

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

BELHACHEMI Fatima

HAGANI Wahiba

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : Pharmaco-toxicologie

THÈME

**Phytochimie et Activité Anti-hémolytique des Extraits de
l'Alaterne « *Rhamnus alaternus* » L**

Soutenu le / 01 / Juillet /2025.

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE :

Présidente	DOUCHEN. S	MCA	U. Mostaganem
Encadrante	KRIBI- BELABED. S	MBC	U. Mostaganem
Co-Encadrant	Grade	U. Mostaganem
Examinatrice	BENHAMIMED A	MCA	U. Mostaganem

Année universitaire 2024/2025

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier le bon Dieu, de nous avoir donné le courage et la volonté pour réaliser ce travail.

Nous tenons à remercier très chaleureusement notre promotrice Dr. KRIBI-BELABED Soraya , aussi bien que pour ses conseils, pour sa disponibilité et son soutien, soyez assurée, Docteur de toutes nos estimations et nos profonds respects.

Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres de jury qui vont juger notre travail
Dr. DUICHEN Salima et Dr.BENHMIMED Atafia

Nos remerciements très chaleureux vont aux ingénieures de laboratoire pour leur aide et leurs conseils : karima , Rachida, Moukhtaria ,Fadila

Un grand merci à M. Bounouar Al-Eid chef service de laboratoire d'EPSP de Sidi Lakhdar qui a joué un rôle majeur dans la réalisation de ce travail remarquable. Je remercie également tous le staff de laboratoire, pour leur aide précieuse, et conseils : Djamila kadri, Djamila Beldjenna , Nadia Bouziane

Nous remercions nos camarades et nos amies pour les sympathiques moments que nous avons passé ensemble.

Dédicaces

Je dedie ce travail :

A ma famille elle qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis
aujourd'hui particulièrement :

A mon père Pour le gout à l'effort qu'il a suscité en moi de par sa rigueur

A toi ma mère Ceci est ma profonde gratitude pour ton éternel amour, que ce document soit le
meilleur cadeau que je puisse t'offrir

A vous mes frères Abdelrahmane et Mohammed qui m'avez toujours soutenu et encouragée
durant ces années d'études

A mes amis Louisa ,Fatima, Asma, khalida, Souad, Amina, Aya, Ikram, Imen, Amina et
kawter, Souad ,Chaima qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès

Et aussi à tous ceux que j'aime

A mon binôme Fatima

Wahiba

Dédicaces

*Avant tout, je remercie Allah qui m'a éclairé mon chemin et d'aboutir au moment que j'ai
L'attendu*

*Un grand merci à mon encadrante Madame Kribi Soraya pour ses conseils et ses
orientations*

Je dédie mon modeste travail :

*En particulier A mes très chers parents pour leur soutien tout long de mes études et qui sont
la lumière de mes yeux.*

*Mon père *Belhachemi Flitti *mon plus haut exemple de persévérance pour aller toujours à
l'avant et ne jamais baisser les bras , par leur dévouement et les énormes sacrifices et leur
soutien, et qui m'a donné le sens du savoir et de la vie, merci , à vous I 'honneur PAPA .*

*A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et
qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse, La propriétaire du cœur tendre et des
prières sincères, ma chère mère, Mme Maarouf Badera*

A' ceux qui ont partagé mes joies et mes tragédies

*A 'ceux qui m'ont appris que le monde se débattait et armé de science et de connaissances
...à ceux qui ne Lésinaient pas sur mois ...à ceux qui cherchent mon réconfort et mon succès*

**A' la plus grande sœur S'abria, et à son mari , Ibrahim et A' la sœur Khadija et à son mari
Mukhtar et A' ma sœur Imane , elle est mon modèle , ma force et beau – frère Fateh et A' ma
sœur Marawa, qui est la paix de I 'esprit, et à son mari, Tayeb et A' mon cher frère Sandy
Abdul Kader*

**Je n'oublierai jamais les enfants de mes sœurs, sans exception*

**Je voudrais remercier les deux familles nobles et vertueuses, la famille Belhachemi et la
famille Maarouf*

**A 'ceux qui étaient amicaux .Et distingués par la loyauté, I 'honnêteté et la générosité.
A ceux avec qui j'étais heureuse : Chères Asmaa et Ikram*

**Sans oublier mon binôme HAGANI WAHIBA*

fatima

Liste des abréviations

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

AG : Acide gallique

DO : Densité optique

EAM : European Agency Medicines

EqAG : Equivalent d'Acide Gallique

ESCOF : European Scientific Cooperative on Phytotherapy,

EqQ : Equivalent de Quercétine

FeCl₃: Chlorure de fer

g: Gramme

GR : Globule Rouge

Hb : Hémoglobine

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance

H: Heure

H₂O₂ : Le peroxyde d'hydrogène

H₂SO₄ : Acide sulfurique

Kg : Kilogrammes

MS: Matière sèche

Min: Minutes

M : Molaire

mg : Milligramme

mm : Millimètre

Na₂CO₃: Carbonate de sodium

PBS : Phosphate Buffer Salin (tampon phosphate)

PPT: Polyphénols totaux

UV: Ultraviolet

Liste des Figures

Figure	Titre	Page
1	Structure de base des polyphénols	7
2	Structure de base de Flavonoïdes	7
3	Structure de base d'Alcaloïdes	8
4	Présentation de <i>Rhamnus alaternus</i> L	19
5	Les fleurs de <i>Rhamnus alaternus</i>	19
6	Le fruit de <i>Rhamnus alaternus</i>	19
7	<i>Rhamnus alaternus</i> (photo prise au niveau de capivi)	22
8	A-partie aérienne séchées de <i>R. alaternus</i> B-poudre de <i>Rhamnus alaternus</i>	23
9	Schéma de l'effet anti-hémolytique de l'extrait de <i>Rhamnus alaternus</i> L	29
10	Mise en évidence des flavonoïdes au niveau des extraits de <i>R. alaternus</i>	31
11	Mise en évidence des Terpénoïdes au niveau des extraits de <i>R. alaternus</i>	32
12	Mise en évidence des alcaloïdes (wagner/mayer) au niveau des extraits de <i>Rhamnus alaternus</i>	32
13	Mise en évidence des tanins au niveau des extraits de <i>R. alaternus</i>	32
14	Mise en évidence des stérols au niveau des extraits de <i>R. alaternus</i>	33
15	Mise en évidence des coumarines au niveau des extraits de <i>R. alaternus</i>	33
16	Mise en évidence des quinones au niveau des extraits de <i>R. alaternus</i>	33
17	Mise en évidence des saponines au niveau des extraits de <i>R. alaternus</i>	34
18	Mise en évidence des composés réducteurs au niveau des extraits de <i>R. alaternus</i>	34
19	L'hémolyse des érythrocytes induit par l'hypotonie	36
20	Hémolyse des érythrocytes induit par H ₂ O ₂	36
21	Hémolyse des érythrocytes induit par la température 35°C 45°C 55°C	37
22	L'effet protecteur des infusés à différentes dilution de <i>R. alaternus</i> vis-à-vis de l'hémolyse Hypotonique	38
23	L'effet protecteur des décoctés à différentes dilution de <i>R. alaternus</i> vis-à-vis de l'hémolyse Hypotonique	38
24	L'effet protecteur des extraits Hydro alcooliques à différentes dilution de <i>R. alaternus</i> vis-à-vis de l'hémolyse Hypotonique	39
25	L'effet protecteur des infusés à différentes dilution de <i>R. alaternus</i> vis-à-vis de l'hémolyse chimique	40
26	L'effet protecteur des décoctés à différentes dilution de <i>R. alaternus</i> vis-à-vis de l'hémolyse chimique	41
27	L'effet protecteur des extraits hydro alcooliques à différentes dilution de <i>R. alaternus</i> vis-à-vis de l'hémolyse chimique	41
28	L'effet protecteur des extraits des infusés à différentes dilution de <i>R. alaternus</i> vis-à-vis de l'hémolyse Thermiques	42
29	L'effet protecteur des extraits des décoctés à différentes dilution de <i>R. alaternus</i> vis-à-vis de l'hémolyse Thermiques	43
30	L'effet protecteur des extraits hydro alcooliques à différentes dilution de <i>R. alaternus</i> vis-à-vis de l'hémolyse thermiques	43

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Principales plantes médicinales et leurs usages médicinaux	5
2	Quelques exemples de plantes médicinales douées d'activité anti-hémolytique	16
3	Les noms vernaculaires de la plante	17
4	Classification botanique et phylogénétique de <i>Rhamnus Alaternus</i>	18
5	Les tests phytochimiques des parties aériennes de <i>Rhamnus Alaternus</i> L	31
6	Teneurs moyennes en polyphénols totaux et en Flavonoïdes	35

Résumé

Ce présent travail a pour objectif, la mise en évidence des composés phytochimiques par la méthode colorimétrique à base des tests spécifiques et l'estimation in vitro de l'activité anti-hémolytique des extraits de la partie aérienne d'une plante médicinale : *Rhamnus alaternus* L. contre une hémolyse induite par l'hypotonie, H₂O₂ et la chaleur. Le criblage phytochimique a permis d'identifier une diversité des métabolites secondaires à savoir, les terpénoïdes, les quinones, les saponines et les composés réducteurs ont été révélés très positivement, suivie des flavonoïdes et les tanins dont la prédominance est enregistrés dans les extraits aqueux d'infusion. Les stérols n'ont pas été détectés. Les résultats de l'activité anti-hémolytique contre l'hémolyse hypotonique montrent que L'extrait de l'infusion dilué à 25% a donné une bonne protection des érythrocytes avec un maximum de 97.92 % (0.2% NaCl). La protection des extraits de la plantes contre le H₂O₂ est positive pour l'ensemble des dilutions des extraits avec un maximum à la dilution de 25% pour la majorité des tests. . Les taux de l'activité anti-hémolytique en présence des extraits de *Rhamnus* contre la chaleur indiquent que quelque soient les dilutions pour l'ensemble des extraits, à la température 45C° et 55c° la protection est marquée pour tous les extraits et dilutions. A 35 C° l'activité anti-hémolyse est inhibée.

Mots clés : *Rhamnus alaternus* L , Extraction , Phytochimie , Activité anti-Hémolytique

Abstract

The aim of the present work is to identify phytochemical compounds using a colorimetric method based on specific tests, and to estimate in vitro the anti-hemolytic activity of extracts from the aerial part of a medicinal plant: *Rhamnus alaternus* L. against hemolysis induced by hypotonia, H₂O₂ and heat. Phytochemical screening identified a diversity of secondary metabolites: terpenoids, quinones, saponins and reducing compounds were found to be highly positive, followed by flavonoids and tannins, which were predominant in aqueous infusion extracts. Sterols were not detected. The results of the anti-hemolytic activity against hypotonic hemolysis show that the infusion extract diluted to 25% gave good erythrocyte protection with a maximum of 97.92% (0.2% NaCl). The protection of plant extracts against H₂O₂ is positive for all dilutions of extracts, with a maximum at the 25% dilution for most tests. Rates of anti-hemolytic activity in the presence of *Rhamnus* extracts against heat indicate that whatever the dilutions for all extracts, at temperatures of 45°C and 55°C protection is marked for all extracts and dilutions. At 35°C, anti-hemolysis activity is inhibited.

Key words: *Rhamnus alaternus* L , Extraction , Phytochemistry , Anti-hemolytic activity

Remerciement
Dédicaces
Liste des abréviations
Listes des figures
Liste des tableaux
Résumé

Table des matières

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

Partie 1. Synthèse bibliographique

Généralité sur les plantes médicinales et phytothérapie

1. Plantes médicinales.....	4
1.1. Introduction.....	4
1.2. Définition.....	4
1.3. Principes actifs.....	5
1.4. Utilisation.....	5
1.5. Les métabolites secondaires.....	6
1.5. 1. Les composés phénoliques.....	6
1.5. 2. Les alcaloïdes.....	8
1.5. 3. Les terpénoïdes.....	8
1.6. Les extraits de plantes médicinales.....	9
1.6. 1. Les formes des extraits de plantes médicinales.....	9
2. phytothérapie.....	11
2. 1. Définition.....	11
2. 2. Différent type de phytothérapie.....	11
2. 3. Phytothérapie pharmaceutique.....	12
2. 4. Avantage et efficacité de la phytothérapie.....	12

Généralités sur L'Hémolytique

1. Définition.....	13
2. Pathologie.....	13
2. 1. Hyper hémolyse et les maladies associées.....	13
2. 2. Anémies hémolytiques corpusculaires.....	13
2. 3. Anémies hémolytiques non corpusculaire.....	14
2. 4. Anémies résultantes d'une carence nutritionnelle.....	14
3. Les Anti-hémolytiques.....	15

Présentation de la plante *Rhamnus alaternus* L

1. Dénominations de <i>Rhamnus alaternus</i>	17
2. Origine et aire de répartition.....	17
3. Classification et caractère botanique.....	18
4. Description générale.....	18
5. Description de l'habitat.....	19
6. Composition chimique de <i>Rhamnus alaternus</i>	19
7. Principales utilisations.....	20
8. Toxicité de <i>Rhamnus alaternus</i>	20

Partie 2. Expérimentale

Chapitre 1. Matériels et Méthodes

1.1 Matériels et Méthodes.....	22
1.1.1. Généralité.....	22
1.1.2. Matériels biologiques.....	22
1.1.3. Méthodologie.....	23
1.1.3.1. Séchage et broyage du matériel végétal.....	23
1.1.3.2. Préparation des extraits des parties aériennes de l'Alterné.....	23
1.1.3.3. Les tests phytochimiques.....	24
1.1.3.4. Dosage des polyphénols totaux.....	25
1.1.3.5. Dosage des flavonoïdes.....	26
1.1.3.6. Evaluation de l'activité anti-hémolytique de <i>Rhamnus alaternus</i> L.....	26

Chapitre 2. Résultats et interprétations

2. 1. Résultats et interprétations des tests photochimiques.....	31
2. 2. Résultats du dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes.....	35
2. 3. Résultats et interprétations des tests de protection anti-hémolytique.....	35
2. 3.1. Résultats de l'activité hémolytique induite par hypotonie, substance chimique et la chaleur.....	35
2. 3.2. Résultats de l'effet protecteur des extraits.....	38
Discussion générale.....	46
Conclusion générale.....	49
Références bibliographiques.....	52

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (Maurice, 1997). Actuellement, l'ethnopharmacologie s'emploie à recenser partout dans le monde des plantes réputées actives et dont elles appartiennent à la recherche moderne, de préciser les propriétés et valider les usages car on estime qu'environ 80% des habitants de la planète ont recours aux médicaments traditionnels à base de plantes en tant que soins de santé primaire (Fleurentin et Pelt, 2008).

La phytothérapie est une thérapeutique alternative ou parallèle dans beaucoup de maladies aiguës et chroniques. Elle connaît un regain d'intérêt dans de nombreux pays à travers le monde. En effet, un grand nombre de plantes sont utilisées en médecine traditionnelle en Algérie dont certaines pour traiter l'hémolyse

La valorisation des ressources naturelles est une préoccupation qui devient de plus en plus importante dans de nombreux pays. Ainsi, depuis son assemblée générale, l'OMS recommande l'évaluation de l'innocuité et de l'efficacité des médicaments à base des plantes en vue de standardiser leur usage et les intégrer dans les systèmes de soins conventionnels (OMS, 2000).

Le bassin méditerranéen est très diversifié en espèces végétale et représente un grand intérêt pour toute étude scientifique. Sa grande richesse floristique est liée à l'hétérogénéité des facteurs paléogéographiques, géologiques et écologiques (Quezel et al., 1988).. Les travaux récents affirment que à cette richesse floristique est associée une originalité sur le plan systématique (nombreuses plantes endémiques), sur le plan phytochimique (spécificité des substances biosynthétisées) et aussi sur le plan pharmacologique. L'Algérie occupe une situation privilégiée qui lui confère une flore très diversifiée représentée par environ 3000 plantes vasculaires inventoriées réparties en 123 familles botaniques (Tlili-Ait Kaki et al., 2013).

L'existence de recettes de la médecine traditionnelle qui se sont révélées positives pour le traitement des pathologies sanguines nous a amené à nous intéresser à une espèce végétale d'origine Algérienne qui est *Rhamnus alaternus* L. Cette espèce, connue sous le nom commun « Mliess » est largement utilisée dans les régions Algériennes. Malgré son utilisation très vaste dans la médecine traditionnelle, les parties végétatives de *Rhamnus alaternus* restent très peu étudiées scientifiquement et spécialement dans la lutte contre l'hémolyse

Introduction

Dans cet axe de recherche globale sur les plantes douées de propriétés thérapeutiques s'insère l'objectif de notre thème de mémoire de master dont le but est l'évaluation du pouvoir anti-hémolytique in vitro de *Rhamnus alaternus*. Les différents extraits des feuilles et de tiges de l'alaterne ont été testés pour leur potentiel anti-hémolytique in vitro, en évaluant leur capacité à stabiliser l'intégrité des érythrocytes contre l'hémolyse induite expérimentalement

Notre mémoire est structuré en deux parties :

- ✓ Une partie de synthèse bibliographique permettant de définir plusieurs termes abordés dans notre sujet
- ✓ Une partie expérimentale dont le premier chapitre exprime la méthodologie utilisée et les paramètres mesurés
- ✓ Un deuxième chapitre qui traite les résultats et discussions qui permettent de d'analyser nos résultats en comparaison avec d'autres travaux déjà réalisés, finalement, une conclusion générale résume l'ensemble du travail effectué et fini par des perspectives

Partie théorique
Synthèse bibliographique

Généralité sur les plantes médicinales et phytothérapie

1. Plantes médicinales

1. 1. Introduction

Depuis très longtemps, les plantes médicinales jouent un rôle déterminant dans la conservation de la santé des hommes et la survie de l'humanité. Elles sont un patrimoine sacré et précieux et constituent une réponse de choix pour fournir à l'organisme, de façon naturelle, les substances nécessaires pour maintenir son équilibre vital.

1. 2. Définition

Les plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine (**Dutertre, 2011**). En effet, Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine, feuille, fleur (**Dutertre, 2011**). D'après **Hordé (2014)**, les plantes médicinales sont utilisées par l'homme depuis près de 7 000 ans et que certains animaux les consomment aussi dans un but thérapeutique. Environ 35 000 espèces de plantes sont employées à l'échelle mondiale à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne, les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important (**Elqaj et al., 2007**). Les espèces végétales d'intérêt médicinales sont impliquées dans différents secteurs à l'état brut ou sous formes d'huiles, extraits, solutions aqueuses ou organiques (**Attijet, 1995**). Leurs préparations à base végétales contiennent un ou plusieurs principes actifs utilisables à des fins thérapeutiques (**Farnsworth et al., 1986**).

