

Republique Algerienne Democratique Et Populaire

Ministre De L'enseignement Superieur

et de la Recherche Scientifique

Université Mohamed kheider Biskra

Faculté des sciences exactes et de sciences de la nature et de la vie

Département : Sciences de la nature et de la vie



Option : 2<sup>ème</sup> Année Master Biochimie et Biologie Moléculaire

Pour L'obtention du Diplôme de

MASTER

THEME

**Etude phytochimique de *Lycium arabicum* et  
leur toxicité aigue (DL50)**

Présenté par l'étudiant :

**DOUHA Fathia**

*Promoteur* : TRABSA Hayat

*Co-promoteur* : KRACHE Imen

*Président* : MEDDOUR Asma

*Examineur* : AOURAGH Hayat

Promotion juin 2014

## REMERCIEMENTS

*Tout éloge revient au tout puissant que nous remercions,*

*De par sa grâce, pour ce travail.*

*Il est toujours délicat de remercier l'ensemble des personnes qui ont contribué à l'aboutissement de ce travail de recherche. Que ce qui n'est pas mentionnés ne m'en tiennent pas rigueur.*

*Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude à mon encadreur Melle Hayat Trabsa, pour m'avoir honoré par son encadrement, pour toute la confiance qu'il m'a accordée, pour avoir suivi mon travail avec beaucoup d'intérêt et pour ses conseils précieux. Je la remercie aussi pour sa présence et sa disponibilité continue. Sa patience et pour son œil critique qui m'a été très précieux pour structurer et améliorer la qualité de ce travail.*

*Je souhaite remercier les membres du jury qui nous ont fait l'honneur d'accepter de faire partie de notre jury de thèse, et qu'ils soient remerciés pour le temps consacré à lire et à juger ce modeste travail.*

*Je remercie sincèrement Melle KRACHE Imane. Département Biochimie. Université de Sétif.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à mes parents,  
qu'ils trouvent ici ma plus profonde gratitude et tout mon amour  
pour leur soutien tout au long de ma vie.  
Je t'aime papa, Je t'aime maman.*

*A Mes sœurs et toute ma famille.*

*A mon ami M qu'été toujours avec moi et m'encourage, je le  
remercie sincèrement pour ces conseils et son aide.*

*En fin, mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements à toute  
personne qui a participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

# SOMMAIRE

## LISTE DES ABREVIATIONS

## LISTE DES FIGURES

## LISTE DES TABLEAUX

## INTRODUCTION

### PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

#### 1. Notions de toxicologie

1.1.Définition de la toxicologie.....	02
1.2.Définition d'un poison ou un toxique.....	02
1.3.Le toxique et l'organisme.....	02
1.4.Cheminement d'un toxique dans l'organisme.....	02
1.4.1. L'entrée ou l'absorption.....	04
1.4.2. Le transport et la distribution ou la répartition.....	04
1.4.3. La biotransformation ou le métabolisme.....	04
1.4.4. L'excrétion.....	05
1.5.Classification des effets toxiques.....	05
1.6.Description des manifestations par systèmes biologiques et organes cible.....	05
1.6.1. L'hépatotoxicité.....	05
1.6.2. La néphrotoxicité.....	06
1.6.3. La neurotoxicité.....	06
1.6.4. La dermatotoxicité.....	06
1.6.5. La toxicité de l'appareil respiratoire.....	06
1.6.6. La toxicité cardiovasculaire.....	07
<b>2. Les principes actifs des plantes médicinales.....</b>	<b>07</b>
2.1.Les flavonoïdes.....	08
2.2.Les tanins.....	08
2.3.Les terpènes.....	08
2.4.Les saponines.....	08
2.5.Les alcaloïdes.....	09
2.6.Les coumarines.....	09
2.7.Les huiles essentielles.....	09

<b>3. <i>Lycium arabicum. L</i></b>	
3.1.Systématique.....	<b>10</b>

## **MATERIELS ET METHODES**

### **1. Matériels**

1.1.Matériels biologique.....	<b>11</b>
1.2.Réactifs chimique.....	<b>11</b>
1.3.Appareillage.....	<b>11</b>

### **2. Méthodes**

2.1.Evaluation des la toxicité aigue ; détermination de la DL50.....	<b>11</b>
2.2.Activité hémolytique.....	<b>12</b>
2.3.Méthodes chromatographiques de séparation.....	<b>13</b>
2.3.1. Chromatographie sur couche mince.....	<b>13</b>
2.3.2. Chromatographie sur colonne.....	<b>14</b>
<b>3. Analyse statistique.....</b>	<b>14</b>

## **RESULTATS ET DISCUSSIONS**

1. La toxicité aigue ; détermination de la DL50.....	<b>15</b>
1.1.Observation des comportements et symptômes cliniques des animaux.....	<b>15</b>
2. Activité hémolytique.....	<b>17</b>
3. Méthodes chromatographique	
3.1.Chromatographie sur couche mince.....	<b>22</b>
3.2.Chromatographie sur colonne.....	<b>25</b>

## **CONCLUSION**

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## Liste des tableaux

<b>Tableau01</b> : Solvants pour CCM.....	13
<b>Tableau02</b> : Graduant de polarité.....	14
<b>Tableau03</b> : Détermination de la DL <sub>50</sub> de l'extrait brut méthanolique de <i>L. arabicum</i> par l'Analyse par la méthode de probits - Méthode des moindres carrés (Distribution Normale).....	15
<b>Tableau04</b> : Détermination des différentes doses létales (DL) de l'extrait brut méthanolique de <i>L. arabicum</i> par la méthode de probits-Méthode des moindres carrés (Distribution Normale).....	16
<b>Tableau05</b> : L'échelle de Hodge et Sterner chez les rats de laboratoire Classes de toxicité selon (Ulanova, 1975 ; Frank ,1992).....	17
<b>Tableau06</b> : Temps de demi-hémolyse (HT <sub>50</sub> ) obtenues après traitement avec l'extrait du <i>L. arabicum</i> . Les valeurs sont les moyennes ± SEM (n= 5).....	21
<b>Tableau07</b> : Système d'élution chloroforme/méthanol.....	22
<b>Tableau08</b> : Système d'élution éther/méthanol.....	23
<b>Tableau09</b> : Système d'élution acétone/méthanol.....	23
<b>Tableau10</b> : Système d'élution chloroforme/éther.....	23
<b>Tableau11</b> : Système d'élution acétone/éther.....	23
<b>Tableau12</b> : Système d'élution acétone/chloroforme.....	23
<b>Tableau13</b> : Système d'élution méthanol/éther/chloroforme.....	24
<b>Tableau14</b> : Système d'élution méthanol/chloroforme/éther.....	24
<b>Tableau15</b> : Système d'élution acétone/chloroforme/éther.....	24
<b>Tableau16</b> : Système d'élution acétone/éther/chloroforme.....	24
<b>Tableau17</b> : Système d'élution acétone/méthanol/éther.....	24
<b>Tableau18</b> : Système d'élution acétone/éther/méthanol.....	24
<b>Tableau19</b> : Système d'élution acétone/méthanol/chloroforme.....	25
<b>Tableau20</b> : Système d'élution acétone/chloroforme/méthanol.....	25
<b>Tableau21</b> : Rendement et pourcentage de récupération des fractions.....	25

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 01:</b> Cheminement d'un produit dans l'organisme.....	03
<b>Figure 02:</b> <i>Lycium arabicum</i> .....	10
<b>Figure 03:</b> Estimation de la DL <sub>50</sub> chez les souris males traitées par voie intra péritonéale par l'extrait brut méthanolique de <i>L. arabicum</i> .....	15
<b>Figure 04:</b> Cinétique pour le témoin. Les valeurs sont les moyennes ± SEM (n= 3).....	18
<b>Figure 05:</b> Cinétique obtenue après traitement avec la dose 0,1 d'extrait. Les valeurs sont les moyennes ± SEM (n= 3).....	18
<b>Figure 06 :</b> Cinétique obtenue après traitement avec la dose 0,2 d'extrait. Les valeurs sont les moyennes ± SEM (n= 3).....	19
<b>Figure 07 :</b> Cinétique obtenue après traitement avec la dose 0,3 d'extrait. Les valeurs sont les moyennes ± SEM (n= 3).....	19
<b>Figure 08 :</b> Temps de demi-hémolyse (HT <sub>50</sub> ) obtenues après traitement avec les différentes doses d'extrait 0,1, 0,2, 0,3. Les valeurs sont les moyennes ± SEM (n= 3).....	21

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>ANOVA</b>	Analyse de variance
<b>µg</b>	microgramme
<b>µM</b>	Micromole
<b>Acet</b>	Acétone
<b>CCM</b>	Chromatographie sur Couche Mince
<b>Chlo</b>	Chloroforme
<b>cm</b>	Centimètre
<b>DL<sub>50</sub></b>	Dose létale qui tue 50% de la population
<b>Eth</b>	Ether de pétrole
<b>h</b>	heure
<b>HT<sub>50</sub></b>	Half time hemolysis
<b>Kg</b>	Kilogramme
<b>MeOH</b>	Méthanol
<b>mg</b>	Milligramme
<b>min</b>	Minute
<b>ml</b>	Millilitre
<b>mm</b>	Millimètre
<b>mOsm</b>	Miliosmole
<b>NaCl</b>	Chlorure de sodium
<b>nm</b>	Nanometer
<b>O.M.S</b>	Organisation mondiale de santé
<b>ONAB</b>	Office National de Bétails de Bejaia
<b>SEM</b>	Erreur standard de la moyenne
<b>t<sub>lag</sub></b>	Lag time
<b>UV</b>	Ultra-violet



## INTRODUCTION

Les plantes médicinales constituent une alternative idéale aux médicaments chimiques ou spécialités trop chers à fabriquer ou à acheter pour les pays en voie de développement. Aujourd'hui, en Algérie, comme partout en Afrique on constate que les populations face au problème des coûts et/ou d'accessibilité des spécialités notamment en zone rurale, se retournent de plus en plus vers les pharmacies traditionnelles et les tradipraticiens (herboristes) (**Bruneton, 1999**).

Selon les estimations de l'OMS (organisation mondiale de la santé) en 2002, plus de 80% de la population en Afrique utilisent encore la médecine traditionnelle pour répondre à leurs besoins de soin et de santé. Sachant qu'une plante peut contenir plusieurs milliers de substances et différents principes actifs qui représentent 25% des médicaments prescrits soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes (**Bruneton, 1999**). La toxicité des produits chimiques, le cout élevé des médicaments chimiques, l'éloignement et/ou l'insuffisance des centres de santé, tous ont favorisé le recours à cette pratique.

La famille des solanacées présente environ 2000 espèces comprenant de nombreuse plantes toxiques et renferment des drogue importantes (**Bruneton, 2001**). L'objectif de ce travail a été d'étudier la toxicité aigue de l'extrait de *L. arabicum* chez les souris males et évaluer son effet sur l'hémolyse des érythrocytes. Et estimation phytochimique de la composition de cette plante et la séparation des grandes catégories des composants par CCM.

## 1. Notions de toxicologie

### 1.1. Définition de la toxicologie

Toxicologie du grec *toxico*, poison recouvrant les flèches, et *logos*, étude, science. Discipline scientifique qui s'occupe des toxiques, de leurs propriétés, de leur devenir dans l'organisme, de leur mode d'action, de leur recherche dans différents milieux et des moyens (préventifs et curatifs) permettant de combattre leur nocivité (**Alain, 2005**).

Elle fait appel à une multitude de connaissances scientifiques et s'intéresse à plusieurs secteurs de l'activité humaine : l'agriculture, l'alimentation, l'industrie pharmaceutique, l'environnement, les milieux de travail...etc (**Lapointe, 2004**).

### 1.2. Définition d'un poison ou un toxique

Est une substance capable de perturber, immédiatement ou à terme, de façon passagère ou durable, le fonctionnement normal d'un organisme vivant, pouvant aller jusqu'à sa suppression complète et amener la mort (**Alain, 2005**).

