et T 24h.

Les abréviations "G" et "T" proviennent des noms locaux algériens :

- "GHRISS" pour *Aquilaria malaccensis*.
- "TASKRA" pour *Echinops spinosus*.

Les rendements, aspects et couleurs obtenus de chaque extrait sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 4: Rendements, aspects et couleurs des extraits aqueux.

Partie de la plante	Extrait	Rendement (%)	Couleur	Aspect
Racines d' <i>Echinops spinosus</i>	T 20min	8,38	Marron foncé	Secs
	T 24h	6	Marron foncé	
Écorces du tronc d' <i>Aquilaria malaccensis</i>	G 20min	12	Marron jaunâtre	
	G 24h	6,7	Marron jaunâtre	

Nous remarquons que les extraits obtenus que par décoction (20min) ont des rendements plus élevés que ceux obtenus que par décoction (20min) suivi d'une macération (24h).

La première étape d'extraction étant la même, il serait raisonnable de s'attendre à ce que le rendement soit égal ou légèrement supérieur pour la deuxième extraction (décoction suivie de macération) par rapport à la première extraction (seulement décoction). Nous avons vérifié les conditions expérimentales et nous avons refait l'extraction plusieurs fois pour nous assurer des rendements. Cependant, voici quelques raisons pour lesquelles le rendement pourrait être inférieur :

- Pendant la macération à 4°C, certains composés extraits pendant la décoction pourraient se dégrader, se précipiter ou se cristalliser à basse température, réduisant ainsi le rendement.

- Certains composés pourraient être adsorbés par le matériel végétal pendant la macération, ce qui pourrait réduire le rendement.
- La filtration après la macération pourrait entraîner une perte de certains composés, surtout si des précipités se forment et sont retirés.

Nos rendements sont légèrement inférieurs à celui obtenu par **Serawit et al., 2020** pour *E. kebericho* et sont supérieurs à ceux obtenus par **Ahmouda et Moussaoui, 2019**, pour *A. malaccensis*. Cette différence est peut-être expliquée par plusieurs facteurs, tels que la provenance de la plante, la méthode d'extraction, et le choix des solvants d'extraction.

2. Les tests phytochimiques :

Les résultats des tests phytochimiques réalisés pour détecter la présence de quelques composés phénoliques (tanins et flavonoïdes), des saponosides et terpénoïdes, des alcaloïdes et des glycosides cardiotoniques, dans les parties des plantes étudiées sont représentés dans le **tableau 05** et les **photos (09, 10, 11, 12)**.

Tableau 5: Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les extraits des deux plantes.

	Alcaloïdes		Tanins	Flavonoïdes	Terpénoïdes	Saponosides	Glycosides cardiotoniques
	Mayer	Wagner					
T 20 min	+	+	+	+	+	+	-
			Vert	Orange clair			
G 20min	+++	+++	+++	++	+	+++	-
			Vert foncé	Orange			
T 24h	+	++	+++	+	+	+++	++
			Vert foncé	Orange			
G 24h	+++	+++	++	++	+	++	+++
			Vert	Orange			

+++ : Fortement présent ; ++ : moyennement présent ; + : faiblement présent ; - : absent.

Les résultats des tests révèlent que les extraits des deux plantes montrent la présence de tanins, de flavonoïdes, de terpénoïdes et de saponosides, bien que leur intensité puisse varier. La décoction de 20 minutes d'*A. malaccensis* (G 20 min) est plus concentrée en composés testés que celle d'*E. spinosus* (T 20min), notamment les alcaloïdes, les tanins et les saponosides, réputés pour leur potentiel toxicologique dans les plantes. Les alcaloïdes et les

flavonoïdes sont présents dans les deux plantes, mais ils sont particulièrement concentrés dans les extraits d'*A. malaccensis*. Cependant, les glycosides cardiotoniques ne sont détectés que dans les extraits obtenus par macération à froid pendant 24 heures, et l'extrait G 24 heures est noté pour sa richesse en ces composés.



Photo 09: Tests phytochimiques réalisés sur *E. spinosus* (T 20min).



Photo 10: Tests phytochimiques réalisés sur *E. spinosus* (T 24h).



Photo 11: Tests phytochimiques réalisés sur *A. malaccensis* (G 20min).



Photo 12: Tests phytochimiques réalisés sur *A. malaccensis* (G 24h).

Nos résultats viennent confirmer ceux des travaux antérieurs qui ont déjà montré que:

- *A. malaccensis* est une source de nombreux constituants notamment : les alcaloïdes, les flavonoïdes, les terpénoïdes et les saponines (Ahmouda et Moussaoui, 2018).
- L'extrait aqueux des racines d'*E. spinosus* est une source de différentes familles de composés chimiques tels que : les tanins, les flavonoïdes et les alcaloïdes (Gheffour, 2016).

3 Dosage des composés phénoliques:

3.1 Courbes d'étalonnage:

Les teneurs en polyphénols totaux (PPT), en flavonoïdes (FV) et en tanins (TN) condensés sont déterminées, en $\mu\text{g/ml}$, à partir des équations de la régression linéaire des courbes d'étalonnage (**figures 07,08, 09**). Les teneurs sont ensuite exprimées en :

- μg par mg d'extrait sec ($\mu\text{g/mg ES}$).
- mg équivalent d'acide gallique EAG (pour PPT) et en mg équivalent de catéchine EC (pour les FV et TN) par g de la matière (mg EAG/g MS et mg EC/g MS).

La courbe d'étalonnage pour le dosage de polyphénols totaux est établie en utilisant l'acide gallique comme référence (**Photo 13**) avec un coefficient de corrélation $R^2=0,995$ (**figure 07**).

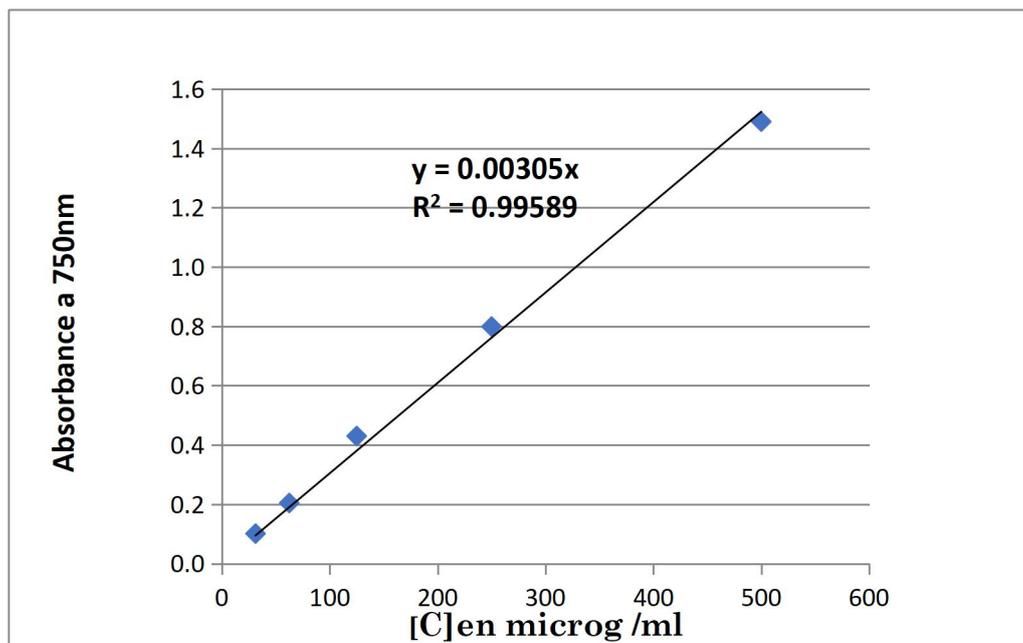


Figure 7: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

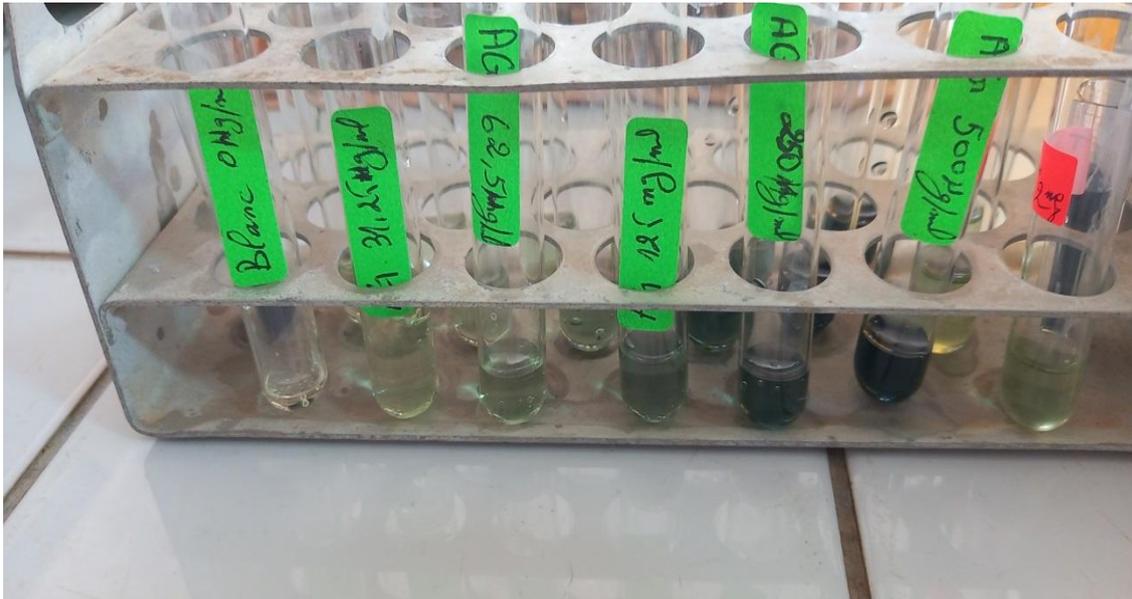


Photo 13: Gamme de l'acide gallique.

Le composé de références utilisé pour l'établissement de la courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes, est la catéchine (**Photo 14**). Son coefficient de corrélation est $R^2=0,9979$ (**figure 08**).