1. 3. Principes actifs

Parmi les originalités majeures des végétaux leurs capacités à reproduire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques, glucides, protides, lipides, ils accumulent fréquemment des métabolites secondaires. Ces derniers, représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Macheix et al., 2005**). Les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants biochimiques naturellement présents dans une plante, ils lui confèrent son activité thérapeutique. Les principes actifs se trouvent dans toutes les parties de la plante, mais de manière inégale et ils n'ont pas les mêmes propriétés. Exemple type, l'oranger ; ses fleurs sont sédatives, mais son écorce est apéritive (**Sebai et Boudali, 2012**). D'après **Amlan et Patra (2010)**, Plus de 200.000 structures de métabolites secondaires ont été identifiées. Ces structures jouent un rôle important dans l'odorat et

protection de plante contre les ravageurs et radiations ultra-violetes solaires (**Kamra et al., 2006**). Ils ont aussi un rôle important dans les interactions de la plante avec son environnement, telle que l'attraction des insectes pollinisateurs (**Greathead, 2003**), communication intercellulaire, défense et régulation des cycles catalytiques (**Guillaume, 2008**).

1. 4. Utilisation

Depuis plusieurs années, l'utilisation de plantes médicinales ou de préparations à base de plantes connaît un succès croissant. Aujourd'hui, plus de la moitié de la population mondiale pratique la phytothérapie (**Sheng-Ji, 2001**). Les plantes médicinales servent pour la production de produits pharmaceutiques, onguents, crèmes et autres produits naturels. Dans les pays en voie de développement. Parmi les médicaments obtenus à partir de plantes, on trouve le taxol, isolé de l'if (*Taxus baccata*) qui a sa place dans le traitement des cancers gynécologiques (**Suffness, 1995**). L'artémisinine, substance isolée d'une armoise chinoise (*Artemisia annua*) est utilisée dans le traitement des formes résistantes contre la malaria (**Mouchet et al., 2004**). Le ginkgo (*Ginkgo biloba*) est utilisé sous forme d'extrait lors de troubles de la circulation cérébrale (**Gentiana, 2001**) (Tableau 1)

Tableau 1 : Principales plantes médicinales et leurs usages médicaux (**Iserin, 2001**)

Plantes	Usages thérapeutiques
Aloès (<i>Aloe vera</i>)	Pâte de plante fraîche contre les plaies et brûlure bénignes
Consoude (<i>Symphytum officinale</i>)	Onguent ou cataplasme de feuilles contre les entorses et contusions.
Grande camomille (<i>Tanacetum parthenium</i>)	Feuilles fraîches ou teinture contre la migraine et maux de tête.
Mélicite (<i>Melissa officinalis</i>)	Infusion contre l'anxiété, sommeil difficile, Indigestion. Lotion contre l'herpès
Souci (<i>Calendula officinalis</i>)	Crème contre les coupures, écorchures. Infusion Contre les mycoses
Menthe poivrée (<i>Mentha piperita</i>)	Infusion contre le maux de tête et indigestion. Lotion contre les démangeaisons.
Romarin (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	Infusion comme le tonique du système nerveux et contre la digestion difficile
Sauge officinale (<i>Salvia officinalis</i>)	Infusion contre les maux de gorge, aphtes et Diarrhées.
Millepertuis (<i>Hypericum perforatum</i>)	Teinture contre la dépression et troubles de la ménopause. Huile antiseptique et cicatrisante.
Thym (<i>Thymus vulgaris</i>)	Infusion contre la toux, rhume et infections pulmonaires. Lotion contre les mycoses

1. 5. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules qui ne sont pas directement impliquées dans les processus de croissance des organismes vivants, contrairement aux métabolites primaires. Ils sont plus spécifiques aux plantes, bactéries et champignons, mais on les découvre également chez certains groupes animaux (**Gravot, 2009**). Les métabolites secondaires présentent une infinie variété de substances, dont le rôle dans la plante est encore souvent mal connu. Un grand nombre de ces métabolites secondaire présente des propriétés pharmacologique intéressantes par fois exploitées dans un but thérapeutiques, soit après extraction à partir de la plante, (morphine du pavot, quinine de quinquina...etc) soit directement, on utilise alors la plante ou une préparation simple issue de la plante (poudre, teinture, extrait...etc). (**Bénédictte, 2007**) On distingue classiquement trois grandes catégories de métabolites secondaires chez les végétaux

- * Les composés phénoliques
- * Les alcaloïdes et composés azotés
- * Les composés terpéniques

1. 5. 1. Les composés phénoliques

* Les polyphénols

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal. Ils sont caractérisés comme l'indique le nom par la présence des plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes, généralement de haut poids moléculaire. Ces composés sont les produits de métabolisme secondaires des plantes. (**Tapiero et al., 2002**). Les polyphénols prennent une importance croissante, notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. En effet, leur rôle d'antioxydants naturel suscite de plus en plus d'intérêt pour prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires, et neuro-dégénératives

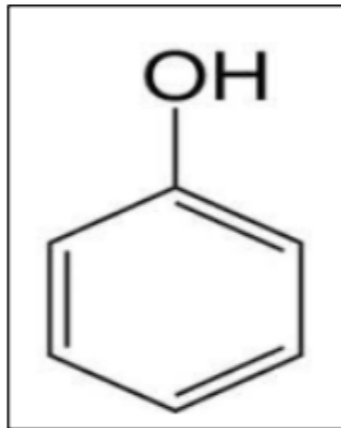


Figure 1 : Structure de base des polyphénols

* Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments polyphénoliques qui contribuent entre autres à colorer les fleurs et les fruits en blanc. Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales antioxydants, ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains flavonoïdes sont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antibactériennes, et antivirales (**Iserin, 2001**)

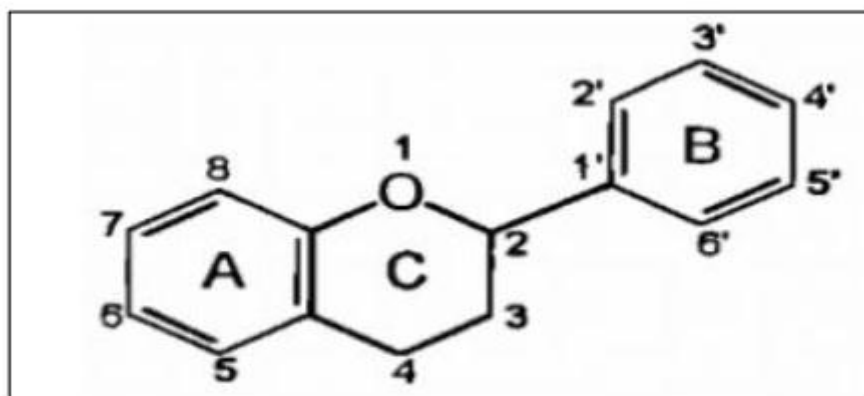


Figure 2 : Structure de base des flavonoïdes

*Les tanins

Le procédé du tannage est utilisé pour la production de cuir depuis la préhistoire,. Le terme tanin fut introduit à la fin du dix-huitième siècle pour définir les substances organiques présentes dans les extraits aqueux des feuilles, fleurs, tiges et fruits (**Swain, 1979**). Le poids moléculaire des tanins varie entre 500 et 2000 Dalton et 3000 pour les structures les plus complexes. Les tanins sont des composés phénoliques très abondants chez les angiospermes, les gymnospermes et les dicotylédones (**Konig et al., 1994**). Ils sont caractérisés par une saveur astringente. (**Scalbert, 2000**)

1. 5. 2. Les alcaloïdes

Initialement défini comme des substances azotées, basiques, d'origine naturelle est de distribution restreinte. Ils ont une structure complexe. Leur atome d'azote est incluse dans un système hétérocyclique. Leur détection consiste dans le cas le plus général à une précipitation qu'est due à la capacité des alcaloïdes de se combiner avec les métaux qui constituent les réactifs spécifiques utilisés. (Bruneton, 2008) Les alcaloïdes présentent généralement une intense activité pharmacologique. La médecine les emploie le plus souvent à l'état purs et ils sont utilisés comme antalgiques majeur (morphine), antipaludéen (quinine), pour combattre l'excès d'acide urique (colchicine), comme substance paralysante (curane, caféine), comme poisons (strychnine, nicotine), comme stupéfiants (cocaïne, mexaline), comme cholinergique (pilocarpine) ou comme anticancéreux (Taxol, vinblastine et vincristine) (Bruneton, 2008). A côté des bien faits de ces différentes molécules, il ne faut pas oublier que lorsqu'elles sont à un taux élevé, elles sont susceptibles de provoquer des effets indésirables, pour cela, elles sont appelées substances anti nutritionnelles. Leur présence diminue la qualité nutritionnelle des aliments auxquels elles sont associées. (Bruneton, 2008)

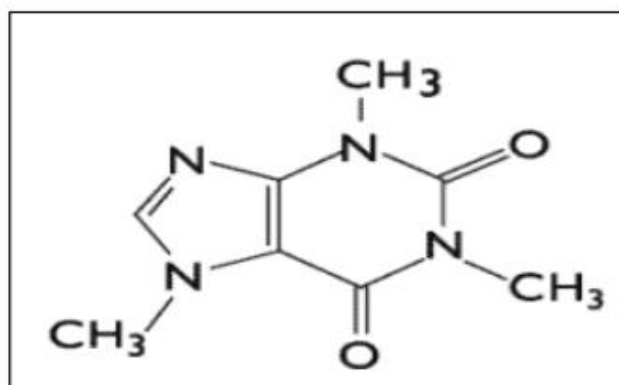


Figure 3 : Structure de base d'Alcaloïdes.

1. 5. 3. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes forment une classe de substances naturelles organiques dont beaucoup sont rencontrées quotidiennement et dont les noms traduisent souvent ce caractère familier. Elles comprennent le menthol, à l'origine de l'odeur des feuilles de menthe froissées, le cédrène, responsable de l'odeur des crayons de bois, l'acide abiétique, constituant important de la résine des pins, la bétuline, pigment blanc de l'écorce des bouleaux, le β -carotène, pigment orange des carottes et de nombreuses baies, le caoutchouc. L'extrême diversité des structures, des propriétés physiques et chimiques et des activités biologiques des terpénoïdes dissimule une unité profonde : tous sont produits par le même mécanisme biosynthétique fondamental qui est

une variante des mécanismes biosynthétiques conduisant aux acides gras. En outre, dans tous les êtres vivants, des dérivés terpénoïdes sont apparemment responsables d'une même fonction indispensable au maintien de la vie. Ces dérivés sont des constituants membranaires améliorant les propriétés mécaniques de ces membranes. L'étude des structures, des réactions et des synthèses des terpénoïdes a joué un rôle extrêmement important dans le développement de la chimie organique : des concepts généraux, comme ceux de tension des petits cycles, de transposition de squelette, de synthèse stéréospécifique, d'analyse conformationnelle, de polymérisation des oléfines, etc., trouvent leur origine immédiate dans l'étude des terpénoïdes

1. 6. Les extraits de plantes médicinales

Les extraits de plantes sont des substances de consistance fluide, semi-solide, ou solide, résultant de l'évaporation soit d'un suc de plante, soit d'une solution extractive obtenue en traitant les matières premières végétales par un solvant approprié. Chaque extrait est défini par son mode de préparation, la composant, la teneur éventuelle en principes actifs, la perte à la dessiccation ou le résidu sec. Un extrait se prépare donc en deux temps :

* La préparation du liquide extractif.

* La concentration des solutions extractives effectuées par évaporation. (Fouché et al, 2000)

1. 6. 1. Les formes des extraits de plantes médicinales

❖ Les extraits aqueux

A. Les tisanes : regroupent les infusions et les décoctions

* **Infusion** : L'infusion consiste à recouvrir d'eau bouillante les parties végétales fragmentées. Elle convient aux parties de la plante les plus fragiles et à celle riches en huiles essentielles. Le temps d'infusion est variable selon les plantes (de quelques minutes à 1 heure) (Nogaret Ehrhart, 2003).

* **La décoction** : convient aux parties ligneuses de la plante comme les tiges, les racines et l'écorce. Il s'agit ici de plonger les parties de plante sèche à froid dans de l'eau et de porter le tout à ébullition pendant 10 minutes à 1h en fonction des plantes (Potel, 2002).

B. La macération :

Il s'agit d'un processus d'extraction à température ambiante (15-20°C) le liquide employé peut être l'eau, alcool, le temps de macération dépend des propriétés intrinsèques de la plante la macération à l'eau ne doit pas se prolonger trop long temps pour éviter tout risque de fermentation ou de moisissure (Potel, 2002).

❖ **Extrait par solvant éthanoïques ou hydro-alcooliques**

A. Les teintures : Sont des préparations alcooliques résultant d'un traitement extractif exercé par alcool éthylique sur les drogues sèches. On les prépare par macération (drogue+ solvant à froid) ; par lixiviation (passage plus ou moins rapide du solvant froid ou chaud à travers la poudre végétale). Les teintures correspondent au 1/5e de leur poids de drogue sèche (sauf les teintures héroïques qui sont au 1/10e). (**Odile, 2011**)

B. Les teintures mères : Actuellement, sont utilisés les teintures mères homéopathiques préparées à partir de drogues fraîches par macération 10 jours minimum (selon la pharmacopée européenne) dans de l'éthanol de titre différent selon les plantes (45 à 65° en général).Elles correspondent au 1/10e de leur poids de plante sèche (il faut donc tenir compte du degré de déshydratation de la plante)

C. Les suspensions intégrales de plantes fraîches (SIPF) :

Sont des cryobroyats composés de drogue fraîche suspension dans une solution hydro alcoolique. Elles sont obtenues à partir de la totalité de la drogue fraîche par un procédé original qui permet le blocage des réactions enzymatiques évitant ainsi tout risque de modification, ou dégradation des principes actifs. Il est indispensable de les diluer afin de débloquent les réactions enzymatiques et de diminuer le titre alcoolique (**Fouchet et al, 2000**)

❖ **Les extraits glycinés**

La plante fraîche est cryobroyée puis les principes actifs hydrosolubles isolés par extractions successives dans l'eau et l'alcool de degré croissant. L'alcool est évaporé sous vide puis le résidu sec est mis en suspension dans le glycérol (**Bertrand, 2010**).

❖ **Autres formes galéniques des extraits**

Selon **Cazau-Beyret Nelly (2013)** plusieurs formes de préparations d'extraits peuvent être mises en œuvre pour l'obtention d'effet thérapeutique à partir d'une plante

A. Les extraits secs pulvérulents : Leur préparation se fait en trois phases : l'extraction des principes actifs (PA) par macération ou lixiviation dans l'eau ou l'alcool, la filtration et la concentration et en fin l'élimination du solvant par séchage.

B. La poudre de plante : Obtenue par simple broyage de la plante sèche, elle conserve le totum de la plante. Des gélules peuvent être fabriquées avec cette poudre

2. La phytothérapie

2. 1. Définition

Le mot " phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : phuton et therapeia qui signifient respectivement " plante" et "traitement". La phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états Pathologiques au moyen de plant (**Chabrier, 2010**), de parties de plante ou de préparations à base de plante C'est une thérapeutique inspirée de la médecine traditionnelle basée sur un savoir empirique enrichi au fil des générations. C'est ce qu'on appelle la «phytothérapie traditionnelle», qui est toujours grandement utilisée dans certains pays qui certains pays dans qui perpétuent les usages de leurs ancêtres (**Limonier, 2018**)

2. 2. Différent type de phytothérapie

A. L'aromathérapie

Aromathérapie est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes (**Roberto, 1982**), ces huilessont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau. On distingue deux types d'aromathérapie. Il y a l'aromathérapie de terrain grâce à laquelle l'homme est considéré dans sa globalité (traitement de fond) et l'aromathérapie symptomatique pour traiter les manifestations ou les cause d'une maladie (**Teuscher et al, 2005**)

B. La gemmothérapie

Se fonde sur l'utilisation des jeunes tissus végétaux frais tels que les bourgeons et les jeunes pousses sous forme d'extraits alcooliques et glycinés (**Andrainne et Leunis 2008**).

C. l'herboristerie

Est la spécialité ancienne qui entre dans la préparation des plantes fraîches ou sèches à des usages médicinales soit par l'utilisation de la plante entière soit d'une partie de celle-ci. La préparation se fait par des méthodes simples généralement tisane à base d'eau (décoction, macération, infusion) (**Bost 2016**).

D. l'homéopathie

L'homéopathie a été mise au point par la médecine allemande Samuel Hahnemann. Le principe de cette méthode est la règle de similitude : similia similibus curentur (les semblables sont guéris par les semblables), c'est-à-dire on administre au patient une dose infinitésimale d'une substance (animale, minérale, ou végétale) et produire expérimentalement chez une personne

saine des symptômes semblables à ceux présentés par la personne affectée (**Grunwald et Janick, 2006**).

2. 3. Phytothérapie pharmaceutique

Utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats... (**Strang, 2006**).

2. 4. Avantage et efficacité de la phytothérapie

De nombreuses études scientifiques relatent les effets bénéfiques des plants, parfois même supérieures aux médicaments, et ce dans des plus grandes médicales organismes. Aujourd'hui s'attachant à démontrer leur efficacité : L'EMA, L'ESCOP, L'OMS et la commission en Allemagne, ces 4 instances répertorient les vertus médicinales des plantes, étudient les usages traditionnels et se prononcent sur leur utilité dans le traitement de certains symptômes :

- La phytothérapie couvre un très champ de maladies et l'industrie pharmaceutique utilise de nombreux principe actifs végétaux pour traiter toutes sortes de maladies.
- Les médicaments chimiques provoquent souvent des effets secondaires néfastes (responsables de 10 à 20 % des hospitalisations). Contrairement aux phyth-omédicaments qui ne présentent quasi pas d'effets si utilisés avec précaution
- Les plantes médicinales sont beaucoup moins chères que les médicaments de synthèse
- La phytothérapie peut être utilisée comme un traitement de prévention
- La phytothérapie est accessible pour tout le monde et ne nécessite pas d'obtenir une ordonnance
- Le corps humain est mieux adapté à un traitement à base de plantes qu'à une thérapie essentiellement chimique

La production des plantes est très peu polluante contrairement aux médicaments chimiques (**Lynda et Cylia, 2018**)

Généralités sur L'Hémolyse

I. Définition

L'hémolyse est un phénomène irréversible au cours duquel les hématies sont détruites et libèrent leur contenu cellulaire notamment l'hémoglobine (Hb). Le degré d'hémolyse peut être régulé soit par :

* Des facteurs intracellulaires qui peuvent être : l'état de la membrane, le métabolisme énergétique intracellulaire, la structure de l'hémoglobine.

* Des facteurs extracellulaires : tels que le plasma, l'état anatomique de l'appareil circulatoire et l'état fonctionnel du système mononuclé phagocytaire (macrophages, monocytes et leurs cellules souches) (Aguilar, 2007). On peut distinguer deux types d'hémolyses, l'une est physiologique et l'autre est pathologique (hyper hémolyse) (Lippi et al., 2011).

2. Pathologie

2. 1. Hyper hémolyse et les maladies associées

L'hyper hémolysé est le dépassement du processus physiologique de lyse des GR qui devient pathologique, ce phénomène est dû à une destruction excessive des hématies ou à un raccourcissement de leur durée de vie. Il peut se dérouler dans les vaisseaux (intra vasculaire) . L'hémoglobine libérée se lie alors à l'haptoglobine. Comme, il peut se manifester hors des vaisseaux (extravasculaires), notamment au niveau de la rate (Béraud, 2014).

