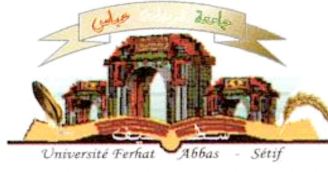


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة فرحات عباس، سطيف 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ANIMALE

N°...../SNV/2023

THÈSE

Présentée par

NOURI Allaoua

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Filière: SCIENCES BIOLOGIQUE

Spécialité: PHYSIOLOGIE ANIMALE

THÈME

**Etude phytochimique, toxicologique et le potentiel
anti- hyperglycémiant de la plante *Echium
trygorrhizum* pomel.**

Soutenue publiquement le 02/05/2023

DEVANT LE JURY

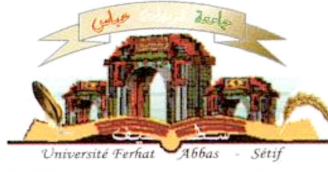
Président	GASMI Lakhdar	MCA. UFA Sétif 1
Directeur	DAHAMNA Saliha	Pr. UFA Sétif 1
Co-directeur	KHENNOUF Seddik	Pr. UFA Sétif 1
Examineurs	LALAOUI Korichi	Pr. UFM Constantine1
	ZAMA Djamila	Pr. UFM Constantine1
	DIAFAT Abdelouahab	MCA. U Bordj Bou Arréridj

Laboratoire de Phytothérapie Appliquée aux Maladies Chroniques (LPAMC)

2022/2023

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة فرحات عباس، سطيف 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ANIMALE

N°...../SNV/2023

THÈSE

Présentée par

NOURI Allaoua

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Filière: SCIENCES BIOLOGIQUE

Spécialité: PHYSIOLOGIE ANIMALE

THÈME

**Etude phytochimique, toxicologique et le potentiel
anti- hyperglycémiant de la plante *Echium
trygorrhizum* pomel.**

Soutenue publiquement le 02/05/2023

DEVANT LE JURY

Président	GASMI Lakhdar	MCA. UFA Sétif 1
Directeur	DAHAMNA Saliha	Pr. UFA Sétif 1
Co-directeur	KHENNOUF Seddik	Pr. UFA Sétif 1
Examineurs	LALAOUI Korichi	Pr. UFM Constantine1
	ZAMA Djamila	Pr. UFM Constantine1
	DIAFAT Abdelouahab	MCA. U Bordj Bou Arréridj

Laboratoire de Phytothérapie Appliquée aux Maladies Chroniques (LPAMC)

2022/2023

Dédicace

Je dédie ce travail

A mes chers parents qui m'ont encouragé à être ce que je suis.

A ma très chère femme et mes anges Hadil, Seyf islam, Tasnim et

Baraa

A mes chers frères et sœurs pour leurs encouragements.

A tous mes amis et collègues.

A tous ceux qui ont une place dans mon cœur.

Remerciements

Avant toutes choses, je tiens à exprimer ma gratitude envers ALLAH, le tout puissant, pour m'avoir donné le courage, la patience et la persévérance afin d'achever ce travail.

Je tiens à remercier vivement le Pr. Saliha Dahamna ainsi que le Pr. Khennouf Seddik qui m'a accueillie au sein de leur laboratoire de recherche. Ils ont veillé à ce que je dispose de toutes les conditions pour mener à bien mon travail, qu'ils reçoivent l'expression de ma profonde gratitude pour leur esprit d'équipe, leur rigueur scientifique, et leurs conseils apportés lors de la réalisation de cette thèse.

J'adresse mes remerciements aux membres des jurys qui ont accepté de juger ce travail. Je remercie monsieur le Dr. GASMI Lakhdar, de Université Ferhat Abbas Sétif 1, d'avoir accepté de juger ce travail et de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse. Veuillez trouver ici le témoignage de mon profond respect.

Je remercie également le Pr. LAALAOUI Korichi, Pr ZAMA Djamila, de l'Université Constantine1, et Dr. DIAFAT Abdelouahab, de l'Université Bordj Bou Arréridj, d'avoir acceptées de juger ce travail et de participer aux jurys de cette thèse.

J'adresser mes remerciements à toute l'équipe du laboratoire d'Anatomie Pathologique et spécialement Pr. OUHIDA et Dr.SAFSAF de m'avoir permis réaliser une partie importante de mon travail qui consiste en la réalisation des coupes histologiques.

J'adresser mes remerciements à Mr HARZALLAH Daoud chef d'équipe du laboratoire de microbiologie appliquée, université Ferhat Abbas, Sétif 1.

Je remercie les membres de l'équipe du laboratoire de Biochimie de l'établissement hospitalier spécialisé (CAC) de Sétif, spécialement le Pr.AMRANE Mounira qui m'ont permis d'effectuer les dosages des différents paramètres hématologiques et biochimiques.

J'adresser mes remerciements au Dr Chawki BENSUICI de m'avoir accueilli au sein de leur laboratoire de biochimie centre de recherche en Biotechnologie.

Je remercie chaleureusement les membres de notre équipe de laboratoire de Phytothérapie Appliquée au Maladies Chroniques, en particulier à Hamoudi Meriem, Ghedjati Samira et Amroun djouher.

Liste des travaux

Ce travail a fait l'objet des publications suivantes :

- **Allaoua NOURI**, Lakhder GASMI, Chawki BENSOUICI, Daoud Harzallah, Seddik KHENNOUF and Saliha DAHAMNA. The Inhibitory effect of hydroalcoholic extract from the Algerian *Echium trygorrhizum* Pomel roots on α -amylase activity. *Current Enzyme Inhibition* 2022; 18(1).

DOI: <https://doi.org/10.2174/1573408018666211224092636>

- **Allaoua Nouri**, Lakhdar Gasmi, Amina Safsaf, Daoud Harzallah, Seddik Khennouf, Saliha Dahamna, Secondary metabolite contents and safety assessment study of the aqueous extract from the Algerian *Echium trygorrhizum* Pomel roots, *Journal of Ethnopharmacology* Volume 301, 2023, 115771, ISSN 0378-8741,

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115771>.

(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874122008108>)

تعتبر الدراسة الأولى التي تهتم بشكل خاص بالنبات الطبي *Echium trygorrhizum Pomel* أو ما يعرف محليا " الحمار " أو "حمميش " ، والذي يستخدم في الطب التقليدي لتأثيراته الفعالة ضد العديد من الأمراض. تحقيقا لهذه الغاية ، يتمثل عملنا في توثيق الاستخدامات التقليدية لهذا النبات ، من خلال جمع كل المعلومات الحاضرة به عن طريق اشتبيان ، كما فمنا بدراسة السمية وتقييم النشاط الدوائي والتأثير المضاد للأكسدة للمستخلصات. وفقاً لنتائج المسح العرقي الدوائي ، وجد أن الاستخدام الطبي لهذا النبات هو فقط الذي تم الإعلان عنه من قبل المستطلعين لدينا ، وقد استشهد جميع المستجيبين لدينا بثلاث مؤشرات علاجية محتملة لهذا النوع ، مع إشارة ملائمة في علاج اليرقان يبدو أن مؤشرات أخرى أكثر إثارة للاهتمام تظهر بشكل أقل من هذه الدراسة ، مثل الاستخدام المضاد لمرض السكري ، والذي تم الاستشهاد به في 28.33 ٪ فقط من الحالات ، وبالمثل لعلاج الذبحة الصدرية ، إلى جانب الجذور هي الجزء الأكثر استخداماً في النبات. تم تحديد النشاطية المضادة للأكسدة في المستخلصات المختلفة من خلال مجموعة من الاختبارات مثل اختبار DPPH و ABTS واختبار CUPRAC وبيتا كاروتين. أظهرت النتائج أن المستخلصات تمتلك نشاطاً مضاداً للأكسدة يمكن أن يعزى إلى نوعية وتركيب المركبات الفينولية والفلافونويدية. أظهر اختبار السمية الحادة للمستخلص المائي وبجرعتي 2000 مغ/كغ و 5000 مغ/كغ عدم إحداث وفيات ولا آثار جانبية مما يعني أن الجرعة المميته أكبر من 5000 مغ / كغ. كما أظهر التناول المتكرر للمستخلص المائي لمدة 28 يوماً زيادة معنوية في مستويات كريات الدم الحمراء في إناث الجرذان بينما لم يلاحظ أي تغيرات في المؤشرات البيوكيميائية والدموية الأخرى. لوحظت تغيرات على مستوى خلايا أنسجة الكبد والكلى للفئران من كلا الجنسين التي عولجت بجرعات 500 و 1000 مغ / كغ من للمستخلص المائي كما أظهرت الدراسة المخبرية لنشاط المستخلصات على انزيمي الاميلاز و الجليكوزيداز تأثيرها التثبيطي على هذين الإنزيمين. يتعلق التأثير المحتمل المضاد لارتفاع السكر في الدم لدى الفئران عن طريق الفم بشكل أساسي بالمستخلص المائي للجذور والمحضر بالطريقة التقليدية أي الغلي. في البداية وكتجربة أولى تم اختبار تأثير المستخلص المائي على مستويات الجلوكوز في الدم لدى جرذان سليمة في الحالة العادية (اختبار تحمّل الجلوكوز) ، بينما في التجربة الثانية ، تم اختبار تحمل السكر الفموي. تشير النتائج إلى أن التجربة الثانية أظهرت تأثيراً خافضاً لسكر الدم و الذي لوحظ في فترة زمنية تتراوح من 30 إلى 90 دقيقة بعد تحميل الكربوهيدرات. لم تظهر التجربة الأولى أي انخفاض في مستويات السكر في الدم. تؤكد النتائج التي تم الحصول عليها مخبرياً فعالية الاستخدام التقليدي للمستخلص المائي لهذه النبتة و المتمثل في خفض لفرط سكر الدم ، وهذا يتأثيرها التثبيطي على انزيمي الاميلاز و الجليكوزيداز يمكن أن تكون نبتة الحمار مصدراً للمركبات الطبيعية التي يمكن دمجها في نظامنا الغذائي والتطبيقات الصيدلانية.

الكلمات المفتاحية: مسح نباتي دوائي ، التأثير المضاد للأكسدة ، المركبات الفينولية ، السمية الحادة وفوق الحادة ، الاميلاز ، الجليكوزيداز ،

ABSTRACT

This is the first study to focus on the medicinal plant *Echium trygorrhizum* Pomel or also called "Hamar" or "Hmimiche", traditionally used for its useful effects against several diseases. To this end, our work consists in documenting its traditional uses, by establishing the toxicological profile, evaluating the pharmacological activity and the antioxidant effect of the extracts. According to the results of the ethnopharmacological survey, it was found that only the medicinal use of this plant was declared by our respondents, therapeutically three potential therapeutic indications of this species were cited by all our respondents, with a notable indication in the treatment of jaundice. Other more interesting indications seem to emerge less from this study, such as anti-diabetic use, which was cited in only 28.33% of cases, similarly for the treatment of angina, besides the roots are the most used part of the plant. The antioxidant activity of the different extracts has been determined by the combination of several tests such as DPPH, ABTS, reducing power, cuprec, and β -carotene bleaching test. The results showed that the extracts possess antioxidant activity which can be attributed to the quality and quantity of phenolic and flavonoid compounds. The toxicological assessment of AQ demonstrated that their acute administration induces neither mortality nor adverse effects indicating that the LD₅₀ is greater than 5000 mg/kg. Repeated administration of the AQ extract for 28 days showed a significant increase in erythrocyte levels in female rats while no alterations in other biochemical and hematological parameters were observed. Histopathological alteration was observed in the liver and kidney tissues of rats of both sexes treated with the 500 and 1000 mg/kg doses of the AQ extract. The *in-vitro* study of the activity of the extracts on α -amylase and α -glucosides showed its inhibitory effect on both these enzymes. The potential anti-hyperglycemic effect *in vivo* in rats by the oral route essentially concerned the total aqueous extract of the roots obtained by the traditional method (decoction). In the first procedure, normal animals were tested for oral glucose tolerance after gavage with the extract. While in the second procedure, the effect of the extract was tested in normal rats, following an oral sucrose tolerance test. The results indicate that only the second procedure showed an antihyperglycemic effect observed in a time interval of 30 to 90 minutes after carbohydrate loading. The first procedures did not show any decrease in blood glucose levels. On the light of the previous results, the plant extract has a remarkable antihyperglycemic activity, which was manifested in our experiments, by a decrease in hyperglycemia induced by an oral sucrose load and the inhibitory effect on both α -amylase and α -glucosides. This plant can be considered as a source for natural compounds that can be incorporated into our diet and pharmaceutical applications.

Keywords: ethnopharmacological survey, Phenolic compounds, antioxidant activity, acute and Sub-acute toxicity, α -amylase, α -glucosides.

Résumé

Il s'agit de la première étude qui s'intéresse particulièrement à la plante médicinale *Echium trygorrhizum Pomel* ou encore appelée "Hamar" ou "Hmimiche", traditionnellement utilisée pour ses effets utiles contre plusieurs maladies. A cet effet, notre travail consiste à documenter leur utilisations traditionnelles, établir le profil toxicologique, évaluer l'activité pharmacologique et l'effet antioxydant, de ces extraits. Selon les résultats de l'enquête ethnopharmacologique, il a été constaté que seule l'utilisation médicinale de cette plante a été déclarée par nos informateurs, sur le plan thérapeutique trois indications thérapeutiques potentielles de cette espèce ont été citées par l'ensemble de nos informateurs, avec une indication notable dans le traitement d'ictère (la jaunisse), d'autres indications plus intéressantes semblent moins ressortir de cette étude, comme l'usage antidiabétique qui n'est cité que dans 28,33 % des cas, de même pour le traitement de l'angine, par ailleurs les racines constituent la partie la plus utilisée de la plante. L'activité antioxydante des différents extraits a été déterminée par l'association de plusieurs tests tels que le test du DPPH, ABTS, le pouvoir réducteur, cuprec, et le test du blanchiment du β -carotène. Les résultats ont montré que les extraits possèdent une activité antioxydante qui est attribuée aux composés phénoliques. L'évaluation toxicologique de AQ a permis de démontrer que leur administration aiguë n'induit ni effets indésirables ni mortalité indiquant que la DL_{50} est supérieure à 5000 mg/kg. L'administration répétée de l'extrait AQ pendant 28 jours a montré une augmentation significative des niveaux d'érythrocytes chez les rats femelles alors qu'aucune altération des autres paramètres biochimiques et hématologiques n'a été observée. Des altérations ont été observées dans les tissus rénaux et hépatiques des rats mâles et femelle traités avec la dose 500 et 1000 mg/kg de l'EAQ. L'étude *in vitro* de l'activité des extraits sur l' α -amylase et l' α -glucosidase a montré son effet inhibiteur à la fois sur ces 2 enzymes. L'effet potentiel anti-hyper glycémique *in vivo* chez les rats a porté essentiellement sur l'extrait aqueux des racines obtenues par la méthode traditionnelle (décoction). La première procédure consiste à tester l'effet de l'extrait aqueux, sur la glycémie post-prandiale, les animaux normaux ont subi un test de tolérance orale au glucose après le gavage de l'extrait, alors que dans la deuxième procédure, l'effet de l'extrait a été testé sur des rats normaux, suite à un test de tolérance orale au saccharose. Les résultats, indiquent que seule la deuxième procédure, qui a montré un effet anti-hyperglycémiant observé dans un intervalle de temps de 30 à 90 min après la charge glucidique. La première procédure ne montrant aucune diminution de la glycémie. A la lumière de ces résultats, nous pouvons dire que notre plante a une activité anti-hyperglycémiant remarquable, qui s'est manifesté dans nos expériences, par une diminution de l'hyperglycémie provoquée par une charge orale de saccharose et l'effet inhibiteur à la fois sur l' α -amylase et l' α -glucosidase. La plante peut être considérée comme une source pour les composés naturels qui peuvent être incorporés dans nos applications alimentation et pharmaceutique.

Mots clefs : enquête ethnopharmacologique, composés phénoliques, L'activité antioxydante, toxicité aiguë, toxicité subaiguë, α -amylase, α -glucosidase

Liste des abréviations

ABTS^{•+} : 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

ALT: Alaline aminotransférase

AQ : Aqueux

AST: Aspartate aminotransférase

BC : Ballonisation cellulaire

BHT: Hydroxytoluène butylé

CAT: Catalase

CI₅₀: Concentration inhibitrice à 50%

COX : cyclo-oxygénase

CV : Congestions vasculaires

DL₅₀ : Dose létale 50

DPPH[•]: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EAG: Equivalent acide gallique

EQ: Equivalent quercétine

ERN: Espèces réactives de l'azote

ERO: Espèces réactives de l'oxygène

EM :Extrait méthanolique

EHM : Extrait hydro-méthanolique

FDA : Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

H₂O₂[•]: Peroxyde d'hydrogène

HAT: Transfert d'atomes d'hydrogène

HNO₂: Acide nitreux

HO₂[•] : Hydroperoxyl

HOCL: Acide hypochlorure

IF : Infiltrat inflammatoire

IL : Interleukine

N₂O₃ :Trioxyde de diazote

N₂O₄:Peroxyde d'azote

NO⁻ : Anion nitroxyl

NO⁺: Cation nitroxyl

NO[•]:Monoxyde d'azote

NO^{2•}:Dioxyde d'azote

O₂^{•-} : Superoxide:

[•]OH: Radical hydroxyl

OCDE: Organisation de coopération et de développement économiques

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONAB : Office National des Aliments du Bétail

PAL: Phosphatase alcaline

PC: Poids corporel

PKC : Protéine kinase C

PRO : Poids relatif des organes

RO[•]: Radical alkoxy

ROO[•]: Radical peroxy

SD : Standard deviation

TCA: Acide trichloracétique

TCP: Teneur en composés phénoliques

TFT: Teneur en flavonoïdes

Liste des tableaux

Tableau 1:	les différentes Classes des composés phénoliques	10
Tableau 2:	Critères de classification de la toxicité aiguë selon le SGH	21
Tableau 3:	Description de la plant selon différent critère	43
Tableau 4:	Indices de fidélité des principales indications thérapeutiques	44
Tableau 5:	Valeur du consensus pour les différentes parties de la plante	45
Tableau 6:	Rendement d'extraction, couleur et aspect des extrais	47
Tableau 7:	Teneur en phénols totaux, flavonoïdes et des tanins condensés.	48
Tableau 8:	Pourcentages d'inhibition du radical DPPH	49
Tableau 9:	Pourcentages d'inhibition du cation radical ABTS	51
Tableau 10:	Pouvoir réducteur des extrais	51
Tableau 11:	Réduction du complexe néocoproine par la méthode CUPRAC	52
Tableau 12:	Pourcentages d'effet hémolytique	54
Tableau 13:	Variation de gain du poids corporel des rats mâles et femelle traités à l'E AQ d' <i>Echium trygorrhizum</i> , pendant 28 jours de traitement.	60
Tableau 14:	Prise alimentaire et ingestion d'eau chez les rats mâles et femelles durant la période de traitement par l'E AQ d' <i>Echium trygorrhizum</i> .	60
Tableau 15:	Poids relatif des organes des rats mâles et femelles traité a l'E AQ d' <i>Echium trygorrhizum</i> pendant une période de 28 jours.	62
Tableau 16:	Paramètres hématologiques des rats mâles et femelles traités à l'E AQ pendant une période de 28 jours	63
Tableau 17:	Différente globuline blancs des rats mâles et femelles traités à l'EAQ pendant une période de 28jours	64
Tableau 18:	Paramètres biochimiques des rats mâles et femelles traités à l'EAQ pendant une période de 28 jours	65
Tableau 19:	Pourcentage d'inhibition de l' α - amylase par les extrais (EAQ, EHM et EM)	70
Tableau 20:	Pourcentage d'inhibition de l' α - glucosidase par les extrais (EAQ, EHM et EM)	70
Tableau 21:	Effet de l'EAQ sur la glycémie postprandial après une charge de 2g de saccharose.	72
Tableau 22:	Effet de l'EAQ sur la glycémie postprandial après une seule ingestion oralede glucose	73

Liste des figures

Figure 1:	Production des ERO lors du transport d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire de la mitochondrie	6
Figure 2:	Structures chimiques des acides phénoliques	11
Figure 3:	Structures chimiques des coumarines	11
Figure 4:	Groupe des lignanes	12
Figure 5:	Exemple des tanins hydrolysables et tanins condensés	14
Figure 6:	Structure de base d'un flavonoïde	15
Figure 7:	Photos de la plante <i>Echium trygorrhizum</i> Pomel	25
Figure 8:	Photos de la plante <i>Echium trygorrhizum</i> Pomel	25
Figure 9:	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	30
Figure 10:	Courbe d'étalonnage de la quercétine	31
Figure 11:	Courbe d'étalonnage de la catéchine	32
Figure 12:	Réduction du complexe néocuproïne / cuivre (II)	34
Figure 13:	Mode de préparation de la plante	51
Figure 14:	Pourcentage d'inhibition du blanchiment du β -carotène par les extraits	53
Figure 15:	Variations du poids corporel chez les souris témoins et traités par EAQ <i>d'Echium trygorrhizum</i> Pomel	56
Figure 16:	Variations du poids relatif des organes chez souris femelles traités avec des doses uniques de l'EAQ.	57
Figure 17:	Variations du poids relatif des organes chez souris mâles traités avec des doses uniques de l'EAQ.	57
Figure 18:	Evolution du poids corporel des rats femelles traités par l'extrait AQ <i>d'Echium trygorrhizum</i> , pendant 28 jours de traitement.	59
Figure 19:	Evolution du poids corporel des rats mâles traités par l'extrait AQ <i>d'Echium trygorrhizum</i> pendant 28 jours de traitement.	59
Figure 20:	Observations macroscopique du colon in subacute toxicity	61
Figure 21:	Coupes histologiques du foie et des reins de rats mâles et femelles administrés avec l'extrait AQ	67

Sommaire

Introduction	1
---------------------	---

Chapitre I: Synthèse bibliographiques

1. Ethnopharmacologie	3
1.1 L'enquête ethnobotanique et ethnopharmacologique	3
1.2 Définition de l'ethnopharmacologie	4
2. l'hyperglycémie et le stress oxydatif	5
2.1 Source de production d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote	5
2.2 Développement d'un stress oxydant	6
2.2.1 Auto-oxydation du glucose	6
2.2.2 Voie des polyols	7
2.2.3 Glycation des protéines	7
2.2.4 La voie de la protéine kinase C	7
2.2.5 La voie des hexosamines	8
3. Les composés phénoliques et le diabète	9
3.1 Classification des composés phénoliques	9
3.1.1 Les acides phénoliques	11
3.1.2 Les coumarines	11
3.1.3 Les quinones	12
3.1.4 Les Lignanes	12
3.1.5 Les tannins	13
3.1.6 Flavonoïdes	14
3.2 Rôles des composés phénoliques	15
3.3 Intérêts thérapeutiques	15
4 Toxicité des plantes médicinales	18
4.1 Evaluation de la toxicité des plantes médicinales	19
4.1.1 Test de toxicité aiguë	19
4.1.2 Test de toxicité subaiguë	21
4.1.3 Toxicité chronique	21
4.2 Hépatotoxicité des plantes médicinales	22
4.3 Néphrotoxicité des plantes médicinales	23

Chapitre II: Matériels et Méthodes

1. Matériel	
1.1 Matériel végétal	25
1.2 Animaux d'expérimentation	26
1.3 Réactifs et appareillage	26
2. Méthodes	28
2.1. Etude ethnopharmacologique	
2.1.1 Niveau relatif de popularité	28
2.1.2 Indice de fidélité	28
2.1.3 Valeur de consensus pour une partie de la plante	28
2.2 Préparation des extraits bruts d' <i>Echium trygorrhizum</i>	29
2.2.1 Extrait aqueux	29
2.2.2 Extrait méthanolique	29
2.2.3 Extrait hydro-méthanolique	29
2.3 Etude phytochimique	30
2.3.1 Détermination de la teneur totale en polyphénols	30
2.3.2 Détermination de la teneur en flavonoïdes	32
2.3.3 Détermination de la teneur en tannins condensés	33
2.4 Evaluation de l'activité antioxydante in vitro	33
2.4.1 Test de l'effet scavenger du radical DPPH	33
2.4.2 Test de piégeage du radical ABTS ^{•+}	34
2.4.3 Test de pouvoir réducteur	35
2.4.4 Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre	35
2.4.5 Test de blanchissement du β -carotène	36
2.5 Études toxicologiques de l'extrait aqueux	37
2.5.1 Evaluation de la cytotoxicité vis-à-vis des globules rouges du rat	37
2.5.2 Evaluation de la toxicité aiguë chez les souris	38

2.5.3	Evaluation de la toxicité subaiguë chez le rat	38
2.5.3.1	Poids corporel, prise alimentaire et ingestion d'eau	38
2.5.3.2	Prélèvements sanguins et des organes	38
2.5.3.3	Analyse des paramètres hématologiques	39
2.5.3.4	Analyse des paramètres biochimiques	40
2.5.3.5	Poids relatif des organes	40
2.5.3.6	Étude histopathologique	40
2.6	Études pharmacologiques	41
2.6.1	Etude <i>in-vitro</i>	41
2.6.1.1	Effet des extraits sur l' α -amylase	41
2.6.1.2	Effet des extraits sur de l' α -glucosidase	42
2.6.2	Etude <i>in-vivo</i>	
2.6.2.1	Test de tolérance au sucrose	43
2.6.2.2	Test de tolérance au Glucose	44
2.7	Analyse des données	44

Chapitre III: Résultats et Discussions

1.	Etude ethnopharmacologique	
1.1	Description de l'échantillon de la population interrogé	47
1.2	Les noms vernaculaires	47
1.3	Niveau relatif de popularité	47
1.4	Domaines d'utilisation et indications thérapeutiques	48
1.5	Parties de la plante utilisées	49
1.6	Mode de préparation et la voie d'administration de la plante	50
2.	Rendement des extractions	51
3.	Dosage des polyphénols, flavonoïdes et des tannins condensés	52
4.	Activité antioxydante	53
4.1	Piégeage du radical DPPH	54

4.2 Piégeage du radical ABTS ^{•+}	55
4.3 Test du pouvoir réducteur	56
4.4 Test capacité antioxydante par réduction de cuivre	67
4.5 Test du blanchiment du β-carotène	67
5. Études toxicologiques	58
5.1 La cytotoxicité vis-à-vis des globules rouges du rat	59
5.2 Toxicité aiguë par voie orale de l'extrait aqueux	59
5.2.1 Effet de la prise aiguë de l'extrait AQ sur le poids corporel des animaux	60
5.2.2 Effet de la prise aiguë de l'extrait AQ sur le poids relatif des organes	61
5.3 Toxicité subaiguë de l'extrait AQ	62
5.3.1 Effet de la prise subaiguë de l'EAQ sur le poids corporel	63
5.3.3 Effet sur la prise alimentaire et l'ingestion d'eau	64
5.3.3 L'observation macroscopique	65
5.3.4 Effet de la prise subaiguë de l'E AQ sur le poids relatif des organes	66
5.3.5 Effet de la prise subaiguë de l'E AQ sur les paramètres hématologique	67
5.3.4 Effet de sur les paramètres biochimiques	68
5 3.5 Histopathologie des organes	70
6. Mécanismes potentiels de l'effet anti hyperglycémiant	72
6.1 Inhibition des enzymes hydrolysant les glucides	
6.1.1 Evaluation de l'activité de l'EAQ sur l'alpha-amylase	74
6.2.2 Evaluation de l'activité de l'EAQ sur l'α- glucosidase	75
6.2 Effet anti-hypoglycémiant de l'EAQ	76
6.2 .1 Test de tolérance au saccharose	77
6.2.2 Test de tolérance au au glucose	78
Conclusion générale et perspectives	75
Références bibliographiques	78
Annexes	

INTRODUCTION

Introduction

L'Algérie possède l'une des flores les plus diversifiées et originales du bassin méditerranéen. Cette flore compte 3139 espèces, composées de 3744 taxons, dont 464 sont endémiques et 1818 sont des espèces plus ou moins rares (Qu'ézel et Santa, 1962 ; Vela et Benhouhou, 2007). Cet inventaire est aujourd'hui estimé à 4 449 taxons, dont 3 951 taxons indigènes et 498 introduits en Algérie (Habib *et al.*, 2020). Bien qu'un grand nombre d'espèces végétales aient été traditionnellement utilisées pour le traitement de diverses maladies et pour de nombreuses autres activités bénéfiques. En effet, bon nombre de ces espèces sont chimiquement inconnues et peuvent être dangereuses pour la Santé humaine. Parmi les plantes dominantes, l'espèce *Echium trygorrhizum Pomel* est connue localement sous le nom de « Hamar » ou « Hmimiche ». C'est une plante sauvage, originaire d'Afrique du Nord (Salemkour *et al.*, 2012). Il est rapporté que l'espèce *Echium trygorrhizum Pomel* est traditionnellement utilisée dans la médecine populaire algérienne pour le traitement de la jaunisse, du diabète et de l'angine (Yabrir *et al.*, 2018).