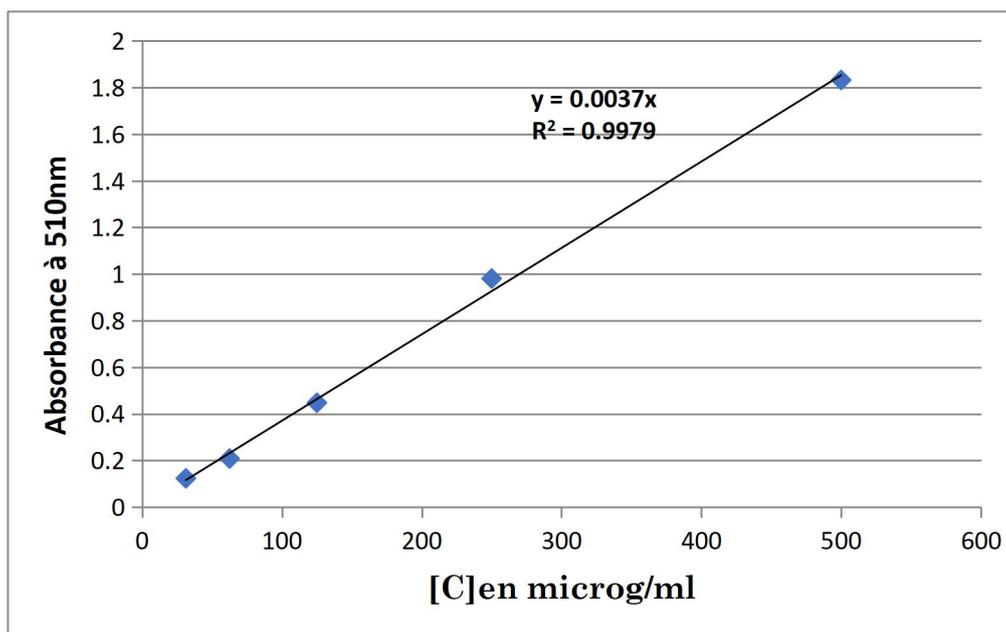


Figure 8: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

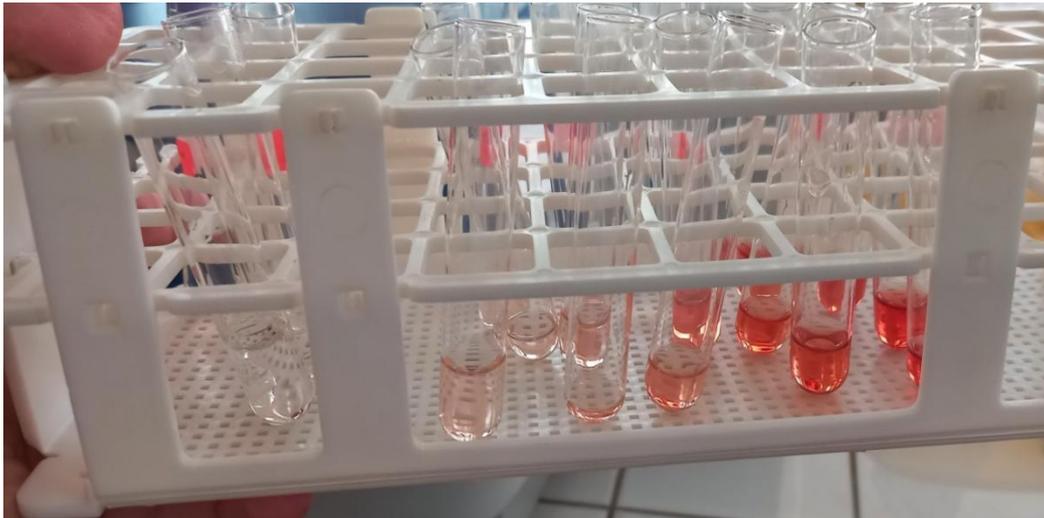


Photo 14: Gamme de la catéchine pour les flavonoïdes.

La courbe d'étalonnage pour le dosage des tanins condensés est établie en utilisant la catéchine comme référence (**photo.15**) avec un coefficient de corrélation $R^2=0,9928$ (**figure 09**).

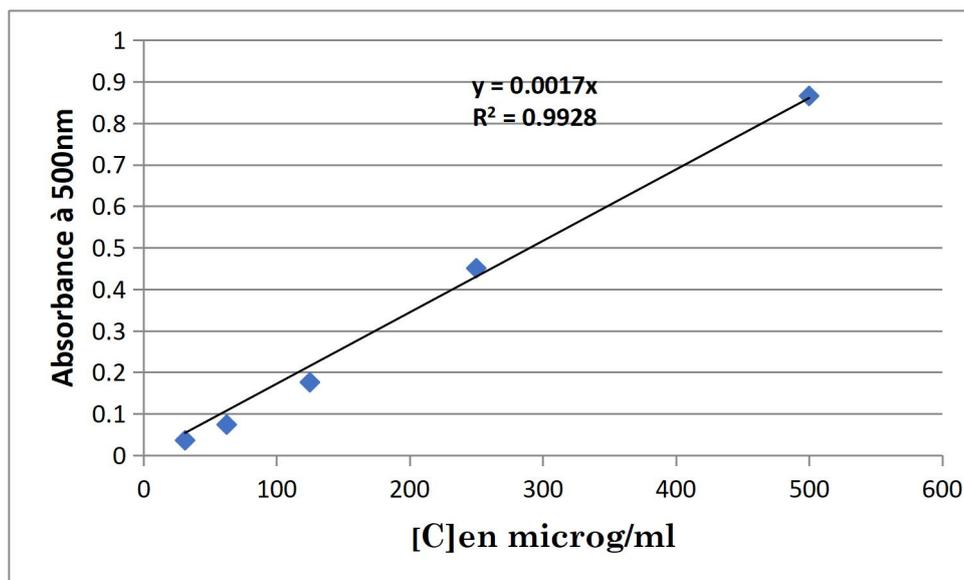


Figure 9: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.



Photo 15: Gamme de la catéchine pour les tanins.

3.2 Calcul des teneurs en composés phénoliques:

Les résultats des teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins dans les quatre extraits aqueux sont présentés dans les **tableaux 06, 07, 08**.

- **Dosage des polyphénols totaux:**

Les résultats révèlent que les écorces du tronc d'*A. malaccensis* montrent des concentrations significativement plus élevées que les racines d'*E. spinosus*. Pour *E. spinosus*, la différence entre les méthodes d'extraction est moins marquée. Cependant, la macération de 24 heures (G 24h) réduit la concentration dans le cas d'*A. malaccensis*.

Tableau 6: Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits des deux plantes.

Partie de la plante	Extrait	$\mu\text{g} / \text{mg ES}$	mg EAG/g MS
Racines d' <i>Echinops spinosus</i>	T 20min	$32,26 \pm 5,78$	$2,70 \pm 0,48$
	T 24h	$33,82 \pm 4,25$	$2,03 \pm 0,25$
Écorces du tronc d' <i>Aquilaria malaccensis</i>	G 20min	$72,89 \pm 6,36$	$8,74 \pm 0,76$
	G 24h	$62,64 \pm 2,54$	$4,19 \pm 0,17$

Nos résultats présentent des différences par rapport aux travaux antérieurs pour *A. malaccensis* (Ahmouda et Moussaoui, 2018; Derouiche et al., 2020) et *E. spinosus* (Gheffour, 2019), ce qui pourrait être dû aux différences dans les méthodes d'extraction et les solvants utilisés. Cette différence indique que ces plantes sont quantitativement riches en polyphénols, mais les facteurs environnementaux et les variations méthodologiques peuvent expliquer les écarts.

- **Dosage des flavonoïdes:**

Les résultats révèlent que les écorces d'*A. malaccensis* montrent des concentrations plus élevées en flavonoïdes que les racines d'*E. spinosus*. Entre les deux méthodes d'extraction, les concentrations en $\mu\text{g} / \text{mg}$ d'extrait sont assez similaires pour les extraits des racines d'*E. spinosus* et proches pour les extraits de l'écorce d'*A. malaccensis*.

Tableau 7: Teneurs en flavonoïdes dans les extraits des deux plantes.

Partie de la plante	Extrait	$\mu\text{g} / \text{mg}$ d'extrait	mg EC /g MS
Racines d' <i>Echinops spinosus</i>	T 20min	19,38 \pm 0,88	1,61 \pm 0,07
	T 24h	19,15 \pm 0,87	1,14 \pm 0,05
Écorces du tronc d' <i>Aquilaria malaccensis</i>	G 20min	31,15 \pm 1,82	3,73 \pm 0,21
	G 24h	29,60 \pm 1,14	1,98 \pm 0,07

Comme pour les polyphénols totaux, nos résultats présentent des différences par rapport aux travaux antérieurs pour *A. malaccensis* (Ahmouda et Moussaoui, 2018; Derouiche et al., 2020) et *E. spinosus* (Gheffour, 2019). Cela peut être dû aux facteurs

Environnementaux et aux différences dans les méthodes d'extraction ou aux conditions expérimentales.

- **Dosage des tanins condensés:**

Pour les tanins, l'extraction de 20 minutes (G 20min) montre des teneurs plus élevées que l'extraction de 24 heures (G 24h). Les racines d'*E. spinosus* montrent des concentrations plus élevées en que les écorces d'*A. malaccensis*.

Tableau 8: Teneurs en tanins condensés dans les extraits des deux plantes.

Partie de la plante	Extrait	µg /mg d'extrait	mg EC/g MS
Racines d' <i>Echinops spinosus</i>	T 20min	4,04±0,40	0,34±0,03
	T 24h	3,06±0,29	0,18±0,01
Écorce du tronc d' <i>Aquilaria malaccensis</i>	G 20min	1,87±0,21	0,22±0,03
	G 24h	1,61±0,09	0,11±0,01

Les travaux antérieurs sur les mêmes parties des plantes, ont rapporté des teneurs en tanins beaucoup plus importantes (Hatam et al., 2006; Lam et Gyrinops, 2019; Gheffour, 2019). Cette variation peut être attribuée aux facteurs environnementaux ainsi qu'aux différences dans les méthodes d'extraction ou les conditions expérimentales.

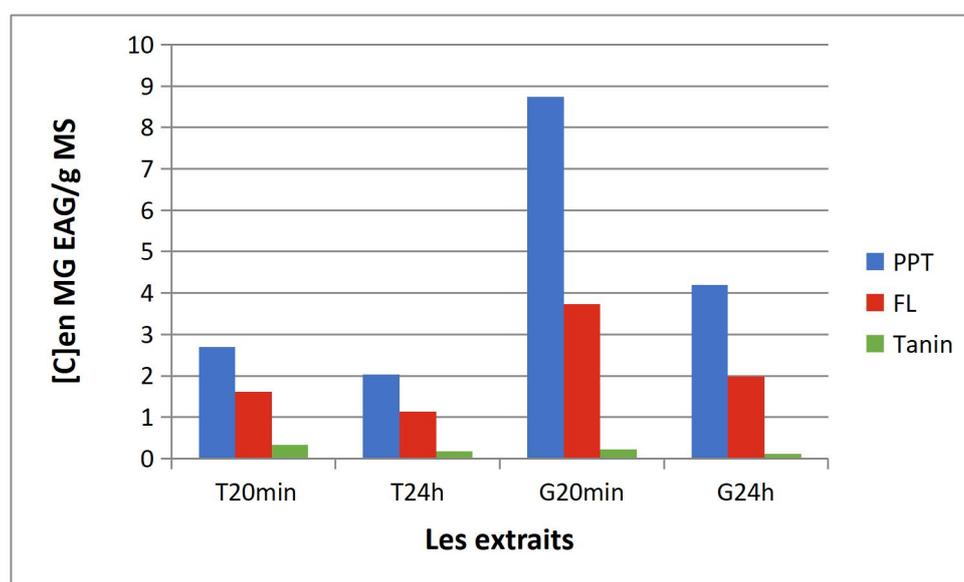


Figure 10: Histogramme présentant les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés dans les extraits des deux plantes.

Pour les trois dosages et pour 1g de poudre végétale, nous avons pu extraire plus de composés phénoliques dans l'extrait obtenu après 20 minutes de décoction (Figure 10). La différence est encore plus marquée dans le cas d'*A. malaccensis*, où environ le double des composés a été extrait par une décoction de 20 minutes, comparativement à la même décoction suivie d'une macération.

4. Chromatographie sur couche mince (CCM):

Cette méthode est une technique de routine largement utilisée dans les laboratoires vu son faible coût de revient par rapport aux autres méthodes. Sa simplicité de réalisation, la

valeur des informations apportées ainsi que son utilisation aussi bien à l'échelle préparative sont des facteurs qui la rendent très intéressante (Popl et al., 1990).

Les plaques CCM ont été développées en utilisant un système d'éluant qui est le: Méthanol/ Dichlorométhane/ Acétate d'éthyle/ Acide formique/ Eau distillée (3/6.5/5/1/2; v/v/v/v/v).

Après séchage des chromatogrammes, les spots ont été délimités à l'œil nu (**Photo 16**) ainsi que sous une lampe UV à 365 nm (**Photo 17**) et à 254 nm (**Photo 18**) dans une chambre noire. La détection a également été réalisée à l'aide d'un révélateur chimique spécifique des tanins (FeCl₃ à 1% v/v). Les résultats sont présentés dans les **tableaux 09** et **10**.