L'hyper hémolyse peut se produit par l'introduction d'agents chimiques tel que certains médicaments, capables de modifier l'intégrité cellulaire en induisant une réorganisation et des changements morphologiques qui résultent d'une cascade d'effets à partir de l'altération de la membrane lipidique conduisant finalement à la formation de sphéricités et par conséquent à la lyse des érythrocytes. (Portier et al., 2007 ; Manaargadoo-Catin et al., 2016). Un déséquilibre dans les proportions des radicaux libres générés et le répertoire antioxydant inhérent au système explique la diminution de la durée de vie des globules rouges pendant de nombreuses pathologies hyper hémolytiques (Hebanni et al., 2014)

2. 2. Anémies hémolytiques corpusculaires

L'hémolyse pathologique se traduit souvent par des anémies hémolytiques. Ce sont des anémies congénitales par anomalies héréditaires des hématies qui peuvent affecter

➤ **La membrane des hématies** : Anomalies de structure des protéines membranaires telles que l'Anykrine et la protéine 3, conduisant au dysfonctionnement des ATP ase membranaires et à une augmentation de la perméabilité aux ions Na⁺ (sphérocytose,

stomatocytose).

➤ **L'Hémoglobine** : Ces anomalies qui causent les hémoglobinopathies, peuvent être soit constitutionnelles de la synthèse de globine (diminution ou absence de la synthèse des chaînes de globines α ET β thalassémie) ou constitutionnelles de la structure de globine (CAS de la drépanocytose). Comme, elles peuvent être des anomalies acquises de la molécule d'hémoglobine, c'est le cas de la méthémoglobine qui est congénitale ou acquise, la forme acquise provient d'une exposition aux toxiques ou aux agents oxydants.

➤ **Les enzymes** : Il existe plusieurs formes de déficiences d'enzymes (enzymopathies) pouvant causer l'anémie hémolytique. La plus courante est la déficience en une enzyme nommée glucose 6-phosphate déshydrogénase (G6PD). Un déficit de cet enzyme provoque un déficit en NADPH qui se répercute sur la régénération du glutathion réduit et par conséquent sur l'activité du glutathion peroxydase au niveau du globule rouge. Ce déficit se traduit par un défaut des peroxydes, à l'état basale, cette anomalie est bien supportée mais la prise de facteurs déclenchant (agents chimiques ou certains médicaments anti inflammatoires) déclenche des crises hémolytiques (**Béraud, 2014**)

2. 3. Anémies hémolytiques non corpusculaire

L'hémolyse est induite par une destruction directe des hématies après leur altération. Ces anémies correspondent à des maladies acquises, telles que les anémies hémolytiques immunologiques et toxiques qui sont la conséquence de l'action de divers produits toxiques comme certains médicaments.

2. 4. Anémies résultantes d'une carence nutritionnelle

➤ **Anémie ferriprive** : C'est la plus fréquente des anémies, l'anémie par carence martiale se développe par stades, au cours de la première étape, les besoins en fer sont supérieurs aux apports ce qui provoque l'épuisement progressif des réserves de fer dans la moelle osseuse, à mesure que les stocks diminuent, l'absorption du fer alimentaire augmente au cours des étapes ultérieures, la carence altère la synthèse des globules rouges, puis finit par provoquer une anémie. (**Béraud, 2014**).

➤ **Anémie par manque en vitamine B12 et en acide folique** : Cette anémie est particulièrement courante chez les personnes âgées (plus de 75 ans). Elle est provoquée plutôt par un trouble d'absorption de la vitamine B12 au niveau intestinal qu'à une carence alimentaire (car les réserves sont importantes). Une carence en vitamine B12 et en acide folique affecte la

moelle osseuse et est responsable d'une anémie macrocytaire mégalo-blastique (les globules rouges sont plus grand que la normale) (**Béraud, 2014**).

3. Les Anti-hémolytiques

A- Anti-hémolytiques classiques

L'anémie hémolytique est un sujet relativement complexe qui demande obligatoirement une investigation spécialisée pour déterminer des traitements appropriés, il y a autant de traitements qu'il y a de causes. Un certain nombre de substances synthétiques anti-hémolytiques qui réduisent l'hyper-hémolyse, sont disponibles. Le choix du traitement se porte notamment sur la prescription de fer, de vitamine B12 et d'acide folique. (**Federici et al., 2007 ; Leporrier, 2008**).

- **Le fer** : Le rôle physiologique du fer est la synthèse de l'hème dans la mitochondrie. Le Fe^{2+} et la protoporphyrine vont donner l'hème, qui passe alors dans le cytoplasme. L'hème ensuite s'associe aux sous unités de globine α et β pour former l'hémoglobine. Quand l'équilibre en fer est rompu (manque d'apport ou pertes élevées), l'organisme fait appel aux stocks de ferritine et d'hémosidérine. Lorsque ces stocks sont épuisés, on observe alors une diminution du fer plasmique ; l'érythropoïèse est ralentie, les érythroblastes s'appauvrissent en granules ferrugineux et les sidérolites disparaissent progressivement, l'anémie s'installe.
- **La vitamine B12 et B9 (cobalamine et acide folique)** : Ces deux vitamines dites anti mégalo-blastiques sont indispensables à la physiologie de l'hématopoïèse. En cas de carence de l'une de ces deux vitamines une hématopoïèse inefficace s'installe aboutissant à un état pathologique nommé « anémie mégalo-blastique » où les taux sanguins de plaquettes, de globules blancs et des globules rouges seront diminués. La conséquence commune aux modes d'action de la vitamine B12 et des folâtrés est d'intervenir au niveau cellulaire dans la synthèse de l'ADN, une carence de ces vitamines se traduira par un trouble cellulaire très particulier dans lequel la division cellulaire (ADN) sera affectée (**Dubost et Dupuis, 2011**).

B .Autres anti-hémolytiques

L'étude et la recherche de substances anti-hémolytiques d'origine végétale est en plein essor. En effet, des études entreprises ont montrés que les plantes constituent un réservoir de substances à potentiel anti-hémolytique dont les mécanismes d'action restent dans l'ensemble à déterminer.

Quelques exemples sont cités dans le tableau (2)

Tableau 2 : Quelques exemples de plantes médicinales douées d'activité anti-hémolytique

Matrice végétale	Tests utilisés	Effets	Références
Fleur de <i>Albutinus indicum</i>	Hémolyse induite par Na Cl	Activité Anti-hémolytique :70,24% à 1mg/ml d'extrait	Vidhya et Shobana, 2016
Feuilles, tige, fleur de <i>Gymnemas ylvestre</i>	Hémolyse induite par le H2O2	Activité anti-hémolytique :IC50=29,83 g/ml	(James et Alewo 2014)
Fleur de <i>Cassia auriculata</i>	Hémolyse induite par le Na Cl	Activité Anti hémolytique : 64% à 500µg/ml d'extrait	(Rani et al., 2014)
Extrait de <i>Annona muricata</i>	Hémolyse par TritonX100	Activité Anti-hémolytique : 85,7% à500 µg/ml d'extrait	(Muthu et Duraira, 2015)
Extraits de <i>Oryza sativa</i>	Hémolyse induite par le Na Cl	Effet Anti-hémolytique : 63,77% à 500µg/ml	(Rahman, Eswaraiah et al., 2015)
Fruit de <i>Persea americana</i>	Hémolyse induite par le H2O2	Effet anti-hémolytique IC50=0,0422mg/ml	(Nabavi et al.,2013)
Feuilles de <i>Piber betel</i>	Hémolyse induite par le H2O2	Activité Anti-hémolytique : 40.6% pour une concentration de 5mg/ml	(Chakraborty et Shah , 2011)

Présentation de la plante *Rhamnus alaternus* L

1. Dénomination de *Rhamnus alaternus*

Tableau 3. Les noms vernaculaires de la plante sont mentionnés dans le Tableau suivant :

	Noms (références)
Noms communs	Nerprun, Bourg-épine, épine de cerf (Bardin, 2004).
Noms targuis et kabyles	Ajrroudj, Khalis n'imidekh, Amliles (Beloued, 2001).
Noms arabes	Méliles, Qaced (Beloued, 2001); (Saidet et al., 2002); Oud el khir (Beloued, 2001; Ben Ammar et al., 2008; Ben Ammar et al., 2009) .
Noms français	Alaterne (Beloued, 2001), Nerprun méditerranéen (Izhaki et al. 2002)
Noms anglais	Italian Buckthorn, Mediterranean Buckthorn (Akerreta, 2009).

Les espèces du genre *Rhamnus* en Algérie

En Algérie, 9 espèces végétales appartenant à 3 genres sont répertoriées dans diverses régions et classées selon leurs caractéristiques morphologiques. On cite à titre d'exemple :

* *R. Alaternus* L : pousse dans les forêts, rocailles - |Méd./ - « Qaced». *ssp. euAlaternus* Maire
CC: dans toute l'Algérie. *ssp. Myrtifolia* (Willk.) Maire Rochers des montagnes - AR: KI-2,
CI, ASI-2-3,O3

* *R. lycioides* L : Forêts claires, rocailles- AC : dans toute l'Algérie, jusqu'au au Sud de l'Atlas saharien : *ssp. Oleoides* (L) Jah et Maire - |W.Méd

* *R. Frangula* L : Forêts humides R R: La Calle au lac des Sebaa - |Eur. As./ «Ahmerai».

* *R. Cathartica* L. Rochers calcaires des hautes montagnes RR: KI: Djurdjura, K2: Tababort, AS3 : Refaa |Euras./

* *R. alpina* L. Rochers calcaires des hautes montagnes AR : KI-2,CI,AS3-|Oro.W. Méd./ (**Quezel et Santa, 1963**).

2. Origine et aire de répartition

Originnaire d'Asie mineure et du pourtour méditerranéen (Europe et Afrique du nord). Cette plante se trouve dans les garrigues calcaires dans la zone du Chêne vert jusqu'à 1 000 mètres

d'altitude.

D'une grande longévité (100 ans environ), et d'une croissance lente, elle est recherchée pour être cultivé en bonsaï. *Rhamnus alaternus* se développe de façon spontanée sur les coteaux calcaires à une altitude qui varie de 0 à 1000 m. Elle a une répartition méditerranéenne. On la trouve dans les pays d'Afrique du nord, et sur le littoral de l'Europe méridionale

3. Classification et caractère botanique

Rhamnus alaternus est un arbuste ou arbrisseau à stipules herbacées caduques à feuilles persistantes, luisantes en dessus, et glauques en dessous, très glabres possédant un calice à tubercolé avec des fleurs en général dioïques. Le fruit est du genre drupiforme à 2-4 noyaux.

Le tableau ci-dessous nous montre la classification de *Rhamnus alaternus*.

Classification botanique et phylogénétique de *Rhamnus alaternus* (Yi-ling et Pan-Kai , 1982)

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Rhamnales
Famille	Rhamnaceae
Genre	<i>Rhamnus</i>
Nom binominal	<i>Rhamnus alaternus</i> L

4. Description générale

Rhamnus alaternus (Rhamnaceae), localement connue sous le nom de « Imlis » en Algérie, utilisée en phytothérapie, a une taille qui varie de 1 à 5m formant un buisson épais d'un vert assez brillant. Sa croissance est lente mais sa longévité peut atteindre 100 ans. Ses feuilles sont alternes, ovales, courtement pétiolées, épaisses et coriaces (figure 4). Les fleurs sont jaunâtres, petites et unisexuées groupées en bouquets (figure 5). Elles ont cinq sépales qui sont dressées dans les fleurs femelles et rabattus dans les fleurs males, les pétales sont absents. Le fruit est une baie que l'on qualifie de drupe. Il est petit, globuleux, de la grosseur d'un petit pois. Sa surface est d'abord rouge, puis devient noire à maturité (figure 6). Son odeur est nulle mais sa saveur est sucrée et acidulée. La récolte du fruit s'effectue en automne



Figure 4. Présentation de *Rhamnus alaternus* (Photo prise au niveau de Capivi)



Figure 5 : Les fleurs de *Rhamnus alaternus*



Figure 6 : Le fruit de *Rhamnus alaternus*

5. Description de l'habitat

Rhamnus alaternus est un arbuste qui est distribué le long du bassin méditerranéen, l'Asie et Europe (Gulias et al., 2004). Il se trouve dans les pays d'Afrique du nord : en Algérie, au Maroc ou elle serait commune en Tunisie, et dans les forêts du littoral méditerranéen, en Algérie elle pousse dans les forêts, les rocailles et surtout dans les rochers des montagnes (Ait Youssef, 2006).

6. Composition chimique de *Rhamnus alaternus*

Rhamnus alaternus est caractérisé par une richesse de substances phénoliques qui est spécialement les tanins, les anthraquinones tel que l'émodin, chysophanol, alaternin et physcion qui sont les quatre anthraquinones aglycones isolés des parties aériennes de *Rhamnus alaternus*

(Izhaki et al., 2002). La plante contient aussi des flavonoïdes glycosylés tel que kaempferol 3-O-Bisorhamninoside, rhamnocitrin 3-O-B-isorhamninoside et rhamnetin-3-O-B-isorhamninoside (Ban Ammar et al., 2009), et des flavonoïdes aglycones comme le kaempferol, quercétine et l'apigénine (Ben Ammar et al., 2008). Elle est aussi riche en flavones hétérosides (Stocker et al., 2004) et coumarines (Ben Ammar et al., 2005). La pulpe de *R. alaternus* est composée principalement d'eau (68%), de minéraux, de lipides, protéines et de fibres (cellulose, hemicellulose et lignine) (Izhaki et al., 2002).

7. Principales utilisations

En médecine traditionnelle *R. alaternus* a été employé en tant que digestif, diurétique, laxatif, astringent, hypotensif et pour le traitement des complications hépatiques et dermatologiques (Bhouri et al., 2012). Ainsi que les problèmes cardiovasculaires (Calvo et Cavero, 2014). Des études antérieures ont montré que l'extrait brut de *Rhamnus alaternus*, est un puissant antioxydant, antimutagène, anti-génotoxique (Ben Ammar et al 2008 ; Bhouri et al., 2012), antimicrobien (Kosalec et al., 2013). Les tiges et les feuilles de *Rhamnus alaternus* sont utilisées en Algérie, contre la jaunisse et les troubles hépatiques provoqué par le paludisme. Le fruit était utilisé en Algérie comme purgatif doux ; au Maroc- dans le Haut Atlas et le Moyen Atlas, il est toujours employé comme laxatif (Ait Youssef, 2006).

Les parties utilisées : le bois, le fruit, l'écorce ou les feuilles. Ces parties sont utilisées contre * l'anémie, la jaunisse » ictère » et autres maladies graves d'hémoglobine (écorce, feuilles)

* Maladies des voies respiratoires. (Baies)

* purificateur de sang (baies)

* Femme enceinte (baies)

* Douleurs d'articulations (feuilles)

* Inflammation de la bouche et l'aphte. (Feuilles)

* Traitement de la peau (feuilles)

* Utilisé en shampoing pour fortifier les cheveux et éliminer les pellicules.

* Apaise les douleurs dentaires et toniques. (Écorce)

* Traitement des pathologies du côlon et intestins (écorce)

8. Toxicité de *rhamnus alaternus*

Les parties toxiques de la plante sont : Les fruits murs et l'écorce. Cette plante contient des glycosides qui se transforment par hydrolyse en anthraquinones telles que l'émodine (une trihydroxy-méthyl-anthraquinone). Ces substances ont un effet purgatif. L'ingestion des fruits provoque des vomissements, des spasmes, des mydriases et des convulsions.

Partie expérimentale
Chapitre 1.
Matériels et méthodes

1. 1. Matériels et Méthodes

1. 1. 1. Généralité

Notre travail a été divisé en deux parties d'études : Une partie qui traite le screening phytochimiques afin de mettre en évidence la présence et la diversité des métabolites secondaires au niveau de *Rhamnus alaternus*. La deuxième partie a été consacrée à l'évaluation de l'activité anti-hémolytique des extraits de cette plante dont le but est d'évaluer le degré de protection du sang humain contre les facteurs hémolysants. Le protocole expérimental a été effectué au niveau de laboratoire de biochimie (3) à l'université Abdel Hamid Ibn Badis de Mostaganem, et au laboratoire d'hématologie à l'hôpital de Sidi-Lakhder

Le choix de cette espèce végétale (l'Alaterne) pour notre étude est en relation avec son usage largement connu par la population Algérienne dans le domaine médicinal et cosmétique.

1. 1. 2. Matériels biologiques

A. Le matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué des parties aériennes de *Rhamnus alaternus* L achetées de chez un Herboriste, ces échantillons ont été récoltés dans la région méditerranéenne. Les feuilles et les tiges ont été triées, lavées puis séchées à l'ombre à température ambiante pendant près de quelques jours (jusqu'à stabilisation du poids sec). Une fois sèches, ces organes ont été broyés puis stockés à l'abri de la lumière. La poudre végétale est réservée pour les tests phytochimiques et l'activité anti-hémolytique

Classification de *Rhamnus alaternus* L

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Rhamnales
Famille	Rhamnaceae
Genre	<i>Rhamnus</i>
Nom binominal	<i>Rhamnus alaternus</i> L



Figure 7 : *Rhamnus alaternus*
(Photo prise au niveau Capivi)

B. Le sang

Le sang humain utilisé provient de volontaires sains, non-fumeurs, n'ayant pas suivi de médication (pas de traitement anti-inflammatoires). Les échantillons sont récupérés dans des

tubes héparines, puis conservés à 4°C. De préférence d'utiliser le sang frais comme échantillon de test disponible le même jour du protocole expérimental

C. Matériels de laboratoire

Les réactifs	Verreries et appareils
Méthanol- Chloroforme- Réactif de Mayer - HCl- KI- NH ₄ OH-Andhydre acétique- H ₂ SO ₄ - Liqueur de Fehling A et B - Eau distillé- KCl- Na ₂ HPO ₄ - KH ₂ PO ₄ -NaCl- Folin- FeCl ₃	Tubes à essai - éprouvettes graduée flacons- bécher – entonnoir -papier filtre – balance- bain marie- centrifugeuse-UV- micropipette- plaque chauffante avec agitateur. Tubes héparines – Spectrophotomètre- Etuve

1. 1. 3. Méthodologies

1. 1. 3. 1. Séchage et broyage du matériel végétal

Après un séchage à l'air libre et à l'obscurité, les parties aériennes (tiges et feuilles) de l'Alaterne (*Rhamnus alaternus* L) ont été broyées séparément jusqu'à obtention d'une poudre fine et homogène.