Les risques de toxicité dus à la méconnaissance des plantes et à l'absence d'une maîtrise d'une posologie définie et d'un mode d'emploi approprié, incitent à prendre conscience des dangers encourus lors de la médication par les plantes.

Au vu de ces données, notre objectif est donc d'apporter un fondement scientifique à ces utilisations traditionnelles par une enquête ethno pharmacologique, étudié le profil toxicologique à fin de cerner les risques encourus à la suite de son ingestion, cette étude est focalisée sur la toxicité à court terme (toxicité aigüe) et à long terme (toxicité sub aigüe) et l'évaluation phytochimique et pharmacologique *in vitro* de ces extraits, par l'étude de leurs rôles antioxydants, leurs taux des composés phénoliques, leurs activités inhibitrices de l' α - amylase et l' α -glucosidase et enfin évaluer *in vivo* le potentiel anti-hyperglucémique et le mécanisme selon lequel l'EAQ des racines de notre plante peut réduit la glycémie, nous avons ciblé l'inhibition de l'alpha-glucosidase intestinale par le test de tolérance au saccharose et l'absorption du glucose au niveau des intestins par le test de tolérance orale au glucose.

SYNTHÈSE

BIBLIOGRAPHIQUE

1. Ethnopharmacologie

D'après l'organisation mondiale de la santé, 80% de la population des pays en voie de développement ont recours aux tradipraticiens. Il est donc recommandé d'activer la collecte des informations et de préparer des phytomédicaments à partir d'extraits végétaux standardisés, cependant ces connaissances empiriques concernant l'usage des plantes médicinales tendent actuellement à disparaître (Ndhlala *et al.*, 2011).

Beaucoup d'utilisateurs des plantes meurent sans avoir transmis leur savoir ni l'avoir consigné par écrit. De plus, la jeune génération, tournée vers la modernité, délaisse de plus en plus les pratiques populaires ou ancestrales.

Il est donc important et urgent de recueillir le maximum d'informations concernant l'ensemble de ces connaissances thérapeutiques traditionnelles. Ajoutons à cela la considérable dégradation sur le plan écologique depuis au moins un demi-siècle.

En effet la destruction massive et les incendies répétés des forêts, avec la grande urbanisation non contrôlée tendent à faire disparaître de nombreuses espèces végétales. Par conséquent et face à la dégradation des écosystèmes qui se poursuit actuellement, il est également nécessaire d'œuvrer en faveur de la préservation de la riche biodiversité menacée de l'Algérie (Obi *et al.*, 2006).

1.1 L'enquête ethnobotanique et ethnopharmacologique

L'enquêtes ethnobotaniques et ethnopharmacologiques, sont deux axes, visant à préserver les savoirs traditionnels d'une part et conservation de la biodiversité d'autre part, se croisent naturellement sur le terrain. Ils sont même interdépendants. Cette double préservation constitue un but compatible avec une meilleure utilisation des richesses naturelles et sur- tout une solution adaptée aux réalités du terrain et aux besoins de la population locale. Celle-ci sera finalement la bénéficiaire ultime de ce maintien en l'état de son environnement.

1.2 Définition de l'ethnopharmacologie

L'ethnopharmacologie est l'étude des médecines traditionnelles et leurs pharmacopées sous un éclairage nouveau, celui apporté par la richesse et la diversité des nombreuses disciplines qui la composent (Ibrahim *et al.*, 2014).

L'ethnopharmacologie met en relation les savoirs ancestraux des médecines traditionnelles et les connaissances scientifiques actuelles. Située à l'interface des sciences de l'homme, comme l'ethnologie, l'histoire, la linguistique, et des sciences de la nature, comme la botanique, la pharmacologie, la pharmacognosie, la médecine, l'ethnopharmacologie respecte la tradition et les pratiques traditionnelles, mais s'ouvre résolument à l'innovation. Très schématiquement la recherche se déroule en trois temps

- Un travail de terrain qui consiste à mener des enquêtes auprès des tradipraticiens afin de recenser l'usage des plantes médicinales ou des produits d'origine naturelle avec les pratiques médicales qui les accompagnent, partout dans le monde, aussi bien dans les pays développés que dans les pays en voie de développement
- Un travail de laboratoire qui, grâce aux outils modernes de la pharmacologie, de la chimie et de la biologie, vise à mieux comprendre et à définir l'activité thérapeutique de ces substances.

L'expérimentation scientifique est en fait guidée par l'usage traditionnel. un travail de retour vers le terrain qui comprend des programmes de valorisation de la recherche par la promotion de médicaments à base de plantes efficaces et dépourvus de toxicité et par la publication dans des revues scientifiques des résultats des enquêtes de terrain et des travaux de laboratoire (Busia, 2005).

2. L'hyperglycémie et stress oxydatif

Une glycémie élevée induit une surproduction prolongée des ERO intracellulaires et ceux-ci prolongent le gradient électrochimique des protons générés dans la chaîne mitochondriale menant à une surproduction d'anions superoxydes, qui est l'une des ERO qui peut endommager les cellules dans de nombreuses voies de la signalisation (Del Río, 2015). Les espèces réactives de l'oxygène générées lors de l'hyperglycémie causent principalement des dommages de l'acide désoxyribonucléique (ADN), des lipides et des protéines. l'activation des voies du stress oxydant est sensible par l'élévation du glucose et des acides gras, elle conduit à deux niveaux de résistance à l'insuline et une diminution de la sécrétion d'insuline et la dysfonction des cellules β sécrétrices de l'insuline (Ahmad *et al.*, 2017).

2.1 Source de production d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote

Le stress oxydatif définit comme l'incapacité des systèmes antioxydants à neutraliser et à éliminer la surproduction des espèces réactive de l'oxygène (ERO) et des espèces de l'azote (un déséquilibre entre production des radicaux libres et espèces antioxydante (Phaniendra *et al.*, 2015).

Le stress oxydant augmente dans les différents tissus, car l'hyperglycémie induit une production prolongée des ERO dans les cellules et ceux-ci prolongent le gradient électrochimique, des protons générés dans la chaîne mitochondriale menant à une surproduction d'anions superoxydes, qui est l'une des ERO qui peut endommager les cellules dans de nombreuses voies.

Lors de l'hyperglycémie les ERO causent principalement des dommages de l'acid dioxy nucleique, des lipides et des protéines. l'activation des voies du stress oxydant est sensible par l'élévation du glucose, des acides amines et des acides gras, elle conduit à deux niveaux de résistance à l'insuline et une diminution de la sécrétion d'insuline et la dysfonction des cellules β pancréatique sécrétrices de l'insuline (Moe *et al.*, 2017) .

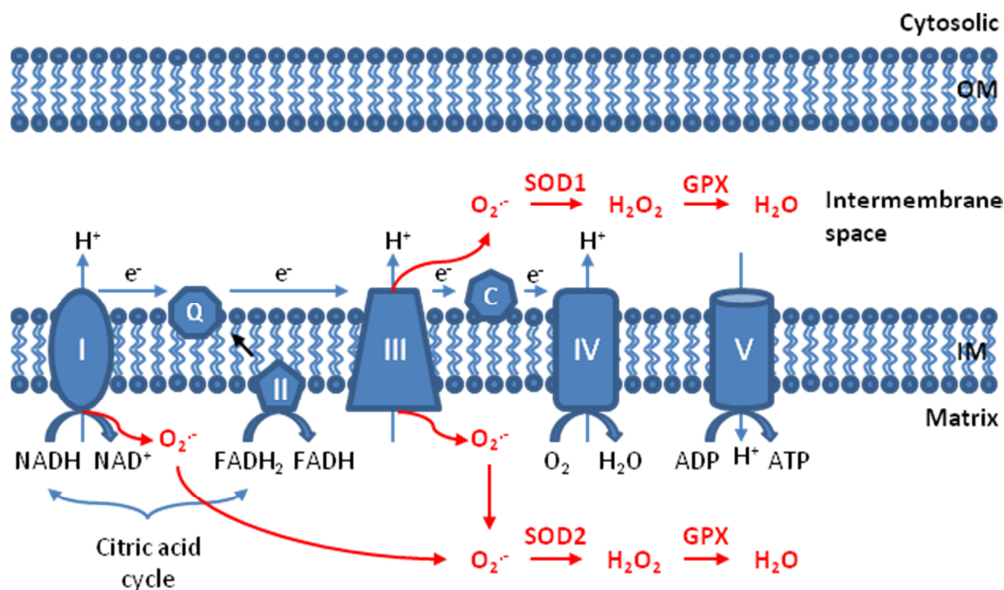


Figure 1 : Production des ERO lors du transport d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire de la mitochondrie (Kausar *et al.* 2018).

2.2 Développement d'un stress oxydant

Également, il existe plusieurs voies moléculaires responsables dans le développement ou l'amplification d'un stress oxydant et donc la surproduction d'ERO lors d'hyperglycémie, l'auto-oxydation du glucose, la voie des polyols, la voie de la Protéine kinase C (PKC) et la glycation des protéines et la voie des hexosamines (Vincent et Taylor, 2006).

2.2.1 Auto-oxydation du glucose

Le glucose, sous sa forme ène-diol, et en présence de métaux de transition, donne naissance à un radical anionique ène-diol ; celui-ci, en réduisant l'oxygène moléculaire, libère des anions superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), au cours de cette réaction il y a formation concomitante d'un composé carbonyle. L'anion superoxyde peut se dismuter en peroxyde d'hydrogène. Ce dernier, en présence de métaux de transition, produit des radicaux hydroxyles ($\bullet OH$) qui sont extrêmement réactifs (Byers *et al.* 2013).

2.2.2 Voie des polyols

Dans le diabète, le glucose excédentaire ne peut plus être métabolisé par la voie de glycolyse et la voie des pentoses phosphates, plusieurs études ont montré que lors de l'hyperglycémie une partie du glucose peut se dévier vers la voie des polyols. Dans les conditions physiologiques, la voie des polyols est inactive. Au cours d'hyperglycémie chronique, une partie du glucose est réduite en sorbitol par l'action de l'enzyme aldose réductase (Čolak et Majkić-Singh, 2009).

Le sorbitol va s'accumuler dans les cellules, de part son incapacité à traverser les membranes, et entraîner de multiples dommages tels que des dommages osmotiques. Une partie du sorbitol peut être oxydée en fructose à l'origine de produits avancés de glycation.

L'activation de la voie des polyols va ainsi entraîner une augmentation du stress oxydant au sein de la cellule avec une diminution des défenses anti-oxydantes (Haleng *et al.*, 2007).

2.2.3 La glycation des protéines

La glycation des protéines résulte de la formation d'une liaison covalente entre la fonction aldéhydique du glucose et les groupements amines libres des protéines (fonction amine N terminale et/ou fonction amine de la chaîne latérale des lysines). Cette liaison donne naissance à des produits dits d'Amadori qui présentent la particularité de posséder un groupement cétoal (fonction cétone et fonction alcool secondaire portés par deux carbones contigus).

2.2.4 La voie de la protéine kinase C

La biotransformation augmentée du glucose en glycéraldéhyde-3-phosphate et sa conversion en dihydroxyacétone phosphate (DHAP) produisent une concentration accrue en substrat entraînant la formation de diacylglycérol (DAG). L'augmentation de la concentration en DAG dans les cellules conduit à l'activation de PKC, les conséquences vasculaires de cette activation sont multiples (Tang *et al.*, 2020).

2.2.5 La voie des hexosamines

Lorsque les concentrations de glucose intracellulaire sont élevées, la majorité de ce dernier est métabolisée *via* la glycolyse. Cependant, une partie du fructose -6 phosphate est détournée de cette voie et est convertie en glucosamine-6 phosphate par la glutamine fructose-6 phosphate aminotransférase. Celui-ci est ensuite converti en uridine diphosphate N-acétylglucosamine (Papachristoforou *et al.*, 2020), qui va modifier différents facteurs de transcription conduisant à l'expression de gènes et à la synthèse de protéines tels que Transforming Growth Factor-B (TGF- β) et Plasminogen Activator Inhibitor-I (PAI-1). Le glucosamine-6-phosphate produit par la voie des hexosamines inhibe l'activité du glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD), enzyme clé de la voie des pentoses phosphate (Liguori *et al.*, 2018). L'activation de la G6PD est couplée par la réduction de NADP⁺ en NADPH⁺, ensuite l'activation de la voie des hexosamines provoque la baisse du rapport NADPH⁺/NADP⁺ (Zhang *et al.*, 2020). Cette fonction cétol peut, en présence de métaux de transition, céder un électron à l'oxygène moléculaire, conduisant à la formation d'anions superoxyde (Yu *et al.*, 2020).

Le terme de glyco-oxydation a été proposé par Baynes en 1991 pour caractériser les modifications des protéines pour les quelles des réactions d'oxydation sont associées à la glycation. Ainsi, certains produits terminaux de glycation avancée (AGE) sont formés à partir des produits d'Amadori, soit par une voie non oxydative, soit par une voie oxydative faisant intervenir les radicaux libres oxygénés. La glyco-oxydation concerne la deuxième voie. Une fois formés, les AGE peuvent influencer la fonction cellulaire en se liant à plusieurs sites membranaire, y compris leur récepteur (RAGE). L'interaction des AGE au RAGE conduit à la génération intracellulaire des radicaux libres de l'oxygène et, parallèlement, l'épuisement des antioxydants (Pisoschi *et al.*, 2021).

3. Composés phénoliques et diabète

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées, dont la grande majorité ne sont pas directement impliqués dans leur métabolisme de base mais, qui leur sont nécessaires pour leur survie dans l'environnement (Naikoo *et al.*, 2019).


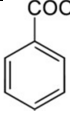
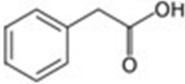
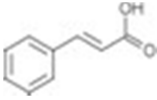
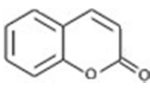
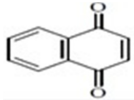
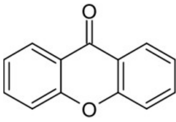
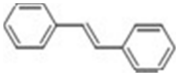
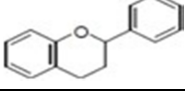
Ces composés, dénommés métabolites secondaires, sont souvent répartis de manière différente entre au sein du règne végétal, contrairement aux métabolites primaires (acide aminés, acide gras et carbohydrates) qui sont omniprésents dans toutes les plantes et qui sont indispensables à leur croissance et développement (Anulika *et al.*, 2016). Les composés phénoliques représentent l'un des groupes les plus importants du fait qu'ils ont une faible toxicité et de nombreux avantages biologiques, notamment thérapeutique, pharmaceutique, cosmétologique et alimentaire (Górniak *et al.*, 2019). Leur biosynthèse se fait à partir de l'acide shikimique et de la phénylalanine (Naushad *et al.*, 2019).

Les polyphénols regroupent les principales sous-classes suivantes : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tannins condensés, les stilbènes et les coumarines. Plusieurs études ont montré qu'il existe une relation entre la structure et l'activité antioxydante. Les actions protectrices des polyphénols peuvent comprendre, Inhibition des espèces réactives de l'oxygénées , Piégeage des radicaux libres , Chélation des ions métalliques responsables de la production des E.O.R et Inhibition des enzymes responsables de la production des E.O.R (cyclooxygenase et xanthine oxydase).

3.1 Classification des composés phénoliques

Ces composés phénoliques peuvent être des molécules simples, comme les acides phénoliques, ou des composés hautement polymérisés comme les tanins condensés. (Lugasi *et al.*, 2003; Koch, 2019). Ils peuvent être regroupés en de nombreuses classes (Tableau 1), qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées), ensuite par le degré de modifications (d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation ...etc.) de ce squelette, enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules , glucides, lipides et protéines (Wu *et al.*, 2021).

Tableau 1 : les différentes Classes des composés phénoliques

Nombre de carbone	Squelette carboné	Classe	Structure de base
6	C ₆	Phénols simples	
7	C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïques	
8	C ₆ -C ₂	Acides phénylacétiques	
9	C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques	
		Coumarines	
10	C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes	
18	(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	
N	(C ₆ -C ₃) _n	Lignines	
	(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Tanins condensés	

3.1.1 Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont les plus simples des composés phénoliques et se séparent en deux grands groupes distincts qui sont les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques (Shahidi et Ambigaipalan, 2015). Les acides phénoliques sont largement répandus dans tout le règne végétal. La plupart d'entre eux font partie intégrante l'alimentation humaine et sont également consommés sous forme de préparations médicinales. Bon nombre des effets protecteurs pour la santé des composés phénoliques ont été attribués à leurs propriétés antioxydantes, antimutagènes, anticarcinogènes, anti - inflammatoires, antimicrobiennes et autres (Xu *et al.*, 2008).

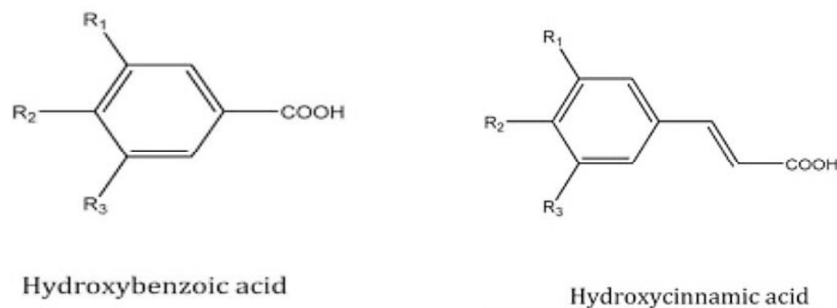


Figure2: Structures chimiques des acides phénoliques (Shahidi et Ambigaipalan, 2015).

3.1.2 Les coumarines

Très répandues chez les plantes, notamment dans les racines et les écorces. Elles se trouvent soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres comme les hétérosides et les glycosides. Elles sont stockés dans la cellule sous forme glycosylée (Figure 3). Cette glycosylation permet d'éviter leurs effets toxiques (Durazzo *et al.*, 2019).

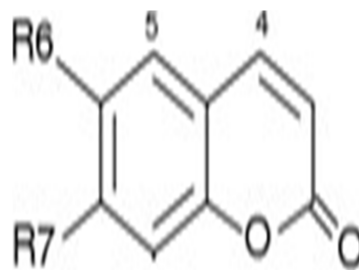


Figure 3: Structures chimiques des coumarines (Durazzo *et al.*, 2019)

3.1.3 Les Lignanes

Les lignanes (du latin *lignum* signifiant "bois") sont une classe de composés phénoliques résultent de la dimérisation oxydative de deux ou plusieurs unités phénylpropanoïdes (Figure 4) (Behl *et al.*, 2020). Les principales sources de lignanes sont les graines oléagineuses (lin, soja, colza et sésame), les céréales complètes (blé, avoine, seigle et orge), les légumineuses, divers légumes et fruits (en particulier les baies), ainsi que les boissons telles que le café, le thé et le vin (Durazzo *et al.*, 2019)

Les lignanes de furofuran, représentent l'une des principales sous-classes de la famille des lignanes, ils possèdent une grande variété de structures en raison des modèles de liaison, des différents substitués et des diverses configurations. Par conséquent, il a été signalé qu'ils présentent un large éventail d'activités biologiques, notamment des activités anti-oxydantes, anti-inflammatoires, cytotoxiques et anti-microbiennes (Xu *et al.*, 2018).

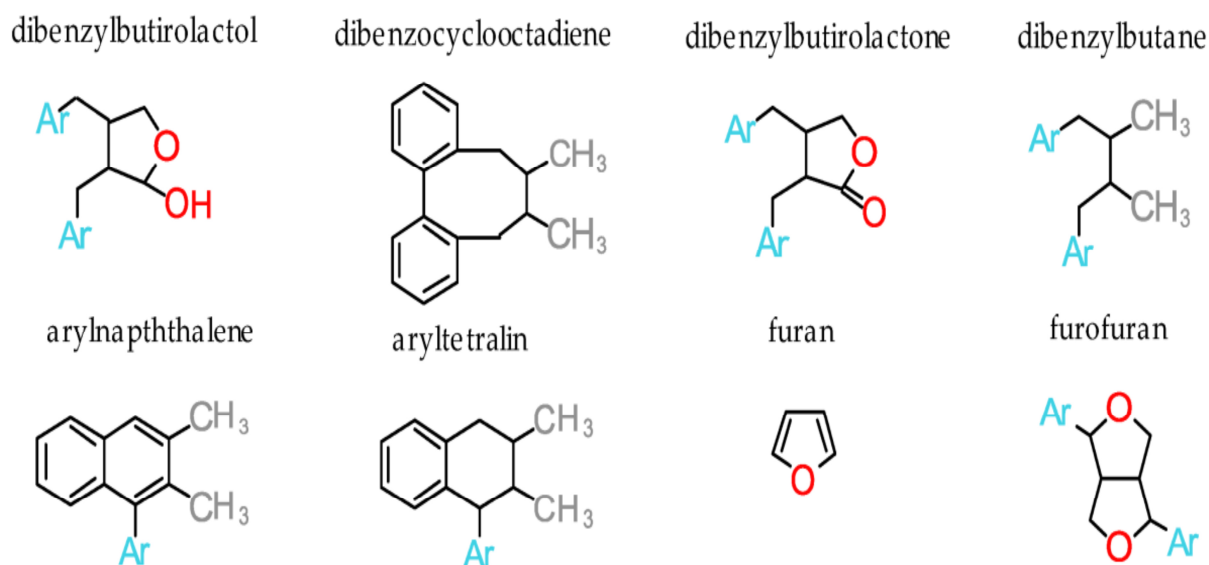


Figure 4 : Groupes des lignanes (Rodríguez-García *et al.*, 2019).

3.1.4 Les quinones

Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons, les bactéries. Les organismes animaux contiennent également des quinones, comme par exemple la vitamine K, qui est impliquée dans la coagulation du sang. Les quinones sont utilisées dans les colorants, dans les médicaments et dans les fongicides (Kansole, 2019).

3.1.5 Les Stilbenes

Les stilbènes sont une classe de polyphénols qui caractérisés par la présence d'un noyau aromatiques 1,2-diphényléthylène, leur structure est basée sur un squelette C6-C2-C6, définie par deux cycles aromatiques reliés par un pont éthylène (Dubrovina *et al.*, 2017).

le resvératrol (3,4'-5-trihydroxystilbène) est le stilbène le plus connu et le mieux caractérisé (El khawand *et al.*, 2018). C'est un composé naturel retrouve dans plusieurs plantes et produits alimentaires notamment dans la peau des raisins, les myrtilles, les arachides et le vin rouge (Zhao *et al.*, 2017). Sparvol et ces collaborateurs en 1994, ont démontré l'efficacité du resvératrol dans le traitement du cancer chez la souris, cette étude fut la première à révéler le potentiel thérapeutique de ce composé phénolique et à attirer l'attention de plusieurs chercheurs scientifiques (Dong *et al.*, 2016).

le resvératrol est également connu pour avoir plusieurs autres activités biologiques importantes, notamment une activité antioxydante, anti-inflammatoire, anti-âge, anti-obésité, antidiabétique, cardioprotectrice et neuroprotectrice (Poulsen *et al.*, 2013).

3.1.6 Les tannins

Les tannins sont des composés phénoliques polymériques, ont la capacité de se combiner et de précipiter la gélatine et d'autres protéines. Ces combinaisons varient d'une protéine à une autre selon les degrés d'affinités (Pereira *et al.*, 2009; Cheynier *et al.*, 2013). Cette propriété (parfois appelée l'astringence) est la raison pour leur usage dans le tannage des peaux d'animaux. Les tannins sont très abondants chez les angiospermes et les gymnospermes. Ils peuvent s'accumuler en grands nombres (souvent plus de 10% du poids sec) en particulier dans les organes ou tissus dans divers parties de la plante: écorce, bois, feuilles, fruits ou racines (Zhang *et al.*, 2020).

On distingue, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tannins qui diffèrent par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique; les tannins hydrolysables et les tannins condensés (Figure 5).

✓ Tannins hydrolysables

Les tannins hydrolysables sont caractérisés par la présence d'un noyau central d'un sucre généralement le glucose et d'un nombre variable de molécules d'acides phénoliques soit l'acide gallique dans le cas des gallotannins, soit l'acide hexahydroxydiphénique et ses dérivés d'oxydation dans le cas des tannins t dénommés ellagitannins

✓ Tannins condensés

Les tannins condensés s'appellent aussi tannins catéchiques. Ce sont des composés phénoliques hétérogènes (dimères, oligomères ou polymères flavaniques), constitués d'unités de flavan-3-ols (Bruneton, 2009). Les formes dimères et oligomères également appelés proanthocyanidines, car ils sont décomposés en pigments rouges dans des solutions d'éthanol chauffées (dans des conditions acides) (Macáková *et al.*, 2014)

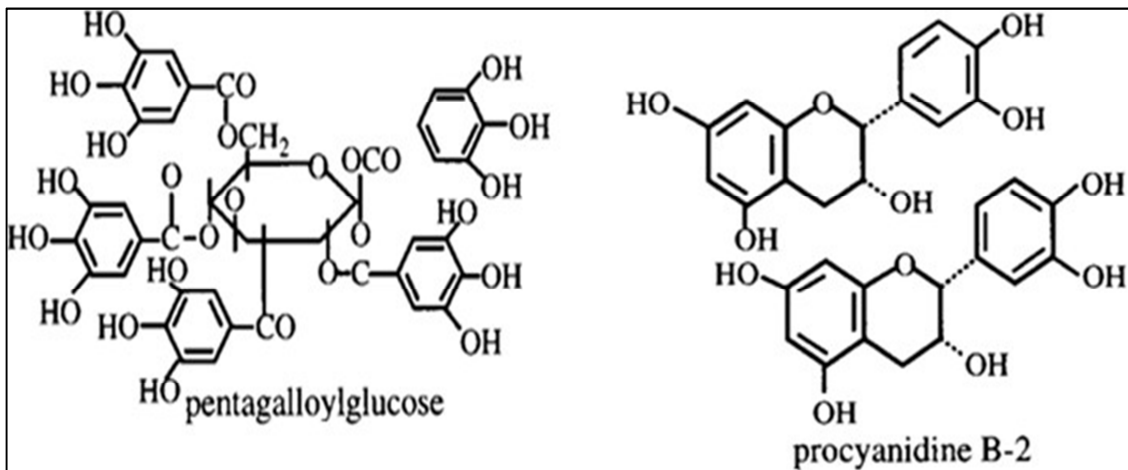


Figure 5: Exemple des tanins hydrolysables et tanins condensés (Cheynier *et al.*, 2013)

3.1.7 Flavonoïdes

Les flavonoïdes (du latin *flavus* = jaune) constituent le plus important groupe de composés phénoliques, ce sont des pigments quasiment universels des végétaux, avec plus de 6000 structures décrites (Harborne et Williams, 2000; Mykhailenko *et al.*, 2019). Ce sont abondants et diversifiés chez toutes les plantes supérieures, où ils peuvent être présents dans divers organes: racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits avec une teneur maximale dans les organes jeunes (feuilles et boutons floraux) (Sharma *et al.*, 2019).