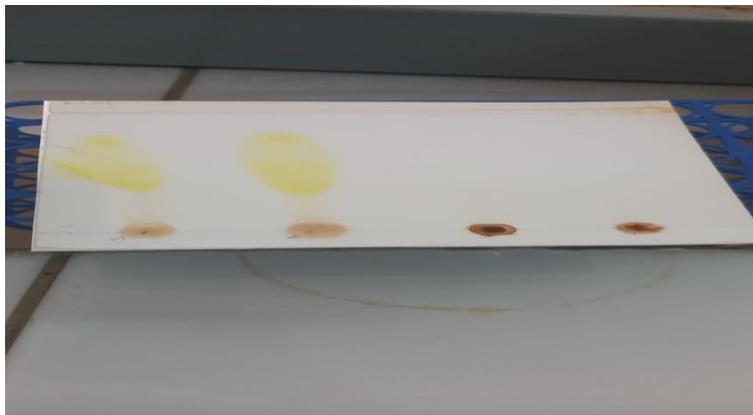


Photo 16: Observation du chromatogramme à l'œil nu.

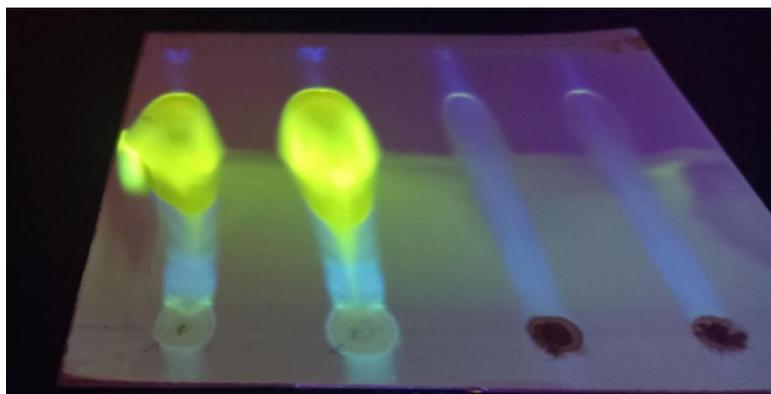


Photo 17: Observation du chromatogramme à 365nm.

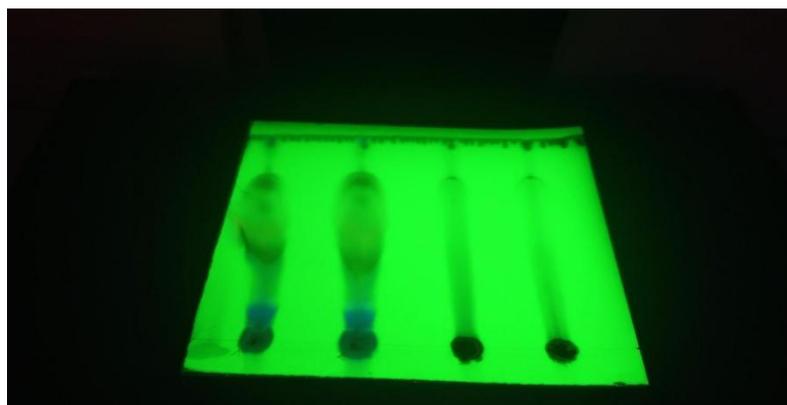


Photo 18: Observation du chromatogramme à 254nm.

Tableau 9: Résultats de la CCM des extraits des racines d'*E. spinosus*.

	Extrait	Spot N°	À l'œil nu	À 365nm	À 254nm	FeCl 1%	Rf
	Racines d' <i>Echinops spinosus</i>	T 20min	1	Marron foncé	Marron foncé	Marron très foncé	Gris marron
2			Marron	Jaune fluorescent	Violet	Gris clair	0,78
3			-	Mauve	Violet foncé	-	0,96
T 24h		1	Marron foncé	Marron	Marron très foncé	Gris marron	0
		2	Marron	Jaune fluorescent	Violet	-	0,76
		3	-	Mauve	Violet foncé	Gris clair	0,94

Pour les extraits d'*E. spinosus*, les résultats montrent la présence de trois composés communs dans les deux extraits, avec des propriétés de mobilité et de réactivité différentes. Il s'agit de:

- Un spot qui reste à la ligne de départ ($R_f = 0$), ce qui indique qu'il est très peu mobile dans les solvants utilisés. Il apparaît marron foncé sous toutes les conditions d'observation, suggérant qu'il s'agit d'un composé non fluorescent. La coloration avec le $FeCl_3$ en gris marron peut indiquer la présence probable d'un tanin (Lagnika, 2005).

- Un spot relativement mobile ($R_f = 0,78$), indiquant une interaction modérée avec la phase stationnaire. Le fait qu'il soit jaune fluorescent à 365 nm et violet à 254 nm suggère la présence de composés fluorescents et fortement absorbants les UV. La réaction avec le $FeCl_3$ en gris clair peut également indiquer la présence probable d'un tanin (Lagnika, 2005).
- Un spot très mobile ($R_f = 0,96$), indiquant qu'il a une faible interaction avec la phase stationnaire. Il apparaît mauve à 365 nm et violet foncé à 254 nm, suggérant la présence d'un composé fluorescent.

Tableau 10: Résultats de la CCM des extraits de l'écorce du tronc d'*A. malaccensis*.

	Extrait	Spot	À l'œil nu	À 365nm	À 254nm	FeCl 1%	Rf
		N°					
Écorce du tronc d' <i>Aquilaria malaccensis</i>	G 20min	1	Marron	Marron	Violet foncé	Gris vert, jaune au milieu	0
		2		Jaune vert	Violet clair		0,06
		3	Marron très clair	Mauve	Violet	Gris vert foncé	0,10
		4		Mauve	Bleu clair		0,16
		5		Jaune claire	Mauve		0,24
		6		Jaune foncé	Jaune foncé		0,33
		7		Jaune (grand spot)	Jaune foncé		0,37
		8	Jaune foncé	Violet clair	Jaune orangé	Jaune	0,5
		9	Jaune clair	Vert	Gris vert	Jaune fluorescent	0,62
		10		Jaune verdâtre	Jaune clair		0,67
		11		Jaune foncé	Rouge brique		0,73
		12	Jaune foncé	Jaune fluorescent	Orange		0,75
		13			Violet		0,77
		14		Violet	Violet	Gris très clair	0,97

G 24h	1	Marron	Marron	Violet foncé	Gris vert, jaune au milieu	0
	2		Jaune	Violet claire		0,06
	3	Marron très clair	Mauve clair	Violet		0,10
	4		Mauve	Bleu clair	Gris vert	0,15
	5		Jaune clair	Mauve		0,24
	6		Jaune foncé	Jaune foncé		0,32
	7	Jaune foncé	Violet	Jaune orangé	Jaune	0,48
	8	Jaune clair	Vert	Gris vert	Jaune fluorescent	0,62
	9		Jaune verdâtre	Jaune clair		0,70
	10		Jaune	Rouge brique		0,73
	11	Jaune foncé	Jaune fluorescent	Orange		0,75
	12			Violet foncé fluorescent		0,78
	13		Violet	Violet	Gris très clair	0,95

Pour les extraits d'*A. malaccensis*, les résultats montrent la présence de plusieurs composés comparés aux extraits d'*E. spinosus*, avec des propriétés de mobilité différentes. La plupart des spots sont communs dans les deux extraits, avec rarement une légère variation dans les Rf, indiquant des composés présents dans les deux conditions d'extraction. Une modification mineure dans la composition chimique est indiquée par la disparition du spot 7 (Rf =37) dans l'extrait de 24h. Les réactions avec le FeCl₃, pour 5 spots, suggèrent la présence de tanins dans cette plante (Lagnika, 2005).

D'après les travaux antérieurs (tableau 11) sur la chromatographie sur couche mince de composés phénoliques, ces spots peuvent être des flavonoïdes et des tanins. La présence de ces molécules est confirmée par les résultats des tests phytochimiques précédents et par les dosages réalisés ultérieurement.

Tableau 11: Travaux antérieurs sur la CCM des composés phénoliques.

Composés	La couleur			Référence
	254 nm	366 nm	FeCl ₃	
Flavones	Brun			Dawson et al., 1991
Flavonols, flavones		Mauve		Markham ,1982
Flavones	Mauve	Bleu clair		Brou Kouassi et al., 2010
Tanins	Visible	Violet ou rouge	Gris ou noir bleu	Lagnika, 2005
Composé phénolique	Visible	Violet ou rouge	Bleu	Jazy et al., 2018

5. Estimation de l'activité antioxydant, *in vitro*, par la méthode de piégeage du radical DPPH°:

En effet, l'activité antioxydante semble être le principe d'action d'un certain nombre de produits pharmaceutiques. Nous nous sommes intéressés à l'activité anti-radicalaire des extraits d'*A. malaccensis* et *E. spinosus*, par l'évaluation de leur aptitude à neutraliser le radical libre DPPH (Photo 19).



Photo 19: Test de DDPH.

Les valeurs des absorbances obtenues ont permis de calculer les pourcentages d'inhibitions et de tracer des courbes : pourcentage d'inhibitions en fonction des différentes concentrations. A partir de ces courbes (Figures 11, 12, 13, 14, 15, 16), nous avons déterminé la valeur de CI₅₀ de chaque extraits (tableau 12 ; Figure 17). Celle-ci correspond à valeur de la concentration inhibitrice à 50%. Le BHA et le BHT sont utilisés comme standard.

Il semble que le pourcentage d'inhibitions du radical libre augmente avec l'augmentation des concentrations des standards et des différents extraits des deux plantes.

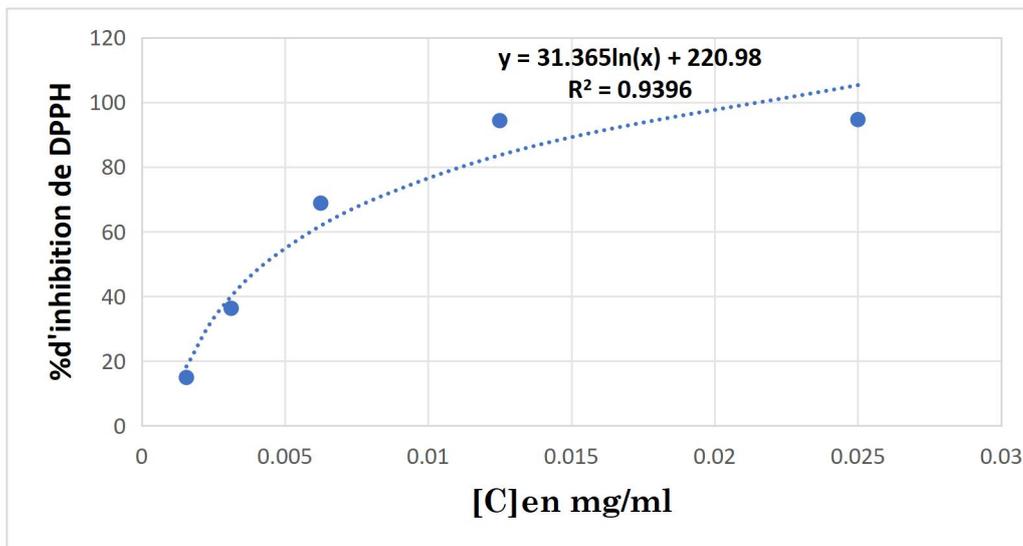


Figure 11: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH pour le standard BHA.