Les toxines peuvent être produites par des microorganismes comme les bactéries, par des plantes, dont le racin ou par des animaux. Peut être d'origine fongique (champignons vénéneux) ou chimique comme l'intoxication par les métaux lourds (**Denis, 1997**).

### 1.3. Le toxique et l'organisme

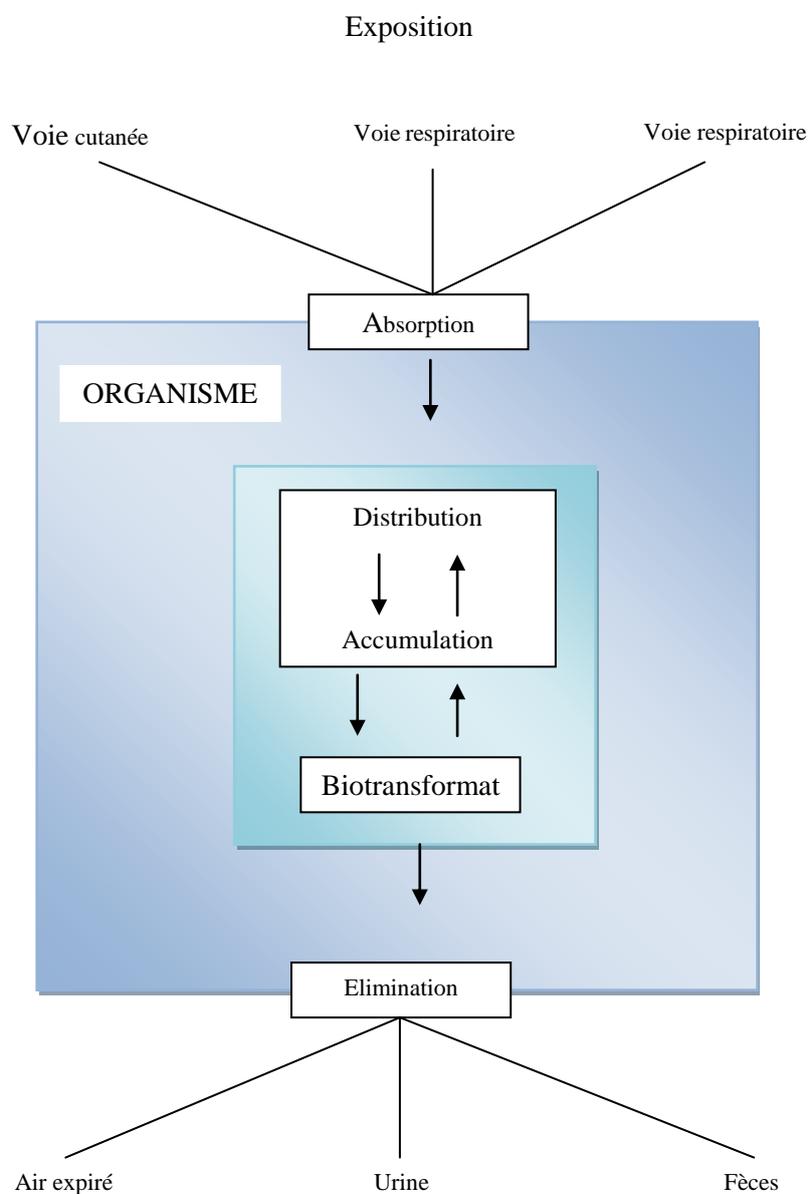
L'organisme doit être exposé à un produit toxique pour qu'un effet nocif se manifeste. Dans ce cas, le produit peut agir au point de contact (effet local) ou pénétrer dans l'organisme (effet symétrique). Certains produits agissent pendant leur contact avec la surface exposée (peau, yeux). Les principales façons de les absorber sont : l'inhalation (voie respiratoire), l'absorption par la peau (voie cutanée) et l'ingestion (voie digestive) (**Lapointe, 2004**).

### 1.4. Cheminement d'un toxique dans l'organisme

Un produit qui pénètre dans l'organisme peut avoir des effets bénéfiques (médicaments) ou néfastes (toxiques) **figure 1**. Inversement, l'organisme peut agir sur ce produit : c'est ce qu'on appelle le métabolisme. La réponse de l'organisme à un toxique dépend, entre autres de la quantité du produit présent dans un tissu ou un organe. Plusieurs facteurs interviennent dans les processus d'action toxique, notamment les phases toxicocinétiques et toxicodynamiques (**Derache, 1986**).

La toxicocinétique, peut être définie comme l'étude des mouvements dynamiques des xénobiotiques durant leur passage dans le corps humain. En d'autres mots, la toxicocinétique renseigne sur la façon avec laquelle l'organisme agit sur une substance par l'intermédiaire des processus d'absorption, de distribution, de biotransformation et d'excrétion (**Viau et Tardif, 2003**).

La toxicodynamie, s'intéresse à l'influence qu'exerce un toxique sur l'organisme et aux facteurs qui interviennent dans la réponse toxique. Elle détermine la disponibilité biologique de la substance. Ce n'est qu'après cette phase que nous pourrions observer les effets toxiques d'une substance (**Derache, 1986**).



**Figure 01** : Cheminement d'un produit dans l'organisme (**D'après Lapointe, 2004**).

#### **1.4.1. L'entrée ou l'absorption**

On appelle absorption le processus de pénétration d'un produit dans l'organisme. Il s'agit d'une étape importante, car, tant qu'il n'a pas pénétré dans la circulation sanguine, un produit ne peut causer d'action toxique systémique, c'est-à-dire à des endroits éloignés du point de contact initial. Divers facteurs peuvent influencer le processus d'absorption d'un produit: sa nature, sa solubilité, la perméabilité des tissus biologiques au point de contact, la durée et la fréquence de l'exposition...etc (**Lapointe, 2004**).

#### **1.4.2. Le transport et la distribution ou la répartition**

Après être entré dans le sang par l'absorption ou l'administration intraveineuse, une substance toxique est distribuée aux tissus dans tout le corps. Répartition survient généralement rapidement. Le taux de distribution aux organes ou tissus est déterminé principalement par le flux sanguin et la vitesse de diffusion sur le lit capillaire dans les cellules d'un organe particulier ou d'un tissu. La distribution finale dépend en grande partie de l'affinité de xénobiotique pour divers tissus. En général, la phase initiale de la distribution est dominée par le débit sanguin, tandis que la distribution finale est déterminée en grande partie par affinité. La pénétration de substances toxiques dans cellules se produit par diffusion passive ou des processus de transport spéciaux, comme qui a été discuté précédemment. Molécules et des ions solubles dans l'eau de petits apparemment diffuser à travers des canaux aqueux ou pores dans la cellule membrane, les molécules liposolubles pénètrent facilement la membrane lui-même. Les molécules très polaires et des ions de même taille modérée (de poids moléculaire de 50 ou plus) ne peuvent pas entrer dans les cellules facilement que par spéciale transporter mécanismes car ils sont entourés par une hydratation coquille, faisant leur taille réelle beaucoup plus grande (**Casaretta et Doull's, 2008**).

#### **1.4.3. La biotransformation ou le métabolisme**

Pendant ou après son transport dans le sang, le toxique peut entrer en contact avec différentes cellules de l'organisme qui ont la capacité de le transformer. L'ensemble des réactions de la transformation métabolique est appelée biotransformation, tandis que les produits de la biotransformation sont appelées métabolites. Il peut en résulter un produit moins toxique (détoxification) ou plus toxique (activation), l'accumulation ou l'élimination du produit et ses métabolites. La transformation des toxiques est surtout effectuée par le foie, véritable laboratoire chimique de l'organisme, qui contient une multitude d'enzymes. Il

yyenrichit le sang d'éléments nutritifs et le purifie en concentrant et en éliminant beaucoup de substances. D'autres organes tels que les pommons et les reins peuvent aussi transformer des toxiques (**Lapointe, 2004**).

#### **1.4.4. L'excrétion**

Conduit à une élimination définitive d'une substance hors de l'organisme. Les substances mères et leurs métabolites sont alors principalement éliminés par le rein dans l'urine (**Viau et Tardif, 2003**). D'autres voies sont sécrétion dans la bile, expiration via les poumons dans substances volatils et gaz et la sécrétion dans le tractus gastro-intestinal ou dans des liquides tels que : le lait, la salive, la sueur, les larmes...etc (**Timbrell, 2009**).

#### **1.5. Classification des effets toxiques**

Selon Lapointe (2004), les effets toxiques peuvent êtres classées de diverses façons : La durée (aigue, chronique), le type d'action (locale, systémique), le mécanisme d'action soit (Stimulant, inhibiteur), la voie de pénétration (respiratoire, cutanée, digestive), le tissu ou l'organe affecté (sang (hématotoxique), foie (hépatotoxique), rein (néfrotoxique), le système nerveux (neurotoxique)), la nature d'effet (irritant, sensibilisant, asphyxiant, cancérogène), l'utilisation (pesticides, savons, solvants), l'étiquetage (matière corrosive), la famille chimique (hydrocarbures aromatiques, alcool).

#### **1.6. Description des manifestations par systèmes biologiques et organes cible**

##### **1.6.1. L'hépatotoxicité**

C'est une atteinte du foie. Le foie est un organe vital, tout comme le cœur et les poumons. Il remplit de multiples fonctions et son rôle est très important dans le maintien de l'équilibre général. Il participe à la digestion, à l'emmagasiner des aliments ainsi qu'à la détoxification, en aidant l'organisme à se débarrasser de ses poisons, et à l'élimination. Il a un rôle important dans la transformation des substances circulant dans le sang, dont les substances toxiques qui y sont véhiculées et qui dans plusieurs cas peuvent y être neutralisées. C'est une cible pour de nombreux toxiques à cause de son important débit sanguin et de sa situation par rapport à la circulation sanguine (ex: le tétrachlorure de carbone, le diméthylformamide, l'ingestion chronique abusive d'alcool éthylique) (**Lapointe, 2004**).

### **1.6.2. La néphrotoxicité**

C'est un effet toxique sur le rein. Le rein est l'organe d'élimination responsable de la sécrétion de l'urine. Il joue un rôle dans la régulation de l'équilibre des liquides du corps et contribue à débarrasser le sang de ses impuretés, et notamment de certains toxiques (ex. : le cadmium, le chloroforme) (**Lapointe, 2004**).

### **1.6.3. La neurotoxicité**

Le système nerveux, à la fois périphérique et central, est un objectif commun pour les composés toxiques, et les cellules qui composent le système, sont particulièrement sensibles aux variations de leur environnement. Ainsi, l'anoxie, l'absence de glucose et d'autres métabolites essentiels, restriction de sang l'écoulement, et l'inhibition du métabolisme intermédiaire peut sous-tendre tous dommages aux cellules du système nerveux ainsi que, dommages cytotoxique direct. Le système nerveux est un très complexe réseau de cellules spécialisées, et des dommages à des parties de ce système peuvent avoir permanente et effets graves sur l'organisme comme il ya peu de capacité à se régénérer et peu de réserve capacité périphérique fonctionnel neuropathie (**Timbrell, 2009**).

### **1.6.4. La dermatotoxicité**

On regroupe sous ce terme l'ensemble des effets toxiques des substances sur la peau (dermatose, sensibilisation cutanée). On utilise généralement l'expression dermatoses professionnelles pour les affections de la peau (dermatoses) pour lesquelles un lien a été établi entre la cause et le milieu de travail. Ce sont :

- les dermatoses qui proviennent exclusivement du milieu de travail, à l'occasion d'un contact cutané avec des produits, irritants et corrosifs, ou qui sont consécutives à une intoxication systémique, comme dans le cas de la chloracnée causée par des dioxines (que l'on trouve comme contaminant dans certains produits à base de biphényles polychlorés ou BPC).
- les dermatoses aggravées par le milieu de travail, comme celles qui peuvent être aggravées par un travail en milieu humide (**Lapointe, 2004**).