Leur caractéristique structurelle commune est la fraction diphenylpropane, qui consiste en deux cycles aromatiques liés par trois atomes de carbone, l'ensemble forment généralement un hétérocycle oxygéné (Figure 6). L'intérêt récent pour les composés phénoliques en général, et les flavonoïdes en particulier, a fortement augmenté en raison de leur capacité antioxydante par le mécanisme de piéger les radicaux libres, y compris les radicaux hydroxyle, peroxyde et superoxyde et peuvent former des complexes avec des ions métalliques catalytiques les rendant inactifs et de leurs possibles implications bénéfiques pour la santé humaine (Schroeter *et al.*, 2002).

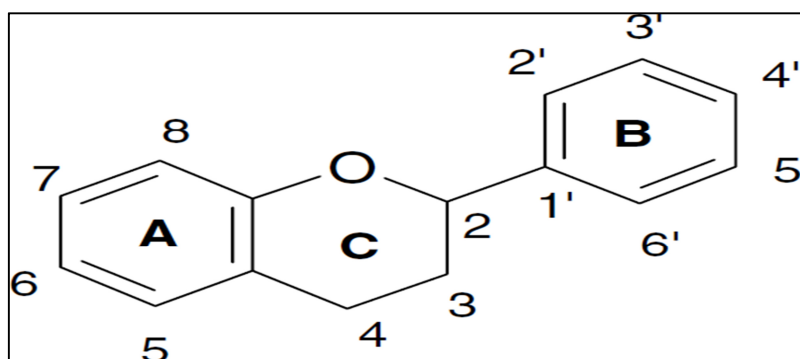


Figure 6: Structure de base d'un flavonoïde (Balasundram *et al.*, 2006)

3.2 Rôles des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont les métabolites secondaires les plus abondants dans les plantes et les plus répandus au sein du règne végétal (Cong-Cong *et al.*, 2017) leur accumulation dans les tissus de plante est considérée comme une réponse adaptative de plante aux conditions environnementales défavorables (Ahmed E *et al.*, 2017).

Au niveau intracellulaire ils agissent comme support mécanique, protègent la plante du rayonnement solaire ultraviolet nocif, empêchent les déperditions d'eau, attirent les pollinisateurs et les dissipateurs de graines, émettent des signaux qui induisent des réactions défensives aux stress biotiques ou abiotiques, suppriment la croissance de plantes allélopathie (concurrentes proches), et offrent une protection contre les herbivores et les agents pathogènes (Saltveit. 2017).

3.3 Intérêts thérapeutiques

Les composés phénoliques sont des réducteurs, qui possèdent des propriétés antioxydantes. ils regroupent une grande variété de composants, flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins. Ils pourraient contribuer aux propriétés antidiabétiques.

Diverses études expérimentales ont mis en évidence des activités hypoglycémiantes de certains polyphénols (Peungvicha *et al.* 1998; El-Saber *al.*, 2020).

Les composés phénoliques pourraient favoriser la captation du glucose plasmatique par les cellules et en augmenter son utilisation, deux éléments qui améliorent la sensibilité à l'insuline. Plus précisément, les polyphénols ou leurs métabolites en circulation agiraient directement en modulant l'activité ou l'expression de différentes molécules impliquées dans les voies de signalisation cellulaire de l'insuline afin de stimuler la captation du glucose par les transporteurs GLUT4 ou GLUT1 (Kim *et al.* 2016). Ainsi, les anthocyanes administré oralement chez le rat diminuent le pic de glycémie après un test de tolérance au glucose ou après la consommation d'un régime riche en maltose pourraient s'expliquer par une inhibition de glucosidases ou de transporteurs de glucose au niveau de la barrière intestinale qui limiterait ainsi l'absorption intestinale du glucose. (Sabu *et al.* 2002).

✓ **Les acides phénoliques**

Ces composés ont été étudiés pour leurs propriétés notamment contre les dommages oxydatifs conduisant à diverses maladies dégénératives (Saxena *et al.*, 2012).

Ces acides phénoliques influencent l'expression et l'activité des enzymes impliquées dans la production de médiateurs de l'inflammation des voies considérées comme étant importantes dans le développement de troubles du tube digestif, y compris le cancer du côlon (Russell et Duthie, 2011).

Ils sont considérés comme responsables de l'activité cholérétique de l'artichaut et les propriétés antipyrétiques et anti-inflammatoires des dérivés salicylés (Hennebelle *et al.*, 2004).

L'acide caféique, l'un des acides cinnamiques les plus importants, est connu pour bloquer sélectivement la biosynthèse de leucotriènes qui sont impliqués dans les maladies immunitaires, de l'asthme et des réactions allergiques, Il est également très efficace contre les virus, les bactéries et les champignons (Russell et Duthie, 2011).

✓ **Les flavonoïdes**

Les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités hypocholestérolémiantes, antiinflammatoires, antihypertensives et antidiabétiques (Kim *et al.* 2016).

Les flavonoïdes peuvent empêcher le diabète ou du moins le réduire en inhibant l'enzyme aldose réductase. C'est le cas de la myricétine qui possède un effet hypoglycémiant chez les animaux diabétiques (Ong & Khoo 2000) .

Les flavonoïdes peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant par capture directe des espèces ROS, par chélation de métaux de transition et par inhibition de certaines enzymes responsables de la production des ROS (Fiorucci *et al.* 2006).

La (-)-épicatéchine possède un effet protecteur des rats *Wistar* contre l'action diabétogène de l'alloxane. Ce flavanol agit en mimant l'action de l'insuline dans son action sur la membrane érythrocytaire acétylcholinestérase. Cet effet « insuline-like » est très prononcé chez les patients diabétiques de type 2 (Rizvi et Zaid 2001).

Certains flavonoïdes tels que la quercétine, la naringénine et le chrysin augmentent significativement la sécrétion d'insuline à partir des îlots de Langerhans isolés de rats. L'administration intrapéritonéale de la quercétine pour des rats normaux et rendus diabétiques par la streptozotocine, induit une réduction des taux de glucose sanguin des rats diabétiques (Vessal *et al.* 2003).

La quercétine diminue également les taux de glucose chez des rats diabétiques en réponse à un test de tolérance au glucose. Elle réduit significativement le cholestérol et les triglycérides plasmatiques, augmente l'activité des glucokinases hépatiques probablement par l'augmentation de la sécrétion d'insuline, à partir des îlots pancréatiques des rats diabétiques (Hanhineva *et al.* 2010).

✓ **Les tanins**

Les tanins agissent sur le diabète lui-même au niveau cellulaire, en favorisant l'action de l'insuline (en diminuant la résistance à l'insuline) et sur les complications du diabète par leur pouvoir antioxydant et anti enzymatique, neutralisant l'effet des radicaux libres et limitant la réaction inflammatoire dans les différents tissus (Velayutham *et al.* 2012).

Les proanthocyanidines exerceraient un effet antihyperglycémiant possiblement dû à l'activité insulino mimétique d'une part et d'autre part en stimulant l'utilisation du glucose au niveau des cellules insulinosensitives *in vitro* (Pinent *et al.* 2004).

4. Toxicité des plantes médicinales

Les plantes médicinales ont été utilisées par différentes cultures et civilisations comme une source de médication. Elles constituent le fondement de la médecine traditionnelle est sont utilisées pour le traitement des maladies aiguës et chroniques.

L'utilisation des plantes à des fins curatives connaît son apogée ses dernières années aussi bien dans la communauté développée que dans la communauté en voie de développement, ceci repose d'une part sur la simple croyance que tout ce qui est naturel est bénéfique et sans effets secondaires, et d'autre part l'usage perpétuel de ces plantes médicinales dans le cadres de la médecine traditionnelle (Nasri *et al.*, 2013; Chanda *et al.*, 2015).

L'augmentation massive de l'utilisation de ces herbes médicinales dans diverses pratiques traditionnelles suscite des inquiétudes quant à leur toxicité. En effet, un manque d'études scientifiques approfondies comportant des expérimentations valables éclairant sur leurs éventuels effets toxiques est rapporté, de plus, la combinaison de plusieurs plantes médicinales dans les préparations traditionnelles, rend difficile de prédire l'effet toxique du mélange des plantes (Subramanian *et al.*, 2018).

La toxicité des plantes médicinales peut émaner de facteur direct tel que la toxicité intrinsèque de leurs différents composés bioactifs (Zhang *et al.*, 2015).

Ce mélange de multiples constituants naturels comprenant notamment des alcaloïdes, des glycosides et des terpnoïdes, peuvent agir en synergie, s'opposer et/ou interagir avec le corps et le métabolisme humains.

Cependant, la variation du type et de la teneur de ces composés bioactifs aussi bien au sein d'une même espèce qu'entre espèce peut amener à un surdosage leur procurant ainsi leur effet toxique intrinsèque (Mensah *et al.*, 2019).

D'autres facteurs tels qu'une identification imprécise des composants bioactifs, une prescription inappropriée, et contaminations par les métaux lourds contribuent également à l'apparition de leurs effets toxiques (Awuchi, 2019).

De plus, la toxicité des plantes médicinales dépends autant de la pureté des composés, l'association de plusieurs plantes, la voie d'administration, de l'absorption, la biodisponibilité, la période d'exposition, le nombre d'expositions, la forme physique du toxique (Aouachria, 2018).

4.1 Evaluation de la toxicité des plantes médicinales

La toxicité d'une substance se définit comme son habilité à induire des effets indésirables sur un organisme vivant. Elle regroupe l'ensemble des lésions morphologiques et fonctionnelles induites suite à la prise unique ou répétée d'une substance (Ahomadegbe *et al.*, 2018).

L'objectif principal de l'évaluation toxicologique des plantes médicinales est de révéler et d'identifier les éventuels effets nuisibles liés à leur utilisation ainsi que de déterminer le seuil d'exposition auquel ces effets se produisent (Ifeoma et Oluwakanyinsola, 2013).

L'évaluation de la toxicité des plantes médicinales se fait suivant les consignes dictées par les lignes directrices de l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OCDE) où des facteurs importants liés aux animaux (espèce, sexe, âge, poids, nombre), aux conditions expérimentales (humidité, température, régime alimentaire, cycle lumière/obscurité), et à la substance testée (voie d'administration, forme d'administration, concentration, volume d'administration) doivent impérativement être pris en compte (Subramanian *et al.*, 2018).

Selon la dose administrée, la fréquence d'administration et la durée d'administration de la substance d'essai, les études toxicologiques sont classées comme suite : test de toxicité aiguë, test de toxicité subaiguë et test de toxicité chronique (Denny et Stewart, 2013).

4.1.1 Test de toxicité aiguë

La toxicité aiguë permet d'évaluer les effets indésirables survenant après l'administration orale ou cutanée d'une dose unique d'une substance ou des doses multiples administrées dans les 24 heures, ou une exposition par inhalation de 4 heures de temps (Saganuwan, 2016).

Un effet indésirable est tout effet qui cause des altérations fonctionnelles au sein des organes et/ou des perturbations biochimiques, qui pourraient modifier le bon fonctionnement de l'organisme. Ainsi, l'évaluation de la toxicité aiguë tend à définir le ou les effets indésirables qui peuvent se produire en fonction de la dose, incluant toutes les informations importantes dont la mortalité des animaux (Chinedu *et al.*, 2013).

L'évaluation de la toxicité aiguë constitue la première étape à entreprendre avant tout autre test toxicologique car elle fournit des informations préliminaires sur la nature de la substance d'essai, et permet également de traiter les cas d'ingestion accidentelle de quantité importante de substance, de déterminer les éventuels organes cibles qui doivent être examinés et/ou les tests spécifiques qui doivent être entrepris dans le cadre des essais de toxicité à doses répétées et de sélectionner les doses pour les tests de toxicité à court terme et subaiguë lorsqu'aucune autre information toxicologique n'est disponible (Subramanian *et al.*, 2018).

Le Système Général Harmonisé (SGH) des Nations Unies a permis de classifier la toxicité aiguë en 5 catégories de risque (tableau 2) en se basant sur la valeur de la dose létale 50 (DL₅₀) ou de la concentration létale 50 (CL₅₀). La dose létale 50 ou DL₅₀ se définit comme la dose à laquelle 50 % des animaux succombent. Elle représente le principal paramètre sur lequel repose l'étude de la toxicité aiguë (Maheshwari et Shaikh, 2016).

Tableau 2: Critères de classification de la toxicité aiguë (Nations unies, 2019).

Voie d'administration	Catégorie 1	Catégorie 2	Catégorie 3	Catégorie 4	Catégorie 5
Orale (mg/kg)	≤ 5	$5 < DL50 \leq 50$	$50 < DL50 \leq 300$	$300 < DL50 \leq 2000$	
Dermique (mg/kg)	≤ 5	$50 < DL50 \leq 200$	$200 < DL50 \leq 1000$	$1000 < DL50 \leq 2000$	
Gaz (ppm)	≤ 100	$100 < CL50 \leq 500$	$500 < CL50 \leq 2500$	$2500 < CL50 \leq 20000$	$2000 < DL50 \leq 5000$ et doses équivalentes pour l'inhalation
Vapeur (mg/l)	≤ 0.5	$0.5 < CL50 \leq 2.0$	$2.0 < CL50 \leq 10.00$	$10.00 < CL50 \leq 20.00$	
Poussières et brumes (mg/l)	≤ 0.05	$0.05 < CL50 \leq 0.5$	$0.5 < CL50 \leq 1.0$	$1.0 < CL50 \leq 5.0$	

4.1.2 Test de toxicité subaiguë

L'évaluation de la toxicité subaiguë vise à mettre en évidence les altérations induites par l'administration répétée de la substance d'essai sur l'aspect macroscopique et microscopique des organes, les paramètres biochimiques et hématologiques (Ifeoma et Oluwakanyinsola, 2013). La substance à évaluer est administré aux animaux quotidiennement et à des doses graduées pendant une période de 28 jours.

Le rapport de l'évaluation de la toxicité subaiguë doit compter des résultats portant sur le poids corporel et les ses variations ainsi que la consommation de nourriture et d'eau, les signes de toxicité, analyse des paramètres hématologiques et biochimiques, les données relatives au poids corporel des animaux et le poids des organes. et en fin une etude histopathologique détaillée des organes cibles (OCDE, 2008).

4.2 Hépatotoxicité des plantes médicinales

L'hépatotoxicité se définit comme une élévation des enzymes hépatiques tels que la phosphatase alcaline (PAL) de plus de deux fois la limite supérieure normale ou de l'alanine aminotransférase (ALT) de plus de cinq fois sa limite supérieure normale, de plus, une élévation de l'ALT de plus de trois fois sa Limite supérieur normal associée à une élévation de la bilirubine ou à l'apparition des symptômes doit être prise en considération (Nunes et Sanchez, 2020).

Les symptômes peuvent apparaître seuls ou associés à d'autres et sont généralement non spécifiques ce qui rend difficile d'établir le diagnostic.

Les signes cliniques comprennent la jaunisse, l'anorexie, fatigue, fièvre, dyspepsie, œdème, prurit, et selles pâles (Teschke et Eickhoff, 2015).

Les mécanismes de l'hépatotoxicité sont à la fois hépatocellulaires et extracellulaires tels qu'une perturbation des hépatocytes, apoptose des hépatocytes, perturbation du transport des protéines, activation des lymphocytes T, inhibition des mitochondries, lésions du canal biliaire et interactions médicamenteuses (Fatima et Nayeem, 2016).

L'hépatotoxicité induite par les plantes médicinales est classée en deux types : idiosyncrasique et intrinsèque. Le premier est la résultante d'une réaction idiosyncrasique c'est-à-dire une réaction d'intolérance vis-à-vis d'une plante médicinale même prise à des doses thérapeutiques, elle donc est imprévisible. Elle peut être d'origine métabolique ou immunologique. Tandis que la seconde se développe à partir de réactions prévisibles dues à un surdosage (Frenzel et Teschke, 2016).

Les substances phytochimiques des plantes médicinales sont considérés comme composants étrangers à l'organisme et sont donc métabolisés puis éliminés par les reins. Cependant, au cours de ce processus métabolique, des substances hépatotoxiques peuvent être formés provoquant des lésions hépatiques (Frenzel et Teschke, 2016).

Les alcaloïdes et les terpénoïdes occupent les deux premières places ayant un effet potentiellement hépatotoxiques. Ils sont suivis par les flavonoïdes, les quinones, les coumarines et les phenylpropanoïdes, respectivement (He *et al.*, 2019).

Le traitement de l'hépatotoxicité induite par l'utilisation des plantes médicinales se fait principalement par l'arrêt de toutes préparations à base de ces plantes mêmes. Le traitement peut également se faire par l'utilisation de corticostéroïdes, ou l'utilisation de molécules hépatoprotectives qui réduisent les lésions hépatiques via leur activité anti-inflammatoire (glycyrrhizine, silymarine et bicyclol), antioxydante (N-acétyl cystéine, glutathion et tiopronine) et excrétrice biliaire (acide ursodésoxycholique et adénosine méthionine). De plus une transplantation de foie est nécessaires dans les cas d'insuffisance hépatique aiguë ou subaiguë (Wang *et al.*, 2018).

4.3 Néphrotoxicité des plantes médicinales

Les reins sont la seconde cible majeure des substances toxiques. Ils reçoivent un important apport sanguin (20 à 25 % du débit cardiaque) et en tant que principaux organes d'excrétion, ils sont donc en exposition continue à une plus grande proportion de substances néphrotoxiques y compris celles contenues dans les plantes médicinales (Baudoux et Nortier, 2017).

La néphrotoxicité se définit comme l'incapacité des reins à effectuer leurs fonctions physiologiques normales à savoir l'élaboration de l'urine et l'excrétion des déchets métaboliques. Elle peut être détectée par le dosage de deux paramètres biochimiques la créatinine et l'urée qui constituent les principaux éléments du bilan rénal (Fatima et Nayeem, 2016).

L'atteinte rénale associée à l'utilisation de plantes médicinales peut prendre plusieurs formes : lésions rénales aiguës, anomalies de la fonction tubulaire, nécrose papillaire rénale, hypertension systémique, maladies rénales chroniques (MRC), urolithiase et cancer urothélial (Khodadadi et kopaei, 2016).

Plusieurs facteurs contribuent à l'effet néphrotoxique des plantes médicinales. Parmi eux on distingue principalement la toxicité intrinsèque des composés phytochimiques car en effet certains composés naturels tels que les alcaloïdes, les terpènes et lactones, les flavonoïdes glycosides, et les saponines peuvent potentiellement être néphrotoxiques.

On retrouve également d'autres facteurs tels qu'une préparation incorrecte, un surdosage ou utilisation abusive, une identification incorrecte de la plante, contamination par des métaux lourds, et interaction avec d'autres médicaments (Xu *et al.*, 2020).

Le traitement de la néphrotoxicité causée par les plantes médicinales suit les principes généraux applicables aux patients atteints de lésions rénales aiguës, notamment les soins de soutien, et en évitant une nouvelle exposition aux substances néphrotoxiques ainsi qu'une attention portée à l'équilibre des liquides et des électrolytes. Étant donné les risques d'insuffisance rénale chronique (IRC) chez ces patients, un suivi à long terme est nécessaire pour surveiller la fonction rénale.

5. Caractéristiques de l'espèce *Echium trygorrhizum* Pomel

Selon Quézel & Santa (1962-1963).

Les soies toutes dressées, les grandes assez lâches, les petites formant un revêtement hérissé dense. Racine rouge. Corolle bleue en général. Pâturages désertiques. Cette espèce est endémique Saharien.

AC: SS. R: Hd.

AC : Assez commun.

SS : Secteur du Sahara Septentrional.

R : Rare.

Hd : Sous- secteur du Hodna.

5.1. Taxonomie

Classification systématique d'*Echium trygorrhizum* Pomel selon Quézel et Santa.

- Règne : Plantae
- Embranchement : Spermatophytes
- Sous embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotyledones
- Ordre : Boraginales
- Famille : Boraginaceae
- Genre : *Echium*
- Espèce : *Echium trygorrhizum* Pomel

MATÉRIEL
ET
MÉTHODES

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

La plante *Echium trygorrhizum* Pomel, a été récoltée dans la région de KHELIL (wilaya de Bordj Bou Arreridj, Algérie) en Avril 2018 et identifiée par le professeur LAOUAR Hocine, botaniste au Laboratoire de Valorisation des Ressources Naturelles, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie. La partie racinaire de la plante a été séchée à l'air libre, puis concassées dans un mortier traditionnel pour obtenir une poudre fine.



Figure 7: Photos de la plante *Echium trygorrhizum* Pomel dans leurs habitats naturels.
(NOURI. Avril 2018).



Figure 8: Photos de la plante entière *Echium trygorrhizum* Pomel.
(NOURI. Avril 2018).

1.2 Animaux d'expérimentation

Les animaux utilisés dans l'étude de la toxicité aiguë sont des souris Albinos *Wistar* sains, adultes, mâles et femelles pesant 25-30 g au début de l'expérimentation, tandis que des rats mâles et femelles (nullipares et non gestantes) d'un poids corporel de 160-180 g ont été utilisées pour évaluer la toxicité subaiguë et l'activité anti-hyperglycémique. Les deux espèces ont été achetées de l'Institut Pasteur d'Alger (Algérie) et ont été logées dans une animalerie pour une période d'acclimatation de deux semaines avant le début des expérimentations sous les conditions habituelles de laboratoire (12 h de cycle lumière/obscurité, $25 \pm 2^\circ\text{C}$).

1.3 Réactifs et appareillage

Les réactifs utilisés ont été achetés au près de Sigma (Germany), Fluka, prolab, CARLO ERBA et Biochemika).

Parmi les produits utilisés on retrouve les suivants: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•), 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) (ABTS), acide gallique, acide linoléique, carbonate de sodium (Na_2CO_3), chlorure ferrique (FeCl_3), diclofenac, DTNB 5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid), méthanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), Folin-ciocalteu, hydroxyanisole butylé (BHA), hydroxytoluène butylé (BHT), méthanol (CH_3OH), persulfate de potassium ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), phosphate di-potassique (K_2HPO_4), phosphate mono-potassique (KH_2PO_4) potassium de ferricyanide (K_2Fe), quercitine, trichlorure d'Aluminium (AlCl_3), tween 40, β -carotène, L' α -D- glucopyranosidase maltase de levure, 4- paranitrophenyl α -D-glucopyranoside. l'acarbose en comprimé (100mg, Glucobay®) a été acheté chez une pharmacie.

Parmi les appareils utilisés on retrouve les suivants : Rotavapeur (BÜCHI R-125), centrifugeuse réfrigérée (Sigma 2K15), spectrophotomètre UV-vis (Pharmacia LKB-NOVASPEC), Agitateur Magnétique (SCIOLOGEX), bain marie (Mettler), étuve (Mettler), plaque chauffante, balance de précision (OHAUS), vortex (HEIDOLPH), pH mètre (EUTECH PH 700).

2. Méthodes

2.1 Etude ethnopharmacologique

L'enquête ethno-pharmacologique sur notre plante médicinale a été menée durant la période entre Novembre et Décembre 2018 auprès des personnes expérimentées dans la pratique de la phytothérapie ou de la vente de plantes médicinales et qui sont susceptibles de fournir des informations correctes et originales sur leurs usages, à travers la région de khelil (wilaya Bordj Bou Arréridj).

L'outil de notre enquête est un formulaire avec une liste de questions à réponses préparées, concernent seulement la plante *Echium trygorrhizum*, ses différents noms locaux, les indications thérapeutiques, les parties utilisées, ces modes de préparation et d'administration, ainsi que les domaines d'utilisation (annex1).

Pour évaluer l'importance relative de notre plante, et de dégager l'ensemble des utilisations thérapeutiques traditionnelles locales et l'ensemble de maladies traitées On a également calculé trois indices quantitatifs utilisés en ethnobotanique qui sont adaptés à notre étude.

2.1.1 Niveau relatif de popularité

Cet indice ethnobotanique (*Relative Popularity Level: RPL en anglais*) est largement utilisé pour évaluer l'importance d'une plante dans une communauté, il permet de classifier les plantes médicinale utilisées selon leur niveau de popularité relatif est calculé par la formule suivante: $RPL = I_u / n$

- I_u :le nombre d'informateurs qui mentionnent une plante donnée comme étant médicinale.
- n : nombre total d'informateurs interrogés.

2.1.2 L'indice de fidélité

L'indice de fidélité (Fidelity level (FL) aide à apprécier l'intensité de la relation que les herboristes établissent entre une plante médicinale et son rôle dans une catégorie données de maladies. Cet indice est calculé selon la formule proposée par (Friedman et al, 1986 ; Giday et al, 2009 ; Ugulu, 2012). $FL = I_p / I_u$

- I_p est le nombre d'informateurs ayant affirmé l'emploi de la plante pour traiter une pathologie donnée.
- I_u est le nombre total d'informateurs qui reconnaissent le caractère médicinal de la plante (quel que soit la pathologie traitée).

2.1.3 Valeur de consensus pour une partie de la plante

Cet indice (Consensus value for plant part) mesure le degré d'accord entre les informateurs concernant la partie de la plante utilisée. Il est calculé avec la formule (Monteiro et al, 2006):

$$CPP = P_x / P_t$$

P_x = nombre de fois une partie donnée de la plante a été citée.

P_t = nombre total de citations de toutes les parties.

2.2 Préparation des extraits bruts d'*Echium trygorrhizum*

2.2.1 Extrait aqueux

L'extrait aqueux des racines de la plante a été obtenue par décoction en mélangeant 500 g de la poudre de la plante à 500 mL d'eau distillée bouillie (Attah *et al.*, 2019).

Le mélange obtenu a été maintenu sous agitation magnétique pendant 72h à température ambiante. Après filtration, le filtrat a été séché à l'étuve à 45° C pour obtenir l'extrait aqueux final (EAQ).

2.2.2 Extrait méthanolique

L'extrait méthanolique de la partie racinaire de la plante a été obtenu selon la méthode de Shah et al. (2019). L'extraction a été réalisée par macération de 100 g de la poudre de la plante de matériel végétal dans 1L de méthanol 96° sous agitation magnétique pendant 72h, à température ambiante et à l'abri de la lumière. Après filtration, le filtrat a été concentré au rota-vapeur puis sécher à l'étuve à 45° C pour obtenir l'extrait méthanolique final (EM)

2.2.3 L'extrait hydro-méthanolique

L'extrait hydro-méthanolique a été obtenu en suivant la procédure décrite par Annapandian et Sundaram (2017). Une quantité de 100 g de poudre végétale est mise en contact avec à un mélange d'éthanol/eau (70/30 V/V). Le mélange est gardé à température ambiante, à l'abri de la lumière et maintenu sous agitation magnétique pendant pendant 72h. Après filtration, le filtrat a été concentré dans un rota-vapeur puis sécher à l'étuve à 45° pour obtenir l'extrait hydro-méthanolique final (EHM).