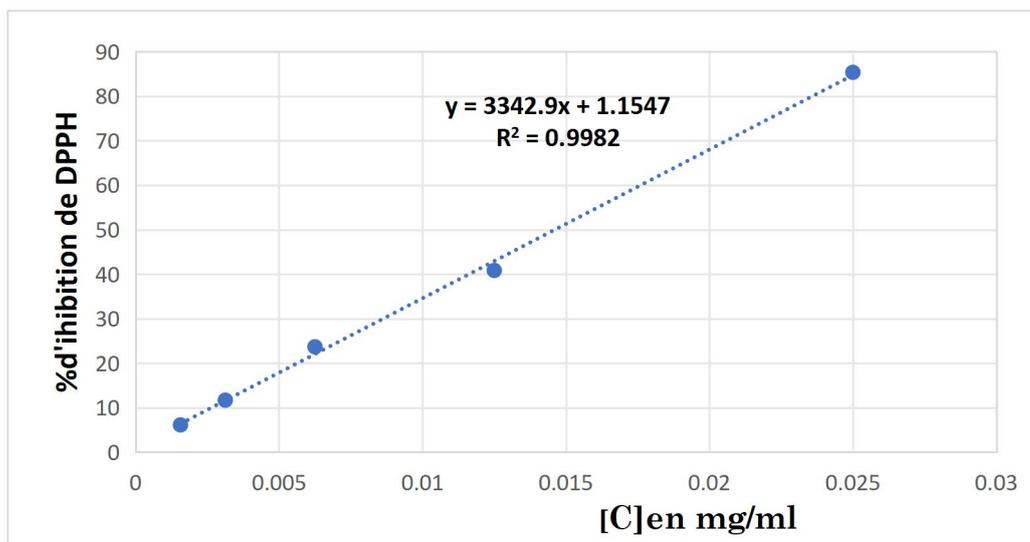


Figure 12: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH pour le standard BHT.

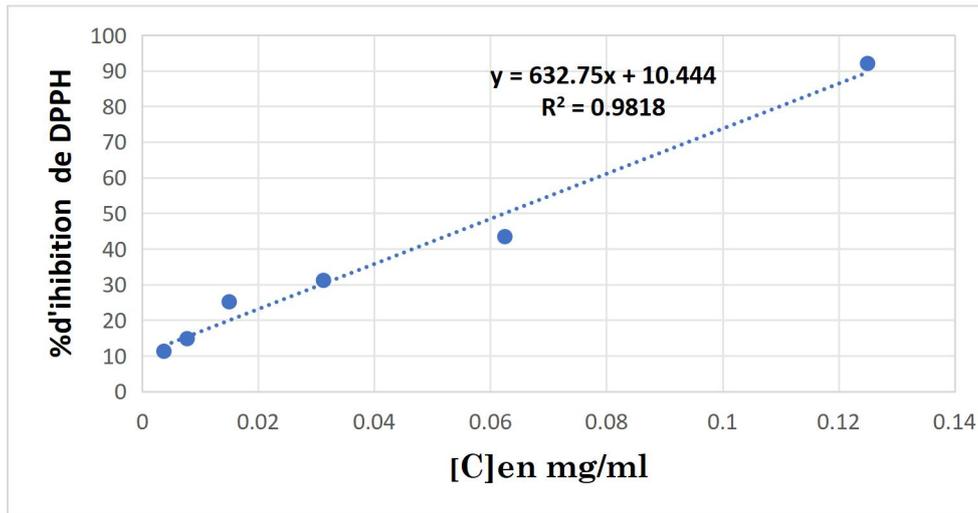


Figure 13: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH pour l'extrait G20min.

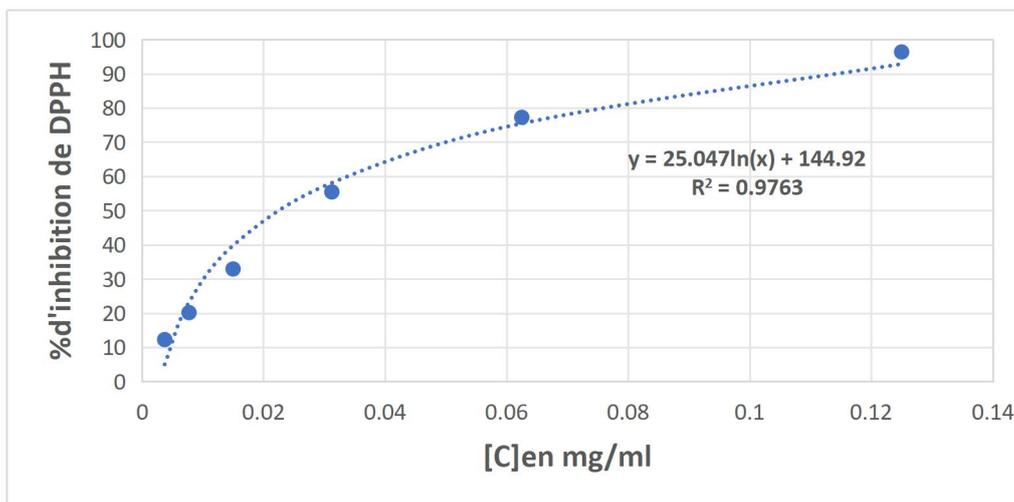


Figure 14: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH pour l'extrait G24h.

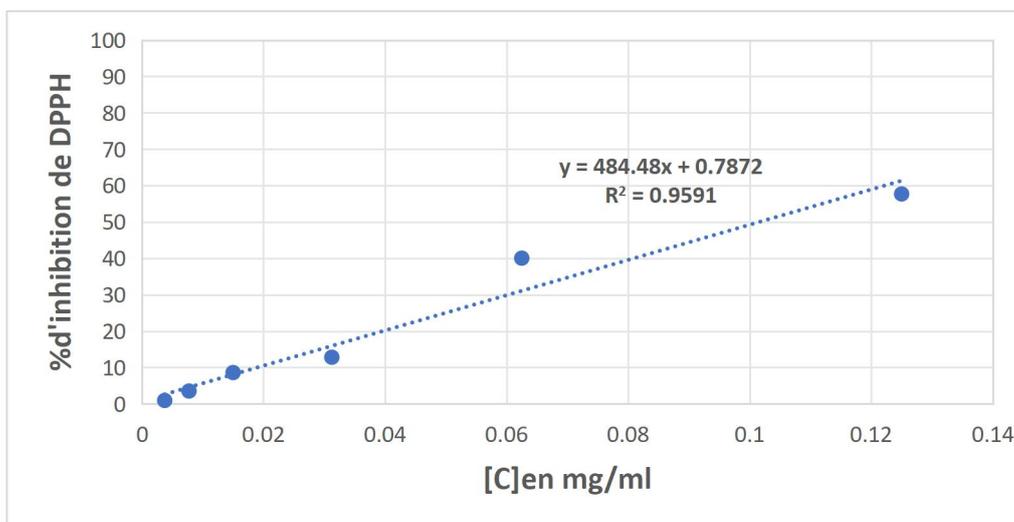


Figure 15: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH pour l'extrait T20min.

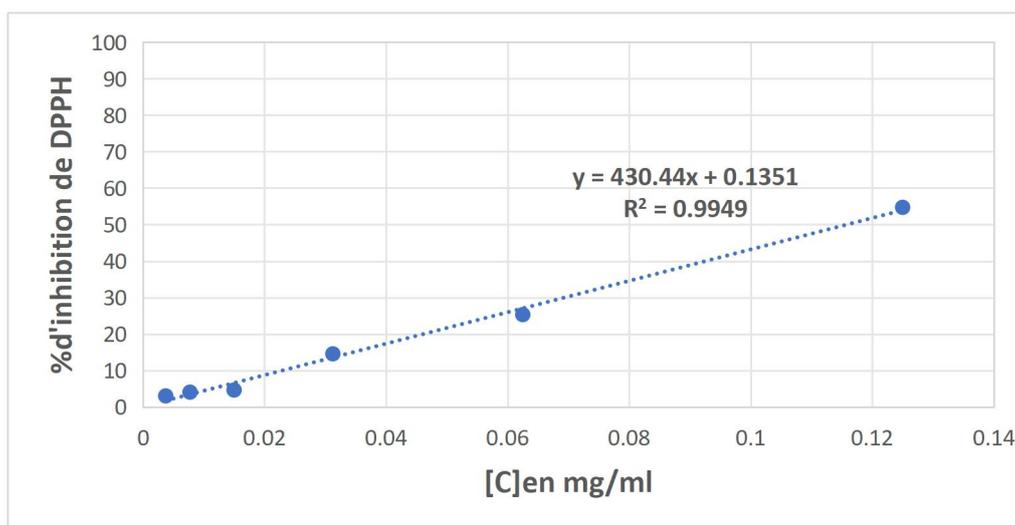


Figure 16: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH pour l'extrait T24h.

Tableau 12: Valeurs des CI50 des quatre extraits et des standards.

Partie de la plante	Extrait	CI ₅₀ (mg/ml)
Racines d' <i>Echinops spinosus</i>	T 20min	0,1017 ± 0,00378
	T 24h	0,1162 ± 0,00605
Écorces du tronc d' <i>Aquilaria malaccensis</i>	G 20min	0,0625 ± 0,0011
	G 24h	0,0226 ± 0,00062
BHA		0,0047 ± 0,0002
BHT		0,0145 ± 0,001

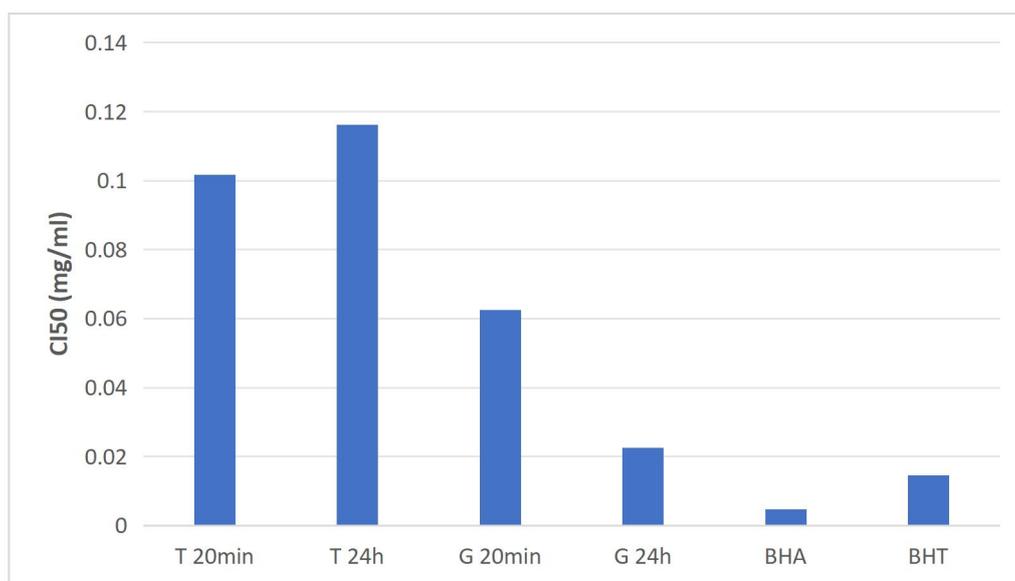


Figure 17: Histogramme des CI₅₀ des quatre extraits et des standards.

L'écorce du tronc d'*A. malaccensis* montre une activité anti-radicalaire notable, comparé aux racines d'*E. spinosus*. Les valeurs de CI₅₀ des extraits de racines d'*E. spinosus* sont très proches. Cependant, l'extrait G 24h de l'écorce du tronc d'*A. malaccensis* a une CI₅₀ de 0,0227 mg/ml, indiquant une activité anti-radicalaire significativement améliorée par un temps d'extraction prolongé. Les antioxydants synthétiques, le BHA et le BHT, montrent une activité antioxydante plus élevée que les extraits de plantes testés.

Nos résultats et les résultats des travaux antérieurs, sur l'écorce du tronc d'*A. malaccensis* (Huda et al., 2009) et sur les racines d'*E. spinosus* (Gheffour, 2019), confirment que les deux parties plantes présentent une aptitude à piéger le DPPH. Ils montrent aussi que *A. malaccensis* présente une activité accrue par rapport à celle observée chez *E. spinosus*.