### **1.6.5. La toxicité de l'appareil respiratoire**

Le système pulmonaire est le point d'entrée pour de nombreuses substances toxiques. Parmi ces substances inhalé par les poumons humains comprennent des cendres volantes, l'ozone d'atmosphères polluées, les vapeurs de volatile et la fumée de tabac...etc

La principale fonction des poumons est d'échanger des gaz entre le sang et l'air dans les poumons. Cela inclut en particulier l'absorption d'oxygène par le sang et la perte de carbone dioxyde. L'échange de gaz se produit dans un grand nombre d'alvéoles dans les poumons, où l'épaisseur d'un tissu d'une seule cellule sépare le sang à partir de l'air. Ces substances toxiques peuvent entrer directement dans la circulation sanguine et être transportés rapidement aux sites récepteurs avec un minimum d'intervention par les mécanismes de défense de l'organisme. Il existe plusieurs parties du système pulmonaire qui peuvent être affectées par des substances toxiques. Les voies respiratoires supérieures, consistant en le nez, la gorge, la trachée, les bronches et, retient les particules plus grandes qui sont inhalées. Les particules retenues peuvent causer des voies respiratoires supérieures irritation. Cils, se déplacer avec un balayant mouvement pour éliminer les particules capturées. Ces substances sont transportées à partir de la gorge lesquelles ils peuvent entrer dans le tractus gastro-intestinal et être absorbé par le corps (**Manahan, 2003**).

#### **1.6.6. La toxicité cardiovasculaire**

Ce sont les effets sur le cœur et les vaisseaux sanguins. L'exposition aiguë à des doses élevées de certains fréons, comme le fréon 113, peut provoquer des troubles du rythme cardiaque, tels qu'un ralentissement des battements du cœur (bradycardie), tachycardie (augmentation du taux de), et de l'arythmie (de pouls irrégulier) peuvent en résulter (**Lapointe, 2004**).

## **2. Les principes actifs des plantes médicinales**

La plante est le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse de principes actifs les plus divers. Ce processus métabolique est lié aux conditions mêmes de vie de la plante : la plante doit faire face à de multiples agressions de l'environnement dans lequel elle vit : prédateurs, microorganismes pathogènes, etc. On conçoit donc que la plante puisse développer un métabolisme Particulier lui permettant de synthétiser les substances les plus diverses pour se défendre : les métabolites secondaires (**Kansole, 2009**).

Le métabolisme secondaire, désignant un métabolisme dont la distribution taxonomique serait restreinte et dont la contribution au fonctionnement cellulaire ou au développement des plantes serait insignifiante (**Gravot, 2008**).

### 2.1. Les flavonoïdes

Présentent dans la plupart des plantes (**Diallo, 2005**), sont des dérivés benzo-y-pyrone (Anneaux A et C). Les flavonoïdes sont subdivisés en 14 classes différentes dont 6 sont les plus répandues et les mieux caractérisés. Ce sont les flavanones, les flavones, les flavanonoles, les flavonoles, les flavanoles et les isoflavones (**Hendrich, 2006**). Ils sont considérés comme les pigments universels des végétaux (**Harkati, 2011**). Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (**Lawson, 2006**). Ils jouent également un rôle dans la protection des plantes contre les microbes et les attaques des insectes (**Keller, 2009**).

### 2.2. Les tanins

Sont des substances d'origine organique que l'on trouve dans pratiquement tous les végétaux, et dans toutes leurs parties (écorces, racines, feuilles, etc...), caractérisées par leur astringence. Ils ont la propriété de précipiter les protéines (fongiques ou virales) et les métaux lourds. Ils favorisent la régénération des tissus et la régulation de la circulation veineuse, tonifient la peau dans le cas des rides (**Kansole, 2009**).

Les tanins sont divisés en deux groupes: les tanins condensés et les tanins hydrolysables (**Bouhadjera, 2005**).

### 2.3. Les terpènes

Terpène, ou isoprénoides, ou terpénoides sont l'une des classes les plus diverses de métabolites. Il a été répertorié plus de 30000 composés dont la très grande majorité est spécifique du règne végétal et qui englobe les arômes et parfums, les antibiotiques, les hormones végétales et animales, les lipides des membranes (**Crozier et al., 2006**). Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (**Selles, 2012**) d'où leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène (**Harkati, 2011**).

### 2.4. Les saponines

Ces métabolites secondaires des plantes sont très répandus. Ce sont des composés tensio-actifs, qui forment des solutions colloïdales et font apparaître de la mousse comme les savons (en latin, *sapo* signifie savon) ; ce sont des glycosides terpéniques (**Gerhard, 1993**).

## 2.5. Les alcaloïdes

Des produits d'origine végétale qui contiennent de l'azote (**Amiot *et al.*, 2012**) a caractère alcalin de faible poids moléculaires et présentent des structures complexes. la plupart des alcaloïdes sont issus des acides aminés et se trouvent dans environ 20% des espèces végétales (**Selles, 2012**). Comme métabolites secondaires, les alcaloïdes sont supposés jouer un rôle défensif dans la plante contre les prédateurs (herbivores et carnivores) et a un degré moindre contre les bactéries, les champignons et les virus (**Crosier *et al.*, 2006**).

## 2.6. Les coumarines

Sont des substances naturelles connues, ils s'agit de composés a 9 atomes de carbone possédant le noyau benzo (2H)-1pyrannone-2 (**Harkati, 2011**), sont également le point de départ d'une famille de composés qui se forment par une substitution sur un cycle aromatique analogue a celle des dérivés de l'acide cinnamique (**Gerhard, 1993**).

Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxyles. les conditions structurales requises pour l'activité antiperoxydante des coumarines sont similaire à celle signalées pour les flavonoïdes (**Igor, 2002**).

## 2.7. Les huiles essentielles

Sont des produits de composition généralement complexe, renfermant des métabolites secondaires représentés par des principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de leur extraction. les huiles essentielles sont biosynthétisées par les végétaux supérieurs en réponse a des conditions de stress et surtout pour combattre les agents infectieux ou parasitaires. Elles présentent également des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre (**Billerbeck, 2007**).

### 3. *Lycium arabicum*

*Lycium arabicum* est une plante de la famille des Solanacées. Le genre *Lycium* comporte environ 70 espèces d'arbustes épineux et de petits arbres. La plupart poussent dans les régions arides ou subarides et quelques-uns dans les régions côtières sur des sols salés.

Utilisation traditionnelle ; maladie inflammatoire et le rhumatisme.

#### 3.1. Classification

**Règne :** *Plantae*

**Sous-règne :** *Tracheobionta*

**Division :** *Magnoliopsida*

**Classe :** *Magnoliopsida*

**Sous-classe :** *Asteridae*

**Ordre :** *Solanales*

**Famille :** *Solanaceae*

**Genre :** *Lycium*

**Espèce :** *Lycium arabicum L*



**Figure 02 :** *Lycium arabicum* (photo originale).

## 2. Matériels et Méthodes

### 2.1. Matériel

#### 2.1.1. Matériel biologique

**Les animaux :** l'étude *in vivo* a été réalisé sur des souris blanc males, dont le poids varie entre 31et 37g, procurés aux prés de l'Institut Pasteur d'Alger. Ces souris sont utilises après une période d'adaptation de 15 jours avant l'expérimentation au niveau de l'animalerie du département de Biologie, Université de Biskra ; ou ils sont installes dans des cages de plastiques transparente, elles ont accès libre a l'eau et a la nourriture standard fourni par l'Office National de Bétails (**ONAB**) de Bejaia.

**La plante :** la récolte de *L. arabicum* a été effectuée dans la commune de Batna. L'identification a été faite par Pr. Oudjih, l'Université de Batna, Département de Agronomie. La partie aérienne sèche utilisée pour extraction méthanolique.

#### 2.1.2. Réactifs chimiques

Les produits chimiques utilisés proviennent de Sigma Aldrich, Biochem chemopharma et GPR RectaPur

**2.1.3. Appareilles :** lecteur des microplaques (Biotek), lampe UV (Moses Steuerung stechnik GmbH), Incubateur (Binder), colonne de chromatographie (Spectra/chrome. Lc column).

## 2.2. Méthodes

### 2.2.1. Evaluation de la toxicité des plantes

#### 2.2.1.1. Toxicité aigue ; détermination de la DL50

Elle se manifeste rapidement, voire immédiatement, après une prise unique ou à court terme après plusieurs prises rapprochées. C'est l'étude qualitative et quantitative des phénomènes toxiques rencontrés après l'administration unique de la ou des substances actives contenues dans l'échantillon. Cette étude décrit les symptômes observés, y compris les phénomènes locaux et fournis, l'indication de la DL50. L'étude sur les souris de laboratoire est effectuée sur un nombre homogène d'animaux, la durée de l'observation des animaux est précisée par l'expérimentateur : en général elle n'est pas inférieure à une semaine (**Diallo, 2005**).

La dose létale 50 (DL50) est la dose d'une substance chimique qui, administrée à des animaux de laboratoire provoque la mort de la moitié d'entre eux (**Fané, 2003**). Dans la littérature plusieurs méthodes sont utilisées pour sa détermination : Méthode de Dragstedt et Lang, de Karber et Behrens, de Miller et Tainter et de Wilcoxon (**Allaoui et al., 2003**). Dans notre approche, nous avons appliqué l'analyse par la méthode de probits (méthode de moindres carrés, méthode de Finney) en utilisant le logiciel stat PLUS 5.8.0.0,2009 (**Abu sitta et al, 2009**) pour déterminer la DL50 de l'extrait de plante *L. arabicum in vivo*. Le principe de cette technique consiste à administrer des doses croissantes de substance à des lots de souris de masses uniformes, la dose administrée est exprimée en mg/kg de masse corporelle des animaux et la différence entre les doses voisines doit être constante. Pour chaque lot, on note le pourcentage de mortalité dans l'heure qui suit ou au bout du temps imparti.

La DL50 permet de mesurer la toxicité d'une substance et d'établir des classes de toxicité (**Stowtchiva, 1988 ; Oduola et al., 2007**). En général, plus la DL50 est petite, plus la substance est toxique. Le contraire est également vrai : plus la DL50 est élevée, plus la toxicité est faible

Les souris préalablement mis a jeun pendant 24 heures sont regroupés par lot de 7 pesants entre 25-30 g. Les doses utilisées sont : 0, 200, 350, 500, 700 mg/kg de poids corporel de souris d'extrait brut méthanolique de la plante étudiée. L'extrait a été repris dans NaCl 9 ‰ et administrés aux souris par voie intra péritonéale. Le lot témoin ne recevait que du NaCl 9 ‰. Par la suite, les symptômes possibles sont observés ainsi que le nombre de morts au bout du temps imparti (les premières 15 min, ensuite les 1<sup>ère</sup> h, 2h, 4h, 6h, 24h, 72h jusqu'au 14<sup>ème</sup> jour).

### 2.2.2. Activité hémolytique

La résistance des érythrocytes prétraités par les extraits des plantes et un attaque radicalaire est évaluée selon le protocole décrit par **Takebayashi et ses collaborateurs (2010)** avec quelques modifications en remplaçant le radical AAPH [2,2'-azo-bis (2-amidinopropane) HCl] par l'extrait de *L. arabicum* (**Dwight et Hendry, 1996**). Le sang des souris males de poids entre 30 g, utilisé dans ce test est obtenu sous anesthésie de chloroforme à partir de veine. Le sang est collecté dans un tube hépariné, puis dilué dans un tampon phosphate (310 mOsm, pH 7.4) pour obtenir un hématocrite de 2%. L'attaque radicalaire est induite par l'addition de l'extrait méthanolique de *L. arabicum* (130 µM) à la suspension érythrocytaire, trois concentrations ont été testées: 0,1, 0,2 et 0,3 µg/ml. La cinétique de

disparition progressive des hématies est suivie par la mesure dynamique de la diminution de l'absorbance à 630 nm. La résistance du sang à l'attaque radicalaire est exprimée par le temps nécessaire à la lyse de 50% des érythrocytes (Half-Hemolysis Time; HT<sub>50</sub>). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne HT<sub>50</sub> ± SEM (n= 3).