2.3 Etude phytochimique

2.3.1 Détermination de la teneur totale en polyphénols

L'évaluation quantitative des polyphénols totaux dans nos extraits est réalisée selon la méthode de Folin-Ciocalteu citée par Muller *et al*, (2010).

Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Ce réactif est réduit par l'oxydation provoquée par les composés phénoliques, donnant un mélange de bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_3) de couleur bleu. L'intensité de cette coloration est directement proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (Boizot et Charpentier, 2006).

Une quantité de 20 μ L de l'extrait (1mg/ml) est mélangée avec 100 μ L du réactif de Folin–Ciocalteu fraîchement préparé (10 fois dilué). Ensuite 75 μ L de carbonate de sodium ($Na_2 CO_3$) à 7,5 % sont ajoutés afin de favoriser un milieu alcalin pour démarrer la réaction d'oxydoréduction. L'ensemble est incubé à température ambiante et à l'obscurité pendant 2 heures. L'intensité de la coloration bleue produite a été mesurée à l'aide d'un lecteur microplaque de 96 puits (JENWAY 6305) à la longueur d'onde 765 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée par différentes concentrations (25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200 μ g/mL) de l'acide gallique à partir d'une solution mère à 0,2 mg/ml (dissout dans le MéOH). Cette courbe est réalisée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons (Figure 9). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par 1 gramme d'extrait (μ g EAG / mg Ex).

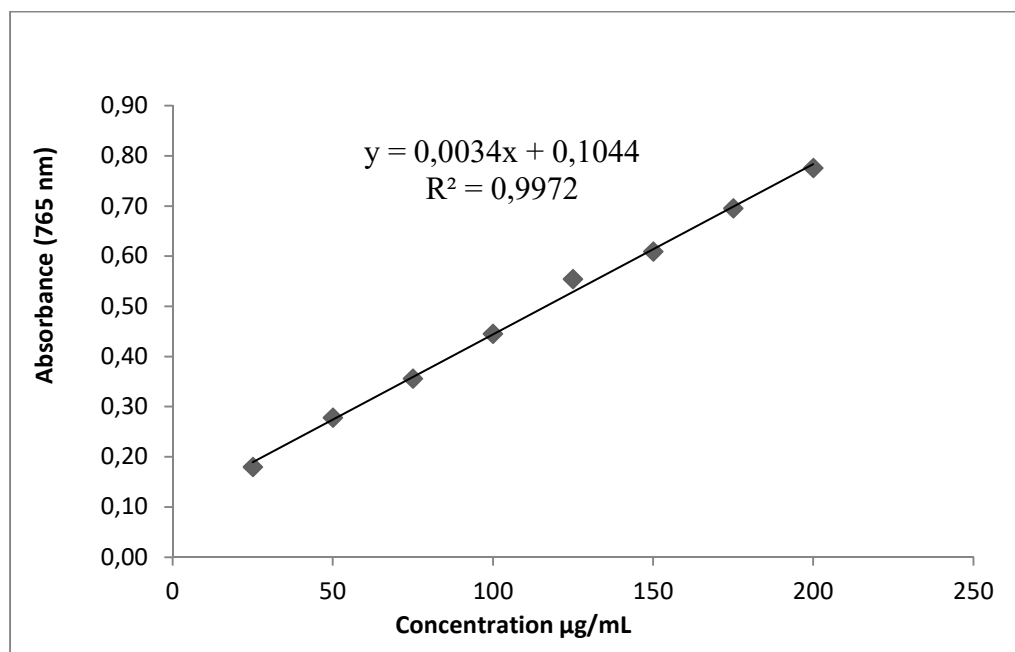


Figure 9: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n=3).

2.3.2 Détermination de la teneur en flavonoïdes

La détermination de la teneur totale en flavonoïdes (TF) des trois extraits a été effectuée selon la méthode décrite par Topçu et *al*, (2007) avec le réactif de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et la soude (NaOH). Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm.

Une quantité de 50 μL de l'extrait a été mélangée avec 130 μL (Me-OH) puis 10 μl d'une solution de Potassium acétate ($\text{CH}_3 \text{COOK}$) à 5%, et 10 μl d'une solution d' ($\text{Al}(\text{NO}_3)_2, 9\text{H}_2\text{O}$) à 10% ont été additionnés. L'ensemble est alors mélangé puis incubé à l'ombre (l'obscurité) à température ambiante pendant 40 minutes. L'absorbance est enregistrée contre un blanc à 415 nm.

La quercétine à différentes concentrations (5, 10, 15, 25 $\mu\text{g/mL}$) est utilisée comme standard (Figure 10). La teneur en flavonoïdes a été exprimée en microgrammes équivalent quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg E}$).

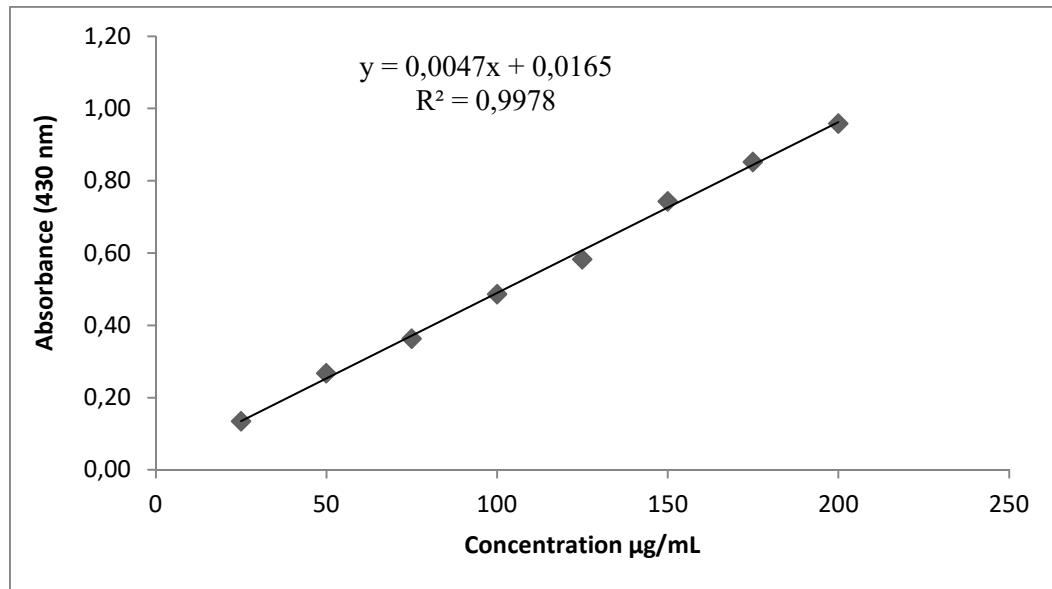


Figure 10: Courbe d'étalonnage de la quercétine. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n=3).

2.3.3 Détermination de la teneur en tanins condensés

La quantification des Tanins condensés est faite selon une méthode colorimétrique décrite par Sun *et al* (1998). En présence d'acide sulfurique, les tanins condensés se dépolymérisent et, par réaction avec la vanilline, se transforment en anthocyanidols de couleur rouge, mesurables par spectrophotométrie à 500 nm (Schofield *et al.*, 2001 ; Haddouchi, *et al.*, 2016). Une prise de 200 μ l de chaque extrait a été ajoutée à 500 μ l de la solution vanilline 1 mg /ml, puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume de 500 μ l de l'acide sulfurique à 10 % (H_2SO_4) a été additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à température ambiante pendant 15 min. L'absorbance est mesurée à 500 nm contre un blanc. Différentes concentrations comprises entre 0 et 300 μ g/ml préparées à partir d'une solution mère de la catéchine, permettront de tracer la courbe d'étalonnage (Figure 11). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de catéchine par un gramme d'extrait (μ g E Cat / mg Ex).

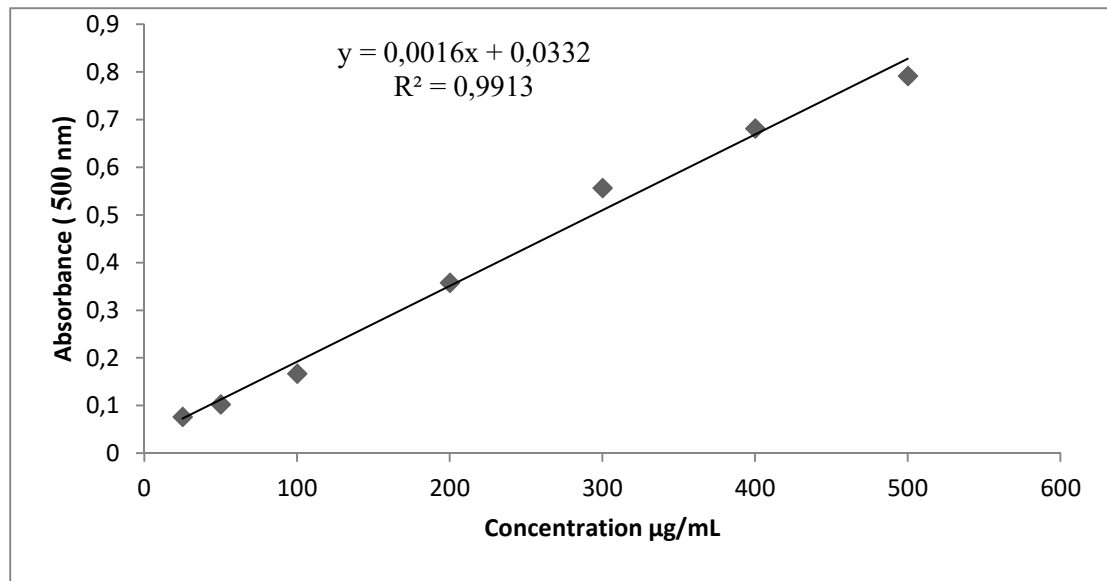


Figure 11: Courbe d'étalonnage de la catéchine. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n=3).

2.4 Activité antioxydante *in vitro* des extraits

2.4.1 Test de l'effet scavenger du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil

L'effet anti-radicalaire de différents extraits vis-à-vis du radical DPPH° a été déterminé selon la méthode rapporté par Blois, (1958). Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil). Ce dernier de couleur violette se réduit en 2.2 diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune en acceptant un atome d'hydrogène.

Brièvement 160 μ L de la solution DPPH° (5mM) est ajoutée à 40 μ L de la solution des extraits de la plante à différentes concentrations (100 μ g/ml, 75 μ g/ml, 50 μ g/mL, 25 μ g/ml, 10 μ g/ml). Après une période d'incubation de 30 minutes, la lecture du changement de couleur a été effectuée par la mesure de l'absorbance à la longueur d'onde 517nm.

L'activité antioxydante de nos extraits est exprimée en IC₅₀, ce paramètre est défini comme étant la concentration de l'antioxydant qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH. Les valeurs d'IC₅₀ moyennes en µg/ml, ont été calculées par les régressions linéaires des trois mesures consécutives (répétitions) où l'abscisse est représentée par la concentration des composés testés et l'ordonnée par le pourcentage de réduction (PR) du radical DPPH, qui est calculé par la formule suivante:

$$\text{PR (\%)} = [(\text{Abs contrôle négatif} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle négatif}] \times 100$$

Le contrôle négatif est composé de la solution de DPPH dans le méthanol seul, et le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard le BHT.

2.4.2 Test de piégeage du radical acide 2,2'-azino-bis (3 éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

Cette méthode est basée sur la capacité des composés à piéger le radical cationique, ABTS⁺ (acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) qui présente un pic d'absorption à 734 nm. En réagissant avec le persulfate de potassium (K₂S₂O₈), l'ABTS forme le radical ABTS⁺ de couleur bleue à verte. L'ajout d'un antioxydant va réduire ce radical et provoquer la décoloration du mélange.

L'activité antiradicalaire a été également évaluée par le test de décoloration du radical cation ABTS⁺ selon la technique utilisée par Shalaby et shanad, (2012). La solution mère de l'ABTS (ABTS 7 mM, persulfate de potassium 2,45 mM dans le méthanol) est incubée à l'abri de la lumière pendant 16 h. La solution de travail d'ABTS⁺ est obtenue en diluant la solution mère avec du méthanol jusqu'à obtention d'une absorbance finale de 0,7 ± 0,02 à 734 nm. Les échantillons (50 µL) à différentes concentrations (0,1 - 20 mg/mL) sont mélangés avec 1 mL de la solution diluée d'ABTS fraîchement préparée.

Le mélange est soumis à une agitation au vortex, puis incubé pendant 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante. La lecture de l'absorbance est réalisée à 734 nm. La BHA est utilisée comme standard. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$I\% = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

Où A₀ : absorbance initiale de l'ABTS,

A₁: absorbance du mélange ABTS⁺ extrait.

2.4.3 Test du pouvoir réducteur

Ce test est fondé sur la capacité des extraits à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) du complexe du ferricyanure en fer ferreux (Fe^{2+}), dans un milieu acidifié par l'acide trichloracétique (TCA). Cette réaction de réduction est caractérisée par une coloration verdâtre dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur (Bouaziz *et al.*, 2015).

L'activité du pouvoir réducteur a été estimée selon la méthode de de Topçu et ses collaborateurs (2007). Ainsi, 10 μL de l'extrait sont mélangés à 40 μL du tampon phosphate (pH = 6.6) et 50 μL de ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) à 10%. Le mélange est incubé au bain marie à une température de 50°C pendant 20 min, Après incubation 50 μL de d'acide trichloracétique (TCA 10%) ,40 μL H_2O et 10 μL d'une solution aqueuse de FeCl_3 à 0,1% sont ajoutés. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel est faite à 700nm contre un blanc préparé en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique et le BHT.

2.4.4 Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre

C'est une méthode développée par Apak et al en 2004. Le principe de ce test se base sur la conversion des hydroxyles phénoliques en quinones à travers la réduction du complexe Cu^{2+} - Nc, produisant ainsi un complexe chromogène de Cu^+ -Nc qui absorbe à 450 nm. En effet, en présence d'un agent antioxydant, le complexe cuivre–néocuproïne est réduit (Figure 12).

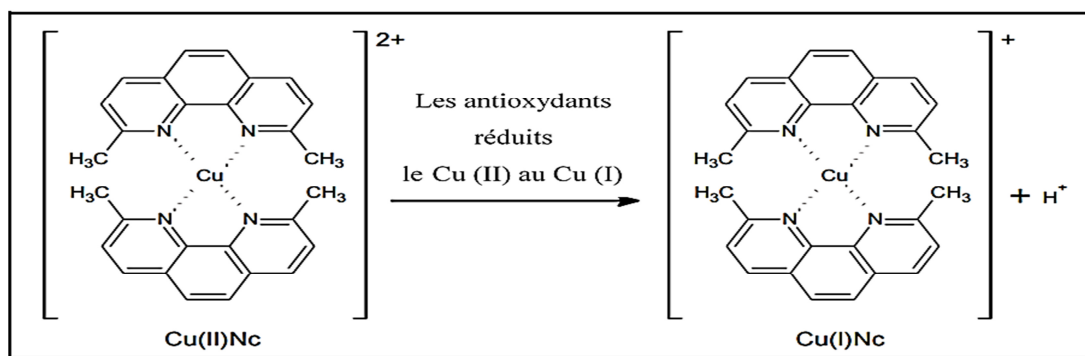


Figure 12 : Réduction du complexe néocuproïne / cuivre (II) (Özyürek *et al* 2011)

Brièvement, 40 μL de chaque échantillon ou de standard est rajouté à 60 μL du tampon d'acétate d'ammonium (AC-NH_4) (1M, PH =7) préparé dans de l'eau distillée, 50 μL de la solution aqueuse du Chlorure de cuivre (II) ($\text{Cu Cl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$) (10 mM) et 50 μL de la solution éthanolique de la néocuproïne (7,5 mM), dans chacun des puits de la plaque. Le mélange est homogénéisé à l'aide d'un agitateur de microplaque, puis incubé durant une heure. L'absorbance est mesuré à 450 nm par un lecteur de microplaque.

2.4.5 Test de blanchissement du β -carotène

Le principe de ce test se résume à mesurer la décoloration graduelle de la couleur rouge-orangé du β -carotène qui résulte de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique. Toutefois, la présence d'antioxydants dans les extraits pourrait réduire cette décoloration en neutralisant les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et prévenir ainsi le blanchiment du β -carotène (Tepe *et al.*, 2006).

Selon la procédure décrite par Aslan *et al.* (2006), une émulsion a été préparée en dissolvant 0,5 mg de β -carotène, 1 ml de chloroforme, 25 μL d'acide linoléique et 200 μL de tween 40. Le solvant a été éliminé en soumettant l'émulsion à une pression réduite dans un évaporateur rotatif. Par la suite, 100 mL de H_2O_2 ont été ajoutés au résidu, et l'absorbance a été ajustée à 0,8-0,7 à 490 nm. 1250 μL de l'émulsion ont été mélangés à 175 μL de chacun des extraits AQ, HETH et ETH ou du standard BHT. Une première lecture est effectuée immédiatement, il s'en suit une cinétique de décoloration de l'émulsion à différents intervalles de temps : 1h, 2h, 4h, 6h et 24h d'incubation, à l'obscurité et à température ambiante. L'inhibition du blanchiment du β -carotène a été calculée comme suit :

$$\text{AA}\% = [\text{ABS}_{\text{EXT}} / \text{ABS}_{\text{BHT}}] \times 100$$

Où :

$\text{AA}\%$ = Pourcentage de l'activité antioxydante.

ABS_{EXT} = Absorbance en présence des extraits.

ABS_{BHT} = Absorbance en présence de contrôle (BHT).

2.5 Études toxicologiques

2.5.1 Evaluation de la cytotoxicité vis-à-vis des globules rouges

La cytotoxicité des extraits testés dans la présente étude est déterminée selon le protocole décrit par l'Okoko et Ere, (2012).

Pour préparer la suspension érythrocytaire, le sang des rats prélevé sur tube hépariné est centrifugé à 4000 tours/minutes pendant 5 minutes. Après élimination du surnageant, le culot est lavé 2 fois avec une solution de phosphate buffered saline (PBS) à 10 mM, pH 7.4, puis replit à nouveau dans le tampon PBS. Un volume de 800 µL de chaque extrait à différentes concentrations (0,50 à 1.5 mg/mL) est ajouté à 200 µL de la suspension érythrocytaire (25%) après 30 min d'incubation à 37°C, puis les tubes sont centrifugés à 3000 tours/min durant dix minutes.

La lecture des absorbances est effectuée à 470 nm. Dans les mêmes conditions et les mêmes démarches expérimentales, nous avons préparé un tube d'hémolyse totale qui contient 200 µl de la suspension érythrocytaire et 800 µL d'eau distillée et un tube témoin négatif composé de 200 µl de suspension érythrocytaire et de 800 µl de solution tampon de PBS.

Le taux d'hémolyse des différents extraits est calculé en pourcentage par rapport à l'hémolyse totale, après 30 minutes d'incubation, selon la formule suivante :

Taux d'hémolyse (%) = $[AE/AC] \times 100$ Ou

AE: Absorbance de l'échantillon

AC: Absorbance du control positive (solution hypotonique)

$(DO_{\text{extrait}} - DO_{\text{témoin négatif}}) / DO_{\text{témoin positif}} \times 100$

2.5.2 Evaluation de la toxicité aiguë chez les souris

Afin d'évaluer l'innocuité de l'extrait AQ, le protocole décrit par la ligne directrice 423 de l'OCDE (OCDE, 2001) a été appliqué. Les animaux des deux sexes sont répartis en 3 groupes expérimentaux, un groupe témoins et deux groupes d'essais contenant chacun 10 animaux (5 femelles et 5 mâles).

Les animaux ont été mis à jeun la veille précédant l'expérimentation avec un accès libre à l'eau. L'extrait aqueux est solubilisé dans de l'eau distillée.

Chaque lot reçoit par gavage une dose unique de l'extrait ou de l'eau distillée.

- Groupe Témoin : Reçoivent par gavage de l'eau distillée.
- Groupe I et II : Reçoivent par voie orale l'EAQ aux doses de 2000 et 5000 mg/kg.

• Observations

Après l'administration des doses respectives, les animaux ont été observés individuellement au moins une fois pendant les premières 30 minutes, régulièrement pendant les premières 24 heures après le traitement avec une attention particulière pendant les premières 4 heures puis quotidiennement durant les 14 jours après l'administration des doses de l'extrait. Ceci est réalisé pour évaluer l'état physique général des animaux, relever le taux de la mortalité, les signes toxicologiques ainsi que d'autres symptômes tels que les changements morphologiques, physiologiques et comportementaux.

✓ Poids corporel

Le poids corporel individuel de chaque animal est déterminé peu de temps avant l'administration de la substance d'essai et ensuite aux jours 7 et 14. Les changements de poids sont enregistrés afin de vérifier d'éventuelles variations pondérales.

2.5.3 Evaluation de la toxicité subaiguë de l'extrait AQ chez le rat

L'étude des effets toxiques oraux possibles que peut induire la prise répétée de l'extrait AQ est évaluée conformément à la ligne directrice 407 établie par l'OCDE (OCDE, 2008). Vingt-cinq rats (par sexe) ont été répartis de manière égale en quatre groupes, dont trois groupes d'essai et un groupe témoin. L'extrait AQ est solubilisé dans de l'eau distillée puis a été administré aux animaux quotidiennement en une seule dose par gavage à l'aide d'une sonde gastrique, pendant une période de 28 jours.

- **Groupe Témoin :** Reçoivent par voie orale de l'eau distillée
- **Groupe I :** Reçoivent l'extrait AQ à la dose de 250 mg/kg.
- **Groupe II :** Reçoivent l'extrait AQ à la dose de 500 mg/kg.
- **Groupe III :** Reçoivent l'extrait AQ à la dose de 1000 mg/kg.
- **Groupe satellite:** Reçoivent l'extrait AQ à la dose de 1000 mg/kg.

Les signes de toxicité, les comportements anormaux ou de changements d'apparence physique et taux de mortalité des animaux ont été quotidiennement enregistrés.

- **Poids corporel, prise alimentaire et ingestion d'eau**

Tous les animaux ont été pesés avant le début de l'expérimentation (J0) puis aux jours 7, 14, 21 et 28. A l'instar du poids corporel, la consommation d'eau et de nourriture a également été mesurée aux jours 7, 14, 21 et 28.

- **Prélèvements sanguins**

Les prélèvements sanguins sont effectués au niveau du sinus rétro orbitaire à l'aide des tubes capillaire à hématocrite en verre, puis réparti dans un tube contenant l'héparine pour l'analyse des paramètres biochimiques, et un tube contenant l'anticoagulant éthylène diamine tétra acétique acide (EDTA), afin de doser les paramètres hématologiques .

- **Analyse des paramètres hématologiques**

Les analyses des paramètres hématologiques ont été réalisées par un appareil automatique de type MEDONIC M32 séries au niveau du laboratoire d'analyses médicales de Sétif. Les échantillons de sang prélevés dans les tubes contenant un anticoagulant (EDTA) ont été immédiatement utilisés pour déterminer les taux de globules rouges (GR), globules blancs (GB), hémoglobine (HGB), hématocrite (HCT), volume globulaire moyen (VGM), teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH), concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) et les plaquettes (PLT).

- **Analyse des paramètres biochimiques**

Le plasma a été obtenu par centrifugation des tubes héparinés à 3000 tours/ min pendant 15 minutes et analysé à l'aide d'un analyseur biochimique automatisé (Diatron Pictus 200 : Chemistry System) pour obtenir le taux des paramètres suivants : Aspartate aminotransférase (AST ou TGO), alanine aminotransférase (ALT ou TGP), phosphatase alcaline (ALP), urée, créatinine, cholestérol total, LDL- cholestérol, triglycérides, bilirubine et glycémie. Les analyses biochimiques ont été réalisées au niveau du laboratoire d'analyses médicales (CHU).

- ✓ **Poids relatif des organes**

Le jour du sacrifice, après avoir été mis à jeun la veille, les animaux sont pesés, puis sacrifiés et leurs organes internes tels que le foie, les reins, le cœur, les poumons, la rate, le cerveau, l'estomac et les organes reproducteurs (testicules, épидидyme et ovaire), ont été soigneusement enlevés, rincés avec de l'eau physiologique fraîche, séchés sur du papier absorbant, dégraisser puis pesés individuellement (poids absolu des organes). Le poids relatif des organes a été calculé à l'aide de la formule suivante :

PRO =

$$[\text{poids absolu des organes (g)} / \text{poids corporel du rat le jour du sacrifice (g)}] \times 100$$

- ✓ **Étude histopathologique**

Après avoir estimé le poids des organes, une partie de chaque organe a été fixés dans du formol à 10 %, déshydratés dans une succession de bains d'éthanol à degrés croissants (70-100 %), clarifiés dans du xylène, réhydratés et finalement enrobés dans de la paraffine. Grâce à un microtome, De fines sections de 5 µm d'épaisseur ont été découpées, déparaffinées puis colorées à l'hématoxyline-éosine (HE). Les images des coupes histologiques des groupes traités et des groupes témoins ont été prises au grossissement 100 à l'aide d'une caméra de type DFC 945 reliée à un microscope. Leur traitement a été effectué grâce à l'application Leica suite version 3.8.0.

2.6 Études pharmacologiques

2.6.1 Etude *in-vitro*

2.6.1.1 Effet des extraits sur l' α -amylase

Un mélange de 250 μ L d'échantillon et 250 μ L de tampon de phosphate de sodium 0,02 M (pH = 6,9) contenant l'enzyme α -amylase (240 U / mL) a été pré-incubé à 37 °C pendant 20 minutes. Ensuite, 250 μ L de solution d'amidon à 1% dans du tampon phosphate de sodium 0,02 M ont été ajoutés au mélange réactionnel en tant que substrat, puis le tout est incubé encore à 37 °C pendant 15 min.

La réaction a été arrêtée en ajoutant 1 mL de DNS et on a incubé le mélange réactionnel dans un bain d'eau bouillante pendant 10 min. Le mélange réactionnel ensuite a été dilué en ajoutant 2 mL d'eau distillée, et l'absorbance a été mesurée à 540 nm. L'acarbose a été utilisé comme témoin positif.

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition qui a été calculé selon la formule suivante:

$$\text{Inhibition (\%)} = (A_{\text{Contrôle Négatif}} - A_{\text{Test}} / A_{\text{Contrôle Négatif}}) \times 100$$

Les valeurs IC₅₀ (concentration d'inhibiteur nécessaire pour inhiber 50% de l'activité enzymatique) ont été déterminées.

2.6.1.2 Effet des extraits sur l' α -glucosidase

Une solution stock de l' α glucosidase de 36 unités internationales (UI) a été préparée en solubilisant l'enzyme dans du tampon phosphate (0,1 M et pH 6,9). La concentration finale, de l' α -glucosidase est de 0,075 U, par test. Le substrat est préparé dans le même tampon phosphate (0,1M et pH 6,9) et la concentration finale par test est de 0,95mM. La première concentration de l'acarbose, inhibiteur de l' α glucosidase, est de 1,01 mg/ml, cette solution est obtenue par la solubilisation de l'acarbose dans le tampon phosphate (0,1M et pH 6,9). Les dilutions effectuées, ont permis d'avoir une gamme de concentration, allant de 125 à 800 μ g/ml. Les extraits testés sont également solubilisés dans du DMSO, la solution stock est 26,6 mg/ml.