Ces résultats suggèrent que l'écorce du tronc d'*A. malaccensis* pourrait être particulièrement prometteuse comme source d'antioxydants naturels, bien que les antioxydants synthétiques BHA et BHT restent très efficaces à des concentrations beaucoup plus faibles.

6. Pouvoir hémolytique :

Les globules rouges sont le modèle de choix en biologie cellulaire et moléculaire pour étudier la cytotoxicité, *in vitro*, en raison de leur facilité d'isolement (Wajeman et al 1992). Le test d'effet hémolytique a été réalisé sur les quatre extraits d'*A. malaccensis* et d'*E. spinosus*. Les taux d'hémolyse, exprimés en pourcentages, ont été mesuré après 60 min

d'incubation avec les érythrocytes humains à une température 37°, dans une solution PBS (PH=7,44). Le **tableau 13** et la **figure 18**, indiquent les taux d'hémolyse mesurés pour les extraits à différentes concentrations et pour deux durées d'extraction (20 minutes et 24 heures).

Tableau 13: Pourcentages d'hémolyse des extraits à différentes concentrations.

Partie de la plante	Extrait	[C]en mg/ml				Contrôle
		25	50	100	200	
Racines d' <i>Echinops spinosus</i>	T 20min	1,23	5,00	14,10	25,54	100
	T 24h	1,40	5,56	13,99	33,13	
Écorces du tronc d' <i>Aquilaria malaccensis</i>	G 20min	4,44	7,50	11,21	25,41	
	G 24h	8,01	12,28	15,40	39,65	

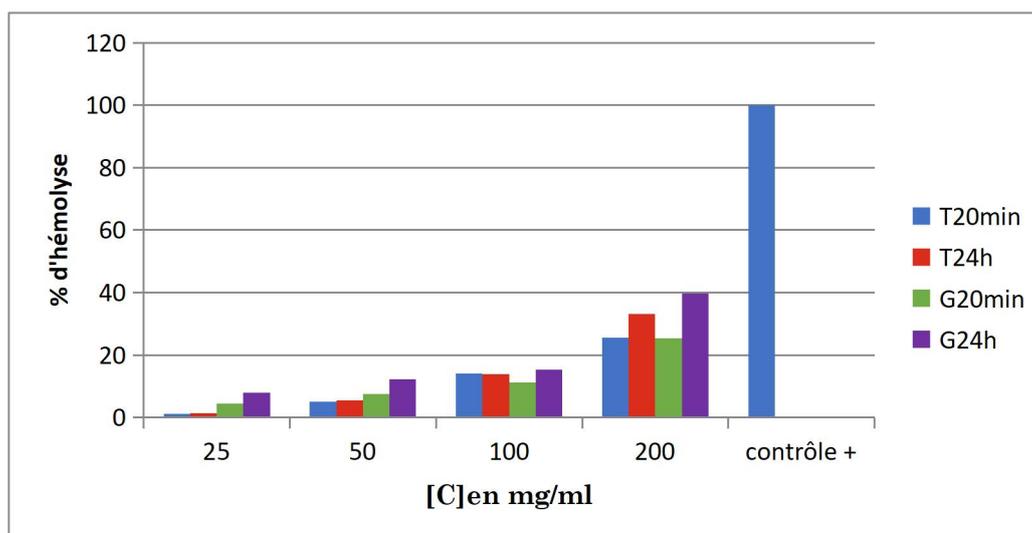


Figure 18: Pourcentages d'hémolyse des extraits à différentes concentrations.

Les résultats obtenus montrent que les pourcentages d'hémolyse sont directement proportionnels à l'augmentation des concentrations des extraits. Ces résultats indiquent que les quatre extraits des deux plantes possèdent un potentiel cytotoxique potentiellement dommageable pour les globules rouges, surtout lorsque les concentrations augmentent.

Pour toutes les concentrations testées, les taux d'hémolyses *E. spinosus* varient de 1,23% à 25,54% pour l'extrait de 20min, de 1,40% à 33,13% pour l'extrait de 24h. L'écorce du tronc d'*A. malaccensis* montrent des pourcentages d'hémolyse plus élevés par rapport aux

racines d'*E. spinosus*, surtout après 24 heures. Ils sont compris entre 4,44% à 25,41% pour l'extrait de 20 min (**Photo 20**) et entre 8,01% à 39,65% pour l'extrait de 24h.



Photo 20: Résultat du pouvoir hémolytique de l'extrait d'*A. malaccensis* (G20min).

Nos résultats et ceux des recherches antérieures sur les racines d'*E. spinosus* (**Bourriche et al., 2011**) et sur les écorces d'*A. malaccensis* (**Rahman et al., 2012**), montrent que ces plantes contiennent des composés hémolytiques potentiels, à une certaine concentration, et qui méritent une étude plus approfondie pour évaluer leur toxicité.

L'effet toxique de ces deux plantes à des concentrations élevées peut être attribué à leur richesse en saponosides, selon les résultats des tests phytochimiques réalisés dans ce travail. On pense que les saponines peuvent former des complexes avec les stérols de la membrane érythrocytaire, entraînant ainsi une augmentation de la perméabilité et la perte d'hémoglobine (**Bangham et al., 1962; Akiyama et al., 1980**).



Conclusion Générale

Dans le cadre de ce mémoire, une étude a été réalisée pour évaluer quelques propriétés chimiques, l'activité anti-radicalaire et la toxicité des écorces du tronc d'*Aquilaria malaccensis* et des racines d'*Echinops spinosus*, achetées chez un herboriste. Ces deux plantes sont connues pour leurs propriétés abortives.

Deux modes d'extraction ont été choisis pour la réalisation de ce travail en utilisant l'eau comme solvant. Il s'agit d'une décoction à chaud de 20 minutes et d'une décoction à chaud de 20 minutes suivie d'une macération à froid de 24 heures.

Nos résultats montrent que les écorces du tronc d'*A. malaccensis* sont riches en composés phytochimiques, notamment les alcaloïdes, tanins, flavonoïdes et saponosides. Ses extraits présentent des concentrations significativement plus élevées en polyphénols totaux et en flavonoïdes par rapport aux racines d'*E. spinosus*, qui sont plus riches en tanins condensés. La chromatographie sur couche mince révèle plusieurs composés dans les extraits de cette espèce, comparés à ceux d'*E. spinosus*, avec des différences dans leur mobilité et réactivité. La présence de tanins, révélée par le FeCl_3 , concorde avec les tests phytochimiques. Cependant, leurs teneurs estimées par le dosage, sont faibles dans les deux plantes.

A. malaccensis montre également une activité anti-radicalaire prometteuse, en particulier l'extrait de 24h, avec une CI_{50} de 0,0227 mg/ml. Toutefois, les extraits restent moins efficaces que le BHT et le BHA. De plus, cette espèce possède un pouvoir hémolytique légèrement plus marqué avec 39,65% d'hémolyse à 200 mg/ml, pour l'extrait de 24h. Ce pouvoir toxique est probablement attribué à la présence de composés potentiellement hémolytiques comme les saponosides dans les extraits.

La différence entre les deux méthodes d'extraction est moins marquée dans le cas:

- De la composition des extraits en tanins, flavonoïdes, terpénoïdes et saponosides, bien que leur intensité varie;
- Des teneurs en composé phénoliques dans les extraits.
- Des profils de CCM qui révèlent que la plupart des spots sont communs dans les deux conditions d'extraction ;
- Des extraits de racines d'*E. spinosus* qui ont une activité anti-radicalaire très similaires;
- Des pourcentages plus élevés d'hémolyse qui sont associées à des concentrations plus élevées en extraits ;

Cependant, la différence entre les deux méthodes d'extraction est plus marquée dans le cas:

- Des rendements qui sont plus élevés pour les extraits obtenus par décoction seule par rapport à ceux combinant décoction et macération. Cette différence pourrait être due à la précipitation, cristallisation ou à la perte de composés pendant la macération à froid, ainsi qu'à l'adsorption sur le matériel végétal;
- Des glycosides cardiotoniques qui sont spécifiquement détectés dans les extraits obtenus par macération prolongée (24h) ;
- Des teneurs en composés phénoliques, exprimées en mg équivalent par gramme de poudre végétale. La différence est encore plus marquée dans le cas d'*A. malaccensis*, où environ le double des composés a été extrait par une décoction de 20 minutes, comparativement à la même décoction suivie d'une macération ;
- De l'extrait de l'écorce du tronc d'*A. malaccensis* qui a montré une activité anti-radicalaire et des taux d'hémolyses significativement élevés par un temps d'extraction prolongé (24h).

En conclusion, les différences observées entre les méthodes d'extraction soulignent l'importance de choisir soigneusement les conditions d'extraction pour maximiser les rendements et les activités biologiques spécifiques recherchées. Ces informations peuvent contribuer à une meilleure compréhension de l'utilisation potentielle de ces plantes en médecine traditionnelle et en pharmacologie moderne.

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

- Approfondir la recherche sur ces deux plantes afin de mieux comprendre leurs mécanismes d'action bioactifs.
- Explorer de nouvelles applications potentielles et de développer des stratégies de culture et de conservation durables pour préserver leurs ressources.
- Développer des formulations pharmaceutiques innovantes.
- Étudier les utilisations potentielles dans d'autres industries comme les cosmétiques et les compléments alimentaires, en fonction des propriétés antioxydantes et autres.



Références bibliographiques

A:

- Abbes, M., Farhan, S., Faqir Muhammad Anjum, Afzaal, M., Tabussam, T., Shakeel, M. B., Ishtiaq. A. Hussain, S., et Hafiz Anzac Rasul Suleria. (2017). Naturel polyphenols: An overview. international Journal of Food properties,20(7),1689-1699.
- Adelina, Harum F., Schmidt. L.H., et Joker. (2004). *Aquilaria malaccensis* LLam.Seed Leaflet, (Eds)PP, (103).
- Agyare, C., Obiri, D., Boakye, Y.D., et Osafo, N. (2013). anti-inflammatory and analgesic activities of african plants. In medecinal plant reseaurch in africa: pharmacology and chemistry (1 edition) London,
- Ahmouda, I., Moussaoui, R. (2018). etude de l'effet de *Aquilaria malaccensis* , le selenium et la SENPS sur des troubles physiologiques et métaboliques induits par le plomb chez des rates gestantes.
- Aimar, M. (2018). Phytothérapie et microbiote : deux approches intéressantes dans la prise en charge de la dépression. Marseille : université Aix Marseille.
- Aires, A., et Ségura, C. (2011). Les hétérosides soufrés des crucifères ; un aperçu de leurs propretés biochimiques et pharmacologiques ,5(20)p4363-4373.
- Aké –Assi, E., N'guessan, K., Kouassi.A.(2015). Evaluation de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux des feuilles de Thunbergia Atacorensis,une espèce nouvelle.
- Al Naser, O. (2018). Effet des condition environnementales sur les caractéristiques morfo-physiologiques et la teneur en métabolites secondaires chez Inule Montana : une plante de la médecine traditionnelle provencale.
- Amara.S., Djerroud.I, (2012). Etude de la toxicité aiguë et sub-chronique de l'extrait méthanoïque de la graine de Nigella Damascena sur des souris SwissAlbinos (mémoire de master, université de Bejaia).
- Amenah, G-F. (2006). Medicinal plants: tradition of yesterday and drugs of Tomorrow Molecular Aspects of medicine,27 ,1-93...
- Anulika, N. P., Enodiana, O.,Ignatius ,E., Ezenweani, S.R., Osaro- Itota, O., et Akatah, H. A.(2016). the chemistery of naturel product : plant secondary metabolites. International journal of technology enhancements and emerging engineering reseaurch.