### 2.2.3. Méthodes chromatographiques de séparation

Les méthodes chromatographiques sont généralement utilisées pour l'analyse et la séparation de très faibles quantités de produits, parmi ces méthodes on peut citer : la chromatographie sur colonne, chromatographie sur couche mince...Etc.

#### 2.2.3.1. Chromatographie sur couche mince CCM

Les analyses sont effectuées en phase normale, avec des plaques de silice (20×20 cm, 60 F254) déposées sur feuille d'aluminium, ce qui constitue la phase stationnaire. Sur les plaques préparées, on a déposé 20 µl d'extrait (20 mg/ml), les plaques sont ensuite introduites dans des cuves conventionnelles en verre préalablement saturée par la phase mobile, qui peut être généralement un mélange binaire ou ternaire de solvants, selon le type de séparation recherchée (Diallo *et al.*, 2004). Après développement, les plaques sont séchées sous hotte, puis visualisées séparément par révélation physique sous une lampe UV.

Dans notre cas, on préparer 120 plaques, les solvants utilisés pour cette chromatographie sont reportés dans le tableau ci-après ;

**Tableau 01:** Solvants pour CCM.

Système d'élution	Volume v/v
Chlo/MeOH	90/10,80/20,70/30,60/40,50/50,40/60,30/70,20/80,10/90
Eth/MeOH	90/10,80/20,70/30,60/40,50/50,40/60,30/70,20/80,10/90
Chlo/Eth	90/10,80/20,70/30,60/40,50/50,40/60,30/70,20/80,10/90
Acét/MeOH	90/10,80/20,70/30,60/40,50/50,40/60,30/70,20/80,10/90
Acét/Ether	90/10,80/20,70/30,60/40,50/50,40/60,30/70,20/80,10/90
Acét/Chlo	90/10,80/20,70/30,60/40,50/50,40/60,30/70,20/80,10/90
MeOH/Chlo/Eth	80/10/10,70/20/10,60/30/10,50/40/10,40/50/10,30/60/10,20/70/10,10/80/10
MeOH/Eth/Chlo	80/10/10,70/20/10,60/30/10,50/40/10,40/50/10,30/60/10,20/70/10,10/80/10
Acét/Chlo/Eth	80/10/10,70/20/10,60/30/10,50/40/10,40/50/10,30/60/10,20/70/10,10/80/10
Acét/Eth/Chlo	80/10/10,70/20/10,60/30/10,50/40/10,40/50/10,30/60/10,20/70/10,10/80/10
Acét/MeOH/Eth	80/10/10,70/20/10,60/30/10,50/40/10,40/50/10,30/60/10,20/70/10,10/80/10

Acét/Eth/MeOH	80/10/10,70/20/10,60/30/10,50/40/10,40/50/10,30/60/10,20/70/10,10/80/10
Acét/MeOH/Chlo	80/10/10,70/20/10,60/30/10,50/40/10,40/50/10,30/60/10,20/70/10,10/80/10
Acét/Chlo/MeOH	80/10/10,70/20/10,60/30/10,50/40/10,40/50/10,30/60/10,20/70/10,10/80/10

### 2.2.3.2. Chromatographie sur colonne

Activation du gel : on met une quantité de silice (0,2 mm) dans un volume de méthanol et le fait incubé pendant 24 heures et adsorption de l'extrait avec le silice.

Injection : on place notre gel puis l'échantillon dans la colonne (ID= 60cm, V=1,77ml/cm).

Alimentation de la colonne : on fera attention à ne pas perturber la surface des solvants au cours de l'ajout de graduant **Tableau2**, récupération des fractions et calcul du rendement.

**Tableau 02** : graduant de polarité.

Solvant	Mélange	Volume V/V
S1	Hexane	100
S2	Hexane + MeOH	80/20
S3	Hexane + MeOH	60/40
S4	Hexane + MeOH	40/60
S5	Hexane + MeOH	20/80
S6	MeOH	100

### 2.2.4. Analyses statistiques

Les valeurs sont en général exprimées en moyenne  $\pm$  SEM. Les résultats des différents tests sont analysés par le test *t* de *Student* pour les comparaisons simples, et ANOVA univariée. Les valeurs de  $p \leq 0.05$  sont considérées statistiquement significatives. La comparaison des moyennes et des variances est déterminée grâce au logiciel « Stat plus » 2009 pour détermination de la DL<sub>50</sub> et « Graphpad Prism » version 5.0 pour test d'activité hémolytique et calcul de HT<sub>50</sub>.

### 3. Résultat et Discussion

#### 3.1. La toxicité aigue détermination de la DL50

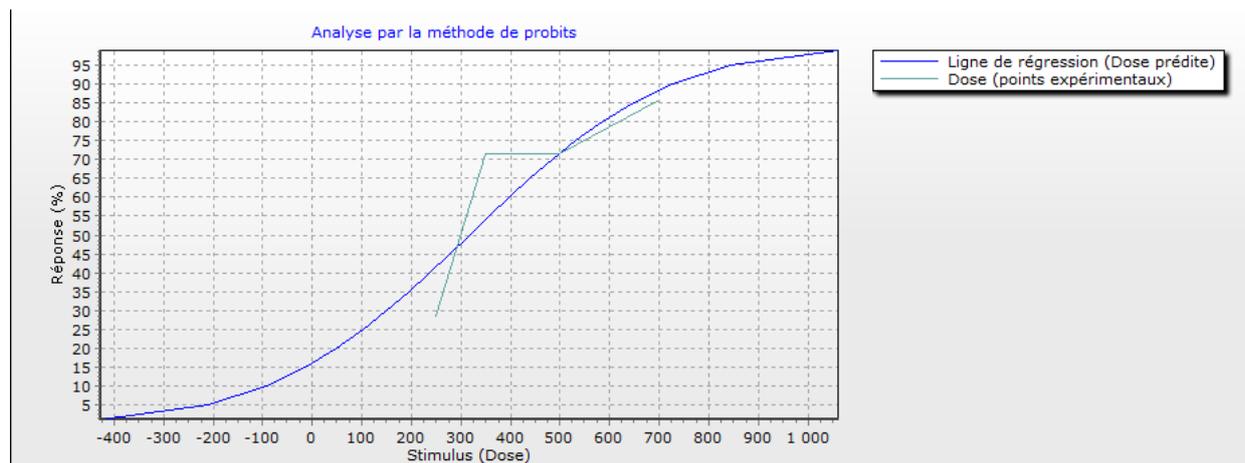
##### 3.1.1. Observation du comportement et symptômes clinique des animaux

Dés le début du traitement, on a constaté chez les animaux une accélération de rythme cardiaque et une difficulté de respiration, de fortes convulsions et paralysie des pattes ou l'activité des animaux se réduit, leur démarche devient lente. La mort survient à partir de 24 heures et quelque jour après, les animaux survivants ont retrouvé un comportement normal comparable à celui des témoins.

Les résultats de la DL50 chez les souris traités par voie intra péritonéale d'extrait brut méthanolique de *L. arabicum* sont présentés dans le **tableau 3**. Ce pendant, jusqu'a la dose 350mg/kg de traitement aigue, nous avons observé de mortalité importante, la DL50 est supérieure à 350mg/kg de poids corporel des souris traitées comme le montre le **tableau 4** et la courbe dose/réponse **figure 3**.

**Tableau 03 :** Détermination de la DL<sub>50</sub> de l'extrait brut méthanolique de *L. arabicum* par l'Analyse par la méthode de probits - Méthode des moindres carrés (Distribution Normale).

Dose (mg/kg)	Nombre de souris (n)	(%) de mort par <i>L.arabicum</i>
0 (NaCl 9‰)	7	0
250	7	28,5
350	7	71,4
500	7	71,4
700	7	85,7



**Figure 03 :** Estimation de la DL<sub>50</sub> chez les souris males traitées par voie intra péritonéale par l'extrait brut méthanolique de *L. arabicum*.

**Tableau 04:** Détermination des différentes doses létales (DL) de l'extrait brut méthanolique de *L. arabicum* par la méthode de probits-Méthode des moindres carrés (Distribution Normale).

DL50	316,920
DL84	336,582
DL90	726,640
DL100	796,413

Dans le présent travail, les souris traitées par l'extrait de différentes doses pour déterminer la DL<sub>50</sub> ne présentent aucune létalité jusqu'à la dose 350 mg/kg. D'autres travaux qui ont testé autre plantes. **Fehri et ses collaborateurs (2012)** ont estimé une DL<sub>50</sub> de 2550 mg/kg par l'administration de l'extrait du *Globularia alypum* par voie intra péritonéale. Ces résultats concordent avec ceux trouvés par **El Amri et ses collaborateurs (1998)** qui ont démontré que la DL<sub>50</sub> de l'extrait aqueux est plus de 1000 mg/kg. Ils concordent également avec les travaux **d'Eddouke et ses collaborateurs (2002)** qui ont estimé la DL<sub>50</sub> dans les environs de 14.5 mg/kg par l'administration orale de l'extrait aqueux de *Globularia alypum* et expliquent que l'extrait aqueux de *Globularia alypum* semble d'avoir un effet négatif minimal concernant la DL<sub>50</sub> puisque il n'y a pas de mortalité ou grands signes comportementaux. Donc *L. arabicum* plus toxique que *G. alypum*.

Selon **Anthelme et al (2008)**, L'administration de l'extrait aqueux de *Bridelia ferruginea* par voie orale est modérément toxique DL<sub>50</sub> égale à 3568,88 ± 308,45 mg/kg. En revanche, la même substance est très toxique DL<sub>50</sub> égale à 111,38 ± 29,3 mg/kg lorsqu'elle est administrée par voie intra péritonéale de l'extrait aqueux de *Bridelia ferruginea* pour des

doses comprises entre 20,44 mg/kg et 511,04 mg/kg. Toutefois, les effets de l'administré par voie intra péritonéale s'expriment plus rapidement et sont plus intenses.

Selon **Lakmichi et ses collaborateurs (2011)**, l'administration orale d'une dose unique (5000, 10000, 14000 mg/kg de poids corporel) de l'extrait de *C. telephiifolia* n'a pas causé la mort jusqu'à 14<sup>ème</sup> jours de l'étude et aucun signe de toxicité ou changements de poids corporels significatives ont été enregistrés donc ces observations révèlent que le milieu létale par voie orale de l'extrait de raine de *C. telephiifolia* supérieure à 14000 mg/kg de poids corporel. Alors que d'après **Umamaheswari et ses collaborateurs (2006)**, l'administration oral de l'extrait méthanolique des feuilles de *Coccinia grandis*, *Datura metel*, *Strychnos nux-vomica*, and *Vitex negundo* il a constaté que les animaux étaient en sécurité jusqu'à à une dose maximum de 2000 mg/kg de poids corporel .il n'y avait pas changements et motif de comportement normal et aucun signe et symptômes de toxicité et de mortalité ont été observés.