Le test a été effectué selon la méthode décrite par Schäfer et Högger (2007) sur des microplaques de 96puits. Dans la première plaque, dite de dilution, ont été déposées les solutions mères des extraits de la plante, l'acarbose au niveau des premières rangées des plaques (les puits 1). Puis des dilutions 50 /50 ont été effectuées à partir des puits 1

jusqu'aux 12^{ème} puits. Sur la deuxième plaque, dite de lecture, sont déposées 150µl d'enzyme dans chaque puits, auxquels sont ajoutés 50 µl des solutions des extraits dilués dans la plaque 1.

Les plaques de lecture sont incubées pendant 10min à 37°C. La solution de substrat (50µl par puits) est ajoutée dans chaque puits. La lecture se à 420 nm pendant 10 min.

Le principe de la méthode est :



Le taux d'inhibition de l' α -glucosidase est déterminé par la relation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \left(\frac{A_{\text{Contrôle Négatif}} - A_{\text{Test}}}{A_{\text{Contrôle Négatif}}} \right) \times 100$$

2.6.2 Etude *in-vivo*

2.6.2.1 Test de tolérance au glucose

L'utilisation du glucose vise à vérifier l'effet des extraits sur l'absorption du glucose au niveau des intestins (Nistor, 2009).

L'hyperglycémie est provoquée par l'administration par voie orale de glucose aux rats femelles de la souche *Wistar Albino* à la dose de 2 g/kg de poids corporel.

Pour cette étude, 24 rates (170-190 g) sont repartis en 3 lots de 8 rats.

- ✓ Groupe 1 : Contrôles négatifs qui reçoivent par voie orale de l'eau distillée (5 mL/kg) uniquement, puis 2 g/kg de glucose 10 minutes après..
- ✓ Groupe 2 : des rates qui reçoivent par voie orale de l'EAQ à la dose de 150mg/kg, puis 2 g/kg de glucose 10 minutes après.
- ✓ Groupe 3 : des rates qui reçoivent par voie orale de l'EAQ à la dose de 300 mg/kg, puis 2 g/kg de glucose 10 minutes après

2.6.2.2 Test de tolérance au sucrose

Ce test nous permet de déterminer l'action inhibitrice des extraits testés sur les glucosidases intestinales.

Un premier prélèvement sanguin a été effectué chez tous les groupes de rats mis à jeun pendant 18 heures à fin de mesurer leurs glycémies initiales (G0).

Après 10 minutes de l'administration de différentes doses de l'extrait de la plante ainsi le standart, un volume de 1 ml de solution sucrose a la dose de 2 g/kg de poids corporel a été administré par voie orale 10 minutes après, des prélèvements sanguins ont été effectués chaque 15 minutes pendant 2 heures.

Des rats normaux répartis sur 4 groupes contenant chacun 8 rats et ont été prétraitées selon la répartition suivante:

- ✓ Groupe 1 : rats non traités eau distillée.
- ✓ Groupe 2 : rats traités par EAQ (150mg/kg),
- ✓ Groupe 3 : rats traités par EAQ (300mg/kg),
- ✓ Groupe 4 : rats traités par l'acarbose (100mg/kg) (traitement standard)

3 Analyse statistique

L'étude statistique a été effectuée à l'aide du logiciel statistique Graph Pad Prism (version 7.00). Les résultats in-vitro ont été exprimés sous forme de moyenne \pm écart type (SD) et les résultats in-vivo sous forme de moyenne \pm l'erreur type (SEM). La signification des résultats a été analysée par le teste d'analyse de la variance (ANOVA) et le test de Student suivie du test de Dunnett, à un niveau d'erreur de 5 %.

RÉSULTATS
ET
DISCUSSION

Il s'agit de la première investigation qui s'intéresse particulièrement à la plante *Echium trygorrhizum Pomel* ou encore appelée "Hamar" ou "Hmimiche", traditionnellement utilisée pour ses effets utiles contre L'ictère ou la jaunisse, Diabète et L'angine.

2 Etude ethnopharmacologique

Le but de cette enquête ethnopharmacologique est de collectée des informations sur les différentes utilisations de cette plante dans la pharmacopée traditionnelle. Les informations demandées portent sur les domaines d'utilisation, les indications thérapeutiques, les parties utilisées, les modes d'administration et de préparation dans l'usage médicinales traditionnelle (Tableau 3).

Tableau 3 : Description de la plante selon différent critaires

Indicator	Description	Number of citations Informant(s)	Frequency (%)
Indications thérapeutiques	Jaundice	60	100
	Diabetes	17	28.33
	Tonsillitis	6	10
Partie utilisée	la plante entière	17	28.33
	la partie aérienne	6	10
	Les rcines	60	100
Modes de préparation	Decoction	45	75
	Pouder	15	25
Durée de traitement	2 a 3 semaines	39	65
	Until healing	21	35

1.1 Description de l'échantillon de la population interrogé

Notre enquête ethnobotanique sur la plante a duré deux mois (Novembre et decembre), pendant les quels nous avons s'approcher de la population locale y comprise des herboristes et des gens qui ont la connaissance sur l'usage thérapeutique des plantes. Ces personnes ont constitué un échantillon de 237 individus de différents âges, sexes, et niveaux d'études.

1.2 Les noms vernaculaires désignant *Echium trygorrhizum* Pomel

Au niveau de la région enquêtée, le principal nom vernaculaire désignant *Echium trygorrhizum* Pomel est "El Hamar", certains informateurs mentionné le nom "Hmimche".

1.3 Niveau relatif de popularité d *Echium trygorrhizum* Pomel

Dans cette section on a également calculé l'indice de popularité (RPL) afin d'estimer l'importance de notre plante au sein de la population.

Les résultats obtenus montrent que seulement 25% des informateurs connaissent cet espèce, de plus la plante n'est pas disponible chez tous les herboristes visités. Cela donne l'impression que la plante a un statut moins important au sein de la population

1.4 Domaines d'utilisation et indications thérapeutiques

Selon les résultats de l'enquête, il a été constaté que seule l'utilisation médicinale de cette plante a été déclarée par nos informateurs, pas d'utilisation dans le domaine des cosmétiques ou industriels.

D'après nos informateurs, la plante n'est pas utilisée en industrie ou bien dans autres secteurs. L'*Echium trygorrhizum*. L peut être prescrit pour différentes pathologies, c'est pourquoi, on a procédé au calcul de l'indice de fidélité (FL). Le calcul de l'indice de fidélité d'*Echium trygorrhizum* est représenté dans le tableau 5.

Tableau 4 : Indices de fidélité des principales indications thérapeutiques d'*Echium trygorrhizum*.

Indications thérapeutiques	I _p	I _u	FL (%)
Ictère	60	60	100
Diabète	17	60	28,33
l'angine	6	60	10

I_p : nombre d'informateurs qui utilisent la plante pour une pathologie donnée.

I_u : nombre total d'informateurs qui ont reconnu *Echium trygorrhizum* comme une plante médicinale.

Sur le plan thérapeutique trois indications thérapeutiques potentielles de cette espèce ont été citées par l'ensemble de nos informateurs, avec une indication notable dans le traitement d'ictère (la jaunisse) avec un pourcentage de 100 %, d'autres indications plus intéressantes semblent moins ressortir de cette étude, comme l'usage antidiabétique qui n'est cité que dans 28,33 % des cas, de même pour le traitement de l'angine avec un pourcentage de 10 %.

1.5 Parties de la plante utilisées

Le calcul de la valeur de consensus pour une partie de la plante démontre, que du point de vue botanique, la partie racinaire de la plante est le produit le plus utilisé dans la région étudiée, il est de 0,72 pour les racines, ce qui représente un score élevé, suivi par la partie aérienne (0,20) et enfin la plante entier (0,072) (tableau 5).

Tableau 5 : Valeur du consensus pour les différentes parties d'*Echium trygorrhizum*.

Partie de la plante	Px	Pt	CPP = Px/ Pt
Racines	60	83	0,72
La partie aérienne	17	83	0,20
la plante entière	6	83	0,072

Px = nombre de citation de cette partie de la plante

Pt = nombre total de citations de toutes les parties de la plante

Sur le plan thérapeutique, les racines constituent la partie la plus importante et la plus utilisée de la plante. L'ensemble des informateurs note que la collecte des racines s'étale généralement sur cinq à six mois au cours de l'année (mars -Août).

La fréquence d'utilisation élevée des racines présente un danger pour la régénération des plantes, mettant l'espèce dans une situation vulnérable, en effet, il existe une relation manifeste entre la partie utilisée de la plante exploitée et les effets de cette exploitation sur son existence (Cunningham 1996). Le mode de cueillette compromet sérieusement la durabilité des espèces médicinales (Mehdioui et Kahouadji, 2007). Donc il suffit de les exploiter d'une manière rationnelle.

1.6 Mode de préparation et la voie d'administration de la plante

Notre enquête a montré que la décoction est le mode de préparation le plus utilisé avec un pourcentage de 75% alors que 25% de la population utilisent la plante sous forme de poudre (Figure 13).

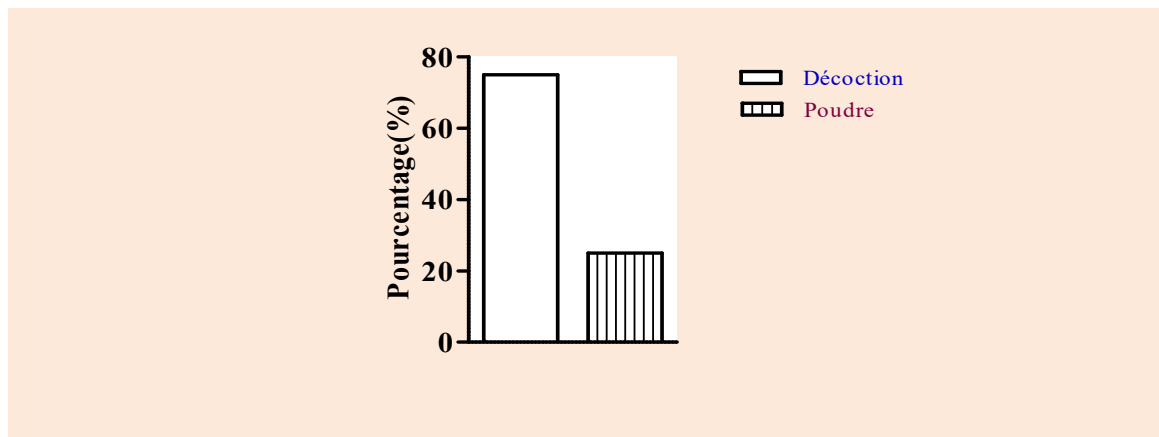


Figure 13 : Les modes de préparation d'*Echium trygorrhizum Pomel* .

La meilleure utilisation des plantes médicinales serait celle qui en préserverait toutes les propriétés des principes actifs (Dextreit, 1984).

Concernant la voie d'administration de cette plante qui est généralement la voie orale, surtout sous forme de décoction (75%), cela est très certainement dû au fait que ce sont la voie et le mode d'administration les plus simples. D'autre préparation moins fréquente est la mise en poudre de la racine sèche qui est généralement administrée avec oil d'olive.

2. Rendement de l'extraction

Le rendement de l'extraction de la partie racinaire de plante calculé en fonction du matériel végétal sec, obtenu pour les trois extraits par différentes méthodes (décoction et macération) est illustré dans le Tableau 6.

Tableau 6: Rendement d'extraction, couleur et aspect des extraits

Extrait	Couleur	Aspect	Rendement (%)
Aqueous (EAQ)	Marron clair	Poudre brillante	12.82
Eau-methanol (EEM)	Marron foncé	Poudre brillante	10.76
Méthanolique (EM)	Marron	Poudre cristallisé	9.69

La comparaison entre les extraits aqueux (EAQ), l'extrait eau-méthanol (EEM) et l'extrait méthanolique (EM) montre bien le rôle de l'eau et de la chaleur dans l'augmentation du rendement de l'extraction exprimé en g d'extrait par 100 g de la plante en poudre.

L'EAQ préparé à ébullition (100°C) montre un rendement de 12.82%, plus important que celui de l'EEM et de l'EM, qui sont préparés par macération, ont donné des rendements de 10.76% et 9.69 % respectivement.

3. Analyse phytochimique

Afin de caractériser les extraits préparés à partir des racines de notre plante, un dosage des phénols totaux, des flavonoïdes, et des tanins condensés a été effectué.

La raison pour le choix de ces métabolites réside dans le fait que la majorité des propriétés thérapeutiques et antioxydante des plantes leur sont attribués.

3.1. Dosage des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés

La méthode de dosages des phénols totaux est celle de Folin-Ciocalteu (Li *et al.*, 2007 Muller *et al.*, 2010).

L'acide gallique a été utilisé comme standard. La quantité des phénols totaux dans les extraits est exprimée en microgrammes équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG}/\text{mg d'extrait}$).

L'estimation quantitative des flavonoïdes a été réalisée selon la méthode au trichlorure d'aluminium (Topçu *et al.*, 2007) en utilisant comme standard la quercétine. La teneur en flavonoïdes a été exprimé en microgrammes équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ} / \text{mg d'extrait}$).

Le dosage des tanins condensés a été réalisée selon la méthode décrite par Heimler et al, (2006) en utilisant comme standard la catéchine, la teneur en tanins est exprimée en milligramme d'équivalent de la catéchine par gramme d'extrait (mg E cat /mg d'extrait).Les résultats sont représentés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Teneur en phénols totaux, flavonoïdes et des tanins condensés dans les extrais des racines d'*Echium trygorrhizum* Pomel

Extrait	Teneur en phénols totaux ($\mu\text{g EAG/mg}$) ^a	Teneur en flavonoïdes ($\mu\text{g EQ/mg}$) ^b	Teneur en tanins condensés ($\mu\text{g EC /mg}$) ^c
Aqueous (EA)	163.407 \pm 3.111	33.418 \pm 1.039	59.043 \pm 0.438
Eau-methanol (EEM)	157.403 \pm 0.835	30.156 \pm 2.634	65.293 \pm 0.883
Méthanolique (EM)	120.598 \pm 2.627	21.424 \pm 0.554	160.043 \pm 0.400

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SD de trois mesures. ^a La teneur totale en phénols est exprimée en mg d'équivalents d'acide gallique par mg d'extrait de plante ($\mu\text{g GAE / mg d'extrait}$). ^b La teneur totale en flavonoïdes est exprimée en μg d'équivalents de quercétine par mg d'extrait de plante ($\mu\text{g QE / mg d'extrait}$).La teneur en **tanins condensés** est exprimée en μg d'équivalents de la catéchine par mg d'extrait de plante ($\mu\text{g QE / mg d'extrait}$).

Les résultats du dosage des phénols totaux dans les différents extraits, montrent que l'extrait aqueux (EAQ) contient une teneur élevée avec un taux de 163.407 \pm 3.111 $\mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait, suivi par l'extrait hydro-méthanolique (l' EEM) avec un taux de 157.403 \pm 0.835 $\mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait, alors que l'extrait méthanolique (l'EM) ne contient que 120.598 \pm 2.627 $\mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait).

L'estimation quantitative des flavonoïdes par la méthode au trichlorure d'aluminium révèle que l'EAQ et l'EEM sont les plus riches en flavonoïdes avec des teneurs respectives de 33.418 \pm 1.039 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait et 30.156 \pm 2.634 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, Cependant seulement 21.424 \pm 0.554 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait sont trouvés dans l'EM.

Le dosage des tanins condensés montre que la teneur le plus élevée est celle de l'EM avec une concentration de 160.043 \pm 0.400 EC/mg d'extrait, suivi par l'EEM avec un taux 65.293 \pm 0.883 EC /mg d'extrait, tandis que l'EAQ ne contient que 59.043 \pm 0.438 EC /mg d'extrait.

4. Propriétés antioxydantes *in vitro*

il existe une multitude de facteurs qui peuvent influencer l'activité antioxydante d'un extrait, il devient important de tester plus d'une méthode pour évaluer le potentiel antioxydant (Wong *et al.*, 2006). L'activité antioxydante des extraits a été évaluée par une série d'essais qui diffèrent par leurs paramètres, afin de prendre en compte les différentes voies antioxydantes impliquées.

le test de piégeage du radical libre DPPH et ABTS, le test du pouvoir réducteur et le test de blanchiment du β -carotène sont les test utilisés et représentent généralement les tests les plus employés pour évaluer l'activité antioxydante (Aouachria *et al.*, 2017).

4.1 . Piégeage du radical libre DPPH

Ce test est largement utilisé pour l'évaluation de la capacité antioxydante des extraits. Le radical DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. La présence de ces radicaux donne lieu à une coloration violette foncée de la solution, qui absorbe aux environs de 517 nm. La réduction de ce radical s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune. Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits (Tableau 8).

Tableau 8 : Pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits d'*Echium trygorrhizum* Pomel.

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	% Inhibition			
	l'EAQ	l'EHM	l'EM	BHA
3.125	8.50 \pm 1.52	5.57 \pm 1.33	10.02 \pm 3.34	22.21 \pm 1.24
6.25	9.91 \pm 3.10	15.01 \pm 1.50	13.48 \pm 2.66	31.73 \pm 1.22
12.5	21.10 \pm 0.71	22.74 \pm 3.35	25.03 \pm 2.43	54.89 \pm 3.60
25	40.15 \pm 2.50	62.19 \pm 3.50	50.94 \pm 0.61	67.60 \pm 1.13
50	58.97 \pm 2.21	83.88 \pm 0.41	80.89 \pm 2.11	76.77 \pm 0.54
100	83.65 \pm 1.15	89.57 \pm 2.71	88.97 \pm 3.41	88.67 \pm 1.31
200	sat	sat	sat	nt
IC50 $\mu\text{g/mL}$	36.74 \pm 0.43	24.98 \pm 1.73	27.59 \pm 1.07	6.82 \pm 0.49

Les valeurs exprimées sont des moyennes \pm SD de trois mesures parallèles.
sat: saturatio, nt: non testé. .

Les résultats du test au DPPH obtenus dans cette étude révèlent que toutes les extrais testées possèdent une activité anti radicalaire dose-dépendante avec un pourcentage d'inhibition maximal à concentration 100 µg/mL de 83.65%, 89.57% et 88.97% pour l'EAQ, l'EHM et l'EM respectivement.

Les trois extraits évalués ont démontré qu'ils possèdent une activité anti-radicalaire. Cependant, cette activité est considérée comme modérée en la comparant par le standard BHA. Il est à noter que l'extrait l'EHM présente un $IC_{50} = 24.98 \pm 1.73$ µg/mL inférieure à celles obtenues pour les deux autres extraits, et Par conséquent une activité meilleure. En effets les extraits AQ, l'EM ont exprimés une valeur d' CI_{50} égale à 36.74±0.43 et 27.59±1.07, respectivement.

Le BHA utilisé comme molécule de référence a montré une activité anti radicalaire très importante avec une valeur d' $IC_{50} = 6.82 \pm 0.49$.

Les molécules de référence ont une activité antiradicalaire très puissante qui s'exprime avec des faibles valeurs d' IC_{50} parce qu'il s'agit des composés purs, et leur pouvoir antioxydant est expliqué par le caractère neutrophile fort des composés phénoliques.

Les extraits bruts des plantes peuvent contenir plusieurs composés antioxydants, mais leurs proportions sont généralement faibles dans le mélange ce qui explique vraisemblablement les valeurs IC_{50} un peu plus grandes de nos extraits, mais ces dernières restent très considérables et prometteuses du fait qu'il s'agit des extraits bruts.

4.2 . Piégeage du radical ABTS .+

L'effet scavenger des extraits AQ, l'EHM et l'EM *vis-à-vis* des radicaux ABTS^{·+} a été révélé par la diminution progressive de la couleur bleu-vert caractéristique de la solution ABTS^{·+}.

Les résultats obtenus montrent que les trois extraits expriment un effet de piégeage des radicaux ABTS^{·+} avec des IC_{50} estimés à 32.57±0.40, 21.93±1.12 et 33.77±0.71, respectivement (Tableau 9). Les valeurs des IC_{50} des trois extraits demeurent significativement différentes ($p < 0.0001$) de celle de la BHT.

Tableau 9 : Pourcentages d’inhibition du cation radical ABTS^{•+} en fonction des différentes concentrations des extraits des racines d’*Echium trygorrhizum Pomel*.

Concentration (µg/mL)	% Inhibition (ABTS assay)			
	l’EAQ	l’EHM	l’EM	BHT
3.125	<i>nt</i>	25.95±1.93	15.17±1.14	69.21±0,40
6.25	7.42±1.53	26.47±1.05	17.91±1.4	78.23±1,34
12.5	19.13±0.96	38.13±2.48	26.01±0.66	88.12±1,28
25	43.54±1.92	53.10±2.25	41.56±2.63	88,76±3,07
50	73.02±0.44	87.47±1.42	67.37±1.84	90.85±1,74
100	92.13±0.76	93.13±1.40	85.14±2.91	95.32±0,25
200	92.31±0.46	94.35±0.79	94.41±1.51	96.68±0.39
IC50 µg/mL	32.57±0.40	21.93±1.12	33.77±0.71	2.25±0.30

Les valeurs exprimées sont des moyennes ± SD de trois mesures parallèles. *nt*: non testé.

4.3 . Activité du pouvoir réducteur

Le ferricyanide de potassium est réduit en présence d’un antioxydant pour former le ferrocyanide de potassium qui va réagir ensuite avec le chlorure ferrique pour former un complexe fer ferreux de couleur bleu-vert, qui a un maximum d’absorbance à 700 nm, l’EM a montré la meilleure activité avec une valeur de (A0.5 =22.91±1.10µg/mL) par rapport à l’EAQ et l’EHM. L’acide tannique et l’acide ascorbique utilisés comme molécules de référence ont montrés une activité anti radicalaire très importante avec une valeur d’IC₅₀= 8.01±0.91 et 14.88±1.46 recepectivement. (Tableau 10).

Tableau.10 : Pouvoir réducteur des extraits aqueux (AQ), hydro-méthanolique (l’EHM) et éthanolique (l’EM) d’*Echium trygorrhizum Pomel*.

Concentration µg/mL	Absorbance				
	l’EAQ	l’EHM	l’EM	A. Tannique	A. ascorbique
6.25	0.29±0.03	0.33±0.02	0.32±0.01	0.28±0.02	0,35±0,05
12.5	0.41±0.00	.0.39±0.01	0.37±0.02	0,78±0,06	0,46±0,03
25	0.48±0.01	0.48±0.00	0.54±0.03	1,02±0,07	0,84±0,12
50	0.51±0.01	0.66±0.03	0.56±0.04	1,24±0,18	0,93±0,30
100	0.66±0.05	0.74±0.04	0.63±0.02	0,86±0,6	1,18±0,34
200	0.95±0.06	0.83±0.03	0.87±0.03	1,01±0,21	1,37±0,20
400	1.04±0.04	1.05±0.03	1.09±0.05	<i>nt</i>	<i>nt</i>
A0.50 µg/mL	26.04±1.08	28.24±1.38	22.91±1.10	8.01±0.91	14.88±1.46

Les valeurs exprimées sont des moyennes ± SD de trois mesures parallèles. *nt*: non testé.

4.4. Activité de réduction du complexe cuivre-neocuproéne (CUPRAC)

L'évaluation de l'activité antioxydant par la méthode (CUPRAC) est basée sur la mesure de l'absorbance à 450 nm de la réduction en présence d'un antioxydant du complexe stable Neocuproinecuivre (II) de couleur bleu en complexe stable Neocuproine-cuivre (I) de couleur orange. Les résultats illustrés dans le tableau 11, révèlent que L'EHM exerce la plus grande activité inhibitrice avec une valeur de $A_{0.5} = 27.96 \pm 0.46 \mu\text{g/mL}$, suivi par EM avec une valeur de $A_{0.5}$ égale à $29.76 \pm 0.87 \mu\text{g/mL}$. En comparant avec le BHT ($A_{0.5} = 3.39 \pm 0.19 \mu\text{g/mL}$) molécules utilisés comme références.

Tableau 11 : Réduction du complexe néocuproine par les extraits AQ, l'EHM et l'EM d'*Echium trygorrhizum* Pomel.

Concentration $\mu\text{g/mL}$	Absorbance			
	l'EAQ	l'EHM	l'EM	BHT
3.125	0.22±0.04	0.23±0.03	0.25±0.03	0.46±0.00
6.25	0.27±0.01	0.25±0.01	0.27±0.03	0.78±0.01
12.5	0.34±0.04	0.32±0.01	0.32±0.01	1.34±0.08
25	0.48±0.02	0.45±0.01	0.42±0.05	2.36±0.17
50	0.68±0.02	0.67±0.02	0.69±0.01	3.45±0.02
100	0.99±0.02	1.06±0.08	1.08±0.03	3.76±0.03
200	1.65±0.05	1.63±0.01	1.75±0.05	3.93±0.01
$A_{0.50} \mu\text{g/mL}$	26.04±0.87	27.77±0.99	29.76±0.87	3.39±0.19

Les valeurs exprimées sont des moyennes \pm SD de trois mesures parallèles.

4.4 Test du blanchiment du β -carotène

Les résultats du pourcentage d'inhibition des trois extraits en regard du blanchiment du β -carotène sont représentés dans la figure 14. Nous constatons qu'en présence des trois extraits et du standard BHT l'oxydation du β -carotène est efficacement réduite.

En effet, les valeurs des pourcentages d'inhibition des extraits EAQ, EM et EHM se rapprochent de celle du BHT et sont estimées à $74.78 \pm 0.33 \%$, $86.55 \pm 0.97 \%$, $95.55 \pm 0.97 \%$ et $99.48 \pm 0.65 \%$, respectivement.

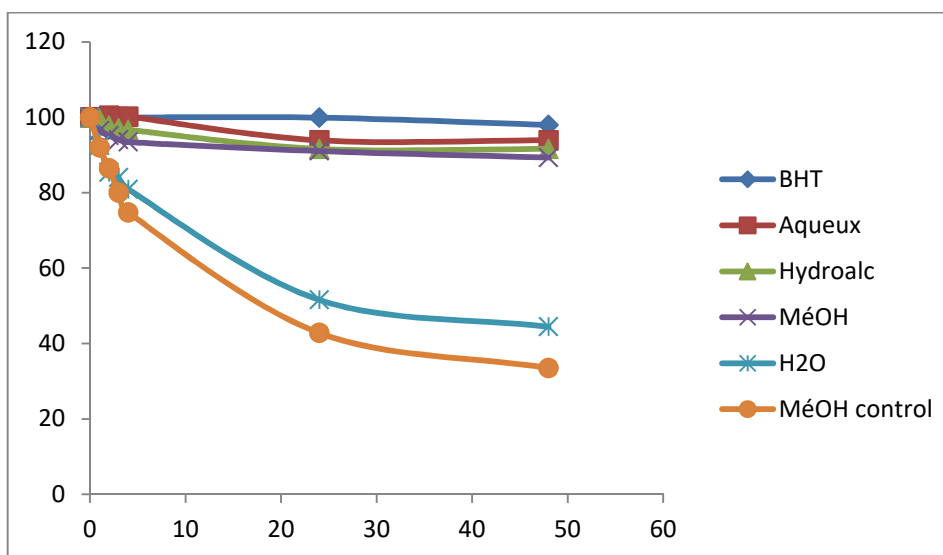


Figure 14: pourcentage d'inhibition des extraits d'*Echium trygorrhizum Pomel* en regard du blanchiment du β -carotène.