- Aribi, I. 2013. étude ethnobotanique de plantes médicinales de la région du région du Jijel : étude anatomique, SZE phytochimique, et recherche d'activité biologiques de deux espèces. Mémoire de magister, univ. Houari Boumediene (USTHB, Alger), pp 69-71.
- Arpita, R. (2017). a review on the alkaloids; an important therapeutic compound from plants.
- Asadi, S., Ghasemi, S., et Mahmoudi-Azad, B. (2014). The effect of honey on cough and cough reflex in patients with chronic cough. *Pulmonary medicine*, 14(2), 276-281.

B:

- Badiaga, M. (2001). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali (Thèse pour l'obtention du grade de docteur d'université de Bamako).
- Baud, F., Bismuth, C., et Garnier, J.M. (2016). Intoxication par les digitaliques ; intoxication aigüe (3ème édition), Elsevier Masson, p777-783.
- Belhouala, K., Benarba, B., (2021). medicinal plants used by traditional healers in Algeria.
- Bellakhdar, J. (1978). Médecine traditionnelle et toxicologie ouest –saharienne : contribution à l'étude de la pharmacopée marocaine.
- Bensakhria, A. (2018). Les plantes toxiques. Toxicologie générale.
- Botha, A., Meegan, S., Erasmus, D., et Joffe, B. (2005). Furanosquiterpenes and their role in plant-animal interaction. *phytochemistry*, 66(18), 2328-2343.
- Bouaziz, M., Hammouda, S., et Hammouda, F., (2008). *Echinops spinosus* poisoning : a clinical and epidemiological study of 5 cases in Algeria ..
- Boudersa, R., Bendali, N. (2022). évaluation in vivo de la toxicité aigüe d'une plante médicinale *Echinops spinosus* sur des souris Albinos Wistar.
- Boudjouef, M. (2001). étude de l'activité antioxydant et antimicrobien d'extraits d'*Artemisia campestris* L. thèse de doctorat, université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie.
- Boullard, B. (2001). Plantes médicinales du monde : croyances et réalité, Paris, France : édition France Loisirs.
- Boulos, L. (1983). Medicinal plants of north africa. Reference publication.

- Boumaraf, M., Benyahia, S., Mekkiou, R., et Benayach, F. (2016). flavonoïdes from ethyl acetate extract of *Echinops spinosus* (Asteraceae). *der pharma chemica* ,8(10), 288-292.
- Boumediou. A., et Addoun.S. (2017). Étude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques, en médecine traditionnelle dans la ville de Tlemcen (Algérie), p112-123.
- Bounatir, H., Lahcen, W. (1981). Étude de la toxicité aigüe et subaigüe d'*Echinops spinosus* L. chez la souris blanche.
- Bouyahyaoui, M., Bellakhdar,J., et Touil,M.,Taniguchi,T.,et Ishibashi,F.(2014). ethnopharmacological study of the genus *Echinops* L(Asteraceae): e review ,*Journal of Ethnopharmacology*,158,21-43...
- Bouzabata, A., Montoro, P., K. A., Piacente, S., et Chemiati, M. (2018). Contribution à l'étude d'une plante médicinale et aromatique *Myrtus communis* L. Microscopic analysis of *Curcuma Longa* L...
- Bovis, A., Jacquin, A., et Mandon, L. (1968). Etude de quelques facteurs influençant le pouvoir hémolytique des saponosides, p685-700.
- Bradley, P. et Chevallier, A.2012.la phytothérapie : Guide pratique de santé par les plantes (2eme édition).
- Brahim, S., Saad,H.(2020).Etude ethnobotanique des traitements de la grippe.
- Brickell, C. (ED). (2008). *RHS A-Z encyclopédie of Garden plants*. dorling kindersley.
- Brigitte, C., Florence, H., Alain, R., et Lionel. (2008). *Guide du préparateur en pharmacie*.
- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales_3eme édition techniques et documentations*. Paris.
- Bruneton, J., (1996). *Les plantes toxiques, végétaux dangereuses pour l'homme et les animaux*.
- Bruneton, Jean. 2009. *Plantes toxiques*.
- Bruneton,J.(2009).*Pharmacognosie-phytochimie , plantes médicinales*.

C :

- Caia, C., luob,Q.,Sunc,M.,et Corkea,H.(2004). Antioxidant activity and phénolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life Sciences,74:2157-2184.
- Chang, Y.S., Nor azah, M.A., et Abu said, A. (2001).Gaharu: a prized incense from Malaysia.Malaysian Oil, Science and Technology, 9(2) :26-27.
- Chaouache, T, M., Haddouchi, F., Halla,N(2015).Antioxidant activity profiling by spectrophotometric methods of aqueous methanolicextracts of Helichry sumstoechas subsp.rupestre and Phagnalon saxatilesubsp.Saxatile.
- Chauvet M. (2018). Plantes toxiques : Guide de reconnaissance et l'aide à la décision.
- Chea, M. So, R.Y.Kim, Y.H. Kiem, J.V. Quang, T.N. Va, T.K. Huyen, T. T. T. In, Y. J. Ha, D. K. Lee, J. H.(2021). Saponins;a review of chemistry , antibacterial properties , and clinical application.
- Chemakh, M., Aouicem, S., Zahiel-Rollier,G., et Sahli, F.,(2012). Chemical composition and antimicrobial activity of essentiel oil of *Echinops spinosus* L. from Algeria,24(6),479-484.
- Chen, S., (2016). *Aquilaria malaccensis* : A review of its traditional uses, phytochemistry,and pharmacology.Journal of Ethnopharmacology,198,239-258.
- Chen, S.-W.,&Wong, E.(2012).*Aquilaria malaccensis* :A review of its traditional uses,phytochemistry,and pharmacology..Journal of Ethnopharmacology, 140(2), 279-291.
- Chéour,F.Z.(2020) .généralités sur la toxicité . In toxicologie fondamentale et appliquée (pp.1-16).
- Chua, L.S., et Sumatra,P.M. (2008).Agarwood (*Aquilaria malaccensis*)in Malaysia. Forest Research Institute Malaysia.
- Cooper, E.A.,et Roberts, M.B.(2001). secondary métabolites in plants : occurrence,structure and fonction.
- Croteau, R., Kutchan, T.M., et lewis, N.G. (2000). Natural products (secondary metabolites). Biochemistry and molecular biology of plants, 24thedition., pp 1250-1319).

D:

- Dacosta, Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs.Paris:Edition YVES DACOSTA.

- Dahmani, S., Orliaguet, G.A., Meyer, P.G., Blanot, S., Renier, D., et Carli, P.A., (2000). Perioperative blood salvage during surgical correction of craniosynostosis in infants. *British journal of anaesthesia*, 85(4), 550,555.
- Damart, P., Bourneuf, C. (1984). L'hémolyse.
- Dash, M., Patra, J. K., Panda, P. (2008). Phytochemical and antimicrobial screening of extracts of *Aquilaria agallocha* Roxb *african journal of biotechnology*.
- Delille, I. 2007. Les plantes médicinales d'Algérie. Berti Editions, p.179.
- Derouiche, S., Degachi, O., et Gharbi, K. (2020). the effect of purslane and *Aquilaria malaccensis* on insulin-resistance and lipid peroxidation in high-fructose diet rats.
- Djarmouni, M., BANAYAD, F., Bara, F. (2023). Enquête sur les aspects toxicologiques de la phytothérapie dans la région de Sétif, Algérie.
- Dong, M., Cong, B., Yu, S., Sauriol, F., Hoo, C., et Shi, Q. (2008). Echinops A and B: sesquiterpenoids possessing an unprecedented skeleton from *Echinops spinosus*.

E:

- Ejaz, A., Arshad, M., Khan, M. Z., Amjad M.S., Sadaf, H.M., Riaz, I., Sabir, S., Ahmed, N., et Saboon, N. (2017). secondary metabolites and their multidimensional prospective in plant life. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*, 6(4), 257-268.
- Elgorashi, M., E-Gindi, M., et Saleh, A.A. (1997). Anti inflammatory, analgesic and antipyretic effects of *Echinops spinosus* L. *journal of ethnopharmacology*, 59(2), 155-160.
- Elkoli, M. (2017). Structure et activités des substances naturelles : principes et applications (cours). Université Ferhat Abbas de sétif.

F:

- Fauron, R., et Roux, D. (1989). La phytothérapie à l'officine (de la vitrine au conseil). mes éditions du porphyre.
- Fiorucci, S. (2006). Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes : approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaires.
- Flesch, F. (2005). Intoxication d'origine végétale. EMC-médecine, 2, 532-546.)
- Fournier, P. 2001. Les quatre Flores de France. Paris: Lachevalier.

G:

- Gheffour, K., Boucherit, K., boucherit-Otmani, Z. (2015). etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydant des extraits d'*Echinops spinosus*. *Phytothérapie*, 13(6), 379-384.
- Ghestern, A., Seeguïn, E., Paris, M., et orecchioni, A.M. (2001). *Le préparateur en pharmacie : dossier* (2eme Ed). doc paris .
- Goldfield, S., Lusty, C., & Mackinven,A. (1998).The Word List of Threatened Trees.In A.Barden,A.Noorainie,T.WangAnak, T.Mulliken,andM.Song (Eds).Heart of the matter :Agarwood use andtrade and cites implémentation for *Aquilaria malaccensis*(pp 50).Traffic International.

H:

- Haffman, R.M. (2008). imaging in mice with fluorescent proteins: frommacro to subcellular. *Sensors*, 8, p1157-117
- Halim, A.F., Afify, M. S.,Ahmed, A. F., et Mira, A.S.(2011).the fact about Echinopsine and first isolation of Echino-rine from *Echinops spinosus* L.*Journal of environmental science*, 6(2),73-84.
- Halimi, A.K., 2014.Les plantes médicinales en Algérie.2éme Ed.BERTI,Alger.p 6-149.
- Hammiche, V., Merad,R.,et Azouz, M.(2013). *Plantes toxiques à usage médicinale du pourtour méditerranéen*. Paris, France : Springer Verlag.
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J. (2002). Flavonoid antioxydants :chemistry,metabolism, and structure-activity relationship.*Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10).
- Hmouz,T.,Bensalem,H.,Amira,S.,Khanfar,N.,Kaabine,A.,et Preuss,H.G.(2011).diuretic and hypotensive effects of *Echinops spinosus* L.aqueus extract in rats. *Journal of ethnopharmacology*,137(1),89-95.
- Hymetes, A., Inversen, T. H., Rohloff, J., et Erko, B. (2005). Screening of *Echinops ellenbeckii* and *Echinops longisetus* for biological activities and chemical constituents.*phytomedicine*, 12(5), 373-377.

I:

- Ibrahim H,Moaty A. chemical constituents of *Echinops Spinosissimus* Turra . 2016).

J:

- James A. Duke (2007). Handbook of Medicinal Herbs.

K :

- Kabera, J. N., Semanz, E. M., Mussa, A. R., et Ehe,X.(2014).plantsecondary metabolites : biosynthesis ,classification, fonction and pharmacological properties .Journal of Pharmacy and pharmacology, 2.
- Kaou, A.Y.,Boussetta,N.,Lachheb,K.,Marzouki,S.,Zidi-Ettouati,O.,et Helal, A. N.(2016).anti-inflammatory and analgesic activities of *Echinops spinosus* L. extract and its fraction,16(1),1-9.
- Klaassen, C.D. (ED). (2019).Cassert et Doull's toxicology .the basic science of poisons.
- Kobbi, C., et Taileb,H. (2019). Contribution à l'étude de relation structure chimique activités anti-oxydante, mémoire de master, université Saad dahlab Blida.
- Koné, M., &Kassi,A.(2014).Etude ethnobotanique et phytochimique de l'*Aquilaria malaccensis* Lam .(Burseraceae)en Côte d'ivoire.Université Félix Houphouet-Boigny,Abidjan.