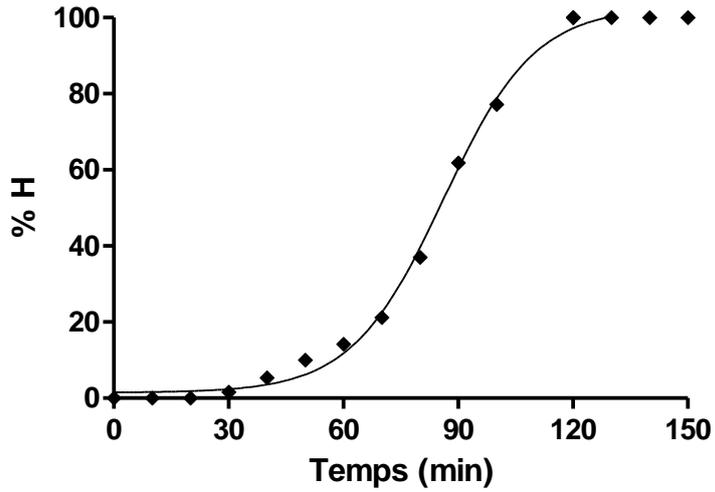
Toutefois, vu l'échelle de classification de toxicité **Tableau 5**, selon Hodge et Stener (**Frank, 1992**) et au regard des résultats des DL50 (50mg/kg<DL<sub>50</sub><500 mg/kg), l'extrait de *L. arabicum* est classé dans la catégorie des produits modérément toxique.

**Tableau 05** : l'échelle de Hodge et Sterner chez les rats de laboratoire Classes de toxicité selon (**Ulanova, 1975 ; Frank ,1992**).

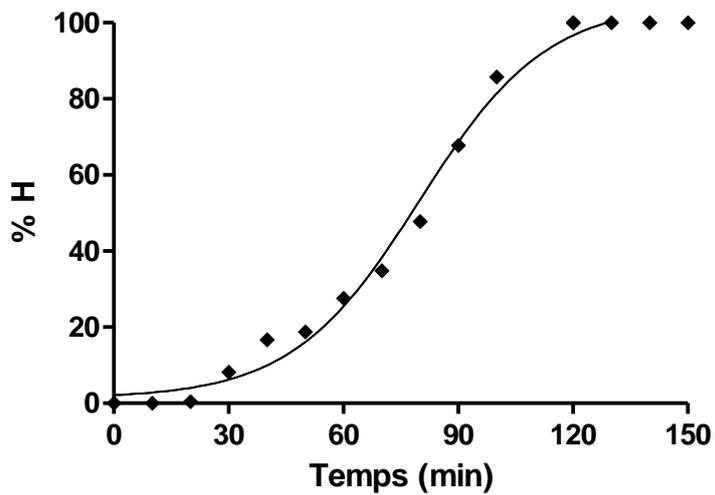
DL50	Indice de toxicité
Jusqu'à 1 mg/kg	1 = extrêmement toxique
1 à 50 mg/kg	2 = hautement toxique
50 à 500 mg/kg	3 = modérément toxique
500 à 5 000 mg/kg	4 = légèrement toxique
5 000 à 15 000 mg/kg	5 = presque pas toxique
Plus de 15 000 mg/kg	6 = relativement inoffensif

### 3.2. L'activité hémolytique

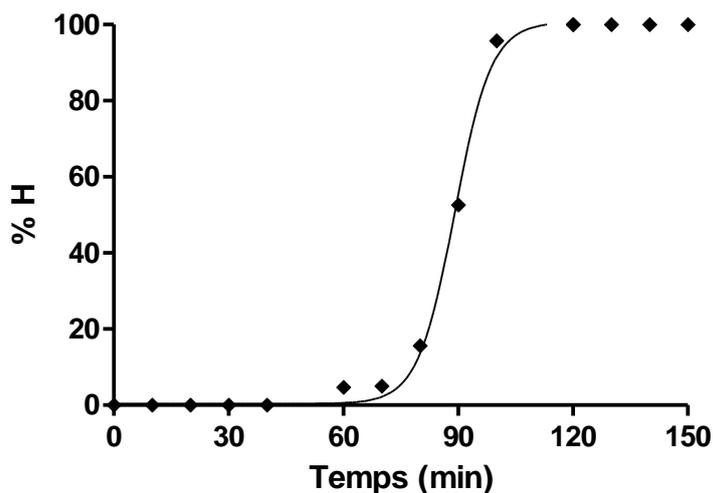
Dans notre recherche, nous avons essayé d'évaluer l'effet d'extrait de la plante et leur concentration sur les érythrocytes. À partir des cinétiques d'hémolyses obtenues **figures 3, 4, 5, 6**, il ressort que le traitement par tous les extraits a augmenté les valeurs d'HT<sub>50</sub> par apport au témoin (HT<sub>50</sub>= 84 min).



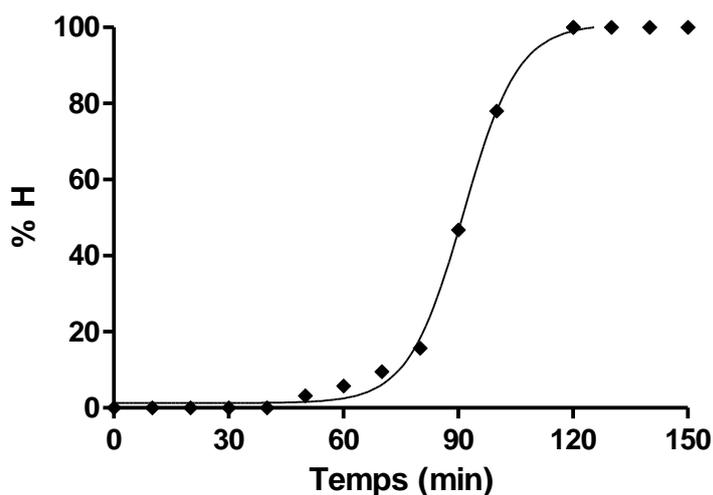
**Figure 04 :** Cinétique pour le témoin. Les valeurs sont les moyennes  $\pm$  SEM (n= 3).



**Figure 05 :** Cinétique obtenue après traitement avec la dose 0,1  $\mu\text{g/ml}$  d'extrait. Les valeurs sont les moyennes  $\pm$  SEM (n= 3).



**Figure 06 :** Cinétique obtenue après traitement avec la dose 0,2 µg/ml d'extrait. Les valeurs sont les moyennes ± SEM (n= 3).



**Figure 07 :** Cinétique obtenue après traitement avec la dose 0,3 µg/ml d'extrait. Les valeurs sont les moyennes ± SEM (n= 3).

L'hémolyse est la destruction ou l'enlèvement des globules rouges dans la circulation avant leur durée de vie normale (120 jours). Il existe deux mécanismes d'hémolyse : l'hémolyse extravasculaire est l'élimination et la destruction des globules rouges avec des altérations de la membrane par les macrophages, de la rate et le foie. L'hémolyse intravasculaire, qui est la destruction des globules rouges dans la circulation avec la libération du contenu des cellules dans le plasma, des agents infectieux peuvent provoquer une dégradation de la membrane et destruction directe des cellules (Dhaliwal *et al.*, 2004).

L'activité hémolytique d'extrait est mesurée selon le protocole décrit par **Takebayashi et ses collaborateurs (2010)**. Il s'agit de soumettre des hématies à une agression de type oxydatif dans des conditions strictement contrôlées et standardisées. Dans ces conditions, les hématies mettent en jeu tout leur équipement enzymatique et moléculaire pour résister à cette agression jusqu'à ce que la membrane cellulaire soit modifiée au point de laisser échapper le contenu cellulaire. L'analyse réalisée dans des microplaques de 96 puits permet le traitement d'un nombre important d'échantillons. La mesure de la diminution de l'absorbance à 630 nm permet de suivre la disparition progressive des cellules. La résistance du sang à l'attaque d'extrait est exprimée par le temps nécessaire à la lyse de 50% des érythrocytes ( $HT_{50}$ ).

La concentration de 0,1  $\mu\text{g/ml}$  de l'extrait a provoqué l'hémolyse ( $HT_{50} = 79,98 \pm 2,481$  min).

La concentration de 0,2  $\mu\text{g/ml}$  de l'extrait a provoqué un décalage qui présente toujours une absorbance constante de sigmoïde d'hémolyse vers la gauche et donc une accélération de l'hémolyse par rapport au  $D_1$  dont ( $HT_{50} = 89,48 \pm 1,860$  min). Le temps de latence des globules rouges était prolongé, en comparant avec la concentration  $D_1$ , de 30 min.

La concentration de 0,3  $\mu\text{g/ml}$  de l'extrait a provoqué un légère de sigmoïde d'hémolyse vers la gauche et donc une accélération de l'hémolyse par rapport au  $D_1$  et  $D_2$  dont ( $HT_{50} = 90,16 \pm 1,945$ ). Le temps de latence des globules rouges était prolongé de 30 min.

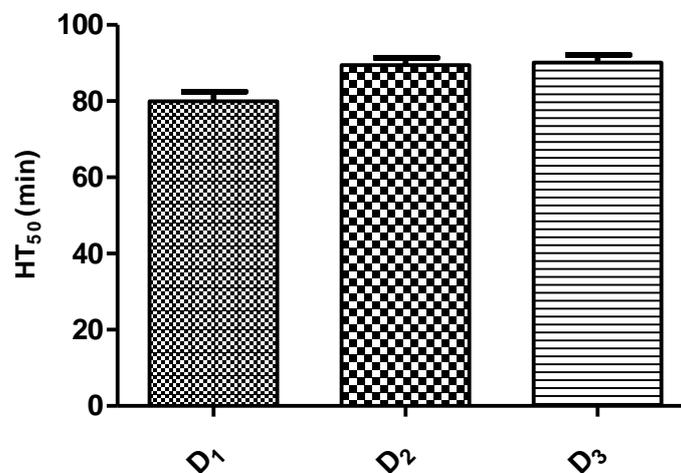
Les radicaux libres provoquent l'hémolyse et parmi ces radicaux on trouve le *t*-BHP, c'est un oxydant de modèle bien caractérisé utilisé dans l'étude *in vitro* de l'oxydation de la membrane. Dans l'érythrocyte *t*-BHP a été rapporté pour augmenter la perméabilité membranaire aux sucres de bas poids moléculaire,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$  et, en plus de causer des altérations dans la déformabilité cellulaire (**Sullivan et Stern, 1984**). En liaison avec la perméabilité de la membrane modifiée, l'exposition des globules rouges de *t*-BHP a donné lieu à une réticulation des sous-unités d'hémoglobine et de réticulation probable des protéines du cytosquelette comme suggéré par la diminution de l'intensité des bandes de protéines et l'augmentation parallèle de la matière à haut poids moléculaire (**Liu et al., 2002**).

Le point entre la phase de latence (antioxydants endogènes) et la restauration de la courbe d'hémolyse correspond au temps de latence de l'hémolyse ( $t_{lag}$ : *lag time*) qui peut être utilisé pour évaluer l'activité d'un antioxydant, le temps de latence des globules rouges était environ 30 min ( $D_1$ ), alors que  $t_{lag}$  lag time a été prolonger environ 60 min pour les doses 0,2 et 0,3  $\mu\text{g/ml}$  de l'extrait.

On peut classer l'efficacité hémolytique chez *L. arabicum* comme suit  $D_1 < D_2 < D_3$  ; donc  $D_3$  plus hémolytique.

**Tableau 06** : Temps de demi-hémolyse ( $HT_{50}$ ) obtenues après traitement avec les extraits du *L. arabicum*. Les valeurs sont les moyennes  $\pm$  SEM (n= 5).

[C] $\mu\text{g/ml}$	<i>Lycium arabicum L</i>
0,1 $\mu\text{g/ml}$	79,98 $\pm$ 2,481
0.2 $\mu\text{g/ml}$	89,48 $\pm$ 1,860
0.3 $\mu\text{g/ml}$	90,16 $\pm$ 1,945



**Figure 08** : Temps de demi-hémolyse ( $HT_{50}$ ) obtenues après traitement avec les doses  $D_1(0,1)$ ,  $D_2(0,2)$ ,  $D_3(0,3)$   $\mu\text{g/ml}$  d'extrait. Les valeurs sont les moyennes  $\pm$  SEM (n= 3).