Selon Liyana-Pathirana et Shahidi (2006), un extrait qui inhibe ou retarde le blanchissement du β -carotène peut être décrit comme un piègeur de radicaux libres et comme un antioxydant primaire.

5. Études toxicologiques

Le principal but d'étudier la toxicité des plantes, est de connaître la nature et l'amplitude des effets secondaires des extraits ou des molécules à des doses bien appropriées, à fin de prévenir tout risque pour l'homme (Ifeoma et Oluwakanyinsola 2013).

5.1 Evaluation de la cytotoxicité vis-à-vis des globules rouges

Les érythrocytes sont le prototype système cellulaire en termes d'effets médicamenteux sur la membrane plasmique (Frag *et al.*, 2018). Toute substance capable de détruire la membrane érythrocytaire peut également avoir des effets comparables sur les membranes d'autres cellules (Jiang *et al.*, 2016).

Le test d'hémolyse a été évalué parce que, même si une plante possède un pouvoir antioxydant puissant, son utilisation en médecine traditionnelle et dans les préparations pharmacologiques sera impossible en présence de leur effet hémolytique, qui est un indicateur de cytotoxicité.

Les résultats obtenus montrent que les pourcentages d'effet hémolytique sont directement proportionnels à l'augmentation des concentrations des extraits (Tableau 12).

Tableau 12 : Pourcentages d'effet hémolytique des extraits aqueux (AQ), hydro-méthanolique (l'EHM) et éthanolique (l'EM) d'*Echium trygorrhizum* Pomel.

Concentration (mg/mL)	% d'hémolyse		
	l'EAQ	l'EHM	l'EM
1.5	5,20± 1.52	6 ,46 ±2.04	7 ,46 ±2.34
1.4	4,65± 1.10	5,65 ±1.66	6 ,96 ±1.66
1.2	3,52± 0.71	3,92 ±2.43	5 ,06 ±2.43
1	3,31 ± 2.50	3,12 ±1.06	4 ,76 ±1.61
0.8	2,70 ± 2.21	2,70 ±1.11	3, 6 ±1.31
0.6	2,15 ± 1.15	2,10 ±3.41	2 ,46 ±2.45
0.4	1,47 ± 1.65	1,77 ±1.91	2 ,46 ±0.91
0.2	0,53 ± 0.65	0,83 ±1.11	1 ,16 ±0.68
0.1	0,42 ± 1.05	0,33 ±0.81	0 ,56 ±1.34

Les valeurs exprimées sont des moyennes ± SD de trois mesures parallèle

Les extraits présentent un effet hémolytique très faible face aux érythrocytes isolés, avec un taux d'hémolyse qui ne dépasse pas les 8 % à une concentration de 1,50 mg/ml. Certaines plantes utilisées pour leur effet thérapeutique peuvent, à fortes doses, présenter une menace pour la santé de l'homme. L'intérêt de la plante exige qu'une approche de sa toxicité soit étudiée, ce qui nous a menés à évaluer l'effet hémolytique des extraits de nos plantes vis-à-vis des globules rouges. D'après nos résultats, nous constatons que les extraits d'*Echium trygorrhizum* Pomel, présentent un effet toxique très faible face aux érythrocytes isolés, avec un taux d'hémolyse qui ne dépasse pas les 8 % à une concentration de 50 mg/ml, ce qui les caractérise par l'absence de risque de cytotoxicité.

5.2 La toxicité aiguë par voie orale de l'extrait aqueux

Généralement ce test constitue la première étape à entreprendre avant tout autre test toxicologique, elle fournit des informations préliminaires sur la nature de la substance d'essai, et permet également de traiter les cas d'ingestion accidentelle de quantité importante de substance, de déterminer les éventuels organes cibles qui doivent être examinés et/ou les tests spécifiques qui doivent être entrepris dans le cadre des essais de toxicité à doses répétées et de sélectionner les doses pour les tests de toxicité à court terme et subaiguë lorsqu'aucune autre information toxicologique n'est disponible (Amroun *et al.*, 2021).

L'administration orale aiguë de l'extrait EAQ à différentes doses croissantes par voie orale aux souris à jeun, n'a été accompagnée d'aucune mort des animaux et cela durant les 14 jours de l'observation. Cependant quelques signes de toxicité (diminution de l'activité, agitation) ont été repérés uniquement chez les souris traitées par EAQ et ceci surtout à fortes doses (5000 mg/kg). A noter que ces troubles n'ont pas duré plus qu'une heure après le gavage de l'EAQ.

Ces résultats suggèrent que la dose létale par voie orale (DL_{50}) est supérieure à 5000 mg/kg classant notre extrait dans la catégorie 5 du Système général harmonisé (SGH) de la classification des produits chimiques énoncé par la ligne directrice 423 de l'OCDE (OCDE, 2001).

5.2.1 Effet de la prise aiguë de l'extrait AQ sur le poids corporel des animaux

Le changement du poids corporel des animaux est utilisé comme un indicateur des effets indésirables des composés chimiques (Li, Y *et al.*, 2019).

Afin de déterminer l'influence de la prise aiguë de l'extrait EAQ sur le poids corporel et la croissance des animaux, nous avons suivi l'évolution du poids corporel, des souris témoins et traités pour les deux sexes, périodiquement tout au long de l'expérimentation. Les résultats sont reportés dans la figure 15.

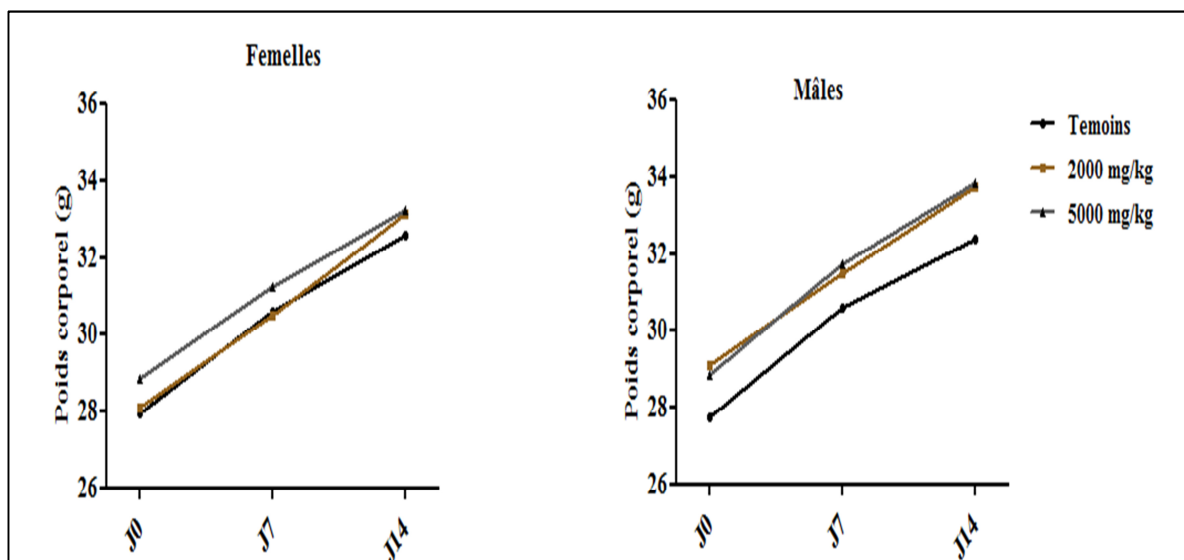


Figure 15 : Variations du poids corporel chez les souris témoins et traités par l'extrait aqueuse d'*Echium trygorrhizum* Pomel (Moyenne \pm ESM, n=5. $p < 0,05$).

En ressort de cette figure que le poids corporel initial des animaux des groupes témoins, et le poids corporel des mâles et femelles des groupes traités à l'extrait AQ (2000 et 5000 mg/kg) augmente de la même manière. Ceci sous-entend qu'aucune variation significative du poids corporel des animaux des deux sexes n'a été enregistrée tout au long de la période d'expérimentation.

5.2.2 Effet de la prise aiguë de l'extrait AQ sur le poids relatif des organes

L'effet de l'EA aux doses de 2000 et 5000 mg/kg, sur le poids relatif des organes chez les souris femelles et mâles est illustré sur les figures 16 et 17.

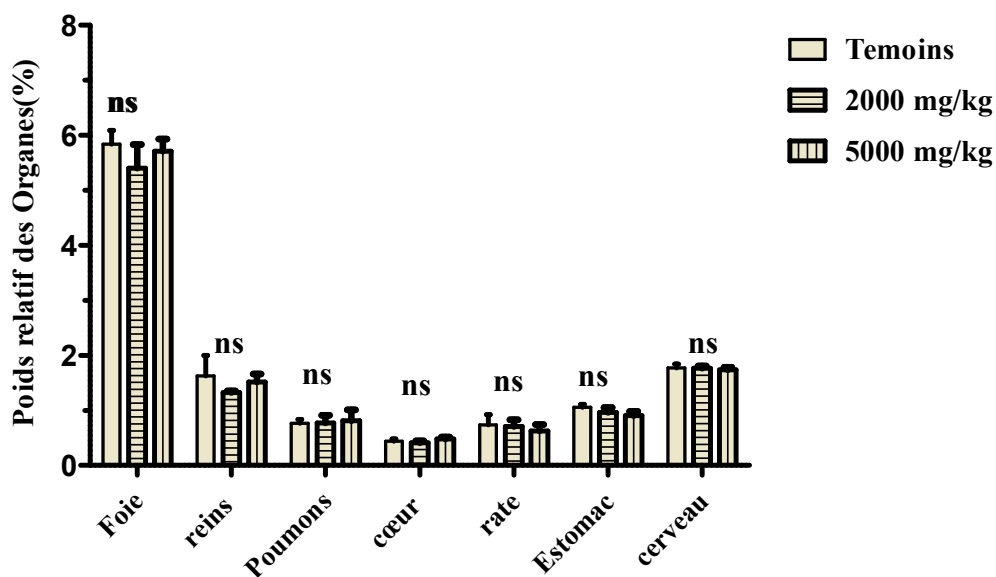


Figure16: Variations du poids relatif des organes chez souris femelles traités par l'extrait aqueux *d'Echium trygorrhizum*, et comparés auxsouris témoins.

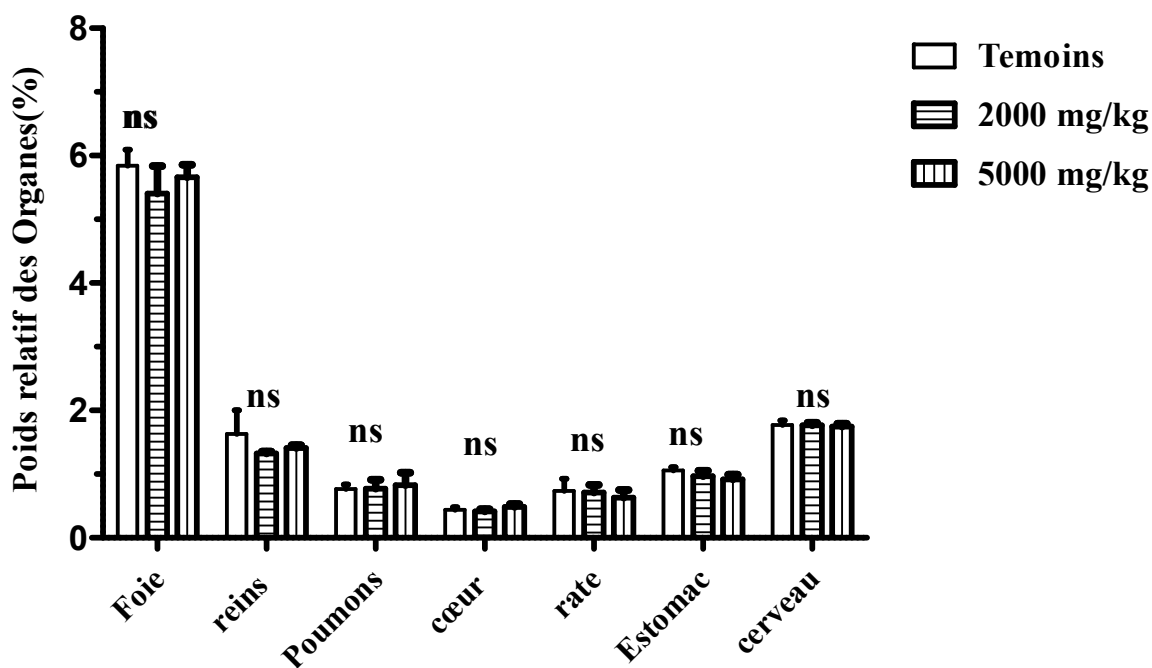


Figure17: Variations du poids relatif des organes chez les souris mâles traités par l'extrait aqueux *d'Echium trygorrhizum*, et comparés auxsouris témoins.

Le poids relatif des organes est également un autre indice important qui nous renseignent sur l'état physiologique et pathologique chez les animaux d'expérimentation, en fait, la comparaison des poids des organes des animaux traités et des animaux témoins est souvent utilisée pour prédire l'effet toxique des substances, et aussi pour identifier les organes cibles possibles (Amroun *et al.*, 2021).

Les résultats de l'évaluation de la prise aiguë des extraits AQ, de la plante sur le poids relative des organes des animaux ne montrent aucune différence significative chez tout les groupes des animaux des deux sexes tout au long de la période l'expérimentation.

5.3 Toxicité subaiguë de l'extrait AQ

La toxicité subaiguë est un facteur très important dans la détermination de la toxicité de toutes substances, c'est un moyen qui permet d'évaluer les effets d'une substance sur les paramètres hématologiques, biochimiques et histologie des organes vitaux, car ces effets n'apparaissent pas lors de l'étude de la toxicité aiguë (Ugwah- Oguejiofo *et al.*, 2019).

5.3.1 Effet de la prise subaiguë de l'extrait AQ sur le poids corporel

Le changement du poids corporel est utilisé comme un indicateur général des effets secondaires toxique des composés chimiques chez les animaux de laboratoire (Ofori *et al.*, 2021).

Les résultats de l'évaluation de la prise subaiguë de l'extrait AQ sur le poids corporel des animaux des deux sexes traités à l'extrait AQ (250, 500 et 1000 mg/kg) sont reportés dans les figures 18 et 19. En ressort de ces figures qu'aucune variation significative du poids corporel n'a été enregistrée tout au long de la période d'expérimentation.

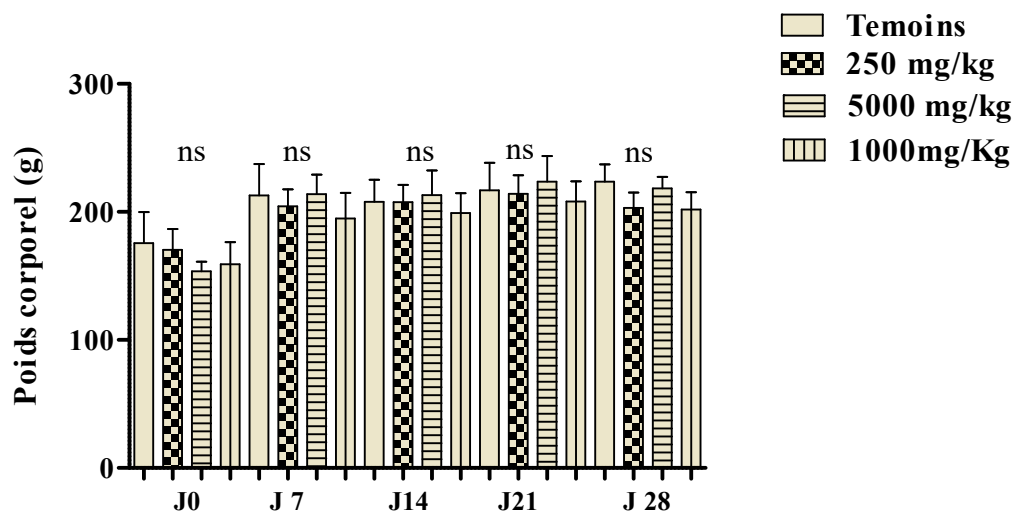


Figure 18. Evolution du poids corporel des rats femelles traités par l'extrait AQ d'*Echium trygorrhizum*, pendant 28 jours de traitement.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (N= 5). ns : aucune différence significative.

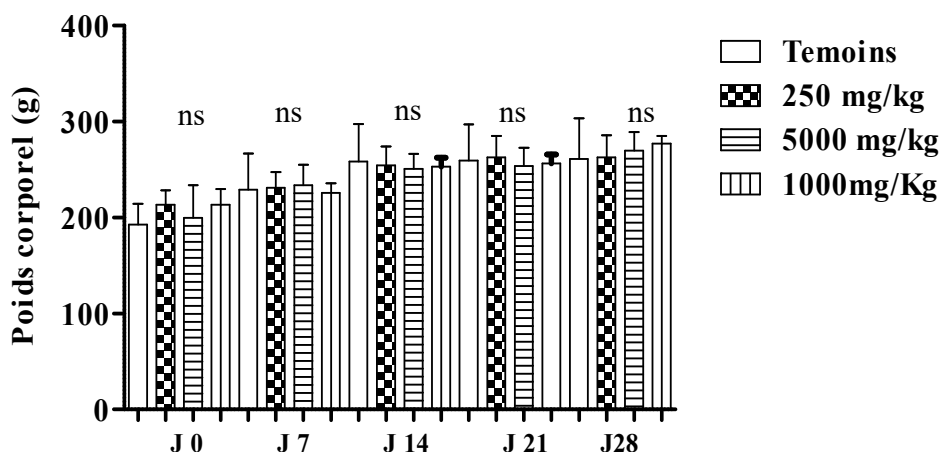


Figure 19. Evolution du poids corporel des rats males traités par l'extrait AQ d'*Echium trygorrhizum*, pendant 28 jours de traitement.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (N= 5). ns : aucune différence significative n'a été observée entre le groupe témoin et le groupe traité .

Les résultats montrent aussi qu'il n'y pas de différence significative dans le gain de poids corporel, chez les deux sexes à toutes les doses étudiées, par rapport au groupe témoin (Tableau 13).

Tableau 13 : Variation de gain du poids corporel des rats mâles femelle traités par l'E AQ *d'Echium trygorrhizum* , pendant 28 jours de traitement.

	témoin	(250mg)	(500mg)	(1000mg)
Femelles				
Poids initiale (g)	175.6 ±24.19	170.5 ±16 .11	153.5 ±7.71	159.1 ±17.27
Poids finale(g)	223.7 ±13.38	203.2 ±11.80	218.3 ±9.029	201.9 ±13.54
Gain de poids(g)	48.09 ±31.78	32.74 ±25.37	64.82 ±12.92	41.72 ±19.59
Mâles				
Poids initiale (g)	192.7 ±21.80	213.7 ±14.96	205.8 ±23.85	213.4 ±16.51
Poids finale(g)	51.2 ±25.46	262.8 ±23.07	269.8 ±19.41	277.2 ±7.929
Gain de poids(g)	58.49 ±16.2	49.09 ±13.20	64± 14.29	63.954± 27.49

5.3.2 Effet du traitement subaiguë à l'extrait AQ sur la prise alimentaire et l'ingestion d'eau chez les rats

la détermination de la consommation de nourriture et l'ingestion d'eau est un indicateur important dans l'étude de la sécurité de tout agent thérapeutique (Vysakh *et al.*, 2020). Les résultats de l'ingestion d'eau et de la prise alimentaire suite au traitement des rats des deux sexes à l'extrait AQ sur une période de 28 jours sont illustrés dans le Tableau 14.

Tableau 14 : Prise alimentaire et ingestion d'eau chez les rats mâles et femelles durant la période de traitement par l'E AQ *d'Echium trygorrhizum* , pendant 28 jours.

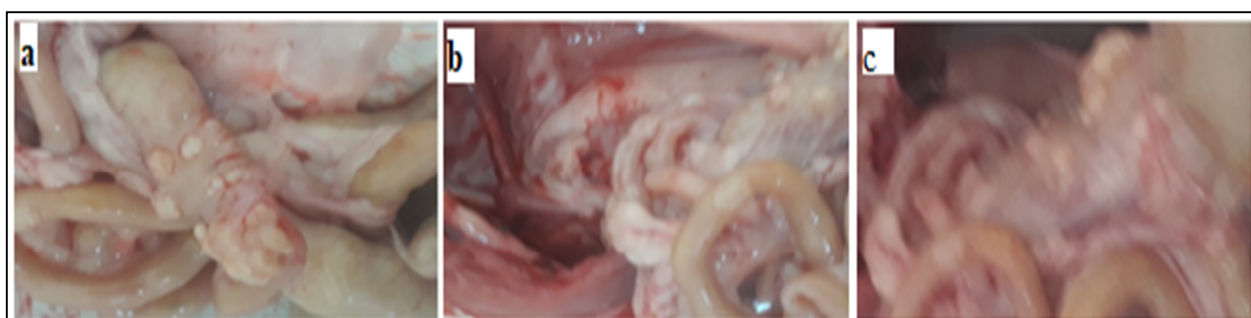
	Témoin	(250mg)	(500mg)	(1000mg)
Male				
Food intake (g/ day)	108.67 ±10.33	88.75 ±13.75	92.50 ±7.25	93.00 ± 8.50
Water intake (ml/day)	195.83 ±5.55	177.50± 22.50	155.00± 10.00	185.00± 12.50
Femelle				
Food intake (g/ day)	129.83 ±16.22	127.00± 6.00	133.50± 3.00	124.00± 8.00
Water intake (ml/day)	191.67 ±15.56	185.00± 7.50	182.50± 22.50	193.75± 16.25

Nos résultats dans cette étude indiquent que, l'ingestion d'eau la prise alimentaire chez les rats mâles et femelles ne présente aucune différence significative par rapport au groupe témoin à toutes les doses étudiées.

5.3.3 L'observation macroscopique

L'observation macroscopique des organes internes des rats mâles et femelles traités aux doses de (250, 500 et 1000 mg/kg) n'a révélé aucune lésion spécifique ou différence notable comparé aux mêmes organes des rats des lots témoins.

En revanche des noudilles sont observé au niveau du colon d'un rat témoin et deux rats traités a la dose 500mg /kg (Figure 20).



(a) témoin (b et c) traités à moyenne dose 500 mg /kg.

Figure. 20. représente respectivement le colon d'un rat témoin (a) et le colon des rats traités à moyenne dose 500 mg /kg (b et c).

5.3.4 Effet de la prise subaiguë de l'E AQ sur le poids relatif des organes

Le poids relatif des organes indique l'évolution pondérale de l'organe par rapport à l'organisme, il est également un autre indice important qui nous renseignent sur l'état physio-pathologique chez les animaux de laboratoire (Ramesh *et al.*, 2007).

Les résultats du poids relatif des organes des animaux des deux sexes sont présentés dans le tableau 15.

Tableau 15: Poids relatif des organes des rats mâles et femelles traité avec l'E AQ de la partie racinaire d'*Echium trygorrhizum* pendant une période de 28 jours.

Poids relatif des organes (%)					
Sexe	Organes	Témoins	250 mg/kg	500 mg/kg	1000 mg/kg
Male					
	Foie	3.092 ±0.107	3.462±0.213	3.438±0.313	3.92 ±0.257**
	Rein	0.579 ±0.012	0.583±0.026	0.615±0.057	0.583 ±0.038
	Cœur	0.283 ±0.018	0.302±0.012	0.316 ±0.021	0.296 ±0.014
	Poumon	0.557 ±0.071	0.602±0.105	0.631±0.066	0.689 ±0.119
	Rate	0.230 ±0.045	0.221±0.018	0.417±0.262	0.265 ±0.046
	Cerveau	0.685 ±0.066	0.712±0.044	0.717±0.051	0.686 ±0.021
	Testicules	1.253 ±0.136	1.225±0.133	1.174±0.110	1.123 ±0.087
	Epididyme	0.429 ±0.052	0.412±0.056	0.390±0.029	0.394 ±0.031
	Estomac	0.566 ±0.050	0.583±0.051	0.603±0.083	0.557 ±0.042
Female					
	Foie	3.167 ±0.379	2.955 ±0.146	3.445±0.381	4.01±0.0891**
	Rein	0.565 ±0.055	0.617 ±0.036	0.618±0.024	0.613±0.032
	Cœur	0.319 ±0.009	0.333 ±0.034	0.302±0.007	0.312±0.031
	Poumon	0.659 ±0.046	0.734 ±0.047	0.661±0.053	0.660±0.056
	Rate	0.304 ±0.031	0.460 ±0.220	0.305±0.055	0.285±0.028
	Cerveau	0.737 ±0.036	0.773 ±0.071	0.783±0.061	0.811±0.057
	Ovaire	0.040 ±0.007	0.039 ±0.006	0.046±0.006	0.040±0.0040
	Estomac	0.704 ±0.047	0.678 ±0.043	0.630±0.038	0.712±0.0475

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyennes ± SEM pour des groupes de 5 rats.
 $p < 0.05$; * : $p < 0.01$; ** : $p < 0.001$ ***.

Nos résultats indiquent que l'administration orale d'EAQE a produit une augmentation du poids relatif du foie dans le groupe recevant

Nos résultats indiquent que l'administration orale d'EAQE à différentes doses (250, 500 et 1000mg/kg) ne montre aucune variation du poids relatif des organes internes tels que les reins, le cœur, les poumons, la rate, le cerveau, l'estomac et les organes reproducteurs (testicules, épидидyme et ovaire), à l'exception, nous notons une augmentation significatives du poids relatif du foie des animaux recevant la dose de l'extrait la plus élevée (1000 mg/kg) ($p < 0.01$) à la fin de la période expérimentale.

5.3.5 Effet de la prise subaiguë de l'E AQ sur les paramètres hématologiques

Le système hématopoïétique est l'un des cibles les plus sensibles aux substances toxiques (Mukinda et Syce, 2007). Il représente un marqueur important de l'état physiologique et pathologique de l'animal (Li *et al.*, 2010).

Les valeurs des paramètres hématologiques analysés sont indiquées dans le tableau 16.

Tableau 16: Paramètres hématologiques des rats mâles et femelles traités par l'E AQ de la partie racinaire d'*Echium trygorrhizum* pendant une période de 28 jours.

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyennes \pm SEM pour des groupes de 5 rats.

$p < 0.05$; * : $p < 0.01$; ** : $p < 0.001$ **.