Figure 8 : **A**, parties aériennes séchées de *R.alaternus* ; **B**, poudre de *R.alaternus*

1. 1. 3. 2. Préparation des extraits des parties aériennes de l'Alaterne

A. Préparation de la décoction en milieux aqueux

- Mélanger 40 g du matériel végétal séché et broyé avec 400 ml d'eau distillée
- Chauffer à une température d'ébullition stable, pendant 45mn, dans une plaque chauffante avec agitateur.
- Filtrer le mélange et récupérer le filtrat puis conserver au frais

B. Préparation de tisane par infusion en milieux aqueux

- Introduire 20 g de poudre végétale dans 200 ml de l'eau distillée bouillie
- Laisser infuser pendant 15 à 20 mn ensuite filtrer. et Le filtrat est conserver dans des flacons propres au réfrigérateur

C. Décoction en milieu hydro alcoolique (méthanol-eau 70/30)

- Mélanger 10 g du matériel végétal avec 70 ml de méthanol et 30 ml d'eau distillée.
- Chauffer à une température d'ébullition stable pendant 45 mn, dans une plaque chauffante avec agitateur
- Filtrer le mélange le filtrat récupéré est conservé au frais

1. 1. 3. 3. Les tests phytochimiques

Les tests phytochimiques sont réalisés sur les extrait de décocté de l'infusé et l'hydro-alcoolique, de la partie aérienne de L'Alaterne . La mise en évidence des constituants chimiques est basée sur la coloration de l'extrait déjà traitée par des réactifs révélateurs spécifiques pour chaque groupe chimique. Le taux des composés chimiques de l'extrait testé est estimé en fonction de l'intensité de la coloration

A. Les flavonoïdes

Ajouter à 2 ml d'extrait de plante, quelques gouttes de Hcl 37% et 0,5g de Mgcl₂. Le test positif est marqué par l'apparition d'une couleur rouge ou orange qui caractérise les flavonoïdes. (Karumi et al, 2004)

B. Les terpénoïdes

-Mélanger 1 ml de chloroforme et 1.5 ml de H₂ SO₄ avec 2.5 ml d'extrait. La présence des terpénoïdes est révélée par l'apparition de deux phases et une couleur marron en interphase.

C. Les alcaloïdes

2.5 ml d'HCl à 1 %, sont ajoutés à 1 ml d'extrait puis incubés au bain- marie pendant 10 min.

*** Réactif de Mayer**

Prendre 1,4ml de H₂cl₂ dans 60 ml d'eau distillé puis ajouter à 5g de KI 10ml d'eau distillé. Mélanger les deux préparations et ajuster le volume total à 100ml.

***Réactif de Wagner**

Dans 75 ml d'eau distillée, dissoudre 2 g de KI et 1.27g de I₂. Le volume obtenu est ajusté à 100 ml avec l'eau distillée. La solution d'extrait déjà préparée est divisée en deux parties. -Ajoute le réactif de Mayer à une partie et le réactif de Wagner à l'autre partie L'apparition d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes.

D. Les tanins

15 gouttes de Fe Cl₃ 1% sont ajoutées à 5 ml d'extrait. Après 2mn d'incubation, un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue noirdate ou verte

E. Les coumarines

Préparer une solution avec 1ml de la solution d'extrait avec 1 ml d'eau chaude. La solution obtenue est divisée en deux parties égales dont la première représente un témoin et le deuxième est traitée avec 0.5 ml de NH₄OH à 10%. L'examen est réalisé sous la lumière ultraviolette). L'apparition d'une fluorescence intense révèle la présence des coumarines. (**Bruneton, 1999**).

F. Les stérols

- Ajouter à 1 ml d'extrait 2.5 ml d'anhydre acétique et 10 gouttes d'H₂SO₄ concentrée. Les stérols sont révélés par une coloration violacée virant au vert.

G. Les quinones

- Quelques gouttes de Na OH à 1% sont ajoutées à 1ml de l'extrait. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres (**Oloyede, 2005**).

H. Les saponines

- Ajouter 1 ml d'eau distillée à 2 ml de solution d'extrait
- Agitation pendant 1 minute

L'apparition d'une mousse qui persiste durant 15 minutes et dont l'épaisseur égale ou dépasse 1 cm. indique la présence des saponines

I. Les composés réducteurs

1 ml de l'extraits est mis au contact avec 0.5 ml de Liqueur de Fehling (A et B) le mélange est porté chauffé au bain marie à 100°C. Un test positif est indiqué par l'apparition d'un précipité de couleur rouge brique (**Trease et Evans, 1987**)

1. 1. 3. 4. Dosage des polyphénols totaux

Dans le but d'évaluer quantitativement le contenu en composés phénoliques de l'extrait de L'Alaterne (*Rhamnus alaternus* L), un dosage des PPT par la méthode colorimétrique au Folin Ciocalteu mise au point par **Singleton et Rossi en 1965** a été réalisé. Un volume de 200µl de l'extrait ou d'acide gallique a été préparé à une concentration de 100 µg/ml puis additionné de 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué au dixième). Après 4 minutes, 800µl de la solution de carbonate de sodium Na₂Co₃ (75 mg/ml) sont ajoutées afin de stabiliser la réaction. Après agitation, le mélange réactionnel est incubé pendant 45 mn à température ambiante et à l'obscurité. Une fois l'incubation arrivée à son terme, une lecture des densités optiques (DO) est effectuée à 760 nm. Le protocole que nous avons appliqué est basé sur la

réduction en milieu alcalin des constituants du réactif de Folin, qui sont un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Ces derniers sont réduits lors de l'oxydation des composés phénoliques, en mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène (**Boizot et Charpentier, 2006**). Cela donne au mélange une couleur bleue dont l'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité de poly phénols présents dans l'échantillon analysé. L'absorbance est mesurée à 760 nm. Les valeurs des concentrations sont déduites par extrapolation à partir de la droite de la courbe d'étalonnage établie à l'aide de la solution de référence d'acide gallique à des concentrations allant de 10 à 100 µg/ml. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g). La solution mère de l'échantillon à doser ainsi que la gamme étalon sont préparées le même jour et dans les mêmes conditions opératoires

1. 1. 3. 5. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été effectué par la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl₃) citée par **Djeridane et al., (2006)**. Le principe du dosage est basé sur la capacité des flavonoïdes à chélater via leurs groupements hydroxyles (OH) libre l'ion Al⁺³ et former un complexe jaunâtre- (**Quettier et al., 2000**). 1ml de la solution d'extrait végétale à 1mg/ml est mélangé avec 1 ml d'une solution de chlorure d'aluminium AlCl₃ à 2%. Après 10min d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 448nm. La concentration des flavonoïdes dans les différents extraits de l'épinard ce fait à l'aide des gammes d'étalonnage établies avec la quercétine par gramme de matière sèche (mgEQ/gMS).

1. 1. 3. 6. Evaluation de l'activité anti-hémolytique de *Rhamnus alaternus* L

L'étude de la protection de la membrane érythrocytaire présente un intérêt crucial dans le traitement de certaines pathologies hémolytiques. L'objectif de cette étude est l'évaluation de la capacité des extraits déjà préparés de *R. alaternus* L à empêcher l'hémolyse des globules rouges humain (GRh), induite par un stress osmotique, thermique et chimique par H₂O₂. L'exposition des globules rouges à certains paramètres physicochimiques telles que le milieu hypotonique, l'utilisation d'un perturbateur membranaire comme les détergents ou les espèces réactives oxygénées, les températures élevée, provoque une rupture de sa membrane cytoplasmique et par conséquent la libération de l'hémoglobine qui sera alors doser par spectrophotométrie d'absorbance visible

L'utilisation des globules rouges est motivée par le fait qu'ils soient admis comme modèle cellulaire en recherche scientifique et qu'ils partagent des similitudes avec d'autres membranes cellulaires, notamment celle du lysosome (Shobana et Vidhya, 2016).

A. Préparation de la suspension érythrocytaire

La suspension érythrocytaire a été préparée suivant les étapes décrites par Hebbani et al, (2014). Du sang fraîchement prélevé sur des tube héparine est centrifugé à 3000 tour /minutes durant 15 min, après élimination du surnageant le culot est lavé 3 fois par Solution physiologique puis suspendu à nouveau dans ce même volume que le surnageant éliminé. Après le culot est suspendu à nouveau dans une solution de tampon phosphate salé (PBS) à 0,2M, PH=7,4 (1 volume du culot et 9 volume de PBS, un hématocrite à 10 %).

B. Induction de l'hémolyse induite vitro.

Pour tester l'effet anti hémolytique de notre extrait de l'Alaterne, des tests d'hémolyse induits sur le modèle érythrocytaire par une création d'un milieu hypotonique, la température élevée, et par l'H₂O₂ ont été mis aux points. Ces tests correspondent aux témoins positifs de l'hémolyse.

❖ Test d'hémolyse induit par l'hypotonie

Dans ce volet de notre étude, nous avons appliqué le protocole de Freitas et al. (2007) qui consiste à générer un stress osmotique par une variation des concentrations en NaCl, utilisées allant de 0.2%, 0.3%, 0.5%, 0.9%, 1.2%, 1,5% et 2%

- 1,8 ml de Na Cl à différentes concentrations est ajoutés à 200µl de la suspension de GR à 10% d'hématocrite. La préparation a été mélangée, homogénéisée, incubée à température ambiante pendant 10 min, ensuite centrifugée à 3000T/mn pendant 5min. La densité optique du surnageant a été mesurée à 541nm

❖ Test de thermo-hémolyse.

- 500 µl du la suspension érythrocytaire à 10% ont été mélangés avec 4,5ml de Na Cl à 9%
- Le mélange est incubé pendant 10 et 20 mn à différentes températures (35°C, 45°C, 55°C),
- Après la centrifugation, les absorbances sont mesurées à 541nm.

❖ Test d'hémolyse induit par le H₂O₂

- Selon le protocole décrit par James et Alewo (2014).
- 2ml de suspension érythrocytaire (10 %) ont été mélangés avec 2,5 ml de tampon phosphate (0,2M, PH=7,4)

- 500 µl de H₂O₂ (10V) ont été ajoutés au mélange
- Le mélange a été incubé pendant 4 heures à 37°C, puis centrifugé à 3000 rpm (10 min). L'absorbance du surnageant a été mesurée par spectrophotométrie à 541nm.

C. L'effet protecteur (anti-hémolytique) de l'extrait vis-à-vis d'un stress hypotonique

L'exposition de l'érythrocyte à un stress hypotonique aboutit à la lyse de sa membrane qui s'accompagne par le relargage de l'hémoglobine. Cette partie d'étude consiste à traiter la suspension érythrocytaire par l'extrait de *Rhamnus alaternus* L. avant l'induction de l'hémolyse et d'évaluer l'activité anti-hémolytique au spectrophotomètre. Le taux d'hémolyse de l'extrait végétal est calculé en pourcentage (%) par rapport à l'hémolyse induite

- 200 µl de la suspension érythrocytaire à 10 % est mélangé avec 1.8 ml de tampon phosphate (pH 7.4). Une solution de 1.8 ml à concentrations variables en Na Cl citées précédemment est ajoutée, où chaque concentration est combinée à des concentrations variables de l'extrait solution brute (100%), 50 % ,75%, 25%

La préparation est incubée à la température ambiante pendant 10 mn. Après centrifugation, l'absorbance du surnageant a été mesurée à 541nm et le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse est calculé par l'équation suivante :

$$\text{(\% Inhibition de l'hémolyse)} = \frac{\text{Do1} - \text{Do2}}{\text{Do1}} \times 100$$

Do1= Densité optique de la solution hypotonique des globules rouges sans l'extrait

Do2 = Densité optique de la solution hypotonique de globules rouges avec l'extrait

D. Effet protecteur (anti-hémolytique) de l'extrait vis-à-vis de la thermo-hémolyse.

L'évaluation de l'activité protectrice de l'extrait vis-à-vis de l'hémolyse induite par un stress thermique est réalisée in vitro par la méthode spectrophotométrique décrite par **Sakat et al. (2010)**.

- 4,5 ml d'extrait végétal à différentes concentrations déjà citées est dissout dans 5ml de tampon phosphate (pH 7.4 ; Na Cl)
- 500 µl de suspension érythrocytaire sont ajoutés puis l'incubation pendant 20 min à différentes températures (35°C, 45°C, 55°C) a été réalisée.

- Après incubation, les tubes sont immédiatement refroidis à l'eau de robinet, puis centrifugés pendant 10 minutes et l'absorbance du surnageant est estimée à 540 nm. Parallèlement, un control positif a été réalisé en remplaçant le tampon phosphate par 5 ml d'eau distillée provoquant ainsi une hémolyse totale (100 %). Le pourcentage de protection contre l'hémolyse induite par la chaleur est calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Protection (\%)} = 100 - (\text{Do échantillon} / \text{Do contrôle}) \times 100$$

E. Effet protecteur (anti-hémolytique) de l'extrait végétal vis-à-vis de l'hémolyse induite par H₂O₂

- Ajouter à 500µl de l'extrait 2ml de suspension érythrocytaire puis incubé 1mn à la Température ambiante
- Ajouter 2,5ml de tampon phosphate et 500µl de H₂O₂
- Centrifuger ensuite lire l'absorbance du surnageant

Le résultat du pourcentage de l'activité anti-hémolytique est calculé selon l'équation

$$\text{Inhibition de l'hémolyse (\%)} = (\text{Do1} - \text{Do2} / \text{Do1}) \times 100$$

Do1= Densité optique de la suspension érythrocytaire traitée par H₂O₂ sans l'extrait

Do2 = Densité optique de la solution hypotonique de globules rouges avec l'extrait

Le protocole expérimental de l'effet anti-hémolytique de l'extrait de (*Rhamnus alaternus* L.) est résumé dans le schéma suivant (figure 9)

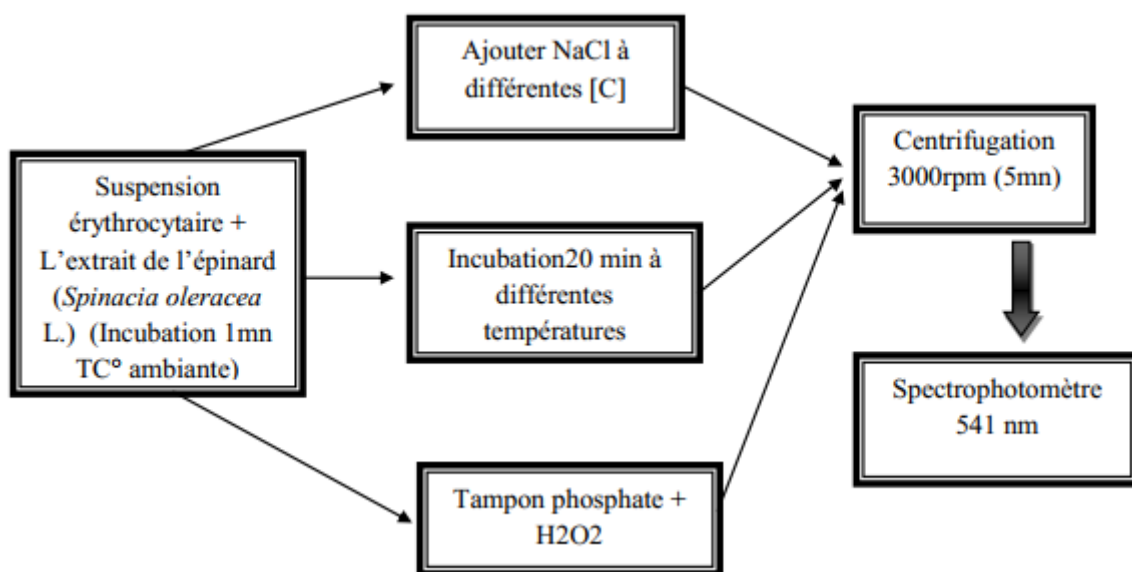


Figure 9 : Schéma de l'effet anti-hémolytique de l'extrait de *Rhamnus alaternus* L.

Partie expérimentale
Chapitre 2.
Résultats

2. 1. Résultats et interprétations des tests photochimiques :

Dans le but de mettre en évidence la composante phytochimique de *Rhamnus alaternus*, des tests phytochimiques ont été effectués sur les extraits aqueux d'infusion (feuilles), de décoction (feuilles et tiges) et de macération hydroalcoolique (feuilles). Le tableau (5) et les figures (de 10 jusqu'au 18) regroupent l'ensemble des résultats obtenus. Les légendes Te et Ts correspondent respectivement aux témoins et aux tests.

Tableau 5 : Les tests phytochimiques des parties aériennes de *Rhamnus Alaternus L*

Tests phytochimiques		Extraits		
Métabolites Secondaires		Macération Hydroalcoolique	Extrait aqueux L'infusé	Extrait aqueux Décocté
Les flavonoïdes		++	+++	+++
Les terpénoïdes		+++	+++	+++
Les alcaloïdes	Mayer	–	+++	++
	Wagner	+	+++	+++
Les tanins		++	+++	++
Les stérols		–	–	–
Les coumarines		++	++	++
Les quinones		+++	+++	+++
Les saponines		+++	+++	+++
Les composés réducteurs		+++	+++	+++

+++ : Fortement positif ++ : Moyennement positif + : Faiblement positif -- : Absence

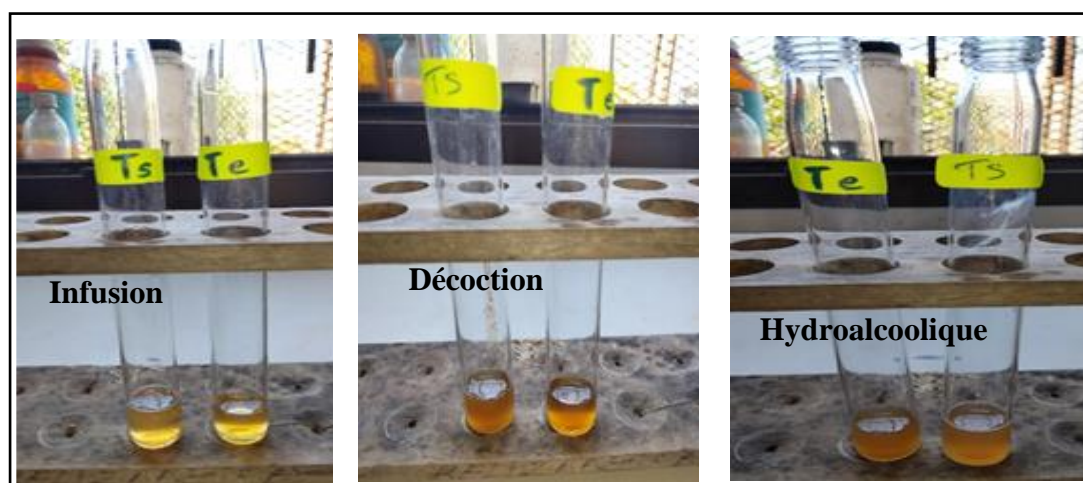


Figure 10 : Mise en évidence des Flavonoïdes au niveau des extraits de *R. alaternus*