D'après **Qiang et ses collaborateurs (2011)**, les résultats indiquant que les saponines toujours exposées l'hémolyse à concentration plus élevée, mais a montré une protection hémolytique à faible concentration. Ensuite, les interactions de ginsénosides individuels sur l'hémolyse et hémolytique protection ont été réalisées, montrant que Rc à la concentration de 1  $\mu\text{g/ml}$ , qui n'a pas de protection hémolytique causée par " saponine ", a donné 50 % de protection hémolytique causée par Rd (400  $\mu\text{g/ml}$ ). Rg1 à la concentration de 400  $\mu\text{g/ml}$ , qui avait activité absolument protection de l'hémolyse causée par " saponine ", n'avaient pas de protection de l'hémolyse provoquée par Rd (400  $\mu\text{g/ml}$ ).donc les degrés hémolytiques causées par mélange de ginsenosides n'étaient pas l'addition ou la soustraction de degrés hémolytiques de ginsenosides individuels.

### 3.3. Chromatographie sur couches minces (CCM)

La CCM est une technique analytique simple, rapide et peu coûteuse, utilisée au cours de la séparation et de l'identification des métabolites. Elle repose principalement sur les phénomènes d'adsorption et de partage, où les molécules à séparer s'adsorbent à la surface d'un support (phase stationnaire) et seront entraînées à travers ce dernier par un éluant (phase mobile), donc la séparation est fonction des différences d'adsorption des composants de l'échantillon sur la phase stationnaire et des différences de leur solubilité dans la phase mobile (Braithwaite et Smith, 1999).

Par ses faibles contraintes techniques, son emploi simple et son coût modeste, la CCM est un outil de choix pour l'analyse phytochimiques de routine d'extraits bruts, de fractions, ainsi que de produits purs isolés. De ce fait nous avons opté pour cette technique dans le but de caractériser les différents constituants de l'extraits de *L. arabicum*. Le système de migration constitué de, Chloroforme ; 100%, Acétone/Chloroforme ; 60/40, 50/50, Acétone, Méthanol, Chloroforme ; 30/10/60, 20/10/70, 10/10/80, a permis d'avoir une très bonne séparation chromatographique et une visibilité acceptable des spots.

En raison de la forte polarité des produits, des solvants très éluant (c'est à dire à forte proportion en méthanol) ont été utilisés. Le méthanol ayant tendance à solubiliser la silice, l'élution des produits s'accompagne d'un apport de silice qui pollue et rend aberrant le calcul de la masse de produit isolé. Il faudra donc ultérieurement redissoudre le produit dans un solvant moins polaire, qui insolubilisera la silice.

La position finale de la tache (ou spot) est caractéristique de la molécule. On lui attribue une valeur le  $R_f$  de facteur de rétention qui a été fort habilement traduit comme **R**apport frontal, facilitant ainsi l'identification de quelques constituants de l'extrait. La valeur du  $R_f$  est définie comme suit :

$$R_f = D_i / D_s \quad D_i : \text{Distance entre l'origine et la tâche du produit après élution.}$$

$$D_s : \text{Distance entre l'origine et le front du solvant après élution.}$$

Les rapports frontaux sont représentés dans les tableaux suivants :

**Tableau 07** : Système d'élution chloroforme/méthanol.

Pourcentage%	100	90/10	80/20	70/30	60/40	50/50	40/60	30/70	20/80	10/90
	0,84	0,59	0,70	0,26	0,83	0,90	0,90	0,73	0,77	0,77
<b>R<sub>f</sub> des bandes</b>	0,65	0,42	0,35		0,30	0,61	0,61			
	0,42	0,26								
	0,28									

**Tableau 08 :** Système d'élution éther/méthanol.

Pourcentage%	100	90/10	80/20	70/30	60/40	50/50	40/60	30/70	20/80	10/90
R <sub>f</sub> des bandes	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

Le chloroforme est un liquide hautement volatil. Il est totalement miscible avec de nombreux solvants organiques et dissout d'iode et le soufre. Forme de nombreux mélanges azéotropiques avec d'autres liquides tels que l'acétone, l'éthanol, l'eau et le méthanol.

**Tableau 09 :** Système d'élution acétone/méthanol.

Pourcentage%	100	90/10	80/20	70/30	60/40	50/50	40/60	30/70	20/80	10/90
R <sub>f</sub> des bandes	0,62	0,74	/	0,86	/	0,81	0,86	/	0,67	0,93
										0,83

**Tableau 10 :** Système d'élution chloroforme/éther.

Pourcentage%	90/10	80/20	70/30	60/40	50/50	40/60	30/70	20/80	10/90
R <sub>f</sub> des bandes	0,33	0,45	0,45	0,43	0,36	0,45	/	0,4	/
	0,25	0,40	0,27	0,27	0,27	0,27			

**Tableau 11 :** Système d'élution acétone/éther.

Pourcentage%	90/10	80/20	70/30	60/40	50/50	40/60	30/70	20/80	10/90
R <sub>f</sub> des bandes	0,33	0,93	0,25	0,24	0,53	0,24	0,57	/	0,27
		0,30			0,25		0,25		0,18

Acétone est un liquide incolore, très volatil, d'odeur suave. Elle est totalement miscible avec l'eau et avec un grand nombre de solvants organiques, notamment l'éthanol, l'oxyde. D'autre part, c'est un excellent solvant d'un grand nombre de produits organiques et minéraux.

**Tableau 12 :** Système d'élution acétone/chloroforme.

Pourcentage%	90/10	80/20	70/30	60/40	50/50	40/60	30/70	20/80	10/90
R <sub>f</sub> des bandes	0,35	0,85	0,83	0,90	0,67	0,63	0,47	0,50	0,46
		0,32	0,59	0,68	0,56	0,44	0,31	0,41	0,33
			0,29	0,46	0,48	0,23	0,19	0,23	0,21
				0,31	0,32				

On a vu que le choix d'éluant dépendait de la polarité et selon classification l'éther de pétrole est considéré comme un solvant faiblement polaire et tant que les extraits végétaux

sont des composés polaires donc l'extraction est un peu difficile .ca se concorde avec notre résultats dans le système d'éluion éther/méthanol.

**Tableau 13 :** Système d'éluion méthanol/éther/chloroforme.

Pourcentage%	80/10/10	70/10/20	60/10/30	50/10/40	40/10/50	30/10/60	20/10/70	10/10/80
<b>R<sub>f</sub> des bandes</b>	0,84	0,60	0,66	0,60	0,72	0,73	0,93	0,59
							0,66	0,43
							0,4	0,24

**Tableau 14 :** Système d'éluion méthanol/chloroforme/éther.

Pourcentage%	80/10/10	70/10/20	60/10/30	50/10/40	40/10/50	30/10/60	20/10/70	10/10/80
<b>R<sub>f</sub> des bandes</b>	0,73	0,80	/	/	/	/	/	/

**Tableau 15 :** Système d'éluion acétone/chloroforme/éther.

Pourcentage%	80/10/10	70/10/20	60/10/30	50/10/40	40/10/50	30/10/60	20/10/70	10/10/80
<b>R<sub>f</sub> des bandes</b>	/	0,27	0,85	0,57	0,35	0,31	0,36	/
			0,26	0,21	0,20	0,15	0,18	

**Tableau 16 :** Système d'éluion acétone/éther/chloroforme.

Pourcentage%	80/10/10	70/10/20	60/10/30	50/10/40	40/10/50	30/10/60	20/10/70	10/10/80
<b>R<sub>f</sub> des bandes</b>	/	0,74	0,71	0,80	0,64	0,70	0,41	0,46
		0,29	0,63	0,50	0,56	0,46	0,25	0,35
			0,31	0,26	0,29	0,23		0,20

**Tableau 17 :** Système d'éluion acétone/méthanol/éther.

Pourcentage%	80/10/10	70/10/20	60/10/30	50/10/40	40/10/50	30/10/60	20/10/70	10/10/80
<b>R<sub>f</sub> des bandes</b>	/	/	/	0,77	0,62	0,90	0,50	0,33

**Tableau 18 :** Système d'éluion acétone/éther/méthanol.

Pourcentage%	80/10/10	70/10/20	60/10/30	50/10/40	40/10/50	30/10/60	20/10/70	10/10/80
<b>R<sub>f</sub> des bandes</b>	0,57	/	0,89	0,88	0,91	0,87	0,86	0,85

**Tableau 19 :** Système d'éluion acétone/méthanol/chloroforme.

Pourcentage%	80/10/10	70/10/20	60/10/30	50/10/40	40/10/50	30/10/60	20/10/70	10/10/80
--------------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------

<b>R<sub>f</sub> des bandes</b>	0,80	0,66	0,49	0,53	0,73	0,72	0,90	0,94
			0,38	0,43	0,57	0,58	0,72	0,69
				0,29	0,50	0,48	0,36	0,48
						0,32	0,18	0,32

**Tableau 20 :** Système d'élution acétone/chloroforme/méthanol.

<b>Pourcentage%</b>	80/10/10	70/10/20	60/10/30	50/10/40	40/10/50	30/10/60	20/10/70	10/10/80
<b>R<sub>f</sub> des bandes</b>	0,57	0,76	/	0,92	0,86	0,89	0,81	0,84

Le dépôt fait apparaître 4 tâches donc on constate que l'extrait est constitué d'au moins 4 Catégories moléculaire différents.

### 3.4. Chromatographie sur colonne

C'est une technique basée sur des phénomènes d'adsorption. La phase solide, le plus souvent l'alumine ou la silice, remplit une colonne de longueur et de section variables; l'échantillon, en solution concentrée, est déposé en haut de la colonne et la séparation des composants résulte de l'écoulement continu d'un éluant, traversant la colonne par gravité ou sous l'effet d'une faible pression. On peut utiliser comme éluant un solvant unique ou bien accroître progressivement la polarité de l'éluant de façon à accélérer le déplacement des composés (**Edith et Robert, 1998**).

Les molécules sont entraînées vers le bas à des vitesses variables selon leur affinité pour l'adsorbant et leur solubilité dans l'éluant. Le chromatogramme se développe en formant une succession de zones cylindriques qui se séparent en migrant vers le bas. A mesure que chaque zone s'écoule de la colonne, on la recueille (**Edith et Robert, 1998**).

Le rendement d'extraction de l'extrait méthanolique et pourcentages de récupération pour des fractions sont mentionnée dans le **Tableau 21**, la fraction qui présente un meilleur rendement c'est F3 (53,33%) donc elle est plus riche des catégories moléculaire que les autres.

**Tableau 21 :** Rendement et pourcentage de récupération des fractions.

Fractions	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>	F <sub>4</sub>	F <sub>5</sub>	F <sub>6</sub>
Rendement %	0,66	31,33	53,33	5,33	1,33	6,66

## Conclusion

Le rôle dans la médecine traditionnelle joué par les plantes est connu depuis longtemps, or, la recherche apporte les preuves scientifiques de leur efficacité thérapeutique, mais aussi de leur toxicité, reposant sur des données résultant de l'expérimentation *in vitro* et *in vivo*.

Parmi les plantes médicinales traditionnelles il y en a celles qui peuvent être toxiques à de fortes doses ou après administration prolongée.

L'utilisation d'une plante en toute sécurité nécessite une connaissance non seulement de ces effets bénéfiques mais aussi des complications graves que peut engendrer son utilisation non contrôlée. Cependant, l'information scientifique sur les activités biologiques des plantes médicinales, y compris *L. arabicum* est encore insuffisante. De ce fait, on a inspiré cette étude, une demande très croissante pour revenir à la nature dans le but de chercher des soins de santé et de nouveau traitement est une autre motivation importante.

Dans ce présent travail, on a essayé de dévoiler le côté toxique de l'extrait méthanolique de, *L. arabicum in vivo*, chez des souris males blanches.

Les renseignements tirés à partir de l'ensemble des résultats présentés dans ce travail sur les données expérimentales de la toxicité aiguë chez les souris mâles suggèrent de classer, en fonction de sa DL<sub>50</sub>, *L. arabicum* dans la catégorie des plantes modérément toxiques par voie intra péritonéale avec les différentes doses testées.