Paramètres	Témoin	Doses (mg/kg)		
		(250 mg/kg)	(500 mg/kg)	(1000 mg/kg)
Mâles				
GR ($10^6/\text{mm}^3$)	7.70 \pm 0.40	7.77 \pm 0.46	7.58 \pm 0.15	7.79 \pm 0.41
Hémoglobine (g/dL)	14.87 \pm 0.70	15.02 \pm 0.80	14.32 \pm 0.61	14.94 \pm 0.73
Hématocrite (%)	41.23 \pm 2.15	41.60 \pm 2.83	41.34 \pm 3.58	41.38 \pm 1.45
VGM (fl)	53.50 \pm 0.69	53.50 \pm 1.72	54.10 \pm 3.77	56.00 \pm 1.93
MCHC (g/dL)	36.20 \pm 0.17	36.18 \pm 0.73	34.78 \pm 2.30	33.70 \pm 1.67
MCH (pg)	19.30 \pm 0.43	19.34 \pm 0.33	18.76 \pm 0.41	18.86 \pm 0.77
Plaquettes ($\times 10^9/\text{l}$)	586.0 \pm 40.93	561.8 \pm 54.82	662.0 \pm 71.59	713.0 \pm 62.03
Femelles				
GR ($10^6/\text{mm}^3$)	6.48 \pm 0.32	7.15 \pm 0.30*	7.86 \pm 0.43***	8.12 \pm 0.41***
Hémoglobine (g/dL)	11.88 \pm 0.68	14.17 \pm 1.76*	15.23 \pm 0.58**	15.68 \pm 0.80**
Hématocrite (%)	34.65 \pm 1.73	39.70 \pm 3.97*	44.98 \pm 2.64***	46.39 \pm 2.32***
VGM (fl)	53.25 \pm 0.66	55.33 \pm 3.05	56.50 \pm 1.73	57.00 \pm 0.00
MCHC (g/dL)	35.48 \pm 3.52	35.53 \pm 0.87	34.25 \pm 0.45	33.80 \pm 0.24
MCH (pg)	19.85 \pm 0.34	20.13 \pm 1.59	19.40 \pm 0.80	19.30 \pm 0.08
Plaquettes ($\times 10^9/\text{l}$)	730.0 \pm 53.78	735.0 \pm 142.8	718.8 \pm 50.89	756.0 \pm 16.06

Dans la présente étude, les valeurs des paramètres hématologiques chez les rats mâles ne présentent aucune différence significative par rapport au groupe témoin, tandis que chez les rats femelles nous enregistrons une augmentation statistiquement significative, des taux moyens d'hémoglobine, hématocrite et des globules rouges d'une manière dose-dépendante ($p < 0.01$ et $p < 0.001$).

Il convient de noter que l'administration de l'extrait AQ avec toutes ses doses pour les rats des deux sexes n'a entraîné aucune modification dans le nombre des globules blancs (WBC, LYN, GRA, MID) ou les plaquettes. Ces résultats indiquent que l'EAQ n'a aucune influence sur le processus de lymphopoïèse et ne provoque pas de réaction inflammatoire (tableaux 17).

Tableau 17: Différents globules blancs des rats mâles et femelles traités par l'EAQ de la partie racinaire d'*Echium trygorrhizum* pendant une période de 28 jours.

Parameters	Dose group (expressed in mean \pm S.D., n = 5)			
	Control	(250 mg/kg)	(500 mg/kg)	(1000 mg/kg)
Male				
WBC (x10 ³ /ml)	6.800 \pm 2.46	6.18 \pm 0.96	8.26 \pm 3.24	8.06 \pm 2.13
LYN (%)	71.80 \pm 2.958	75.14 \pm 3.198	75.32 \pm 3.928	77.60 \pm 4.65
MID (%)	10.97 \pm 3.696	14.78 \pm 0.7890	13.88 \pm 2.404	10.68 \pm 2.792
GRA (%)	17.73 \pm 7.681	11.96 \pm 6.614	10.80 \pm 2.107	7.720 \pm 1.420
Femelles				
WBC (x10 ³ /ml)	4.47 \pm 0.83	4.55 \pm 1.47	5.34 \pm 1.47	5.60 \pm 1.18
LYN (%)	71.73 \pm 4.398	65.66 \pm 4.821	64.45 \pm 8.242	64.70 \pm 2.513
MID (%)	14.38 \pm 0.8655	11.30 \pm 0.6557	11.85 \pm 6.255	8.825 \pm 2.022
GRA (%)	12.78 \pm 4.347	22.83 \pm 4.102	23.65 \pm 8.637	23.93 \pm 4.102

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyennes \pm SEM pour des groupes de 5 rats

5.3.2 Effet de la prise subaiguë de l'EAQ sur les paramètres biochimiques

De nombreuses études utilisent le foie et les reins pour déterminer l'innocuité ou toxicité des médicaments ou des extraits végétaux (Ghosh *et al.*, 2008).

Selon plusieurs chercheurs, l'intoxication augmente l'activité des enzymes hépatiques, notamment l'alanine aminotransférase (ALT) et aspartate aminotransférase (AST), qui sont des indicateurs de la survie des cellules hépatiques (Kamal *et al.*, 2011). Le foie est le siège principal de la détoxification des substances naturelles (Brondani *et al.*, 2017). De ce fait, une étude de la fonction hépatique peut donc s'avérer utile dans l'évaluation des effets toxiques des plantes médicinales sur le foie.

Les résultats de l'analyse biochimique du plasma sont rapportés dans le tableau 18. Nous constatons que les résultats obtenus n'indiquent aucune variation significative, à l'exception du niveau de phosphatase alcaline chez les rats femelles traités avec les doses 250 et 1000 mg/kg.

Tableau 18: Paramètres biochimiques des rats mâles et femelles traités à l'extrait AQ de la partie racinaire *d'Echium trygorrhizum* pendant une période de 28 jours.

	Control	Subacutotoxicity		
		250 mg/kg	500 mg/kg	1000 mg/kg
Mâles				
AST (U/L)	106.6±16.8	137.5±43.58	96.86±8.204	104.8±19.57
ALT (U/L)	36.46±7.78	42.13±12.36	35.42±2.084	35.09±4.529
ALP (U/L)	268.6±95.01	315.3±19.3	209.5±13.69	259.2±77.51
BT-bi (mg/dL)	9.20±1.22	6.51± 1.48**	8.225± 0.379	7.054± 0.80
BD-bi (g/dL)	2.44±0.38	2.62±0.53	2.400±0.255	2.668±0.357
Urea (g/dL)	0.47±0.096	0.3967±0.01	0.416±0.019	0.474±0.033
Creatinine (mg/L)	5.427± 0.64	4.733±1.39	5.160±0.579	4.153±0.17
Triglycerides (mg/dL)	0.42± 0.084	0.506±0.09	0.4450±0.059	0.312±0.040
Cholesterol (mg/dL)	0.36± 0.059	0.3875± 0.05	0.3520± 0.057	0.347± 0.07
HDL-cholesterol (g/L)	0.272±0.034	0.278±0.03	0.2550±0.050	0.30±0.036
Glucose (mg/dL)	0.918± 0.151	1.084±0.07	1.046±0.155	1.08±0.135
Femelles				
AST (U/L)	87.33± 18.36	83.16±8.812	94.02±20.94	83.25±14.98
ALT (U/L)	33.95±8.228	25.02±1.811	49.14±21.21	29.05±10.41
ALP (U/L)	205.0±76.45	111.7±29.02*	190.8±38.87	113.8±43.0*
BT-bi (mg/dL)	6.030±1.95	5.760±1.28	4.468±1.756	4.167±2.92
BD-bi (g/dL)	2.580±0.42	2.368±0.206	1.953±0.39	1.127±0.45
Urea (g/dL)	0.3825±0.11	0.3750±0.059	0.326±0.037	0.4150±0.11
Creatinine (mg/d)	6.028± 0.185	6.645± 0.709	7.215± 0.14	7.507± 0.84
Triglycerides (mg/dL)	0.3800±0.054	0.277±0.08	0.345±0.13	0.2425±0.077
Cholesterol (g/L)	0.4175±0.075	0.550±0.112	0.37±0.029	0.3860±0.043
HDL-cholesterol (g/L)	0.2425±0.029	0.265±0.017	0.242±0.046	0.2125±0.017
Glucose (mg/dL)	1.040± 0.133	1.033±0.038	0.94±0.189	1.068±0.08

Les valeurs sont exprimées en moyennes ± SEM pour des groupes de 5 rats.

p < 0.05 *; p < 0.01**.

Au regard de ces résultats, nous constatons que l'ALAT, l'ASAT, l'Urée, la Créatinine, les Triglycérides le Cholestérol, HDL-cholesterol et le Glucose n'ont pas connu une modification significative entre le groupe témoin et le groupe traité chez les rats des deux sexes.

La creatinine et l'uree constituent tous deux d'excellents marqueurs de la fonction renale, et leur augmentation reflète un dysfonctionnement renal (Sirwal *et al.*, 2004).

Les concentrations sériques de bilirubine totale et de bilirubine directe étaient diminuées après le traitement, mais la baisse n'était pas significative (tableau 18).

Ces résultats pourraient être attribués à la présence de différents composés phytochimiques, qui stabilisent la membrane cellulaire des hépatocytes qui est responsable de la diminution de la bilirubine (Patil et Makwana, 2015).

Des tests scientifiques avec des rongeurs sont recommandés pour étudier l'avantage potentiel anti-bilirubine de cette plante proclamé dans l'étude ethno- pharmacologiques..

5.3.3 Histopathologie

Après 28 jours de traitement par la différente dose de l'EAQ, l'observation des coupes histologiques des organes (cœur, poumons, rate, cerveau et estomac) et des organes reproducteurs (testicules, épидидyme et ovaire) des animaux traités des deux sexes n'a pas révélé la présence de lésions dans la structure cellulaire ou les tissus par rapport aux témoins respectifs. Par contre l'observation des coupes histologiques du foie et du rein des animaux des deux sexes témoins et traités a permis de mettre en évidence quelques altérations chez les lots traités avec les doses de 500 et 1000 mg/kg.

En effet chez les animaux témoins, le foie présente une architecture normale avec absence de signes lésionnels, le rein présente des glomérules de taille normale accompagnés des tubules. Cependant chez les animaux mâles et femelles traités avec la dose 500 mg/kg on a révélé la présence de dommages dans les tissus du foie et des reins, des infiltrats cellulaires mononucléaires ont également été trouvés dans les foies ce qui pourrait être le résultat d'une inflammation du foie. En plus des sinusoides hépatiques congestionnés, une inflammation parenchymateuse sévère et un gonflement des hépatocytes ont été observés à la dose de 1000 mg/kg. De plus, les reins des deux sexes étaient congestionnés aux deux doses 500 et 1000 mg/kg (Figure 21).

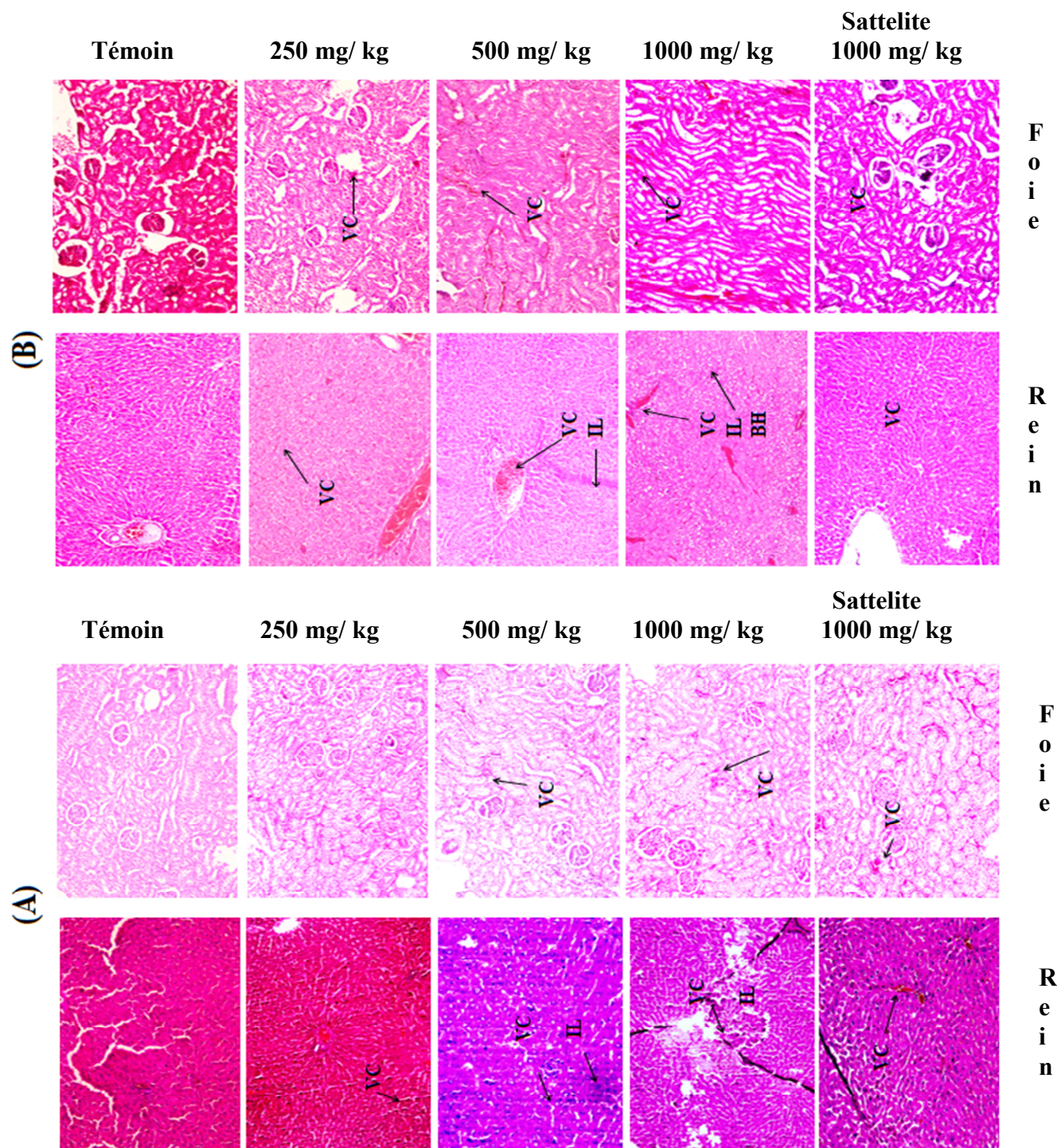


Figure 21 : Coupes histologiques du foie et des reins de rats mâles (A) et femelles (B) administrés avec l'extrait AQ (250, 500 et 1000 mg/kg) pendant 28 jours observées au microscope optique au grossissement 100 (coloration à l'hématoxyline-éosine). VC: congestions Vasculair; IL: infiltration de lymphocytes; BH: balloonement hepatocytaire.

5.4 Etude de la persistance ou la réversibilité des effets toxiques observés

L'administration orale de l'extrait AQ pendant 28 jours est traduite par une augmentation du poids relatif du foie dans le groupe recevant la dose de l'extrait la plus élevée (1000 mg/kg), et des altérations de certains paramètres hématologiques biochimiques (la Bilirubine totale et de Bilirubine directe) et par des lésions de certains organes vitaux (le foie et le rein) dans les groupes recevant les de l'extrait AQ à des doses de (500 mg/kg et 1000 mg/kg) .

Des rats d'un groupe satellite, destinés à des observations ultérieures en vue de détecter d'éventuels effets toxiques différés ou persistants, ou de mettre en évidence le rétablissement des animaux traités ont été introduit dans l'étude. Ce groupe satellite a reçu la même dose administrée au animaux du groupe (1000 mg/kg) pendant 28 jours, conjointement à un lot satellite témoin a reçu de l'eau de robinet.

Deux semaines après interruption de traitement. Le groupe satellite est suivi principalement sur les paramètres précédemment altérés, Le poids relatif du foie, variations des Paramètres hématologique (GR, HGB et HCT), et biochimique (BT-bi et BD-bi) histologie du parenchyme hépatique et reinel .

5.4.1 Variations des paramètres hématologiques et biochimiques

Après 15 jours d'interruption de traitement, la bilirubine totale et la bilirubine directe retrouvent ces valeurs normales chez le le groupe satellite (1000 mg/kg) et celle du lot satellite témoin. La comparaison des moyennes du poids relatif du foie montre une différence significative entre le groupe satellite témoin et groupe satellite traité à forte dose ($p < 0.01$).

Les résultats montrent aussi une différence significative entre les taux moyennes des globules rouges, hématocrite et hémoglobine du groupe satellite témoin et celle du groupe satellite traité à forte dose.

5.4.2 Résultats histopatologiques

L'examen histologiques des tissus, hépatique et rénal a révélé la présence de dommages dans les tissus du foie et des reins chez les animaux mâles et femelles, des infiltrats cellulaires mononucléaires ont également été trouvés dans le foie. En plus des sinusoides hépatiques congestionnés, une inflammation parenchymateuse sévère et un gonflement des hépatocytes ont été également observés. De plus, les reins des deux sexes étaient congestionnés.

6. Mécanismes potentiels de l'effet anti hyperglycémiant

Les tests qui ont été menés, dans cette étude, sur l'effet *in vivo* de EAQ de sur la glycémie post- prandiale d'un côté et sur l'inhibition de l' α amylase et l' α glucosidase d'un autre côté, dans le but de confirmer son effet antidiabétique proclamé dans l'étude ethno- pharmacologiques.

6.1 Inhibition des enzymes hydrolysant les glucides

L'alpha-amylase hydrolyse les amidons complexes en oligosaccharides, tandis que l'alphaglucosidase hydrolyse les oligosaccharides en glucose et autres monosaccharides. L'inhibition de ces enzymes produit un effet antihyperglycémique postprandial en réduisant la vitesse et l'étendue de l'absorption du glucose (Okoli *et al.*, 2011). L'inhibition de ces enzymes digestives est une approche ou une stratégie importante dans la gestion et le contrôle de l'hyperglycémie postprandiale.

6.1.1 Evaluation de l'activité de l'EAQ sur l'alpha-amylase

Nous avons mis au point un test sur l' α -amylase d'*Aspergillus oryzae*. La détermination du pourcentage d'inhibition de l'activité de l'enzyme à différentes concentrations a permis de calculer les valeurs d'IC₅₀ pour chaque extrait. Les résultats du test sur l' α -amylase obtenus dans cette étude révèlent que toutes les extrais testées possèdent un effet inhibiteur dose-dépendante avec un pourcentage d'inhibition maximal à concentration 1.5 mg/mL de 83.65%, 89.57% et 88.97% pour l'EAQ, l'EHM et l'EM respectivement (tableaux 19).

Tableau 19: Pourcentage d'inhibition de l' α - amylase par les extraits (EAQ, EHM et EM)

Concentration mg/mL	Inhibition (%)		
	l'EAQ	l'EHM	l'EM
1.5	83.65±3,12	89.57±1.31	88.97± 1.71
1.2	78,42±1,77	69.19±2,20	67.59±2,30
1	72,19±2,20	65.71±2,77	57.5±2.03
0.8	56,83±1,77	51.32±2.01	32.65±1.01
0.6	24,55±1,93	26.45±1.01	25 ±2.01
0.4	15,68±1,32	14.67±2.12	16.9±1.01
0.2	13,94±0,50	3.06±1.58	8.06±1.03
0.1	3,58±1,34	1.63±0.91	5 ±1.05
IC ₅₀ (mg/mL)	0.73 ±0.67	0.77±0.99	0.86±0.86

L' α -amylase est l'une des principales enzymes du corps humain qui est responsable de la décomposition de l'amidon en sucres plus simples. Les α -amylases hydrolysent les polysaccharides complexes en produisant des oligosaccharides et des disaccharides qui sont ensuite hydrolysés par l' α -glycosidase en monosaccharide qui sont absorbés par l'intestin grêle dans la veine porte hépatique et augmentent la glycémie postprandiale (El-Kaissi S *et al.*, 2011)

6.1.2 Evaluation de l'activité de l'EA sur l'alpha- glucosidase

Les résultats du pourcentage d'inhibition des extraits en regard de l'effet inhibiteur de l'activité de l' α - glucosidase sont mentionnés dans le Tableau 20.

Tableau 20 : Pourcentage d'inhibition de l'activité de l' α - glucosidase par les extraits (EAQ, EHM et EM).

Concentration mg/mL	Inhibition (%)			
	l'EAQ	l'EHM	l'EM	L'acarbose
0.800	96,66±0.04	94,11±0.03	83,33±0.03	72.93±0.0
0.400	86,26±0.01	88,23±0.01	80,36±0.03	63.30±0.01
0.200	73,33±0.04	82,35±0.01	75±0.01	57.36±0.08
0.100	66,66±0.02	82,35±0.01	58,33±0.01	54.33±0.17
0.50	60±0.02	70,58±0.02	50±0.01	45.27±0.02
0.25	53,33±0.02	29,4±0.08	33,23±0.03	26.12±0.03
0.125	46,56±0.05	23,52±0.01	25±0.05	16.89±0.01
IC ₅₀ (mg/mL)	0. 13±187	0.58±0.99	0. 50 ±0.07	0.55±0.19

Les trois extraits évalués ont démontré qu'ils possèdent une activité inhibitrice sur l' α -glucosidase. Cependant, cette activité est très importante en le comparant par l'acarbose utilisé comme molécule de référence. En effet les extraits l'EHM et l'EM ont exprimés une valeur d'IC₅₀ $0.58 \pm 0.99 \mu\text{g/ml}$ et $0.50 \pm 0.07 \mu\text{g/ml}$.

L'acarbose a montré une activité inhibitrice importante avec une valeur d'IC₅₀ = $0.55 \pm 0.19 \text{ mg/ml}$. Il est à noter que l'EAQ reste le meilleur extrait qui présente le pourcentage le plus élevé avec une IC₅₀ $0.13 \pm 1.87 \mu\text{g/ml}$, inférieures à celle obtenue par l'acarbose donc une activité meilleure.

la suppression de l'activité de ces enzymes digestives retarde la dégradation de l'amidon et oligosaccharides, ce qui entraînerait une diminution de l'absorption du glucose et par conséquent, la réduction de l'élévation du taux de glycémie postprandiale (Narkhede *et al.*, 2011 ; Abirami *et al.*, 2014).

La propriété associée au potentiel inhibiteur des enzymes digestives par les extraits des plantes est due à leurs richesses en composés phénoliques, particulièrement les flavonoïdes (Silva *et al.* 2016).

De ce fait on constate que l'extrait aqueux de la partie racinaire d'*Echium trygorrhizum pomel*, montre une activité inhibitrice très importante et remarquable sur les deux enzymes digestives l' α -amylase et l' α -glucosidase *in vitro*, avec des IC₅₀ $0.73 \pm 0.67 \mu\text{g/ml}$ $0.13 \pm 1.87 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

6.2 Effet anti-hypoglycémiant de l'EAQ

Afin de vérifier l'activité inhibitrice sur les deux enzymes *in vivo* et le mécanisme selon lequel l'EAQ des racines de notre plante réduit la glycémie nous avons ciblé l'inhibition de l'alpha-glucosidase intestinale par le test de tolérance au saccharose et l'absorption du glucose au niveau des intestins par le test de tolérance orale au glucose (Abirami *et al.*, 2015).

6.2.1 Test de tolérance au saccharose

Le gavage avec saccharose est pour but d'étudier l'effet de l'EAQ sur l'hydrolyse intestinale par les glucosidases intestinale, alors que l'utilisation du glucose vise à vérifier l'effet de l'extrait sur l'absorption du glucose au niveau intestinale. La concentration de glucose sanguin a été estimée à l'aide d'un glucomètre commercial (Strip, Check3).

La variation en pourcentage de glycémie pour chaque groupe a été calculée par rapport au niveau de la glycémie initial (G0), selon la formule :

%Variation de la glycémie = $[(Gx-G0)/G0] \times 100$, où G0 étaient les valeurs initiales de glycémie, et Gx étaient les valeurs de glycémie à chaque temps.

Tableau 21 : Effet de l'EAQ d'*Echium trygorrhizum pomel* sur la glycémie postprandial après une charge de 2g de saccharose.

Temps (minute)	NaCl (0.009%)	Taux du glucose (%) $\Delta (Gx-G0)*100$		Acarbose (100mg/Kg)
		(150mg/Kg)	(300mg/Kg)	
15	38,65	33,6	34,63	26
30	74,23	40,6**	44,54**	37,72**
60	34,15	28,2	27,18	25,36
90	40,8	24,6	28,63	19,81
120	16,13	15,6	20,36	14,72

%Variation de la glycémie = $[(Gx-G0)/G0] \times 100$, où G0 étaient les valeurs initiales de glycémie, et Gx étaient les valeurs de glycémie à chaque temps.

* résultat significatif, comparé aux groupes témoin, **, $p \leq 0.01$ (n= 8)

Les résultats montrent clairement l'effet positif d'EAQ sur l'hydrolyse intestinale du saccharose. L'EAQ (150 mg/Kg), administrée avant le gavage avec le saccharose, diminue significativement le pourcentage de la glycémie par rapport au témoin.

Il est à noter que le pourcentage de réduction de l'élévation du taux de glycémie de l'EAQ, se rapprochent de celle de l'Acarbose et sont estimées à 40,6 % et 37.72 % respectivement.

6.2.2 Test de tolérance orale au glucose

Dans un deuxième temps, nous avons réalisé le test de tolérance au glucose par voie orale test vise à vérifier l'éventuel effet de l'extrait sur l'absorption du glucose au niveau des intestinale après une seule ingestion orale de glucose (2 g/kg). Les résultats de cette expérimentation sont illustrés dans le Tableau 22.

Tableau 22 : Effet de l'EAQ d'*Echium trygorrhizum pomel* sur la glycémie postprandial après une seule ingestion orale de glucose (2 g/kg)

Temps (minute)	Taux du glucose (mg/dL)		
	NaCl (0.009%)	EAQ	
		(150mg/Kg)	(300mg/Kg)
0	0,86	0,91	0,87
15	1,13	1,16	1,20
30	1,42	1,46	1,43
60	1,09	1,12	1,08
90	0,81	0,97	0,93
120	0,86	1,02	0,96

L'administration du glucose par voie orale à la dose de 2 g/kg a entraîné une élévation de la glycémie chez tous les animaux prétraités aux doses de 150 et 300 mg/kg, de manière semblable au groupe témoins normal.

Au vu de ces résultats, on constate que l'EAQ de notre plante n'a montré aucun effet sur l'inhibition du transport du glucose.

CONCLUSION
ET
PERSPÉCTIVES

Conclusion et perspectives

Il s'agit de la première étude qui s'articule autour de la valorisation d'une plante endémique Saharienne de l'Algérie, *Echium trygorrhizum* Pomel ou encore appelée "Hamar" ou "Hmimiche. C'est une plante sauvage, originaire d'Afrique du Nord. Il est rapporté que cette espèce est utilisée dans la médecine populaire algérienne.

Les données de l'enquête ethnopharmacologique réalisée dans la région de khelil (wilaya Bordj BouArréridj) à l'aide d'un questionnaire a révélé que 25, 31% des gens utilisaient cette plante dans le traitement de la jaunisse (l'ictère), suivie du Diabète et une autre maladie rapportée par la population (herboristes et population générale) est leur utilisation pour traiter l'angine. Au cours de cette investigation, les principales formes de préparation étaient la décoction et la poudre, alors que Les racines sont le composant végétal le plus utilisé, suivi par la plante entière et en fin La partie aérienne.

Afin de vérifier son innocuité, les propriétés antioxydantes et thérapeutiques, nous avons préparé un décocté de la partie racinaire de cette plante selon la méthode traditionnelle en plus deux autres extraits bruts l'un méthanolique et l'autr hydrométhanolique

Les analyses quantitatives de composés phénoliques, de flavonoïdes et de tanins condensés contenus dans les extraits préparés à base de cette plante a permis d'estimés des niveaux modérés de ces métabolites secondaires.

L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante de nos extraits a été effectuée par différentes méthodes afin de déterminer les différents mécanismes par lesquels les extraits exercent leur effet antioxydant. Au regard de ce qui précède, nous concluons que la partie racinaire de notre plante possède un potentiel antioxydant et constitue une source prometteuse d'antioxydants naturels.

Le test d'hémolyse a été largement utilisé par les chercheurs pour mesurer la cytotoxicité de plusieurs herbes médicinales. Les extraits testés ont révélé une activité hémolytique mineure, avec un pourcentage inférieur à 5 %. De ce fait, à la dose de 1,5 mg/ml et après 30 min d'incubation avec les érythrocytes, ils présentent une toxicité relativement faible.