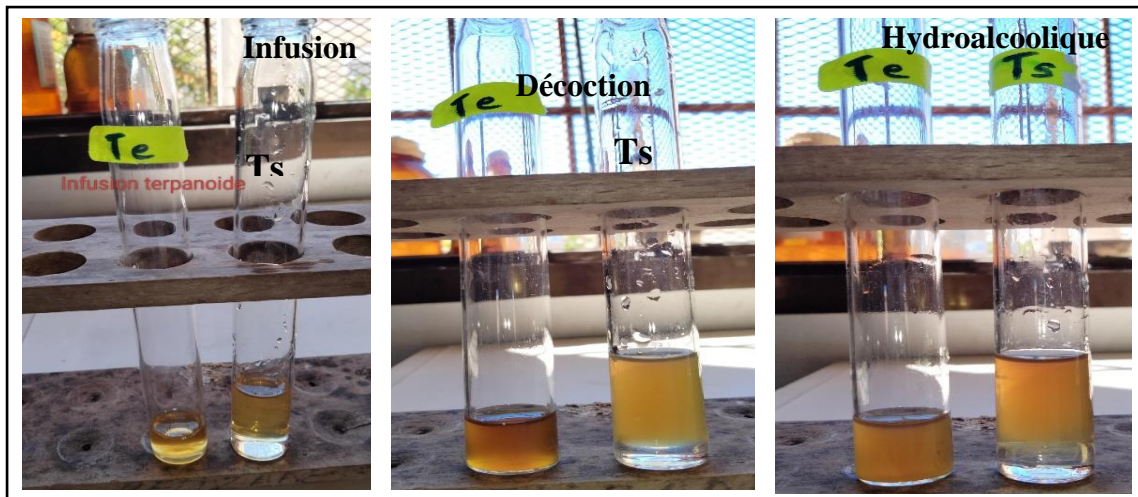


Figure 11 : Mise en évidence des terpénoïdes au niveau des extraits de *R. alaternus*

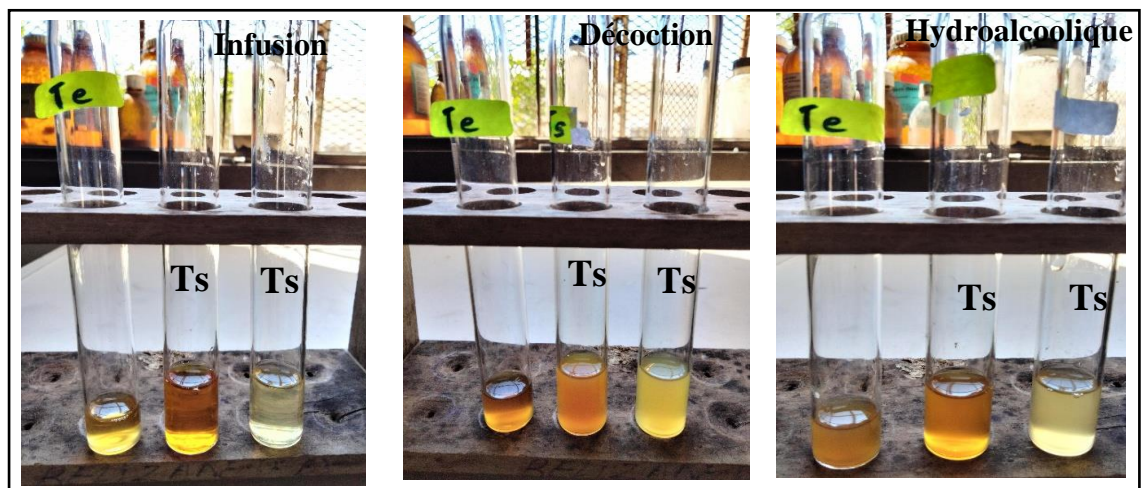


Figure 12 : Mise en évidence des alcaloïdes (wagner/mayer) au niveau des extraits de *R. alaternus*

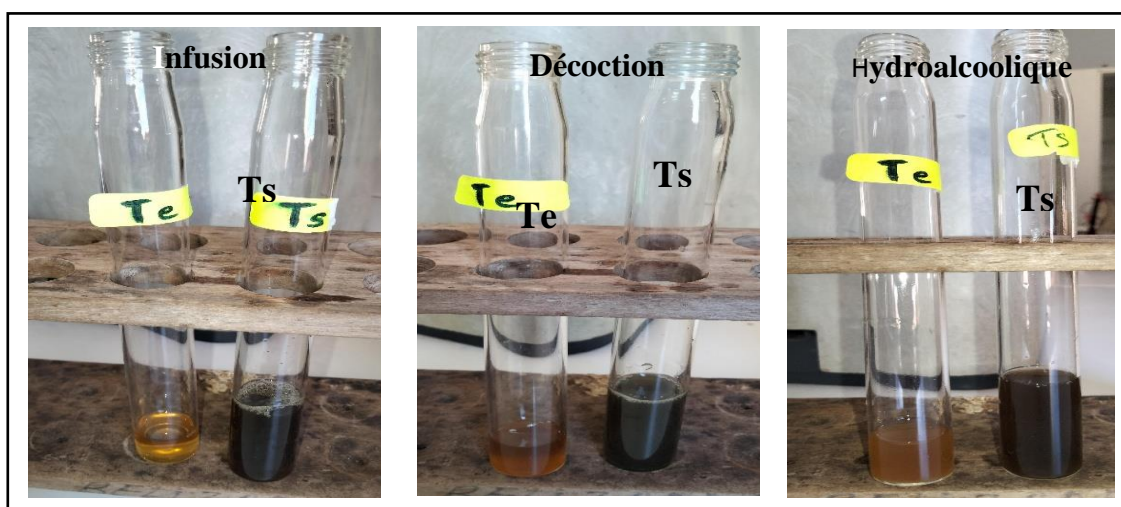


Figure 13 : Mise en évidence des tanins au niveau des extraits de *R. alaternus*

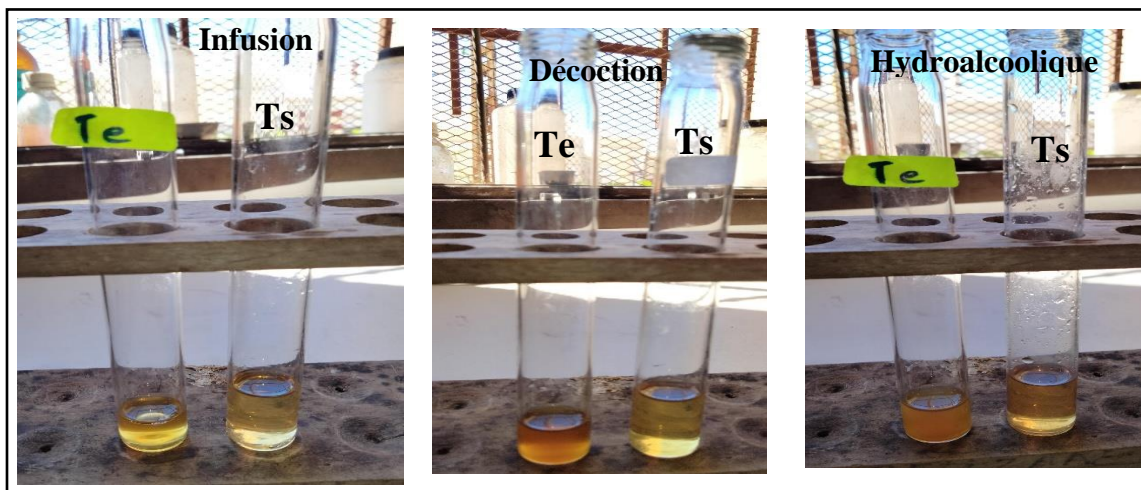


Figure 14 : Mise en évidence des stérols au niveau des extraits de *R. alaternus*

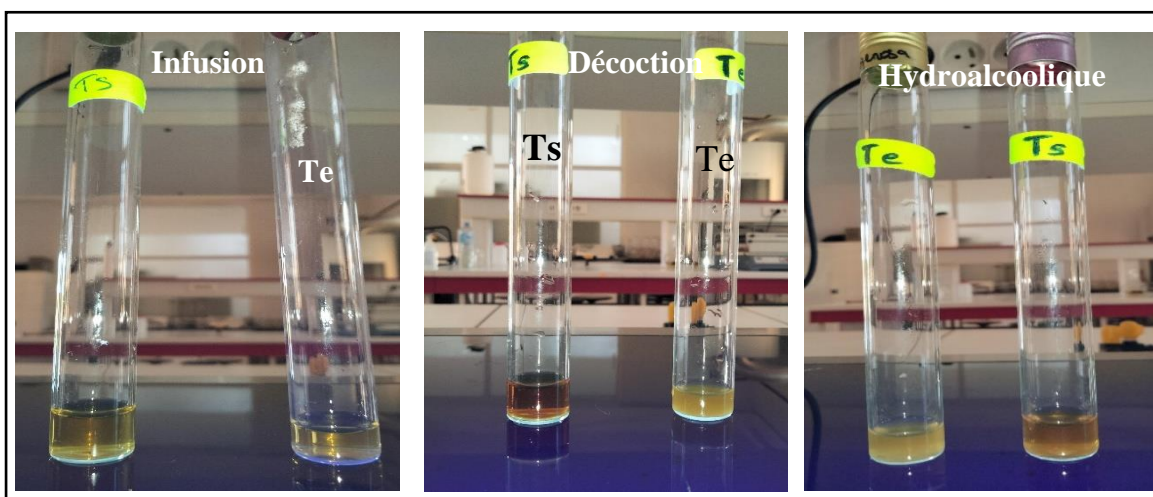


Figure 15 : Mise en évidence des coumarines au niveau des extraits de *R. alaternus*



Figure 16 : Mise en évidence des quinones au niveau des extraits de *R. alaternus*

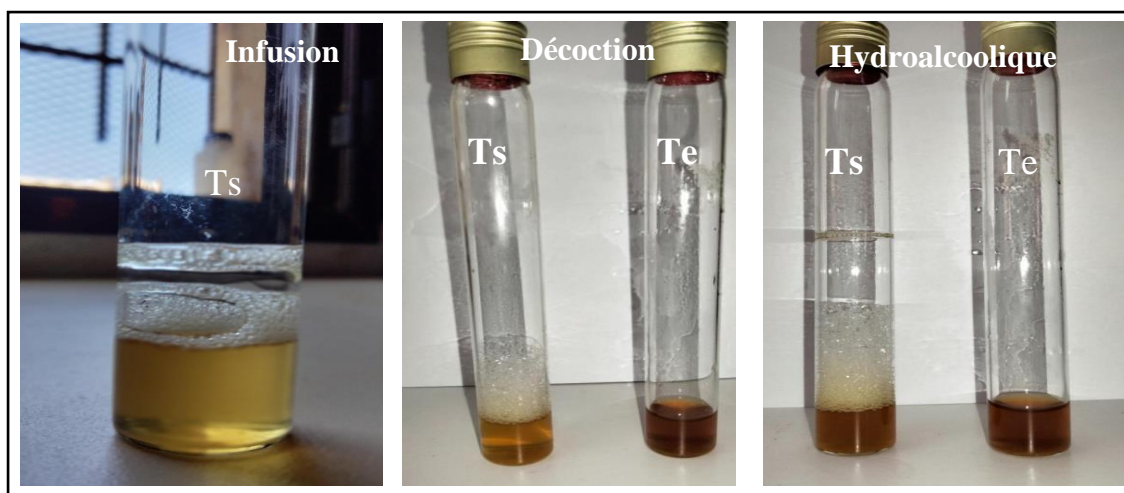


Figure 17 : Mise en évidence des saponines au niveau des extraits de *R. alaternus*



Figure 18 : Mise en évidence des composés réducteurs au niveau des extraits de *R. alaternus*

❖ D'après le screening phytochimique des parties aériennes (tiges et feuilles) de *Rhamnus Alaternus* L la présence des métabolites secondaires varie selon le type d'extrait dont il existe une affinité du solvant à extraire la substance chimique et selon le révélateur spécifique pour chaque paramètre phytochimique

La majorité des paramètres phytochimiques sont présents dans les trois extraits préparés, exception pour les stérols qui n'ont pas été détectés dans les trois extraits préparés et les alcaloïdes pour le test de Mayer dans la macération alcoolique (Tableau 5)

Les Terpénoïdes, les quinones, les saponines et les composés réducteurs ont été révélés très positivement dans tous les extraits préparés (Tableau 5), (figures 11, 16, 17 et 18 respectivement). Suivie des flavonoïdes et les tanins dont la prédominance est enregistrée dans les extraits aqueux d'infusion (Tableau 5), (Figures 10 et 13)

Pour les coumarines, nous avons noté une présence qui est moyennement positive pour l'ensemble des extraits (Figure 15).

2. 2. Résultats du dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes

Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans les extraits bruts des parties aériennes de *R.alaternus* ont été évaluées par la méthode colorimétrique. Les résultats obtenus sont exprimés en mgEqAG/gMS pour les polyphénols totaux et en mgEqQ/gMS pour les flavonoïdes et sont présentés dans le tableau (6)

Tableau 6 : Teneurs moyennes en polyphénols totaux et en flavonoïdes

Extraits	Les polyphénols totaux mgEqAG/gMS	Les flavonoïdes mgEqQ/gMS
Infusion	6.78 ± 0,04	5.75± 0,06
Décoction	6.88± 0,05	5.24± 0,18
Extrait Hydroalcoolique	8.03 ± 0,05	3.42± 0,08

Les résultats du dosage montrent que la partie aérienne de la plante étudiée contient des teneurs appréciables en métabolites secondaire de type polyphénoliques . Pour l'ensemble des extraits testés, les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes sont considérablement révélées avec des valeurs qui diffèrent selon le type d'extraction des parties aérienne de *R.alaternus*. Les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux ont été enregistrées dans l'extrait hydroalcoolique avec la valeur de 8.03 mgEqAG/gMS .Pour les flavonoïdes la valeur la plus élevées a été enregistrée dans l'extrait de l'infusé (5.75 mgEqQ/gMS) (Tableau 6).

2. 3. Résultats et interprétations des tests de protection anti-hémolytique

2. 3. 1. Résultats de l'activité hémolytique induite par hypotonie, substance chimique et la chaleur

Cette étape a été effectuée en utilisant le Na Cl comme hémolysant hypotonique du sang avec des différentes concentrations (0,2% 0,3% 0.5% 0,9% 1,5% et 2%) ; H2O2 comme un hémolysant par sa forte oxydation ainsi que les différentes températures (35C°, 45C°et 55C°) comme un facteur de la dégradation des protéines. L'ensemble des tests de l'hémolyse induite ont été appliqués sur la suspension érythrocytaire en absence de l'extrait végétal. Les résultats seront utilisés pour l'étude de la protection de l'extrait de l'Alaterne contre l'hémolyse induite. Les figures (19, 20 et 21) présentent l'ensemble des résultats

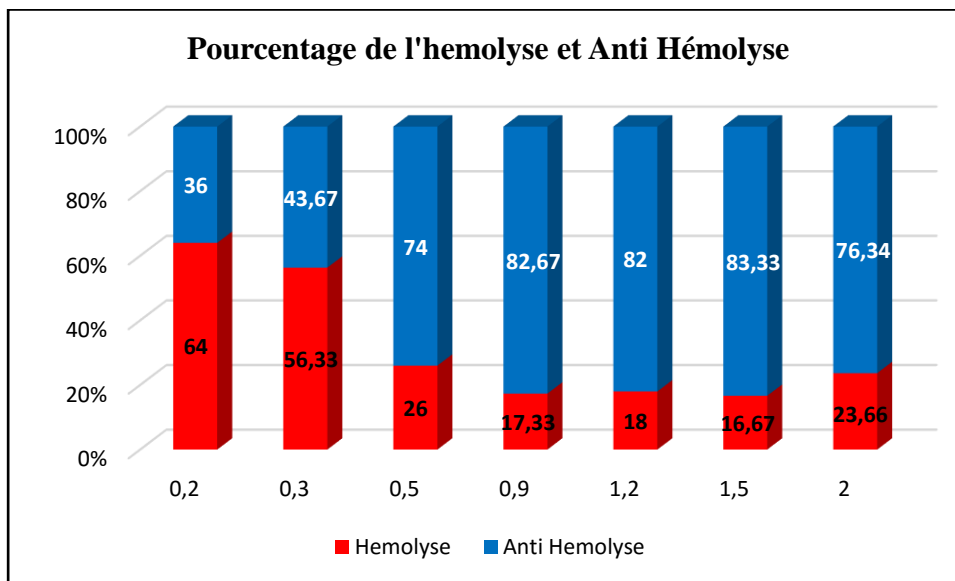
❖ **Hémolyse induite par Na Cl**

Figure 19 : L'hémolyse des érythrocytes induite par l'hypotonie

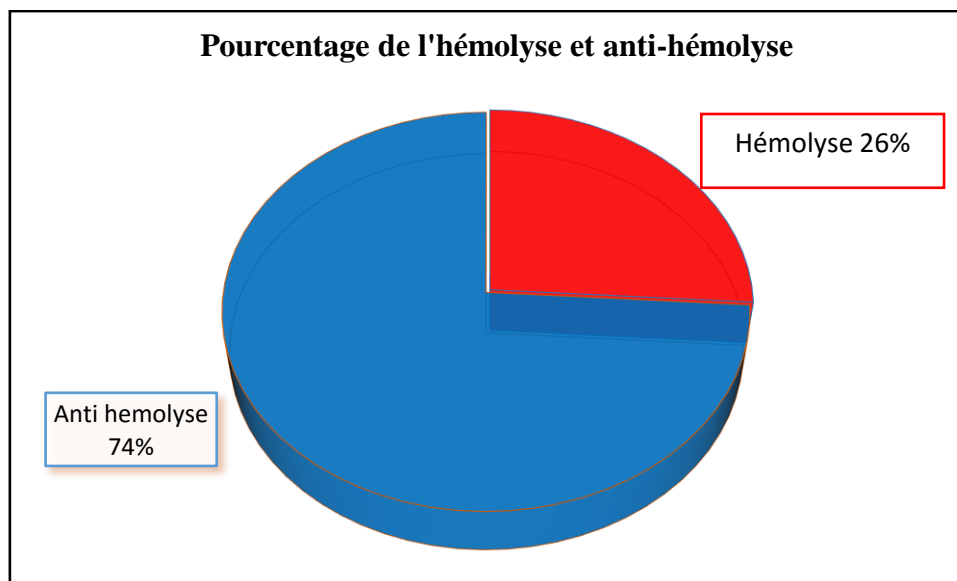
❖ **Hémolyse chimique induite par H2O2**

Figure 20 : Hémolyse des érythrocytes induite par H2O

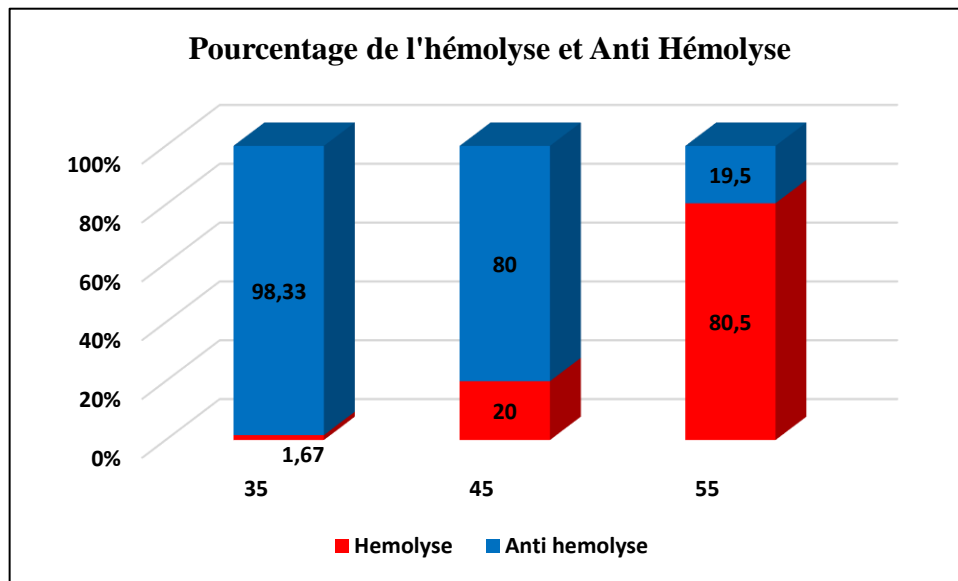


Figure 21 : Hémolyse des érythrocytes induite par la température (35°C,45°C,55°C)

- Les résultats obtenus sur l'effet de l'hypotonie (figure 19) montrent que :
 - A des concentrations de Na Cl dans le milieu de suspension des globules rouges de 0.2 et 0.3 l'hémolyse est importante avec un maximum de 64% cela est en relation avec les faibles concentrations et par conséquent l'eau pénètre dans la cellule provoquant sa turgescence ce qui fait éclater les membranes et l'hémoglobine est libérée dans le milieu externe
 - L'hémolyse tente à diminuer à la concentration de 0.5 suivie d'un léger équilibre à des concentrations de Na Cl 0.9 et 1.2, ce qui correspond au milieu pratiquement isotonique (17.33% et 18 % respectivement).