Par ailleurs, nous avons pu mettre en évidence l'effet hémolytique *in vitro* de l'extrait sur les érythrocytes. Le traitement par l'extrait a fait augmenter les valeurs d'HT<sub>50</sub>. Les deux concentrations élevées de *L. arabicum* ont entraîné un retardement très significatif de l'hémolyse, presque de 60 min. et la on conclue que la concentration D<sub>1</sub> (0,1 µg/ml) et plus toxique que D<sub>2</sub> (0,2 µg/ml) et D<sub>3</sub> (0,3 µg/ml).

Et en fin, on a essayé de séparer les molécules qui compose cette plante d'après l'utilisation de différente méthodes chromatographique tels que CCM grâce à lampe UV dont on a estimé que le mélange qui nous permis d'une bonne séparation et; chloroforme(100),acétone/chloroforme (60/40,50/50) et acétone/méthanol/chloroforme (30/10/60,20/10/70,10/10/80), et la chromatographie sur colonne a permis d'obtenir plusieurs fractions et celle qui a donner le meilleur rendement c'est la fraction F<sub>3</sub>(53,33 %).



### Références bibliographique

- ❖ Abu Sitta K., Shomah M.S, Salhab A.S. (2009) Hepatotoxicity of *Teucrium polium* L. tea: supporting evidence in mice models. *Australian Journal of Medical Herbalism*. 21(4): 106-107.
  - ❖ Alain V. et Alain B. (2007) Toxicologie. Lavoisier. 2<sup>ème</sup> édition. P 03.
  - ❖ Amiot M.J., Coxan V et Strigler F. (2012) Les phytomicronutriments. Lavoisier. p24.
  - ❖ Billerbeck VG. H (2007) Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*. 5: 249-253.
  - ❖ Bouhadjera k. (2005) Contribution à l'étude chimique et biologique des deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana* R.Br. et *Aristida pungens* L. Thèse de doctorat. Département de chimie : Université ABOU BEKR BELKAID. P: 21
  - ❖ Braithwaite A and Smith F.J. (1999) Chromatographic Methods. 5<sup>ème</sup> édition. Kluwer Academic Publishers. London. P : 548.
  - ❖ Bruneton J. (1999) Pharmacognosie : phytochimie : plantes médicinales .3<sup>ème</sup> édition : Paris. Pp: 648-650.
  - ❖ Bruneton, J. (2001) Plantes toxiques végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. 2<sup>ème</sup> édition: Paris. Pp: 339-341.
  - ❖ Cassarett and Doill's. (2008) Toxicology, The Basic Science of Poisons. 7<sup>th</sup> édition: New York: MC Graw Hill. P: 145.
  - ❖ Crozier B., Clifford M and Ashihara H. (2006) Plante secondary metabolites: Occurrence, structure and Role in the human Diet. BlackWell. Pp: 47-102.
  - ❖ Buican D. (1997) Dictionnaire de biologie, notions essentielles. Larousse. P: 155.
  - ❖ De-Qiang D., Zheng x., Guang Y., Jian-Feng z., Ying-Kun Q., Jing-Xian Y., Ting-Guo K. (2011) Prediagnostic methods for the hemolysis of herbal medicine injection. *Journal of Ethnopharmacology*. 138: 445– 450.
  - ❖ Derache R. (1986) Toxicologie et sécurité des aliments. Lavoisier : paris. P 40.
  - ❖ Dhaliwal M.D., Patricia A., Cornett M.D and Lawrence M. Tierney JR., M.D. (2004) Hemolytic Anemia. *Am Fam Physician*. 69:2599-2606.
  - ❖ Diallo A. (2005). Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd (*Myrtaceae*) .Thèse de doctorat en Pharmacie : Université de Bamako, Mali. Pp : 31-35.
  - ❖ Diallo D., Sanogo R., Yasambou H., Traoré A., Coulibaly K et Maïga A. (2004) Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *C. R. Chimie*. 7: 1073-1080.
  - ❖ Dupont CH. (1970) Détermination de la DL<sub>50</sub> chez la souris (méthode de Litchfield et Wilcoxon). *Journal of Pharmacology*. 1: 407-414.
-

## Références bibliographiques

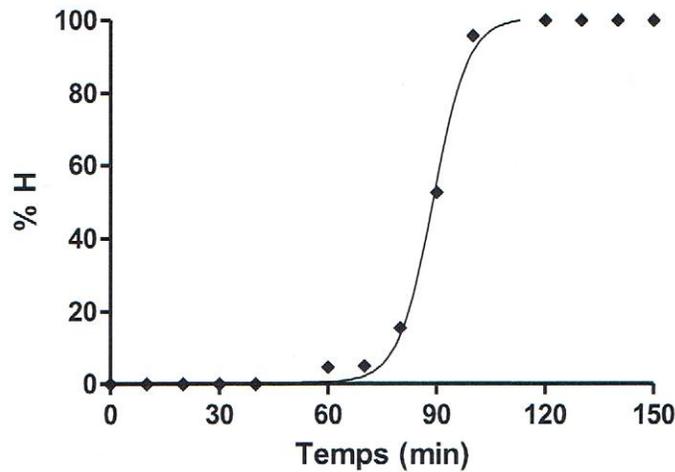
---

- ❖ Dwight JF and BHendry M. (1996) The effects of *tert-butyl* hydroperoxide on human erythrocyte membrane ion transport and the protective actions of antioxidants. *Clinica Chimica Acta*. 249: 167-181.
  - ❖ Eddoukes M., Maghrani M., Jouad H. (2002) Hypoglycemic effect of *rubus fruticosus* L and *Globularia alypum* in normal and streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of ethno pharmacology*. 81:351-356.
  - ❖ Edith A., Robert M., JeanU. (1988) Chromatographie: Theorie. 26 et 28 Janvier. Lycée louis vincent – METZ. p: 10.
  - ❖ El Allaoui A., Filali R.F., Oumokhtar B et Ibjibjen J. (2011) Evaluation de la toxicité aigue du colorant (Rhodamine B) utilisé dans la fabrication des saucisses traditionnelles dans la ville de Meknès au Maroc. Science Lib Editions Mersenne : Vol 3.
  - ❖ El amri H., Jana M., kayara A., lazrek B., Skim F. (1998) Toxicological studies on *Globularia alypum* and *Zygophyllum gaetulum* in rats. *phytotherapy research*. volum2: 592 -594.
  - ❖ Fané S. (2002) Etude de la toxicité de certaines plantes vendues sur le marché du district de Bamako. Thèse de doctorat en pharmacie : Université de Bamako. P 130.
  - ❖ Fehri B., Aiach M., Mueem K. (2012) Active spermatogenesis induced by a reiterated administration of *Globularia alypum* aqueous leaf extract, *Pharmacognosie research* . 4(3):138-147.
  - ❖ Frank C.L.U. (1992) Toxicologie, Données générales procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque. Paris. Pp: 73- 202.
  - ❖ Harkati B. (2011) Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille Asteraceae: *Scorzonera Undulata*. Thèse de doctorat. Département de chimie : Université Mentouri- CONSTANTINE. Pp : 22-14-29.
  - ❖ Hendrich AB. (2006) Flavonoïd-membrane interactions: possible consequences for biological effects of some polyphenolic compounds. *Acta Pharmacologica Sinica*. 27(1): 27-40.
  - ❖ Igor P L.B. (2002) Etude des activités biologique de *Fagara zanthoxyoides*, lam (Rutaceae). Thèse de doctorat en pharmacie : Université de Bamako. Pp : 133.
  - ❖ Kansole M.M.R. (2009). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brwon, *Hoslundia opposita* vahl et *Orthosiphon plicatus* royleex benth. Mémoire pour obtenir un diplôme d'Etudes Approfondies en Sciences Biologiques Appliquées : Université d'Ouagadougou. Pp 26-27-31.
  - ❖ Keller R B. (2009) Flavonoids. Biosynthesis: Biological Effects and Dietary. Nova science.
  - ❖ Lakmichi H., Bakhtaoui F.Z., Gadhi C.A., Ezoubeiri A., El Jahiri Y., El Mansouri A., Zrara I. and Loutfi K. (2011) Toxicity Profile of the Aqueous Ethanol Root Extract of *Corrigiola telephiifolia* Pourr. (Caryophyllaceae) in Rodents. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Vol 2011.
-

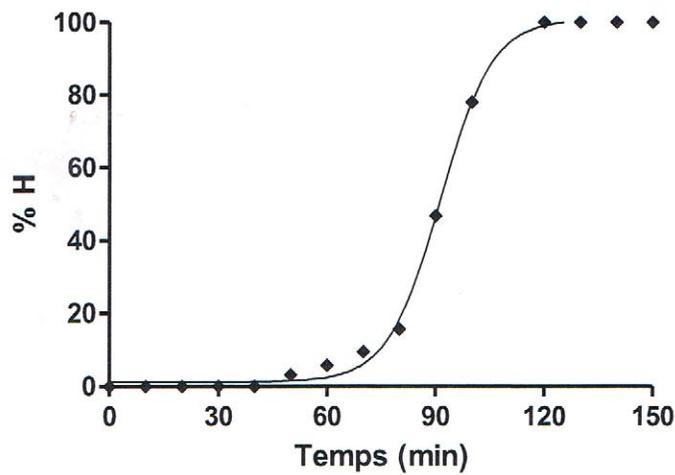
## Références bibliographiques

---

- ❖ Lapointe G. (2004) Notions de Toxicologie. 2<sup>nd</sup> édition. Commission de la santé et de la sécurité du travail (Québec, Canada), Pp : 16-20.
  - ❖ Lawson A.M. (2006) Etude phytochimique d'une Fabaceae tropicale, *Lonchocarpus onchocarpus* Nicot. Evaluation biologique préliminaire. Thèse de doctorat en pharmacie : Université de LIMOGES. P: 21.
  - ❖ Liu Z.Q., Han K., Lin Y.J., Luo X.Y. (2002) Antioxidative or prooxidative effect of 4-hydroxyquinoline derivatives on free-radical-initiated hemolysis of erythrocytes is due to its distributive status. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1570: 97 – 103.
  - ❖ Manahan S.E. (2003) Biochemistry toxicological chemistry. 3<sup>ème</sup> édition: Library of Congress Cataloging-in-Publication Data Lewis Publisher. Pp: 41-212.
  - ❖ Nene BIS.A., Traore F., Zahoui O.S et Yaya Soro T. (2008) Composition chimique d'un extrait aqueux de *Bridelia ferruginea* Benth. (Euphorbiaceae) et études de ses effets toxicologique et pharmacologique chez les mammifères. *Afrique Science* .04(2) : 287 – 305.
  - ❖ Oduola T., Adeniyi F., Ogunyemi E., Bello I.S., Idowu, T., Subair H. (2007) Toxicity studies on an unripe *Carica papaya* aqueous extract: biochemical and haematological effects in Wistar albino rats. *J. Medicinal Plants Res.* 1(1):001-004.
  - ❖ Richter G. (1993) Métabolisme des végétaux : Physiologie et Biochimie. Presses polytechniques et universitaires romande. p303.
  - ❖ Selles C. (2012) Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen : *Anacyclus pyrethrum* L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5M. Thèse de doctorat. Département de chimie: Université de Tlemcen. Pp : 24-25.
  - ❖ Sullivan S.G and STERN A. (1984) Membrane protein changes induced by tert-butyl hydroperoxide in red blood cells. *Biochimica et Biophysica Acta*. 774: 215-220.
  - ❖ Takebayashi J., Chen J., Tai A. (2010) A Method for Evaluation of Antioxidant Activity Based on Inhibition of Free Radical-Induced Erythrocyte Hemolysis. D. Armstrong (ed.), *Advanced Protocols in Oxidative Stress II, Methods in Molecular Biology*, vol. 594. Pp: 287-296.
  - ❖ Timbrell J.A. (2009) Principles of Biochemical Toxicology. 4<sup>ème</sup> édition: Informa Healthcare USA. Pp: 66-206.
  - ❖ Umamaheswari M., Asok-Kumar K., Somasundaram A., Sivashanmugam T., Subhadra Devi V. and Ravi T.K. (2007) Xanthine oxidase inhibitory activity of some Indian medical plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 109: 547-551.
-



**Figure 06 :** Cinétique obtenue après traitement avec la dose 0,2 µg/ml d'extrait. Les valeurs sont les moyennes ± SEM (n= 3).