L:

- Lahsissene H., KahouadjiA., Tidjane M.et Hseini S (2009). Catalogue des plants médicinales utilisée dans la region de zaer (Maroc occidentale), Lejeunia revue de botanique,N° 186,p 8.
- Lapointe, M. (2004) .la toxicité chronique ,une approche miltidisciplinaire. presses de l'université du Québec.
- Leitao,M.G. (2004).furanocoumarins;a review of their pharmacological activities.
- Lori,N. et Devan,2005.un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivant avec le VIH.
- Lumpur. (2006). Experts Group Meeting on Agarwood: Capa city-building Workshop for Improving Implementation and Enforcement of the CITES listing of *Aquilaria malaccensis* and other Agarwood-producing species Malaysia :TRAFFIC Southeast Asia (Eds).Malaysia.

M:

- Macheix, J.J., Fleuriet, A., et Jay –allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économiques.
- Mahata, S., Das, J., et Ganguly, C.K. (2010). occurrence, biological activity and synthesis of kaurane diterpenes and their glycosides,15(10),7575-7607.
- Majumdar, M., Naorem, R. B., et Rajkumar, V. (2014). Naturel product with hypoglycemic activity from plants to drugs; a review journal of complementary and integrative medicine, 11(4), p202-228.
- Margaret, G.Michael.(2000).Dand planta Medica: the history of herbalism, a review of its Western origins.
- Mazid, M., Khan,T.A., et Mohammad,F.(2011).role of secondary metabolites in defense mechanism of plants, biology and medicine 3(2),p 232-249.
- Meghraoui,M., et Bentchikou,T.(2017). Evaluation in vivo de la toxicité aigüe d'une plante médicinale *Echinops spinosus* sur des souris AlbinosWistar.
- Merghem, R., Lemouati, A., Hamada, K., Haddouchi, F., et Boukort, S. (2009): contribution à l'étude des flavoïdes des céréales de la région de Constantine et évaluation de leurs activités biologiques (pp 181-189).
- Mezzou, H., Khelifa, A.B., Neffati, F., Douki, W., Ben Amor, A., et Najjar, M.F. (2006). Détermination de l'hémoglobine plasmatique : évaluation spectrophotométrique de l'hémolyse en biochimie clinique. revue Francophone des laboratoires ,386 :59-64.
- Miara,M.D., Bendif, H.,Rebbas, K.,Rabah,B.,Hammou,M.A.,Maggi,F., (2019). Medicinal plants and their traditional uses in the highland region of BordjBouArreridj (Northeast Algeria).J Herb Med 16,100262.
- Migahid, A.M. (ED). (1978). Flora of Saudi Arabia, volume 2. Riyadh university publication.
- Milane, H. (2004). La quercétine et ses dérivés : molécules a caractère peroxydantoucapteurs de radicaux libres ; études et application thérapeutiques.
- Maffei, M. (2016). Secondary metabolites: their functions and sources.
- Macheix,J. A., Fleuriet, C., et Jay, A. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance.

N:

- Nogaret-Ehrhart, A.S. 2003.la phytothérapie : se soigner par les plantes. Eyrolles-pratique pp.19-35.

O:

- Oudjehane,M.(2012). Plantes toxiques d'Algeria.
- Ouldali, H., Sari, M., Hassani, M., Aouine, M., El Ansari, M., Zahir, F., Messaoudi, M., Fadel,S.,(2011). *Echinops spinosus* poisoning, journal of ethnopharmacology.
- Ozcan, T., Akpinar-Bayizit, A., Yilmaz-Ersan, L., ET Delikanli, B. (2014). Phenolics in humen health, international journal of chemical engineering and application, 5(5), 393-396.

P:

- Paris, H., et Hurabielle, J. (1981). Abrégé de matière médicale, pharmacognosie, tome 1, Paris : Masson.
- Peeking, A., Picand.B., Hacene, K., Lokiec, F., et Guerin, P. (1987). oligimetres procyanidoliques (endotélon) et synthèse lymphatique. artèreset veines : publication médicales.
- Pierre, G., Laplante, C.,&Voronina, V.(2019). Primary metabolites in the context of plant-microbe Interactions. in Plant-Microbe Interactions and Sustainable Agriculture (pp. 141-164).

Q :

- Qureshi,N., et Porter, J. W.(1981). conversion of acetyl-Coenzyme A to isopentenyl pyrophosphate, in biosynthesis of terpenoid compounds.in J.W. Porter et S.L.Spurgeon)Wiley-interscience, new York,1/47-94.

R:

- Ramar, P. S., et Ponnampalam, G. (2010). Therapeutiques potential of plants as anti-microbial for drug discovery. evidence based complementary and alternativemedicine, 7(3), p283-294.

S:

- Schaer, D.J., buehler, P.W., alayash,A.I., belcher , J.D.and vercellotti ,G.M.,2013.hemolysis and free hemoglobin revisited :exploring hemoglobin and hemin scavengers as a novel class of therapeutic proteins .blood,121(8),1276-1284).
- Schaer, D.J.,Schaer,C.A.,Buehler,P.W.,Alayash,A.I.,Belcher,J.D.,et Vercellotti, G. M.(2013).Hemolysis and free hemoglobin revisited: exploring hemoglobin and hemin scavengers as a novel class of therapeutic protein.blood,121(8),1276-1284.
- Sebih, F. (2019). Les composés azotés des végétaux et leurs implication dans l'alimentation humaine et animale.
- Sereme, A., Millogo-Rasolodimby, J., Guinko, S., et Nacro, M. (2010).Anatomie et concentration des tannins des plants tannifères du Burkina Faso. Journal des sciences.10(2)24-32.
- Sharma, B.D., et Sanjappa, M. (1993). Flora of india, volume 3. Botanical Survey of India, Ministry of Environment, Government of India.

T:

- Tabin, S., &Shrivastava, K. (2014). Distribution and population status of critically endangered *Aquilaria Malaccensis*Lamk.In the forests of Arunachal Pradesh and Assam, India. International Journal of Innovative Research in Science,3(6),17595-7604.
- Thomas, D. W., Kirkland, K. B., ET Yang, J. (2013). Cellular and molecular mechanisms of hemolysis by leukocyte-driven reactive oxygen species. Antioxidants et redox signaling, 18(10), 1276-1304.

V:

- Valnet, J. (2016). La phytothérapie : Traitement par les plantes médicinales. 5^{ème}éd.
- Van den Berg, M., Birnbaum, L.S., Denison, M.S. Devries, M., Groenewegen, P. C., Kubiak, J. A., ET Zensen, M. (2006). An overview of occurrence,exposure and toxicity;chemical research in toxicology, 19(12),p1676-1723.

- Vidal, F., Bourrée, J. P., Latté, J. P. (2023). use of medicinal plants in France :a cross-sectional study from a national survey .*pharmacology Clinique et thérapeutique*,64(3),269-276.

W:

- Wajeman h., Lantz. B., Girot R. (1992).-les maladies du globule rouge.-2e edition;Paris:INSERM.
- Wei., (2015). Anti-inflammatory and analgesic effects of agarwood essential oil in mice.
- Wetrutayaklung, P., Thavanaponp, P. N., et Chroeteerabon, J. (2009). chemical constituent and antimicrobial activity of essential oil and extracts of heartwood of *aquilaria crassma* obtained from water distillation and supercritical fluid carbon dioxide extraction, Silpakorn.
- Whitmore, T.C., &Thymelaeaceae. (1972).In *Tree flora of Malayalam*.Forest Research Institute, Malaysia,2(26),383-391.
- Wink, M (2013). Evolution of alkaloids and their medical and pharmacological significance. *Journal of Natural products*.
- Wink. (2014). the role of secondary metabolites in plant defense against pathogens and herbivore. *Annual plant reviews* :(pp. 301-336).
- Woong, K. (2012). *Phytothérapie: emerging therapeutic option in urologic disease*. *Tranlational andrology and urology*, 1(1), 27-34.

Y:

- Yakhlef,A.(2010).The corporeality of practice-based learning. *Organization Studies*,31(6),777-803.
- Yang, D.L., Wang,H. ,Guo,Z.K.,Li,W.Mei,W.L.(2014).Dai,H.F.Fragrantagarofuran and eremophilanesesquiterpenes in agarwood qi-nan from *Aquilaria sinensis*.*Phyytochem.Lett*.8 :121-125.

Z:

- Zaiter, A. (2017). *Etude de la phytochimie de 12 plantes de la région Lorraine en fonction de la granulométrie de poudres super fines (Thèse pour obtenir le grade de docteur en Sciences)*. Université DE LORRAINE, France.

- Zeggwagh. A., Lahlou. Y., Bousliman.Y., (2013). Enquête sur les aspects toxicologiques de la phytothérapie utilisée par un berbériste à Fés, Maroc.The Pan African Medical Journal, 14.
- Zekkour, M. (2008). Les risques de la monographie les plus usuelles.
- Zhou., (2014). Agarwood smoke extract inhibits proliferation and induces apoptosis in human Lung cancer cells.



Annexes

Annexe 1

Tableau 1-1 : Les Plantes médicinales toxiques (Djarmouni et al., 2023).

Nom arabe	Nom scientifique	Parties toxiques	Indication	Effets secondaire
Fijel	<i>Ruta chalepensis</i>	Tige /feuille	Vomissement, Vertige, Asthme	Insuffisance rénale et hépatique Irritation de la peau
Kharwaa	<i>Ricinus communis</i>	Graine	Constipation	Irritation buccale Diarrhée
Mlilas	<i>Rhamnus alaternes</i>	Fruit	Hépatite, Anémie	Vertige Insuffisance rénale

Tableau 1-2 : Les plantes médicinales faiblement toxique (Djarmouni et al., 2023).

Nom arabe	Nom scientifique	Parties toxiques	Indication	Effets secondaire
Sanouj	<i>Nigella sativa</i>	Graine/Huile	Rhumatisme, Asthme	Allergie Hypotension Hypoglycémie
Babonaj	<i>Matri caria chamailla</i>	Fleur/ Huile	Colon Stérilité, nervosité Faiblesse Désinfectant	Allergie
Jawzat tib	<i>Myristica fragrant</i>	Fruit	Bronchite, Toux	Somnolence Vomissement
Jarjir	<i>Rorripa nasturtium aquati cum</i>	Huile	Rhumatisme	Problèmes digestifs
zaafrane	<i>Crocus sativus</i>	Fleur/ Huile	Asthme, Tension	Vomissement/diarrhée
Rihane	<i>Myrtes communis</i>	Feuille/ Huile	Colon, Grippe	Vertige/Vomissement

Naanaa	<i>Menthe piperita</i>	Feuille	Grippe, Colon, Stress, Nervosité	Hypotension
mriwat	<i>Marrubium vulgare</i>	Feuille	Infection, Rhumatisme	Allergie /Diarrhée
hana	<i>Lawsonia inermis</i>	Feuille	Estomac, anti- diarrhéique	Gonflement
kharoub	<i>Ceratonia siliqua</i>	Graines	Diarrhée, Nausées, Colon	Allergie, Fièvre
kasbar	<i>Petroselinum crispum</i>	Graines	Rhumatisme, Colon	Hypoglycémie Hypotension
sakoum	<i>Asparagus sp</i>	Racines	Fortifiant	Problèmes digestif Allergie

Tableau 1-3 : Les plantes médicinales moyennement toxiques (*Djarmouni et al.,2023*).