➤ Le traitement de la suspension érythrocytaire par le H₂O₂ a donné une hémolyse modérée qui est de 26% (Figure 20) sachant que la concentration de H₂O₂ utilisée est de 37%

➤ Les résultats de l'effet de la chaleur sur les globules rouges montrent que l'hémolyse augmente en fonction de la température élevée (Figure 21). En effet à la température de 45°C le taux d'hémolyse est de 20 % pour atteindre un taux maximal de 80.5% à 55 C°. Cependant à la température de 35°C l'hémolyse est très faible. L'effet de la température élevée sur l'hémolyse est probablement dû à la dénaturation des protéines membranaires de GR par la chaleur ce qui aboutit à la libération de l'hémoglobine dans le surnageant

2.3. 2. Résultats de l'effet protecteur des extraits

❖ Contre l'hémolyse hypotonique

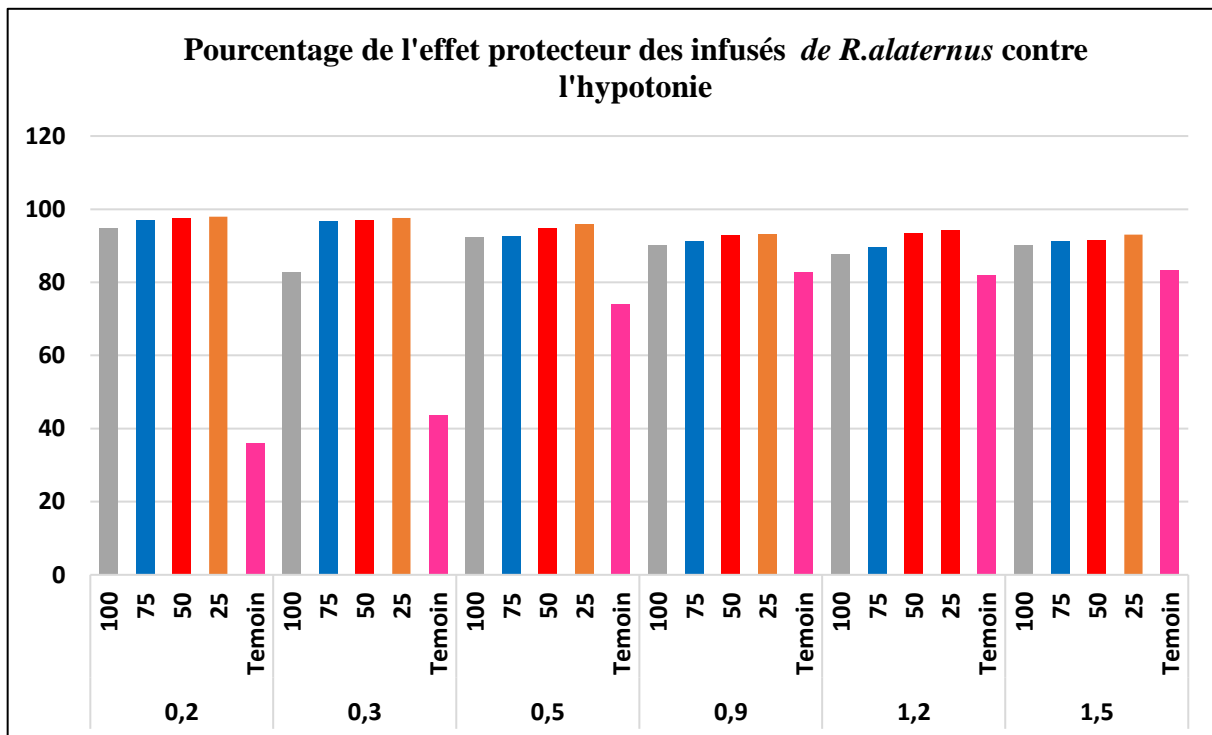


Figure 22 : L'effet protecteur des infusés à différentes dilutions de *R.alaternus* vis à vis de l'hémolyse hypotonique

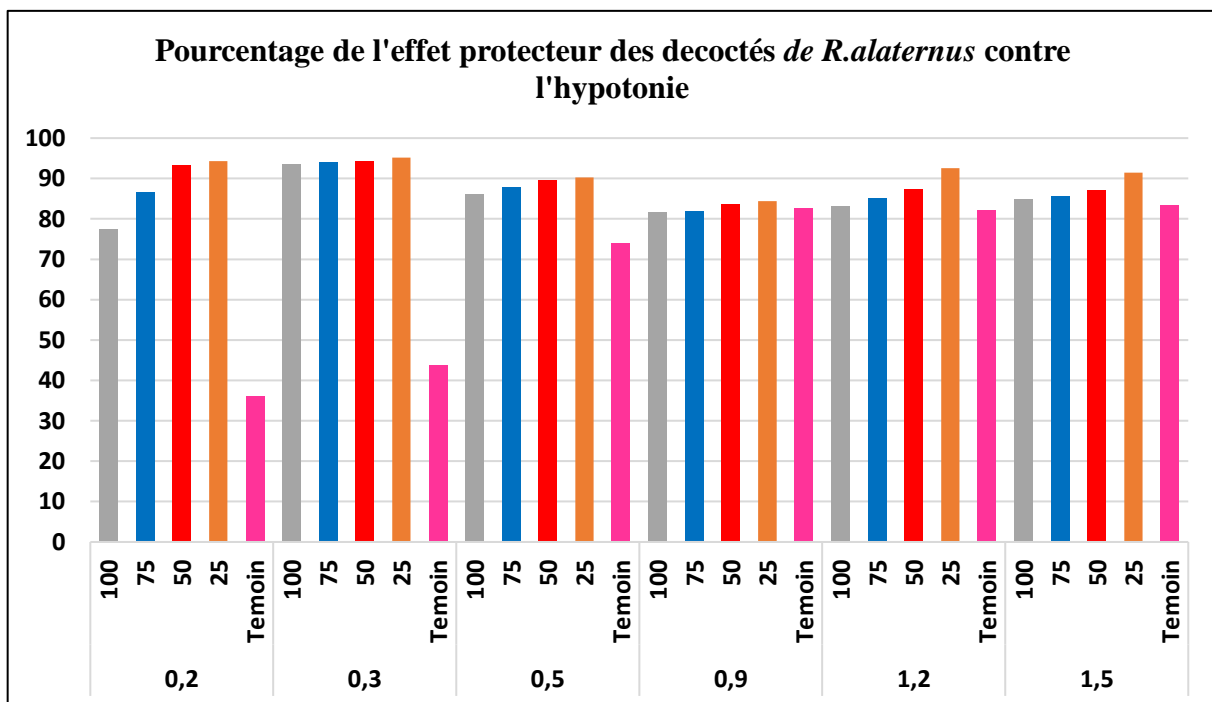


Figure 23 : L'effet protecteur des décoctés à différentes dilutions de *R.alaternus* vis à vis de l'hémolyse hypotonique

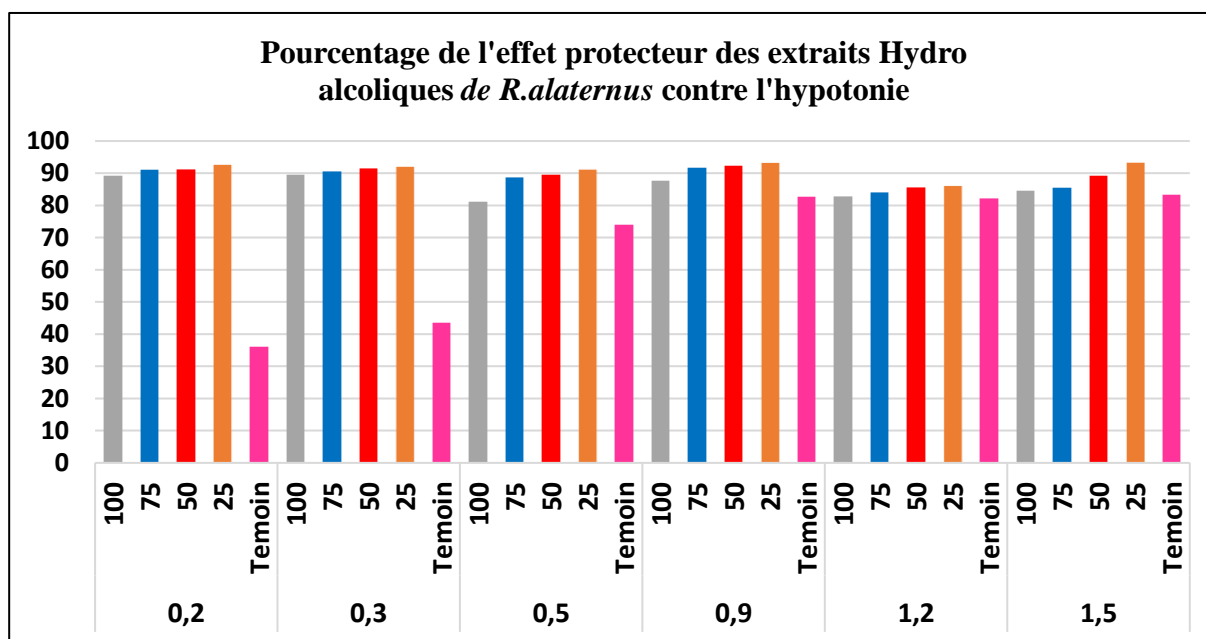


Figure 24 : L'effet protecteur des extraits Hydroalcoliques à différentes dilutions de *R.alaternus* vis à vis de l'hémolyse hypotonique

Les taux de la protection de l'Alaterne des cellules érythrocytaires contre le phénomène hémolytique ont été calculés à base des valeurs de la densité optique (DO) qui met en évidence la fuite de l'hémoglobine au niveau du surnageant. En termes de comparaison, plusieurs paramètres en été inclus à savoir, l'évaluation de l'activité hémolytique et anti-hémolytique du sang, induite par des agents hémolysants, ainsi que les témoins positifs et négatifs dont les formules sont représentées dans la partie méthodologie. Les résultats sont résumés dans les figures (22, 23 et 24)

❖ D'après les résultats (Figure 22), l'activité anti-hémolytique des infusés de l'Alaterne diffère selon les dilutions de l'extrait végétal et vis-à-vis des concentrations de Na Cl. Nous avons noté une protection de l'extrait dilué à 25% contre l'hémolyse induite par l'hypotonie avec un taux de protection de 97.92 % et 97.63 pour les phases hypotoniques de Na Cl les plus fortes (0.2 et 0.3 respectivement). Ces valeurs dépassent celles du témoin (induction des GR par Na Cl) dont le taux de l'activité anti-hémolytique est de 36% (0.2% NaCl) et de 43% (0.3% Na Cl). Cette protection diminue légèrement pour les autres dilutions des infusés et vis-à-vis des autres concentrations de Na Cl. Majoritairement l'ensemble des extraits de la plante ont donné une protection très marquée pour l'hypotonie élevée.

❖ Les résultats de la figure (23) montrent que le décocté, présente une protection semblable à l'infusé pour la dilution de 25% à des concentrations hypotoniques les plus élevées dont les valeurs de protection sont autour de 90%. Pour l'ensemble des dilutions des extraits de la décoction l'activité anti-hémolytique est importante.

❖ Les taux de protection des extraits hydroalcooliques de *R. alaternus* contre l'hémolyse hypotonique maximale et qui sont mentionnés dans la figure (24), révèlent des pourcentages de protection plus élevés de ceux du témoin pour l'ensemble des dilutions de l'extrait vis-à-vis des fortes concentrations hypotoniques. A titre d'exemple à l'hypotonie de 0.2%, les valeurs enregistrées de la protection des extraits de la plante de 25%, 50%, 75% et le brut sont similaires et dépassent largement celles enregistrées chez les témoins et qui sont, 92.55%, 91.14%, 90.98% et 89.11% respectivement, contre 36% (Na Cl,0.2%)

❖ Contre l'hémolyse chimique (H2O2)

Les résultats de l'activité anti-hémolytiques des différents extraits de *Ramnus alaternus* contre l'hémolyse chimique induite par le H2O2 sont mentionnés dans les figures (25, 26, et 27)

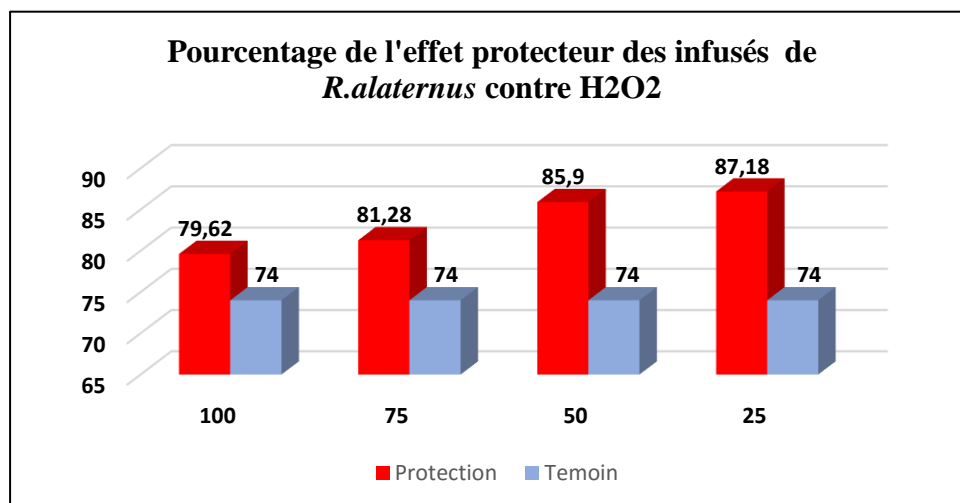


Figure 25 ; L'effet protecteur des infusés à différentes dilutions de *R.alaternus* vis à vis de l'hémolyse chimique

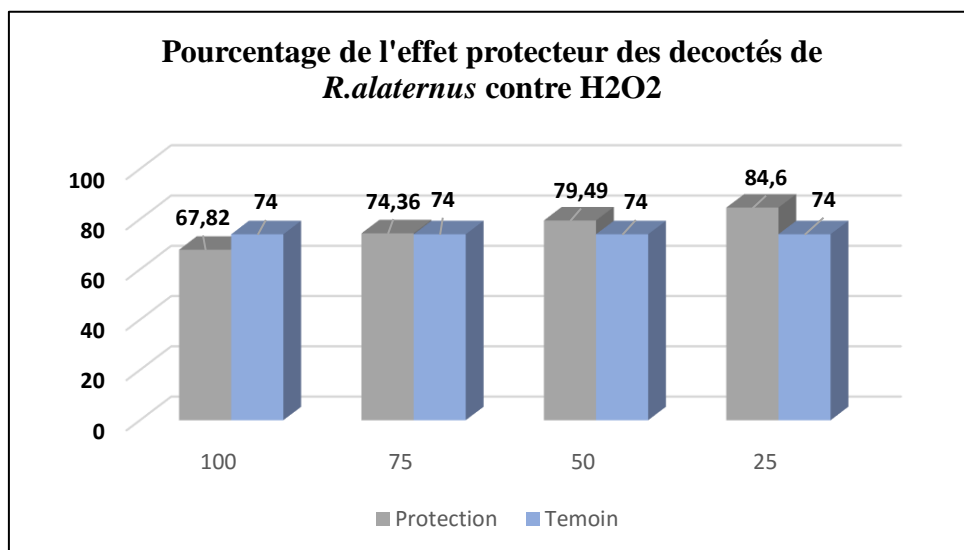


Figure 26 : L'effet protecteur des décoctés à différentes dilutions de *R.alaternus* vis à vis de l'hémolyse chimique

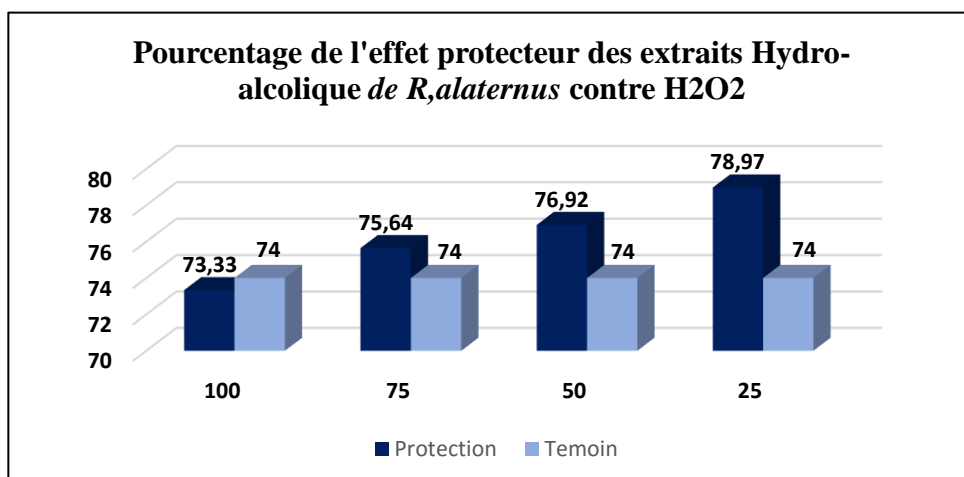


Figure 27 : L'effet protecteur des extraits hydroalcoolique à différentes dilutions de *R.alaternus* vis à vis de l'hémolyse chimique

❖ D'après les résultats (Figure 25), l'effet protecteur des infusés des parties aériennes contre H₂O₂ est élevé pour l'ensemble des dilutions des extraits préparés, dépassant ainsi l'activité anti-hémolytique du témoin. Les taux de protection sont classés par ordre croissant de l'extrait brut > 75 % > 50 % > 25%. Ce dernier a donné une protection maximale avec un taux de protection de 87.18 % contre 74% chez le témoin

❖ L'extrait aqueux de décoction n'a pas donné une marge importante de protection positive par rapport au témoin. La majorité des valeurs des extraits 25% 50% et 75% sont proche à la valeur du témoin (Figure 26). L'extrait brut (100%) n'a pas protégé le sang contre

l'hémolyse chimique puisque le pourcentage de protection est inférieur par rapport au témoin (67.82% , 74% respectivement)

❖ Concernant l'extrait hydroalcoolique, l'activité anti-hémolytique est positive pour les dilutions 75% 50% et 25% dont les valeurs de protection dépassent celles du témoin et presque similaires (75.64% 76.92% 78.97% respectivement contre 74% témoin). Exception pour l'extrait brut qui n'a pas révélé une protection (73.33 % contre 74%). Cela est probablement en relation avec l'effet combiné des doses des métabolites secondaires de la plante.