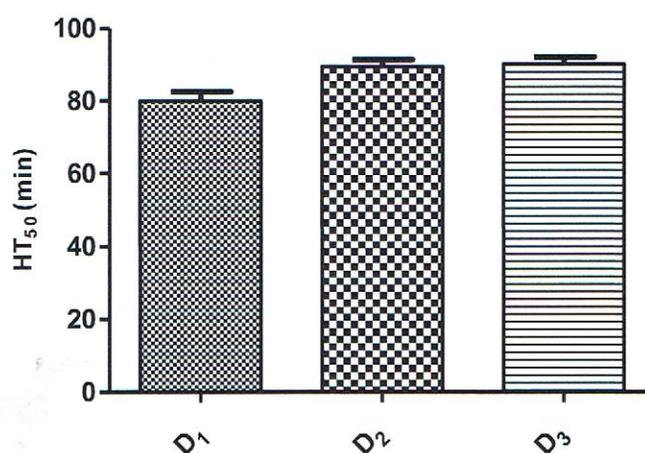
**Figure 07 :** Cinétique obtenue après traitement avec la dose 0,3 µg/ml d'extrait. Les valeurs sont les moyennes ± SEM (n= 3).

L'hémolyse est la destruction ou l'enlèvement des globules rouges dans la circulation avant leur durée de vie normale (120 jours). Il existe deux mécanismes d'hémolyse : l'hémolyse extravasculaire est l'élimination et la destruction des globules rouges avec des altérations de la membrane par les macrophages, de la rate et le foie. L'hémolyse intravasculaire, qui est la destruction des globules rouges dans la circulation avec la libération du contenu des cellules dans le plasma, des agents infectieux peuvent provoquer une dégradation de la membrane et destruction directe des cellules (Dhaliwal *et al.*, 2004).

On peut classer l'efficacité hémolytique chez *L. arabicum* comme suit  $D_1 < D_2 < D_3$  ; donc  $D_3$  plus hémolytique.

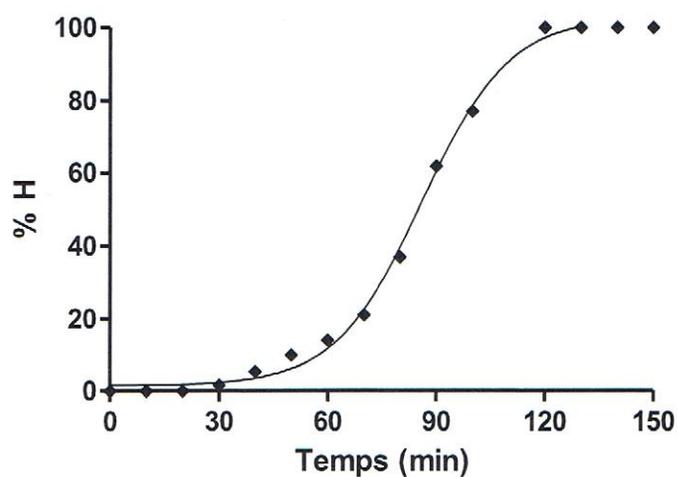
**Tableau 06** : Temps de demi-hémolyse ( $HT_{50}$ ) obtenues après traitement avec les extraits du *L. arabicum*. Les valeurs sont les moyennes  $\pm$  SEM (n= 5).

[C] $\mu\text{g/ml}$	<i>Lycium arabicum L</i>
0,1 $\mu\text{g/ml}$	79,98 $\pm$ 2,481
0.2 $\mu\text{g/ml}$	89,48 $\pm$ 1,860
0.3 $\mu\text{g/ml}$	90,16 $\pm$ 1,945

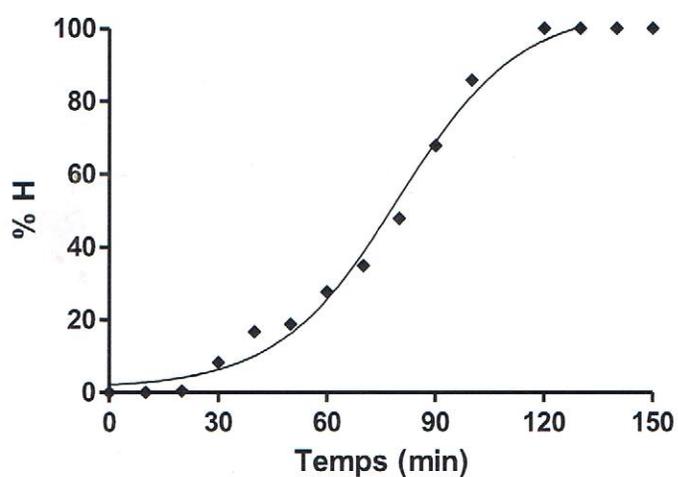


**Figure 08** : Temps de demi-hémolyse ( $HT_{50}$ ) obtenues après traitement avec les doses  $D_1(0,1)$ ,  $D_2(0,2)$ ,  $D_3(0,3)$   $\mu\text{g/ml}$  d'extrait. Les valeurs sont les moyennes  $\pm$  SEM (n= 3).

D'après **Qiang et ses collaborateurs (2011)**, les résultats indiquent que les saponines toujours exposées l'hémolyse à concentration plus élevée, mais a montré une protection hémolytique à faible concentration. Ensuite, les interactions de ginsénosides individuels sur l'hémolyse et hémolytique protection ont été réalisées, montrant que Rc à la concentration de 1  $\mu\text{g/ml}$ , qui n'a pas de protection hémolytique causée par " saponine ", a donné 50 % de protection hémolytique causée par Rd (400  $\mu\text{g/ml}$ ). Rg1 à la concentration de 400  $\mu\text{g/ml}$ , qui avait activité absolument protection de l'hémolyse causée par " saponine ", n'avaient pas de protection de l'hémolyse provoquée par Rd (400  $\mu\text{g/ml}$ ).donc les degrés hémolytiques causées par mélange de ginsénosides n'étaient pas l'addition ou la soustraction de degrés hémolytiques de ginsénosides individuels.



**Figure 04 :** Cinétique pour le témoin. Les valeurs sont les moyennes  $\pm$  SEM (n= 3).



**Figure 05 :** Cinétique obtenue après traitement avec la dose 0,1  $\mu\text{g/ml}$  d'extrait. Les valeurs sont les moyennes  $\pm$  SEM (n= 3).

## Résumé

*Lycium arabicum* L, est communément utilisée comme plante médicinale en Algérie contre une variété de pathologie humaine. L'action toxique de l'extrait méthanolique a été évaluée expérimentalement sur des souris males blanc pendant 15 jours de traitement, et fut également étudiée sur d'autres facteurs tels que l'activité hémolytique. L'étude de la toxicité aigue par voie intra péritonéal a montré une toxicité acceptable de la plante étudiée avec une  $LD_{50} > 350$  mg/kg de poids corporel des souris traités par l'extrait méthanolique de *L. arabicum*. Ces données permettent de classer cette plante en modérément toxique. L'effet de l'extrait sur les érythrocytes a augmenté les valeurs d' $HT_{50}$  (Half-Hemolysis Time) d'une manière dose dépendante. la concentration  $D_1$  (0,1 µg/ml) le système membranaire et devenue toxique par rapport au deux autres doses  $D_2$  (0,2 µg/ml) et  $D_3$  (0,3 µg/ml). L'utilisation de quelques méthodes chromatographiques nous a permis de séparer des métabolites qui constitue cette plante dont la meilleur est effectuée avec le système d'éluion chloroforme (100), acétone/chloroforme (60/40,50/50) et acétone/méthanol/chloroforme (30/10/60,20/10/70,10/10/80) par CCM, alors que dans chromatographie sur colonne l'utilisation de solvant à polarité croissante a donnée des fractions important dont celle qui a présenté un bon rendement c'est la fraction  $F_3$ (53,33 %).

**Mots clé :** *Lycium arabicum*,  $LD_{50}$ ,  $HT_{50}$ , CCM, hémolyse.

## المخلص

تستعمل النبتة الطبية *Lycium arabicum* بشكل واسع في الجزائر في علاج العديد من الامراض التي تصيب الانسان. تم تقييم تأثير السمية من خلال الاستخلاص الميثانولي تجريبيا على الفئران الذكور البيض لمدة 15 يوم من العلاج. كما درس ايضا عوامل اخرى مثل النشاط الانحلالي. أظهرت دراسة السمية الحادة عن طريق داخل الصفاق سمية مقبولة من النبات ودرس مع  $LD_{50} > 350$  ملغ / كغ من وزن الجسم في الفئران التي عولجت بالمستخلص الميثانولي من *L. arabicum*. وتستخدم هذه البيانات لتصنيف هذا النبات سامة باعتدال. تأثير مستخلص من كريات الدم الحمراء وزيادة قيم  $HT_{50}$  ( انحلال الدم نتيجة الشوط الأول ) في تركيز الجرعة 0,1 ميكروغرام /مل ونظام الغشاء لتصبح سامة مقارنة جرعتين 0,2 ميكروغرام /م) و 0,3 ميكروغرام / مل ) ، واستخدام بعض الأساليب الكروماتوغرافي سمح لنا لفصل نواتج الأيض هذا المستخلص أفضل والتي تتم مع النظام شطف مع الكلوروفورم ( 100 ) ، والأسيتون / الكلوروفورم ( 60/40 و 50/50 ) و الأسيتون / الميثانول / كلوروفورم ( 30/10/60 ، 20/10/70 ، 10/10/80 ) بواسطة كروماتوغرافيا الورقة الرقيقة ، في حين أعطى العمود اللوني في استخدام المذيبات زيادة قطبية كسور كبيرة بما في ذلك تلك التي قدمت أداء جيدا هو الجزء 3. ( 53,33 % )

**الكلمات المفتاحية :** *Lycium arabicum* ،  $LD_{50}$  ،  $HT_{50}$  ، انحلال الدم، كروماتوغرافيا الورقة الرقيقة.

## Abstract

*Lycium arabicum*.L is commonly used as a medicinal plant in Algeria against a variety of human diseases. The action of the methanol extract was evaluated experimentally on white male mice for 15 days of treatment, and was also studied other factors such as hemolytic activity. The study of acute toxicity by intraperitoneal showed acceptable toxicity of the plant studied with an  $LD_{50} > 350$  mg / kg body weight of the mice treated with the methanol extract of *L. arabicum*. These data are used to classify this plant moderately toxic. The effect of the extract of the erythrocytes increased values of  $HT_{50}$  (Hemolysis Half- Time) in a dose  $D_1$  dépendante. la concentration (0.1 µg / ml) and the membrane system to become toxic compared two doses  $D_2$  (0.2 µg / ml) and  $D_3$  (0.3 µg / ml). And the use of some chromatographic methods allowed us to separate metabolites that this plant is the best which is performed with the system elution with chloroform ( 100 ) , acetone / chloroform ( 60/40 , 50/50 ) and acetone / methanol / chloroform ( 10/30/60 , 10/20/70 , 10/10/80 ) by TLC , while column chromatography in the use of solvent of increasing polarity gave significant fractions including one that presented a good performance is the  $F_3$  fraction (53,33 %).

**Key words:** *Lycium arabicum*,  $LD_{50}$ ,  $HT_{50}$ , CCM, hemolysis.