Nom arabe	Nom scientifique	Parties toxiques	Indication	Effets secondaires
Ark sous	<i>Glycyrrhiza foetida</i>	Racines	Allergie, Maladies des vaisseaux sanguins	Hypotension Faiblesse
Khzama	<i>Lavandula officinalis</i>	Huile	Troubles hormonaux	Arrêt de respiration
Iklil jabal	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Feuille	Colon, Diabète	Vomissement Estomac
Mirimiy a	<i>Salvia officinalis</i>	Feuille	Stérilité, Cholestérol	Hypoglycémie
koronfal	<i>Syzygium aromaticum</i>	Huile	Toux, Grippe, Système nerveux	Hémorragie Hypoglycémie
Hbak	<i>Ocimum basilicum</i>	Huile	Vomissement, Angines	Hypotension Allergie
Sadra	<i>Zizyphus lotus</i>	Feuille	Système nerveux, Rhumatisme	Hypoglycémie
aaraar	<i>Tetraclinis articulata</i>	Huile	Nausée, Grippe, Toux	Allergie Arrêt d'inhalation

kalitous	<i>Eucalyptus globulus</i>	Huile	Grippe, Asthme, Sinusite, Fièvre	Vertige Vomissement
Sanouj	<i>Nigella sativa</i>	Graines	Diabète, Allergie, système nerveux	Hypertension
korfa	<i>Cinnamomum zeylamicum</i>	Ecorce	Antifongique	Hémorragie
Habat hlawa	<i>Pimpinella anisum</i>	Graine/Fruit	Appétit, Colon, Calmant	Problèmes hormonaux
Sana makiya	<i>Cassia acutifolia</i>	Feuille	Colon, Constipation	Diarrhée Maladie des reins
Zariaat lkatan	<i>Linum usitatissimum</i>	Graine	Hypercholestérolémie, Anémie	Allergie Hypotension
Chih	<i>Artemisia herba alba</i>	Feuille	Appareil génital, Colon	Hypoglycémie Insuffisance rénale
zanjabil	<i>Zingiber officinale</i>	Racine	Grippe, Fatigue, Maladie cardiaque	Hypotension Hypoglycémie
hantal	<i>Citrullus colocynthis</i>	Toute la plante	Diabète	Hémorragie Hypoglycémie
jaaida	<i>Teucrium polium</i>	Feuille	Rhumatisme	Insuffisance hépatique
Harmel	<i>Penganum harmala</i>	Graine /Écorce	Hypercholestérolémie, Stérilité, Brûlure	Vertige Arrêt de respiration
Chajarat Meriem	<i>Artemisia absinthium</i>	Racine	Stérilité	Troubles hormonale
Harika	<i>Urtica dioica</i>	Tige/Fleur	Allergie, Anémie	Brûlure de la peau
Kist hindi	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Huile	Trouble gastrique	Allergie Hypoglycémie
karwiya	<i>Carum carvi</i>	Graine/Huile	Nausée	Insuffisance rénale

Annexe 2 :

Tableau 2-1: Travaux antérieurs sur l'effet hémolytique des plantes.

La plante	Effet à différentes concentrations	Références bibliographie
<i>Portulaca oleraceae</i>	Taux d'hémolyse qui ne dépasse pas 6%.	Ameziane 2016
<i>Nerium oleander</i>	Taux d'hémolyse 9,84 %.	Bruneton, 2022
<i>Ammiodes verticillata</i>	Taux d'hémolyse 2,98%.	Bourek, 2013
<i>Citrullus colocynthis</i>	Taux d'hémolyse 26,61%.	
<i>Convallaria majalis</i>	Effet hémolytique, des troubles de rythme cardiaque et des convulsions.	Bonnot et al., 2016
<i>Digitalis purpurea</i>	Effet hémolytique, des hallucinations.	Mayer, 2018
<i>Aconitum napellus</i>	Effet hémolytique, et paralysies.	Michel, 2013
<i>Ricinus communis</i>	Effet hémolytique, lésion hépatique.	Riou et al., 2008
<i>Marrubium vulgare</i>	Taux d'hémolyse varie 6%.	Moussaoui et Harkati, 2013
<i>Haloxylon scoparium</i>	Taux d'hémolyse varie 7%.	

Annexe 3

Tableau 3-1: Origines de quelques espèces du genre *Echinops*.

Espèce	L'origine	Référence bibliographique
<i>E. sphaerocephalus</i>	Espèce originaire d'Eurasie, largement répandue en Amérique du nord et très commune dans les montagnes du sud de la France et du sud et du centre d'Europe	Francis, 1981
<i>F. ritro</i>	Espèce originaire d'Europe et d'Asie occidentale	Brickell, 2008
<i>E. echanatus</i>	Espèce originaire d'Inde, d'Afghanistan, Pakistan	Sharma et Sanjappa, 1993
<i>F. galalensis</i> <i>G. E.hussoni</i>	Elles se trouvent pratiquement partout en Arabie saoudite	Migahid, 1978
<i>E. spinosus turra</i>	Elle très commune en Algérie, en Egypte, en Italie et en Turquie.	Boulos, 1983

Tableau 3-2: Utilisation d'*Echinops spinosus*.

Étude sur	Résultats	Références
Racines d' <i>E spinosus</i> en décoction	Utilisation à des actions abortives, diurétiques et dépuratives sanguins	Bellakhdar, 1978
Les plantes de la famille des astéracées	Trouver que la répartition des études sur les astéracées mentionner 13%	Belhouala et Benarba, 2021
Racines d' <i>E spinosus</i>	Utilisation traditionnelle des racines à 6%	Belhouala et Benarba, 2021
Racines d' <i>E spinosus</i> en décoction	35% des populations utilise cette plante en décoction pour les préparations	Belhouala et Benarba, 2021
Parties d' <i>E spinosus</i> utilisées	Il s'agit des racines et des fruits	Zekkour, 2008

Tableau 3-3: Travaux antérieurs sur *Aquilaria malaccensis*.

Etude sur	Résultats	Références
Dosage des polyphénols	540,0 ± 10,8 mg EAG/g d'extrait aqueux	Ahmouda et Moussaoui, 2018
	2,609 ± 0,094 mg GAE/g d'extrait méthanolique.	Derouiche et al., 2020
Dosage des flavonoïdes	0,528 ± 0,007 mg QE/g	
Activité anti-radicalaire (test DPPH) de l'extrait aqueux	CI ₅₀ =39,17mg/ml	Ahmouda et Moussaoui, 2018
Ecorces d' <i>Aquilaria malaccensis</i>	Trouver qu'utilisé en médecine traditionnelle pour soulager la douleur la fièvre, l'asthme	Dash et al., 2008
Méthodes d'extraction	Une extraction aqueuse offre un avantage supplémentaire.	Wetruitayaklunge et al., 2009

الملخص

التجارب المعروضة في هذا العمل تساهم في الدراسة الكيميائية النباتية وكذلك في تقييم النشاط المضاد للجذور السائبة وسمية مستخلصات: لحاء جذع *Aquilaria malaccensis* وجذور *Echinops spinosus*. دراسة السمية شجعتنا على تفضيل تحضيرات قائمة على الماء، تستخدم عادة في شاي الأعشاب، وفق طريقتين مختلفتين: الغليان لمدة 20 دقيقة والغليان نفسه متبوعاً بالنقع البارد لمدة 24 ساعة. كانت مردودات مستخلصات الغليان لمدة 20 دقيقة أعلى من تلك الناتجة عن النقع البارد لمدة 24 ساعة.

الكشوفات الكيميائية النباتية تكشف عن وجود القلويدات، التانينات، الفلافونويدات، التيرينويدات، الصابونينات والجليكوسيدات القلبية في كلا النباتين. أظهرت التحاليل أن مستخلصات *A. malaccensis* تحتوي على تركيزات أعلى بكثير من البوليفينولات والفلافونويدات الكلية مقارنة بجذور *E. spinosus*، التي كانت أغنى بالتانينات المكتفة.

يشير كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة إلى أن معظم المركبات شائعة في كلا حالتَي الاستخلاص. وتظهر الطور المتحرك المستخدم المزيد من المركبات في مستخلصات *A. malaccensis* مقارنة بمستخلصات *E. spinosus*.

A. malaccensis يظهر أيضاً نشاطاً مضاداً للجذور السائبة واعداً، لا سيما المستخلص الذي تم نقعه لمدة 24 ساعة والذي أظهر قيمة IC_{50} تبلغ 0.0227 مجم/مل. ومع ذلك، تبقى هذه المستخلصات أقل فعالية من BHT وBHA. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت هذه النوعية قدرة تحلل دموي أكثر قليلاً، حيث وصلت إلى 39.65% من تحلل الدم عند 200 مجم/مل للمستخلص الذي تم نقعه لمدة 24 ساعة.

الكلمات المفتاحية: *Aquilaria malaccensis*، *Echinops spinosus*، الكشوفات الكيميائية النباتية، المركبات الفينولية، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، النشاط المضاد للجذور السائبة، IC_{50} ، القدرة على تحلل الدم.

Résumé

Les expérimentations présentées dans ce travail contribuent à l'étude phytochimique ainsi qu'à l'évaluation de l'activité anti radicalaire et de la toxicité des extraits de : l'écorce du tronc d'*Aquilaria malaccensis* et les racines d'*Echinops spinosus*.

L'étude de la toxicité nous a encouragés à privilégier des préparations à base d'eau, couramment utilisé pour les tisanes, selon deux méthodes différentes : la décoction de 20min et la même décoction suivie d'une macération de 24h à froid. Les rendements des extraits de la décoctions de 20 minutes sont supérieurs à ceux de la macération de 24 heures.

Les tests phytochimiques révèlent la présence d'alcaloïdes, de tanins, de flavonoïdes, de terpénoïdes, de saponosides et des glycosides cardiotoniques dans les deux plantes. Les dosages montrent que les extraits d'*A. malaccensis* présentent des concentrations significativement plus élevées en polyphénols totaux et en flavonoïdes par rapport aux racines d'*E. spinosus*, qui sont quant à elles plus riches en tanins condensés.

La chromatographie sur couche mince indique que la plupart des composés sont communs dans les deux conditions d'extraction. La phase mobile utilisée révèle davantage de composés dans les extraits d'*A. malaccensis* par rapport aux extraits d'*E. spinosus*.

A. malaccensis montre également une activité anti radicalaire prometteuse, notamment l'extrait de 24 heures présentant un CI_{50} de 0,0227 mg/ml. Cependant, ces extraits demeurent moins efficaces que le BHT et le BHA. De plus, cette espèce présente un pouvoir hémolytique légèrement plus marqué, atteignant 39,65% d'hémolyse à 200 mg/ml pour l'extrait de 24 heures.

Mots clés : *Aquilaria malaccensis*, *Echinops spinosus*, tests phytochimiques, composées phénoliques, CCM, activité anti radicalaire, CI_{50} , pouvoir hémolytique.

Abstract

The experiments presented in this study contribute to the phytochemical investigation and evaluation of antioxidant activity and toxicity of extracts from the trunk bark of *Aquilaria malaccensis* and the roots of *Echinops spinosus*.

Toxicity studies prompted us to prefer water-based preparations, commonly used for herbal teas, employing two different methods: a 20 minute decoction and the same decoction followed by 24-hour cold maceration. Yields of extracts from the 20 minute decoction were higher than those from the 24 hour maceration.

Phytochemical tests reveal the presence of alkaloids, tannins, flavonoids, terpenoids, saponins, and cardiac glycosides in both plants. Quantitative analysis shows that extracts from *A. malaccensis* have significantly higher concentrations of total polyphenols and flavonoids compared to *E. spinosus* roots, which are richer in condensed tannins.

Thin-layer chromatography indicates that most compounds are common in both extraction conditions, but the mobile phase used reveals more compounds in *A. malaccensis* extracts compared to *E. spinosus* extracts.

A. malaccensis also exhibits promising antioxidant activity, especially the 24 hour extract with a IC_{50} of 0.0227 mg/ml. However, these extracts are less effective than BHT and BHA. Furthermore, this species shows a slightly stronger hemolytic activity, reaching 39.65% hemolysis at 200 mg/ml for the 24 hour extract.

Keywords: *Aquilaria malaccensis*, *Echinops spinosus*, phytochemical tests, phenolic compounds, TLC, antioxidant activity, IC_{50} , hemolytic activity