❖ Contre l'effet hémolysant Thermique (C°)

Dans ce test l'effet hémolysant est induit par exposition des échantillons érythrocytaires contenant l'extrait végétal à des différentes températures (35 C°, 45 C°, 55 C°). Un témoin sans extrait est préparé. Les résultats sont regroupés dans les figures (28, 29 et 30)

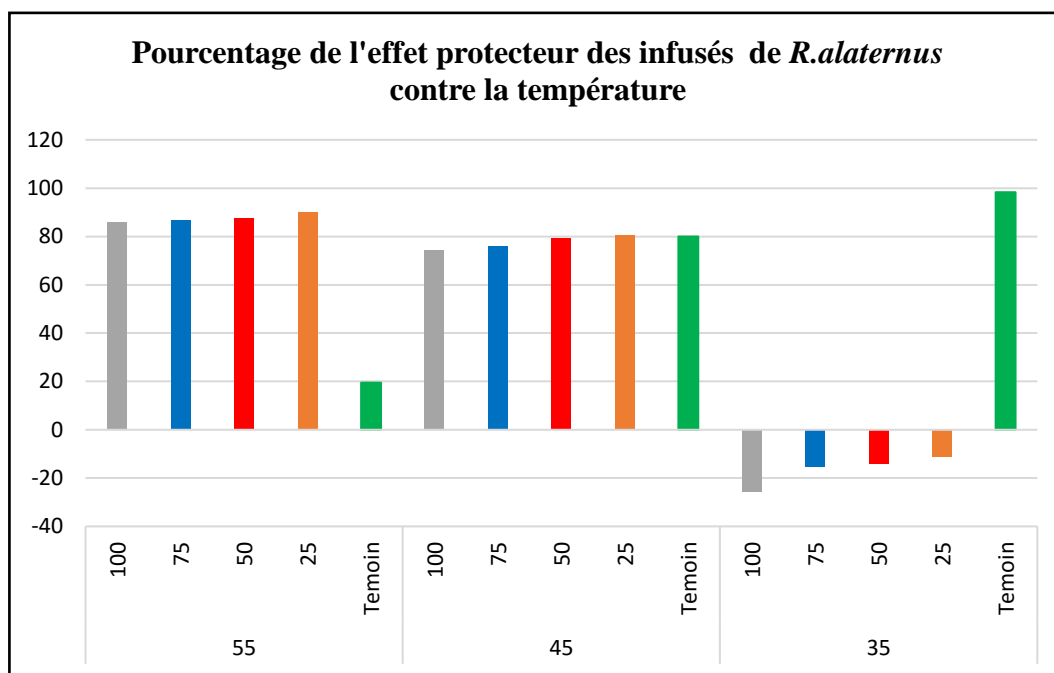


Figure 28 : L'effet protecteur des extraits des infusés à différentes dilutions de *R. alaternus* vis à vis de l'hémolyse thermique

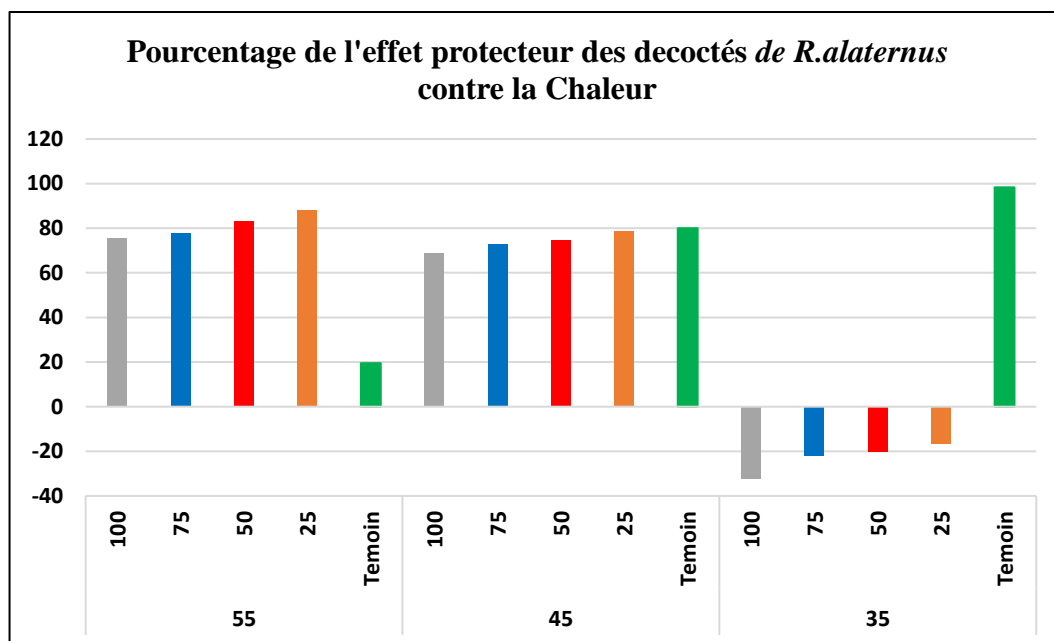


Figure 29 : L'effet protecteur des extraits des décoctés à différentes dilutions de *R.alaternus* vis à vis de l'hémolyse thermique

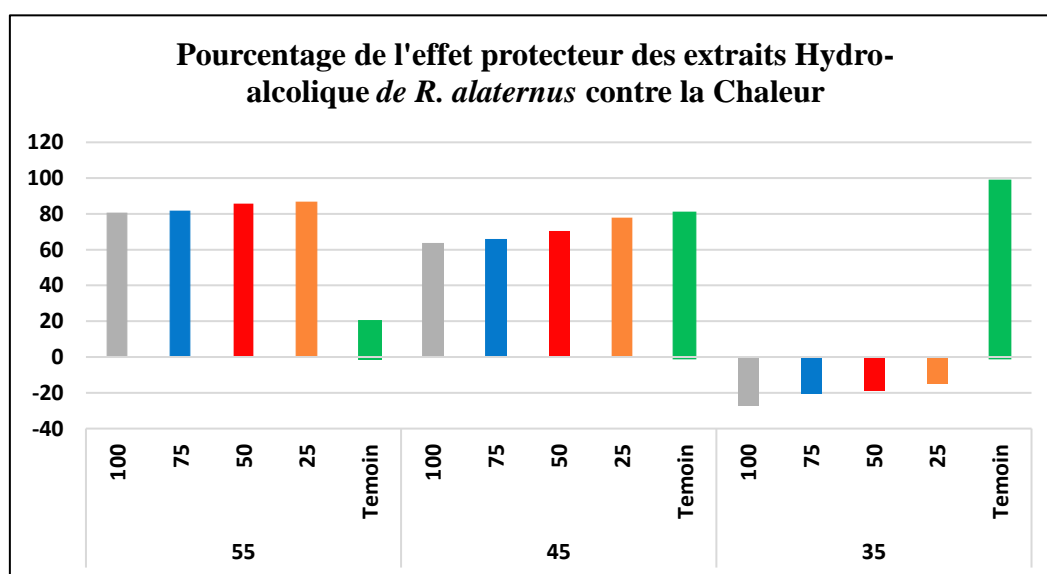


Figure 30 : L'effet protecteur des extraits hydroalcoolique à différentes dilutions de *R. alaternus* vis à vis de l'hémolyse thermique

Les résultats de l'activité anti-hémolytique en présence des extraits de l'Alaterne contre la chaleur indiquent que quelque soient les dilutions pour l'ensemble des extraits, à la température 45 C° et 55 C° l'activité anti-hémolyse est modérée selon les dilution enregistrant une protection marquée pour tous les extraits et dilutions (Figure 28 et 30). Cependant pour la température de 35C° tous les extraits avec les quatre dilutions, la protection a été calculée

négativement (Figure 30) cela indique que pour tous les extraits l'activité anti-hémolytique est inhibée. Cela est peut-être en relation avec l'impact de chaleur qui conditionne une toxicité ou un défaut expérimental cela reste à vérifier.

Discussion générale

Discussion générale

L'extraction est une étape très importante avant l'analyse quantitative et qualitative des extraits de plantes. Les conditions optimales ont été respectées concernant plusieurs paramètres tels que le diamètre de la poudre et le type du solvant : le broyage et le tamisage ont été réalisés de façon à pouvoir récupérer le maximum de poudre fine. Le type d'extraction était varié entre l'infusion, la décoction, l'extraction hydro-alcoolique dans le but d'extraire le maximum de métabolites secondaires.

Plusieurs travaux ont été rapportés sur *Rhamnus alaternus* à savoir le pouvoir antibactérien et antifongique des extraits flavonoïques des feuilles et des écorces ainsi que l'activité anti-oxydante. **Benchiha (2016)**. L'action pharmacologique anti-hépatotoxique des extraits phénoliques a été aussi évaluée.

❖ L'usage multiple de *R.alaternus* en médecine traditionnelle vient de sa richesse en composés phytochimiques. Nous avons noté une révélation importante des métabolites secondaires à savoir, les flavonoïdes les polyphénols et les saponines pour l'ensemble des extraits testés. Nos résultats s'accordent avec ceux enregistrés des travaux antérieurs (**Hamiani, 2018 ; Ben Ammar, 2008 ; Beloued, 2001**). Ces auteurs ont confirmé la richesse des extraits des parties aériennes et racinaires en flavonoïdes, alcaloïdes et en tanins. Trois types de flavonoïdes ont été isolés à partir des feuilles *R. alaternus* dans les travaux de **Bhourri et al (2011)** et **Ammar et al (2009)** et qui sont : Kaempferol 3-O-b-isorhamninoside ; rhamnocitrin 3-O-b isor-hamninosi de et rhamnocitrin3-O-b iso-rhamninoside. Ces types de flavonoïdes protège contre les dommages de l'ADN dans les cellules lymphoblastoïdes humaine et améliore l'activité anti-oxydante selon les mêmes auteurs. Selon (**Verma, 2018**) la teneur ainsi que la composition des extraits végétaux en composés phénoliques sont étroitement liées à la diversité des activités biologiques exprimées par les extraits végétaux. Il a rapporté que les flavonoïdes constituent les principes biologiques actifs de la plupart des plantes médicinales hypoglycémiques et propriétés antidiabétiques (**Verma, 2018**)

❖ La protection de l'épiniard contre l'hémolyse du sang soumis à un stress osmotique, oxydatif et thermique a été vérifiée dans les extraits des parties aériennes. Cette activité diffère selon le type d'extrait et la dilution, d'une manière générale les résultats ont révélés que l'alaterne peut diminuer l'effet toxique de l'hypotonie du H₂O₂ et de la chaleur des érythrocytes humaines.

Un milieu hypotonique est un milieu dont la pression osmotique est plus faible que la pression intracellulaire, ce déséquilibre induit une diffusion de l'eau vers l'intérieur de la cellule (milieu

hypertonique) à travers la membrane. L'entrée massive d'eau dans l'hématie entraîne son gonflement puis son éclatement et la libération de son contenu cytoplasmique notamment l'hémoglobine c'est le phénomène d'hémolyse. Ce dernier est observé à des concentrations en NaCl inférieures à 0.3%. Même résultat a été noté chez Citrus (**Larab et Makhoulf 2017**) et la mauve (**Aberrane et Mehalla 2019**) contre l'hémolyse hypotonique. **Chopade et al., 2019** a démontré que l'incorporation des composés phénoliques notamment les flavonoïdes dans la membrane des érythrocytes améliore la stabilité de ces dernières contre la lyse hypotonique

Concernant la protection contre la toxicité par le H₂O₂, pour la majorité des extraits l'activité anti-hémolytique est positive notamment pour les dilutions de 25% et 50%. Le peroxyde d'hydrogène peut causer une toxicité par le radical hydroxyle : selon **Kose et Dogan (1995)**, le H₂O₂ peut causer la dégradation de l'hème de l'hémoglobine libérant ainsi les ions Fe²⁺ ce qui génère par la réaction de fenton le radical hydroxyle OH, plus puissant contribuant ainsi à la peroxydation lipidique.

Les résultats de l'activité anti-hémolytique en présence des extraits de *R.alaternus* contre la chaleur indiquent que quelque soient les dilutions pour l'ensemble des extraits, à la température 50°C la protection est améliorée. même remarque pour *citrus* et *Malva silvestris*. L'effet protecteur contre la lyse érythrocytaire induite par la chaleur peut s'expliquer par l'interaction de l'extrait avec les protéines membranaires inhibant ainsi leur dénaturation (**Lepock et al., 1989**). D'après **Gershfeld et Murayama (1988)** les érythrocytes exposés à des températures relativement élevées, se déforment progressivement pour devenir sphériques. Ainsi la perturbation de leurs membranes diminue leur capacité à résister à l'hémolyse

Le système hématopoïétique est l'une des cibles les plus sensibles aux produits chimiques et un index important du statut physiologique et pathologique de l'être humain et de l'animal (**Mukinda et Syce ,2007**). Cela confirme une installation des anomalies sanguines.

Conclusion générale

Conclusion générale

Le monde végétal reste toujours une source importante des principes actifs dotés de diverses propriétés thérapeutiques, le vif objectif de cette étude est la mise en évidence des composés phytochimiques et l'estimation in vitro de l'activité anti-hémolytique des extraits actifs de la partie aérienne d'une plante médicinale : *Rhamnus alaternus* L.

Dans un premier temps, le criblage phytochimique basé sur des tests spécifiques qui a permis d'identifier :

✚ Une diversité des métabolites secondaires selon le type d'extrait dont il existe une affinité du solvant à extraire la substance chimique et selon le révélateur spécifique pour chaque paramètre phytochimique à savoir, Les Terpénoïdes, les quinones, les saponines et les composés réducteurs ont été révélés très positivement, suivie des flavonoïdes et les tanins dont la prédominance est enregistrés dans les extraits aqueux d'infusion. les stéroïdes n'ont pas été détectés dans les trois extraits préparés et les alcaloïdes pour le test de Mayer dans la macération alcoolique

✚ Concernant l'activité anti-hémolytique des extraits des parties aérienne, a été évaluée à base des trois tests hémolytiques appliqués sur la suspension érythrocytaire du sang humain : hypotonique (NaCl), chimique (H₂O₂) et thermique (chaleur C°) :

Les résultats obtenus de la plante contre le phénomène hémolytique ont été calculés à base des valeurs de la densité optique (DO) qui met en évidence la fuite de l'hémoglobine au niveau du surnageant. Nous avons remarqué que *R. alaternus* possède une activité anti-hémolytique la plus élevée est enregistrée à la dilution de 25% pour la majorité des tests. À savoir la protection contre l'hémolyse induite par l'hypotonie avec un taux de protection de 97.92 % et 97.63 pour les phases hypotoniques de Na Cl les plus fortes (0.2 et 03 respectivement). Le décocté, présente une protection semblable à l'infusé pour la dilution de 25% à des concentrations hypotoniques les plus élevées dont les valeurs de protection sont autour de 90%. Tous les extraits hydroalcooliques de *R. alaternus* protègent le sang contre l'hémolyse hypotonique maximale, L'effet protecteur des infusés des parties aériennes contre H₂O₂ est élevé pour l'ensemble des dilutions des extraits préparés, dépassant ainsi l'activité anti-hémolytique du témoin. L'extrait aqueux de décoction n'a pas donné une marge importante de protection positive par rapport au témoin

Concernant l'extrait hydroalcoolique, l'activité anti-hémolytique est positive pour les dilutions 75% 50% et 25% dont les valeurs de protection sont presque similaires (75.64% 76.92% 78.97% respectivement contre 74% témoin). Exception pour l'extrait brut qui n'a pas révélé une protection

Les résultats de l'activité anti-hémolytique de l'Alaterne contre la chaleur indiquent que quelque soient les dilutions pour l'ensemble des extraits, à la température 45 C° et 55 C° l'activité anti-hémolyse est modérée avec une protection marquée pour tous les extraits et dilutions. Cependant pour la température de 35C° tous les extraits avec les quatre dilutions, la protection a été calculée négativement

En perspectives,

Des analyses phytochimiques et biologiques plus détaillées seront nécessaire pour isoler et caractériser les composés actifs responsables des effets de stabilisation de la membrane pour mieux comprendre les mécanismes d'action exacts de ces activités

Valoriser l'Alaterne dans d'autres études approfondies phytochimiques et moléculaires afin de l'exploiter dans la phytothérapie et santé

Références Bibliographiques

Références bibliographique

A

Aberrane, Sadjia, et Massilia Mehalla. 2019. « Etude de l'activité anti-inflammatoire et antihémolytique de l'extrait aqueux de feuilles de Malva sylvestris L. » Thesis. Université Mouloud Mammeri

Aguilar M. (2007)- Erythrocytes -MB7 : Hématologie. Faculté de médecine ; Montpellier, France.

Ait Youssef M. (2006) - Plantes médicinales de Kabylie. Edition Ibis Press. ISBN : 9789961-57-259-7 Paris.18

Akerreta S. (2009). Etnobotánica farmacéutica en Navarra : del uso tradicional de las plantas Medicinales a su evidencia científica (Ph.D.thesis).Faculty of Science, University of Navarra, p.831, Pamplona, Spain.

Amlan K. et Patra J.S., 2010- A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*, 71 : 1198–1222

Ammar R.B., Sghaier M.B., Boabaker J., Bhourri W., Nffeti A., Skandrani I., Boulel I., Kilani S., Ghedira K., and Chekir-Ghedira. (2009)- Antioxidant activity and inhibition of Aflatoxin B1- nifuroxazid, and sodium azide – induced mutagenicity by extracts from *Rhamnus alaternus* L. *Chem- Biol, Inter* 174 : pp.1-10

Andrienne P, Leunis J T. (2008)- Les bases de la prescription en gemmothérapie : paramètres biologiques sériques et phytosociologie. *Phytothérapie*, 6(5) : 301-305.

Attiyet A. (1995) - Plantes médicinales et aromatiques dans le monde Arabe. Ed. Institution arabe pour les études et publication, Beyrouth, 296 P.

B

Bardin J.M. (2004). Dictionnaire illustré des plantes médicinales. Ed. Lodi, France Béraud, J.(2014). Le technicien d'analyses biomédicales, 2ème édition, P. 628-650, ISBN : 978-2-7430-1299_1

Ben Ammar R., Bhourri W., Ben Sghaier M., Boubaker J., Skandrani I., Neffati A., Bouhlel I. Kilani, S., Mariotte A.M., Chekir-Ghedira L., Dijoux-Franca M.G. & Ghedira K. (2009) Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae) : a structure-activity relationship study. *Journal of Food Chemical* 116, 258–264

Ben Ammar R., Kilani S., Bouhlel I., Ezzi L., Skandrani I., Boubaker J., Ben Sghaier M., Naffeti A., Mahmoud A., Chekir-Ghedira L. & Ghedira K. (2008). Anti-proliferative, Antioxidant, and Antimutagenic Activities of Flavonoid-Enriched Extracts from (Tunisian) *Rhamnus alaternus* L : Combination with the Phytochemical Composition. *Drug, Journal of Chemical and Toxicology* 31, 61-80

Ben Ammar R., Bhourri W., Ben Sghaier M., Boubaker J., Skandrani I., Neffati A., Bouhleb I. Kilani, S., Mariotte A.M., Chekir-Ghedira L., Dijoux-Franca M.G. & Ghedira K. (2009) Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae): a structure-activity relationship study. *Journal of Food Chemical* **116**, 258–264

Beloued A. (2001) - Les plantes médicinales d'Algérie. Ben Aknoun, Alger : Ed. OPU

Benchiha. W. (2016) Phyto-écologie et étude biochimique des composants phénoliques (traitement in vivo contre hépatite) de *rhamnus alaternus* des monts de Tessala wilaya de sidi Belabbes » Thèse de Doctorat en Science . Université de Djillali Liabess. Algérie

Benedicte P. (2007) -Recherche bioguide de molecules antipaludiques d'une plante guyanaise Piper hostmannianum.Université Paul Sabatier, Toulouse. Spécialité : chimie biologie santé :22 p.

Béraud, J. (2014). Le technicien d'analyses biomédicales, 2ème édition, P. 628-650, ISBN: 978-2-7430-1299_1

Bertrand, (2010) -Les secrets de l'Ortie ; 7^e édition Edition de Terran (Collection le compagnon végétal N01 :12p

Bhourri W., Ben Sghaier M., Kilani S., Bouhleb I., Dijoux-Franca M- G., Ghedira K. Chekir L (2011)- Evaluation of antioxidant and antigenotoxic activity two flavonoids from *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae) Kaempferol 3-O-b-isorhamninoside and rhamnocitrin3-Obisorhamninoside. *Food and Chemecal Toxicology* 49 :pp. 1167-1173

Bost I. (2016)- Le médecin, le pharmacien et l'herboriste. La perception de la biomédecine par les utilisateurs français de l'herboristerie. Des années 1970 à nos jours. *Debater a Europa*, (14) : 107-139.

Bruneton, J., (1999)- Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Editions Tec & Doc, Paris, éditions médicales internationales.P : 483-560.

C

Calvo M.I. & Cavero R.Y. (2014). Medicinal plants used for cardiovascular diseases in Navarra and their validation from Official sources. *Journal of Ethnopharmacology***157**, 268-273.

Cazau-BeyretN. (2013) -Prise en charges des douleurs articulaires par aromathérapie et Phytothérapie :195 p

Chabrier, J.Y., (2010)- Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie.Diplôme D'état de docteur en pharmacie. Université Henri Poincaré – Nancy 1- 165P.

Chakraborty, D., et B, Shah (2011) - « Antimicrobial, antioxidative and antihemolytic activity Of Piper betel leaf extracts. » *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 3(3) : 192-199.

Chopade L.R. , Jayasinh S. Paradeshi , Kalpesh P. Amrutkar , Bhushan L. Chaudhari.(2019)- Finding out potent probiotic cultures from ayurvedic formulation *Takrarishta* through *in-vitro* probiotic characterization and principal component analysis. LWT Volume 100, February, Pages 205-21

D

Dubost, É. ; et A, Dupuis (2011)- « La prise en charge des anémies par carence. » Actualités Pharmaceutiques hospitalières 7(26) : 10-17.

Dutertre J . (2011)- Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse doctorat d'état, Univ. Bordeaux 2- Victor Segalen U.F.R des sciences médicales, France,33 p.

E

Elqaj M., Aham I A. et Belghyti D., 2007 -La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique « ressources naturelles et antibiotiques ». Maroc

F

Farnsworth N.R., Akerele O., BIngel A.S., Soejarto D.D. et Guo Z.,(1986)- Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé, 64(2) : 159-164Franas Debaissi eux ; Jean-Marie Polese, 2009.Plantes médicinales, secrets et remèdes d'autre fois

Federici, L., N, H, Loukili., J, Zimmer., S, Affenberger., F, Maloisel., E, Andrés. (2007)- « Manifestations hématologiques de la carence en vitamine B12 : données personnelles et revue De la littérature. » La Revue de médecine interne 28(4) : 225-231

Fleurentin J.,(2008)-Plantes médicinales tradition et thérapeutique, éditions Ouest France, France B.U.Santé Nantes : 104-105 p.

Fouché J.G, Marquet A, Hambuckers. (2000) – Les plantes au médicament observation du Monde des plantes .Sart-Tiliman

G

Gentiana (Fondation pour la connaissance des plantes médicinales),(2001) – Importances des plantes médicinales dans notre société.

Gershfeld N. L, Murayama M . (1988)- Thermal instability of red blood cell membrane bilayers: temperature dependence of hemolysis The Journal of membrane biology, •Springer

Gravot. (2009). Support de cours sur le métabolisme secondaire (Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV) Université de Rennes 1 – L2 UE PHR .

Greathead H. (2003)- Plants and plant extracts for improving animal productivity. Proceedings of the Nutrition Society, 62 : 279–290

Grunwald J, Janick C. (2006). Guide de la phytothérapie. 2^{ème} édition. Italie marabout

Guillaume B. (2008) -La Chimie du Carbonyle et des Substitutions. COR301 Chimie Organique II, Univ. Sherbrooke, Canada, 6 p.

Gulias J., Traveset A., Riera N. & Mus M. (2004)- Critical Stages in the Recruitment Process Of *Rhamnus alaternus* L. Journal of Annals of Botany 93, 723-731

H

Hamiani A. (2018) . L'étude chimique et pharmacologique de quelques familles de plantes médicinales Algériennes. Thèse de Doctorats en Sciences. Université d'Oran. 154p

Hebbani, A, V., V, D, Reddy., V, Nallanchakravarthula. (2014). « In Vitro Anti-hemolytic Activity of Terminalia arjuna (Roxb.) Wt. & Arn. Bark Powder Aqueous Extract. » Ind. J. Adv.Chem. Sci 3 : 02-108.

Hordé P. (2014) -Plantes médicinales –Définition. Consulté le 8 juillet 2015. http://santemedecine.journaldesfemmes.com/faq/32986-plante-medicinale-definition/#simili_main.

I

Iserin, P. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse VUEF, 2^{ème} Ed., Paris :14,275.

Izhaki I., Tsahar E., Irena P. & Jacob F. (2002)- Within population variation and Interrelationships between morphology, nutritional content, and secondary compounds of *Rhamnus alaternus* fruits. Journal of New Phytologist, 156, 217-223.

J

James, O., et I, M, Alewo. (2014)- « In vitro antihemolytic activity of gymnema sylvestre Extracts against hydrogen peroxide (H₂O₂) induced haemolysis in human erythrocytes. » Am.J. Phytomed. Clin. Ther 2 : 861-869.

K

Kamra D.N., Agarwal N. and Chaudhary L.C., (2006)- Inhibition of ruminalmethanogenesis by tropical plants containing secondary compounds.InternationalCongressSeries, 1293 :156–163.

Konig, S., Schellenberg, A., Neef, H. et Schneider G. (1994)- Specificity of coenzyme binding In thiamin diphosphate-dependent enzymes. Crystal structures of yeast trans-ketolase in complex With analogs of thiamin diphosphate. J Bio lChem 269 (14) : 10879-10882

Köse K , Doğan P. (1995)- Lipoperoxidation induced by hydrogen peroxide in human erythrocyte membranes. 2. Comparison of the antioxidant effect of Ginkgo biloba extract (EGB 761) with those of water-soluble and lipid-soluble antioxidants. J Int Med Res ;23(1):9-18. doi: 10.1177/030006059502300102.

Kosalec I., Kremer D., Locatelli M., Epifano F., Genovese S., Carlucci G., Randic M & Zovko Končić M. (2013). Anthraquinone profile, antioxidant and antimicrobial activity of Bark extracts of *Rhamnus alaternus*, *R. fallax*, *R. intermedia* and *R. pumila*. *Journal of Food Chemistry* 136, 335–341

L

Lepock J .R, Frey H.E, Bayne H, Markus J. (1989)- Relationship of hyperthermia-induced hemolysis of human erythrocytes to the thermal denaturation of membrane proteins- *Biochimica et Biophysica. Acta - Elsevier*

Leporrier, M. (2008). « Anémies hémolytiques auto-immunes. » *Hématologie* 14(6) : 432-441.

Limonier S., (2018). La phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la Pharmacie, département bio-ingénierie pharmaceutique, Aix, Marseille université.

Lippi G., Avanzini P., Pavesi F., Bardi M., Ippolito L., Aloe R. et Favaloro E.J. (2011)- Studies on in vitro hemolysis and utility of corrective formulas for Reporting results on hemolyzed specimens. *Biochemia medica* : 21, 297-305

Lynda O, Cylia C., (2018). Contribution à l'étude ethnopharmacognosique des plantes médicinales utilisées pour le traitement des affections de l'appareil digestif en Kabylie. Universités Mouloud Mammeri.

M

Macheix J., Fleuriet A., Jay C. (2005)- Les composés phénoliques des végétaux, un exemple des métabolites secondaires. *Collection Biologie*, pp.1-11

Manaargadoo-Catin, M., A. Ali-Cherif., J, Poignas., C, Perrin. (2016)- « Hemolysis by Surfactants—a review. » *Advances in colloid and interface science* 228 : 1-16

Maurice, N. (1997)- L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI^e siècle .Ed. Lavoisier, Paris. 12-14p.

Mouchet J., Camevale P., Coosemans M., Julvez J., Manguin S., Lenobie D.R. and Sircoulon J.(2004) – Biodeversité du paludisme dans le monde. Ed. John Libbey Eurotext, Paris, 391p

Mukinda JT., Syce J. A. (2007) - Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in rodents *Journal of ethnopharmacology*, •Elsevier

Muthu, S., et B, Duraira (2015) - « Inhibitory effect of hydroethanolic extracts of *Annona Muricata* on human platelet aggregation and hemolysis in vitro. » *Int J Pharm Pharm Res*

N

Nabavi, S, F., S, M, Nabavi., W, Setzer., S, A, Nabavi., S, A, Nabavi., M, A, Ebrahimzadeh. (2013)- « Antioxidant and antihemolytic activity of lipid-soluble bioactive Substances in avocado fruits. » *Fruits* 68(3) : 185-193. 2 :207-213

Nogaret-Ehrhart A.S. (2003)- La phytothérapie Se soigner par les plantes. Edition Eyrolles :19-36 p

O

Odile M, 2004. Biosynthèse des isoprénoïdes : synthèse d'analogues du 1-désoxy-Dxylulose 5- Phosphate, inhibiteurs potentiels de la voie du méthylérythritol phosphate ; Thèse de Doctorat ;Univ. Louis Pasteur, pp.17-22.

O.M.S (Organisation Mondiale de la Santé), (2000) – Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation de la médecine traditionnelle.

P

Portier, K., N, Kirschvink., N, Fellmann., J, Coudert., P, Lequeux. (2007). Paramètres Influçant la structure et la fonction du globule rouge chez le cheval. Annales de Médecine Vétérinaire, Université de Liège

Potel A M . (2002)- Les plantes médicinales au Sénégal (commune de Nguékokh, zone de la Petite Côte) Extraits du rapport du stage, sciences naturelles, effectué à Nguekokh : 22 p

Q

Quezel, P., Barbero, M., Benabid, A. Loisel, R. Rivas Martinez, S. (1988). Contribution à L'étude des groupements pré-forestières et des matorrals Rifains. Ecologia Mediterranea 1(2)

Quezel, P., & Santa, S. (1963).Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. Tome II. Edition : CNRS, Paris. France. 605p

R

Rahman, H., M, C, Eswaraiah., A, M, Dutta. (2015). « In-vitro anti-inflammatory and Anti-arthritic activity of Oryza sativa var. joha rice (an aromatic indigenous rice of assam). » American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences 15(1) : 115-121.

Rani, A, A., S, M, J, Punitha., M, Rema. (2014). « Anti-inflammatory activity of flower Extract of Cassia auriculata-an in vitro study. » Int. Res. J. Pharm. Appl. Sci. 4 : 57-6

Roberto C. (1982) - Les plantes médicinales, Arnoldo mondadori , Milan et Solar-Paris : 445 pages .

S

Scalbert, A., Williamson, G. (2000) - Dietary intake and bioavailability of polyphenols .J.Nutr., 130, 2073-2085

Sebai M. et Boudali M.(2012) La Phytothérapie entre la confiance et méfiance. Mémoire professionnel d'infirmier de la sante publique. Institut de formation paramédical, Alger, p 9.

Sheng-J.I P., (2001) - Ethnobotanical Approches of Traditional Medicine Studies : Some Experiences from Asia. Pharmaceutical Biology, 39 : 74-79.

Stocker, P., Yousfi, M., Djerridane, O., Perrier, J., Amziani, R., El Boustani, S., & Moulin, A. (2004)- Effect of flavonoids from various Mediterranean plants on enzymatic activity of intestinal carboxylesterase. *Biochimie*, 86(12), 919-925.

Strang C., 2006 - Larousse medical. Ed. Larousse, Paris, 1219 p

Suffness M.(1995) - Taxol science and applications. Ed.CRC : Boca Raton, Florida, 424 p

T

Tapiero H, Tew KD, Nguyen BG, and Mathé G. (2002) - Polyphenol do they play a role in the prevention, 8of the human pathologies ? *Biomed. Pharmacother.* 56 : 200-207 p.

Teuscher E., Anton R., et Lobstein A.(2005) - Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Tec. & Doc. Lavoisier, Paris. Pp : 300- 304

Tlili-Ait Kaki, Y., Bennadja, S., & Chefrour, A. (2013).Revalorisation d'une essence endémique : le sapin de Numidie (*Abies numidica*). *Fl. Medit.*, 23, 123-129

Y

Verma, S. (2018). A study on medicinal herb *spinacia oleraceae* Linn: *amaranthaceae*. *Journal of drug delivery and therapeutics*; 8(4):59-61.

Yi-ling C and Pan-Kai C. (1982) - *Rhamnaceae*. In : Chen Yi-ling, ed., *Fl. Reipubl. Popularis Sin.* 48 (1) :1-169

Annexe

Présentation de quelques figures prise lors du protocole expérimental au laboratoire d'hémologie à l'hôpital de Si Lakhder



Protection des hématies contre la chaleur (après centrifugation)



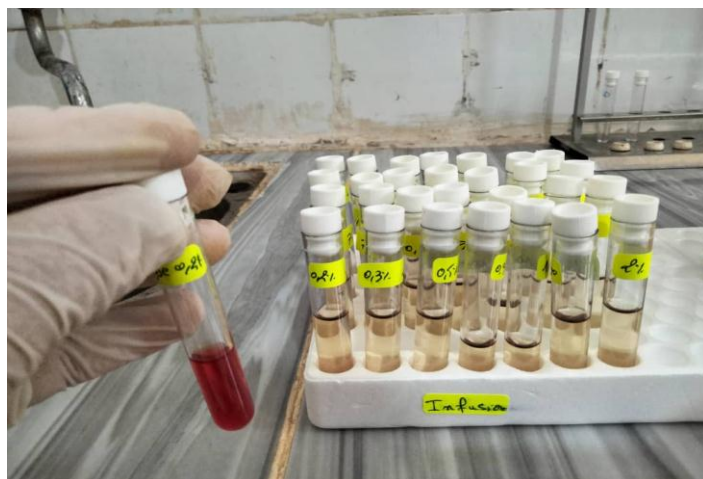
Protection contre l'hypotonie



Réaction de H₂O₂ avec le sang



Préparation des extraits de *R.alaternus*



Test de protection de l'infusé de la plante contre l'hypotonie

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة عبد الحميد بن باديس - مستغانم -
كلية علوم الطبيعة والحياة

تصريح شرفي خاص بالالتزام بقواعد النزاهة العلمية
لإنجاز البحث

أنا الممضي أدناه،

الطالب(ة):
الجامعي:

الحامل لبطاقة التعريف الوطنية رقم:
والصادرة بتاريخ:

.....

عن
مسئرا عن

المسجل بـ كلية علوم الطبيعة و الحياة / قسم البيولوجيا

شعبة علوم البيولوجيا. Sciences. Biologiques. /التخصص علم الصيدلة و السموم. Pharmacotoxicolog.
ie

والمكلف بإنجاز مذكرة ماستر


بعنوان:

Phytochimie et activité Anti-hémolytique des extraits de l'Alaterne « Rhamnus alaternus »

أصرح بشرفي أنني ألتزم بمراعاة المعايير العلمية والمنهجية ومعايير الأخلاقيات العلمية والنزاهة
الأكاديمية المطلوبة في إنجاز البحث ، وأتحمل المسؤولية الشخصية عن كل المحتوى المتضمن في
البحث المذكور أعلاه .

التاريخ: 30/06/2025

إمضاء المعني



* ملحق القرار الوزاري رقم 933 المؤرخ في 28 جويلية 2016 الذي يحدد القواعد المتعلقة بالوقاية من السرقة العلمية ومكافحتها.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة عبد الحميد بن باديس - مستغانم -
كلية علوم الطبيعة والحياة

تصريح شرفي خاص بالالتزام بقواعد النزاهة العلمية
لإنجاز البحث

أنا الممضي أدناه،
الطالب(ة): حقايني وهسيبة
الجامعي: 3703330
الحامل لبطاقة التعريف الوطنية رقم: 4.0.5.6.1.36.9 والصادرة بتاريخ:
..... 2022 108.106.....

عن بلدية سيدي جعفر - مستغانم
المسجل بكلية علوم الطبيعة و الحياة / قسم البيولوجيا
شعبة علوم البيولوجيا. Sciences Biologiques / التخصص علم الصيدلة و السموم. Pharmacotoxicologie

والمكلف بإنجاز مذكرة ماستر

بعنوان:

Phytochimie et activité Anti-hémolytique des extraits de l'Alaterne « Rhamnus alaternus »

أصرح بشرفي أنني ألتزم بمراعاة المعايير العلمية والمنهجية ومعايير الأخلاقيات العلمية والنزاهة
الأكاديمية المطلوبة في إنجاز البحث ، وأتحمل المسؤولية الشخصية عن كل المحتوى المتضمن
في البحث المذكور أعلاه .

التاريخ: 2025 106.130.....

إمضاء المعني

* ملحق القرار الوزاري رقم 933 المؤرخ في 28 جويلية 2016 الذي يحدد القواعد المتعلقة بالوقاية من السرقة العلمية ومكافحتها.