Dans Le présent travail, nous avons évalué l'innocuité de l'EAQ des racines cette plante chez les souris et les rats, en utilisant la toxicité orale aiguë et subaiguë pour fournir des données qui satisfait aux normes nécessaires pour approuver son utilisation.

Malgré des doses allant jusqu'à 5000 mg/kg, les animaux en toxicité aiguë n'ont montré aucune preuve d'effets néfastes ou de mortalité, donc la DL_{50} est supérieure à 5 000 mg/kg peuvent être considérées comme pratiquement non toxiques, Cependant, la prise répétée de l'extrait AQ pendant 28 jours sans effets toxicologiques indésirables ou de mortalité. Au cours de l'autopsie, nous avons détecté des nodules dans les parties distale et proximale du côlon. Cette observation n'a pas été liée au traitement, car il n'a été observé que chez le rat mâle ayant reçu la dose de 500 mg/kg et un rat de groupe témoin.

Au regard ainsi des résultats obtenus, la toxicité orale subaiguë, nous pouvons déduire que l'extrait aqueux de la racine de notre plante s'est avéré non toxique pour la majorité des paramètres testés, donc n'a pas d'influence sur la qualité et la fonction sanguine, ni sur les organes vitaux comme le foie et les reins.

Dans l'actuelle recherche, nous avons constaté une augmentation du nombre de globules rouges, de l'hémoglobine, et l'hématocrite chez tous les rats femelles traités à différentes doses. Cette augmentation, et dose dépendent, Les concentrations de bilirubine totale et de bilirubine directe ont diminué après le traitement, mais la baisse n'a pas été statiquement significative. Il serait intéressant à l'avenir d'approfondir l'évaluation de cette activité et d'examiner en détail les effets qui peuvent être engendrés. L'examen histologique des coupes de foie et de rein a révélé dès la présence de dommages dans les tissus du foie et des reins des animaux, des infiltrats cellulaires ont également été trouvés dans les foies mâles et femelles à 1000 mg/kg, ce qui pourrait être le résultat d'une inflammation du foie. la prise répétée de l'extrait AQ pourrait présenter une toxicité modérée qui se déduit d'une part par l'absence de mortalité des animaux d'expérimentation et d'autre part de la présence de dommages dans les tissus du foie et des reins des animaux traités a la dose élevée de 1000 mg/kg, ces dommages persistent chez le groupe satellite.

Du point de vue pharmacologique, nous avons procédé à la recherche de l'activité anti-hyperglycémique, des extraits. Les inhibiteurs naturels de l' α -glucosidase et de l' α -amylase est une approche attrayante pour le contrôle de l'hyperglycémie postprandiale, l'étude a montré que les extraits pouvaient réduire efficacement la glycémie post prandiale par l'inhibition des enzymes digestif l'alpha amylase et l' α -glucosidase.

Compte tenu ce qui précède, d'autres expérimentations doivent être entreprises afin de compléter et d'exploiter au maximum le potentiel thérapeutique de cette plante. Ces

résultats ne sont qu'un premier pas pour cela, nous envisageons de nombreuses perspectives en élargissant le panel des tests d'activité antioxydante par l'utilisation d'autres méthodes d'évaluation *in vitro* et *in vivo* et en faisant des études sur d'autres activités biologiques (la jaunisse, anti-inflammatoire.). Identifier les molécules Bioactives par des méthodes chromatographiques et exploiter ces molécules en biotechnologie pharmaceutique.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

References bibliographiques

Abirami, A., Nagarani, G., & Siddhuraju, P. (2014). In vitro antioxidant, anti-diabetic, cholinesterase and tyrosinase inhibitory potential of fresh juice from *Citrus hystrix* and *C. maxima* fruits. *Food Science and Human Wellness*, 3(1), 16-25.

Ahomadegbe, M. A., Ladekan, E. Y., Togbenou, N., Assogba, F., Agbonon, A., & Gbenou, J. (2018). Phytochemical and toxicity studies of the leaves of *Mangifera Indica*, *Cajanus cajan* and of *Piliostigma thonningii*, acclimated in Benin, used against diarrheal disease. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(2), 2971-2978.

Ahmed, E., Yaqoob, I., Hashem, I. A. T., Khan, I., Ahmed, A. I. A., Imran, M., & Vasilakos, A. V. (2017). The role of big data analytics in Internet of Things. *Computer Networks*, 129, 459-471.

Ahmad, W., Ijaz, B., Shabbiri, K., Ahmed, F., & Rehman, S. (2017). Oxidative toxicity in diabetes and Alzheimer's disease: mechanisms behind ROS/RNS generation. *Journal of biomedical science*, 24(1), 1-10.

Amroun, D., Hamoudi, M., Khennouf, S., Boutefnouchet, S., Harzallah, D., Amrane, M., Dahamna, S., 2021. In-vivo anti-inflammatory activity and safety assessment of the aqueous extract of Algerian *Erica arborea* L.(Ericaceae) aerial parts. *J. Ethnopharmacol.* 271, 113881.

Annapandian, V. M., & Rajagopal, S. S. (2017). Phytochemical evaluation and in vitro antioxidant activity of various solvent extracts of *Leucas aspera* (Willd.) Link leaves. *Free Radicals and Antioxidants*, 7(2), 166-171.

Anulika, N. P., Ignatius, E. O., Raymond, E. S., Osasere, O. I., & Abiola, A. H. (2016). The chemistry of natural product: Plant secondary metabolites. *Int. J. Technol. Enhanc. Emerg. Eng. Res*, 4(8), 1-9.

Aouachria S., Boumerfeg S., Benslama A., Benbacha F., Guemmez T., Khennouf S., Arrar L., Baghiani A., 2017. Acute. sub-acute toxicity and antioxidant activities (*in-vitro and in-vivo*) of *Reichardia picroides* crude extract. *J. Ethnopharmacol.* 208. 105–116.

Attah, A. F., Moody, J. O., Sonibare, M. A., Salahdeen, H. H., Akindele, O. O., Nnamani, P. O., ... & Raji, Y. (2020). Aqueous extract of *Moringa oleifera* leaf used in Nigerian ethnomedicine alters conception and some pregnancy outcomes in Wistar rat. *South African Journal of Botany*, 129, 255-262.

Awuchi, C. G., Igwe, V. S., & Echeta, C. K. (2019). The functional properties of foods and flours. *International Journal of Advanced Academic Research*, 5(11), 139-160.

Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99(1), 191-203.

Baudoux, T., & Nortier, J. L. (2017). Nephrotoxicity of herbal products. In *Toxicology of Herbal Products* (pp. 307-344). Springer, Cham.

- Behl, T., Bungau, S., Kumar, K., Zengin, G., Khan, F., Kumar, A., ... & Mosteanu, D. E. (2020). Pleotropic effects of polyphenols in cardiovascular system. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *130*, 110714.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, *181*(4617), 1199-1200.
- Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.
- Bresser-Pereira, L. C., Roses, P., de Pablo, E., Legrand, V., & Fillon, R. (2009). Mondialisation et compétition.
- Bouaziz A., Khennouf S., Abu Zarga M., Abdalla S., Baghiani A., Charef N., 2015. Phytochemical analysis, hypotensive effect and antioxidant properties of *Myrtus communis* L. growing in Algeria. *Res. J. Biol. Chem. Sci.* *5*(1) : 19-28.
- Bruneton, J. P., Liberati, S., Sindoni, L., & Famaey, B. (2009). Reconciling MOND and dark matter. *Journal of Cosmology and Astroparticle Physics*, *2009*(03), 021.
- Byers, J. E., McDowell, W. G., Dodd, S. R., Haynie, R. S., Pintor, L. M., & Wilde, S. B. (2013). Climate and pH predict the potential range of the invasive apple snail (*Pomacea insularum*) in the southeastern United States. *PLoS One*, *8*(2), e56812.
- Chanda S., Parekh J., Vaghasiya Y., Dave R., Baravalia Y., Nair R., 2015. Medicinal plants from traditional use to toxicity assessment: a review. *International journal of pharmaceutical sciences and research.* *6* (7): 2652-2670.
- Cheyrier, V., Comte, G., Davies, K. M., Lattanzio, V., & Martens, S. (2013). Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant physiology and biochemistry*, *72*, 1-20.
- Chinedu, E., Arome, D., & Ameh, F. S. (2013). A new method for determining acute toxicity in animal models. *Toxicology international*, *20*(3), 224.
- Čolak, E., & Majkić-Singh, N. (2009). The effect of hyperglycemia and oxidative stress on the development and progress of vascular complications in type 2 diabetes. *Journal of Medical Biochemistry*, *28*(2), 63-71.
- Del Río, L. A. (2015). ROS and RNS in plant physiology: an overview. *Journal of Experimental Botany*, *66*(10), 2827-2837.
- Denny, K. H., & Stewart, C. W. (2013). Chapter 5-Acute, sub-acute, subchronic and chronic general toxicity testing for preclinical drug development.
- Dong, C., Loy, C. C., & Tang, X. (2016, October). Accelerating the super-resolution convolutional neural network. In *European conference on computer vision* (pp. 391-407). Springer, Cham.
- Dubrovina, A. S., & Kiselev, K. V. (2017). Regulation of stilbene biosynthesis in plants. *Planta*, *246*(4), 597-623.

Durazzo, A., Lucarini, M., Souto, E. B., Cicala, C., Caiazzo, E., Izzo, A. A., ... & Santini, A. (2019). Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. *Phytotherapy Research*, 33(9), 2221-2243.

El-Kaissi, S., & Sherbeeni, S. (2011). Pharmacological management of type 2 diabetes mellitus: an update. *Current diabetes reviews*, 7(6), 392-405.

El Khawand, T., Courtois, A., Valls, J., Richard, T., & Krisa, S. (2018). A review of dietary stilbenes: Sources and bioavailability. *Phytochemistry Reviews*, 17(5), 1007-1029.

El-Saber Batiha, G., Magdy Beshbishy, A., G. Wasef, L., Elewa, Y. H., A. Al-Sagan, A., Abd El-Hack, M. E., ... & Prasad Devkota, H. (2020). Chemical constituents and pharmacological activities of garlic (*Allium sativum* L.): A review. *Nutrients*, 12(3), 872.

Farag, M.R., Alagawany, M., 2018. Erythrocytes as a biological model for screening of xenobiotics toxicity. *Chem. Biol. Interact.* 279, 73–83.

Fatima, N., & Nayeem, N. (2016). Toxic effects as a result of herbal medicine intake. *Toxicology-New Aspects to This Scientific Conundrum. London, UK: InTech Open*, 193-207.

Frenzel, C., & Teschke, R. (2016). Herbal hepatotoxicity: clinical characteristics and listing compilation. *International journal of molecular sciences*, 17(5), 588.

Fiorucci, S., Distrutti, E., Cirino, G., & Wallace, J. L. (2006). The emerging roles of hydrogen sulfide in the gastrointestinal tract and liver. *Gastroenterology*, 131(1), 259-271.

Ghosh D., 2015. Tannins from foods to combat diseases. *Int J Pharm Res Rev.* 4 (5): 40-44.

Górniak, I., Bartoszewski, R., & Króliczewski, J. (2019). Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry Reviews*, 18(1), 241-272.

Habib, N., McCabe, C., Medina, S., Varshavsky, M., Kitsberg, D., Dvir-Szternfeld, R., & Schwartz, M. (2020). Disease-associated astrocytes in Alzheimer's disease and aging. *Nature neuroscience*, 23(6), 701-706.

Haddouchi, F., Chaouche, T. M., & Halla, N. (2016). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*, 1-9.

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10).

Hanhineva, K., Törrönen, R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkänen, H., & Poutanen, K. (2010). Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. *International journal of molecular sciences*, 11(4), 1365-1402.

Harborne, J. B., & Williams, C. A. (2000). The phytochemical richness of the Iridaceae and its systematic significance. *Annali di botanica*, 58.

He, J. H. (2019). Lagrange crisis and generalized variational principle for 3D unsteady flow. *International Journal of Numerical Methods for Heat & Fluid Flow*.

Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3-6.

Ibrahim, A. S., Khaled, H. M., Mikhail, N. N., Baraka, H., & Kamel, H. (2014). Cancer incidence in Egypt: results of the national population-based cancer registry program. *Journal of cancer epidemiology*, 2014.

Ifeoma, O., & Oluwakanyinsola, S. (2013). Screening of herbal medicines for potential toxicities. *New insights into toxicity and drug testing*, 244, 63-88.

Jiang, L., Yu, Y., Li, Y., Yu, Y., Duan, J., Zou, Y., et al., 2016. Oxidative damage and energy metabolism disorder contribute to the hemolytic effect of amorphous silica nanoparticles. *Nanoscale Res. Lett.* 11 (1), 1–12.

Kausar, A., Iqbal, M., Javed, A., Aftab, K., Bhatti, H. N., & Nouren, S. (2018). Dyes adsorption using clay and modified clay: a review. *Journal of Molecular Liquids*, 256, 395-407.

Kansole, M. M. R., Yaye, K., Samuel, L., Benjamin, L. Y., Dimanche, M., Alexis, S., & Madina, P. (2021). Mining Activities and Sustainable Development Issues in Burkina Faso (West Africa). *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 11, 627-638.

Khodadadi, S., & Rafieian-Kopaei, M. (2016). Herbs, health and hazards; a nephrology viewpoint on current concepts and new trends. *Annals of Research in Antioxidants*, 1(1).

Kim D.W., Lee S.M., Woo H.S., Park, J.Y., Ko B.S., Heo J.Lee, W. S., 2016. Chemical constituents and anti-inflammatory activity of the aerial parts of *Curcuma longa*. *Journal of Functional Foods*, 26: 485-493.

Koch, W. (2019). Dietary polyphenols important non-nutrients in the prevention of chronic noncommunicable diseases. A systematic review. *Nutrients*, 11(5), 1039.

Li X., Luo Y., Wang L., Li, Y., Shi Y., Cui Y., Xue M., 2010. Acute and subacute toxicity of ethanol extracts from *Salvia przewalskii* Maxim in rodents. *Journal of ethnopharmacologie*, 131(1), 110-115.

Li, Y., Kandhare, A. D., Mukherjee, A. A., & Bodhankar, S. L. (2019). Acute and sub-chronic oral toxicity studies of hesperidin isolated from orange peel extract in Sprague Dawley rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 105, 77-85.

Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., ... & Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging*, 13, 757.

Liyana-Pathirana, C. M., & Shahidi, F. (2006). Importance of insoluble-bound phenolics to antioxidant properties of wheat. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(4), 1256-1264.

Lugasi, A. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta biologica szegediensis*, 47(1-4), 119-125.

Macáková, K., Kolečkář, V., Cahlíková, L., Chlebek, J., Hošťálková, A., Kuča, K., ... & Opletal, L. (2014). Tannins and their influence on health. In *Recent advances in medicinal chemistry* (pp. 159-208). Elsevier.

- Maheshwari, A., Kumar, N., & Mahantshetty, U. (2016). Gynecological cancers: a summary of published Indian data. *South Asian journal of cancer*, 5(03), 112-120.
- Mensah, G. A., Roth, G. A., & Fuster, V. (2019). The global burden of cardiovascular diseases and risk factors: 2020 and beyond. *Journal of the American College of Cardiology*, 74(20), 2529-2532.
- Moe, M., & Di Stefano, R. (2017). Mind your Ps and Qs: the interrelation between period (P) and mass-ratio (Q) distributions of binary stars. *The Astrophysical Journal Supplement Series*, 230(2), 15.
- Mukinda, J. T., & Syce, J. A. (2007). Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in rodents. *Journal of ethnopharmacology*, 112(1), 138-144.
- Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A.M., V, Böhme, V., 2010. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Sci. Technol. (Lebensmittel-Wissenschaft –Technol.)* 43, 992–999.
- Mykhailenko, O., Kovalyov, V., Goryacha, O., Ivanauskas, L., & Georgiyants, V. (2019). Biologically active compounds and pharmacological activities of species of the genus *Crocus*: A review. *Phytochemistry*, 162, 56-89.
- Naikoo, M. I., Dar, M. I., Raghieb, F., Jaleel, H., Ahmad, B., Raina, A., ... & Naushin, F. (2019). Role and regulation of plants phenolics in abiotic stress tolerance: An overview. *Plant signaling molecules*, 157-168.
- Naushad, M., Sharma, G., & Alothman, Z. A. (2019). Photodegradation of toxic dye using Gum Arabic-crosslinked-poly (acrylamide)/Ni (OH) 2/FeOOH nanocomposites hydrogel. *Journal of Cleaner Production*, 241, 118263.
- Narkhede, M. B., Ajimire, P. V., Wagh, A. E., Mohan, M., & Shivashanmugam, A. T. (2011). In vitro antidiabetic activity of *Caesalpinia digyna* (R.) methanol root extract. *Asian journal of plant science and research*, 1(2), 101-106.
- Nasri, R., Younes, I., Jridi, M., Trigui, M., Bougateg, A., Nedjar-Arroume, N., & Karra-Châabouni, M. (2013). ACE inhibitory and antioxidative activities of Goby (*Zosterisessor ophiocephalus*) fish protein hydrolysates: effect on meat lipid oxidation. *Food Research International*, 54(1), 552-561.
- Nunes, V., & Mendez-Sanchez, N. (2020). Impact of herbal and dietary supplements causing drug-induced liver injury in Latin America. *Clinical Liver Disease*, 16(3), 83.
- OCDE. 2001. Guidelines for the testing of chemicals. Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method. Test No. 423. 14.
- OCDE. 2008. Guidelines for the testing of chemicals. Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents. Test No. 407. 13.
- Ofori, M., Danquah, C. A., Ossei, P. P. S., Rahamani, G., Asamoah, W. A., Ativui, S., & Doe, P. (2021). Acute and sub-acute toxicity studies of the chloroform extract of *Crinum asiaticum* bulbs in mice. *South African Journal of Botany*, 143, 133-140.

Okoko, T., & Ere, D. (2012). Reduction of hydrogen peroxide-induced erythrocyte damage by *Carica papaya* leaf extract. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 2(6), 449-453.

Okpala, L. C., & Okoli, E. C. (2011). Nutritional evaluation of cookies produced from pigeon pea, cocoyam and sorghum flour blends. *African Journal of Biotechnology*, 10(3), 433-438.

Ong, K. C., & Khoo, H. E. (2000). Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats. *Life sciences*, 67(14), 1695-1705.

Papachristoforou, E., Lambadiari, V., Maratou, E., & Makrilakis, K. (2020). Association of glycemic indices (hyperglycemia, glucose variability, and hypoglycemia) with oxidative stress and diabetic complications. *Journal of diabetes research*, 2020.

Patil, R. A., & Makwana, A. B. (2015). Anti-hyperbilirubinemic and wound healing activity of aqueous extract of *Calotropis procera* leaves in Wistar rats. *Indian journal of pharmacology*, 47(4), 398.

Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian journal of clinical biochemistry*, 30(1), 11-26.

Pinent, M., Blay, M., Blade, M. C., Salvado, M. J., Arola, L., & Ardevol, A. (2004). Grape seed-derived procyanidins have an antihyperglycemic effect in streptozotocin-induced diabetic rats and insulinomimetic activity in insulin-sensitive cell lines. *Endocrinology*, 145(11), 4985-4990.

Pisoschi, A. M., Pop, A., Iordache, F., Stanca, L., Predoi, G., & Serban, A. I. (2021). Oxidative stress mitigation by antioxidants-an overview on their chemistry and influences on health status. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209, 112891.

Poulsen, M. M., Vestergaard, P. F., Clasen, B. F., Radko, Y., Christensen, L. P., Stødkilde-Jørgensen, H., ... & Jørgensen, J. O. L. (2013). High-dose resveratrol supplementation in obese men: an investigator-initiated, randomized, placebo-controlled clinical trial of substrate metabolism, insulin sensitivity, and body composition. *Diabetes*, 62(4), 1186-1195.

Brondani, M. A., Alan, R., & Donnelly, L. (2017). Stigma of addiction and mental illness in healthcare: The case of patients' experiences in dental settings. *PloS one*, 12(5), e0177388.

Quézel, P., & Santa, S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.

Rahman, I. A., & Padavettan, V. (2012). Synthesis of silica nanoparticles by sol-gel: size-dependent properties, surface modification, and applications in silica-polymer nanocomposites a review. *Journal of Nanomaterials*, 2012.

Ramesh T., Lee K., Lee H.W., Kim, S.-J. 2009. Subacute toxicological evaluation of *Asiasari radix* methanol extract. *Drug and Chemical Toxicology*. 32 (3): 243–251.

- Ramesh T., Lee K., Lee H.W., Kim, S. J. 2007. Acute Oral Toxicity Study of Asiasari radix Extract in Mice. *International Journal of Toxicology*. 26 (3): 247–251.
- Rizvi, S. I., & Zaid, M. A. (2001). Intracellular reduced glutathione content in normal and type 2 diabetic erythrocytes: effect of insulin and (-) epicatechin. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 52(3).
- Rodríguez-García, C., Sánchez-Quesada, C., & Gaforio, J. J. (2019). Dietary flavonoids as cancer chemopreventive agents: An updated review of human studies. *Antioxidants*, 8(5), 137.
- Russell, W. R., Gratz, S. W., Duncan, S. H., Holtrop, G., Ince, J., Scobbie, L., ... & Flint, H. J. (2011). High-protein, reduced-carbohydrate weight-loss diets promote metabolite profiles likely to be detrimental to colonic health. *The American journal of clinical nutrition*, 93(5), 1062-1072.
- Sabu, M. C., & Kuttan, R. (2002). Anti-diabetic activity of medicinal plants and its relationship with their antioxidant property. *Journal of ethnopharmacology*, 81(2), 155-160.
- Saganuwan S. A., 2017. Toxicity studies of drugs and chemicals in animals: an overview. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*. 20 (4): 291–318.
- Salemkour, N., Chalabi, K., Farhi, Y., & Belhamra, M. (2012). Inventaire floristique de la région des Ziban. *Journal Algérien des Régions Arides*, 9, 10-11.
- Saltveit, M. (2018). Pinking of lettuce. *Postharvest Biology and Technology*, 145, 41-52.
- Saxena, A., Tripathi, R. M., Zafar, F., & Singh, P. (2012). Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous solution of Ficus benghalensis leaf extract and characterization of their antibacterial activity. *Materials letters*, 67(1), 91-94.
- Schäfer, A., & Högger, P. (2007). Oligomeric procyanidins of French maritime pine bark extract (Pycnogenol®) effectively inhibit α -glucosidase. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 77(1), 41-46.
- Schroeter, H., Boyd, C., Spencer, J. P., Williams, R. J., Cadenas, E., & Rice-Evans, C. (2002). MAPK signaling in neurodegeneration: influences of flavonoids and of nitric oxide. *Neurobiology of aging*, 23(5), 861-880.
- Schofield, P., Mbugua, D. M., & Pell, A. N. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. *Animal feed science and technology*, 91(1-2), 21-40.
- Semwal, D. K., Semwal, R. B., Combrinck, S., & Viljoen, A. (2016). Myricetin: A dietary molecule with diverse biological activities. *Nutrients*, 8(2), 90.
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of functional foods*, 18, 820-897.

Shalaby E.A et Shanab S.M., 2013. Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*. *Indian journal of Geo-marine Sciences*, 42 (5): 556-564.

Sharma, A., Shahzad, B., Rehman, A., Bhardwaj, R., Landi, M., & Zheng, B. (2019). Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. *Molecules*, 24(13), 2452.

Subramanian, S., Trischler, A., Bengio, Y., & Pal, C. J. (2018). Learning general purpose distributed sentence representations via large scale multi-task learning. *arXiv preprint arXiv:1804.00079*.

Sun, B., Ricardo-da-Silva, J.M., Spranger, I., 1998. Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *J. Agric. Food Chem.* 46 (10), 4267–4274.

Tang, P. M. K., Nikolic-Paterson, D. J., & Lan, H. Y. (2019). Macrophages: versatile players in renal inflammation and fibrosis. *Nature Reviews Nephrology*, 15(3), 144-158.

Teschke, R., & Eickhoff, A. (2015). Herbal hepatotoxicity in traditional and modern medicine: actual key issues and new encouraging steps. *Frontiers in Pharmacology*, 6, 72.

Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H. A., & Sokmen, A. (2006). Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chemistry*, 95(2), 200-204.

Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., Ulubelen, A., 2007. A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chem.* 103 (3), 816–822.

Toudji, A. G., Djeri, B., Karou, S. D., Tigossou, S., Ameyapoh, Y., & De Souza, C. (2017). Prévalence des souches d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi isolées au Togo et de leur sensibilité aux antibiotiques. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(3), 1165-1177.

Ugwah-Oguejiofor, C. J., Okoli, C. O., Ugwah, M. O., Umaru, M. L., Ogbulie, C. S., Mshelia, H. E., ... & Njan, A. A. (2019). Acute and sub-acute toxicity of aqueous extract of aerial parts of *Caralluma dalzielii* NE Brown in mice and rats. *Heliyon*, 5(1), e01179.

Véla, E., & Benhouhou, S. (2007). Évaluation d'un nouveau point chaud de biodiversité végétale dans le Bassin méditerranéen (Afrique du Nord). *Comptes rendus biologies*, 330(8), 589-605.

Velayutham, K., Rahuman, A. A., Rajakumar, G., Santhoshkumar, T., Marimuthu, S., Jayaseelan, C., ... & Elango, G. (2012). Evaluation of *Catharanthus roseus* leaf extract-mediated biosynthesis of titanium dioxide nanoparticles against *Hippobosca maculata* and *Bovicola ovis*. *Parasitology research*, 111(6), 2329-2337.

Vessal, M., Hemmati, M., & Vasei, M. (2003). Antidiabetic effects of quercetin in streptozocin-induced diabetic rats. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 135(3), 357-364.

Vincent, H. K., & Taylor, A. G. (2006). Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *International journal of obesity*, 30(3), 400-418.

Vysakh, A., Jayesh, K., Helen, L. R., Jyothis, M., & Latha, M. S. (2020). Acute oral toxicity and anti-inflammatory evaluation of methanolic extract of *Rotula aquatica* roots in Wistar rats. *Journal of ayurveda and integrative medicine*, 11(1), 45-52.

Wang, W., Zhao, Y., Bai, H., Zhang, T., Ibarra-Galvan, V., & Song, S. (2018). Methylene blue removal from water using the hydrogel beads of poly (vinyl alcohol)-sodium alginate-chitosan-montmorillonite. *Carbohydrate polymers*, 198, 518-528.

Wu, D., Zhou, J., Creyer, M. N., Yim, W., Chen, Z., Messersmith, P. B., & Jokerst, J. V. (2021). Phenolic-enabled nanotechnology: Versatile particle engineering for biomedicine. *Chemical Society Reviews*, 50(7), 4432-4483.

Xu, X., Wen, X., Yu, G., Chen, G., Klinger, Y., Hubbard, J., & Shaw, J. (2009). Coseismic reverse-and oblique-slip surface faulting generated by the 2008 Mw 7.9 Wenchuan earthquake, China. *Geology*, 37(6), 515-518.

Xu, X., Wu, J., Jia, L., Tan, M., Nguyen, T. G., Chu, S. T., ... & Moss, D. J. (2018). Continuously tunable orthogonally polarized RF optical single sideband generator based on micro-ring resonators. *Journal of Optics*, 20(11), 115701.

Xu X., Zhu R., Ying J., Zhao M., Wu X., Cao G., Wang K., 2020. Nephrotoxicity of herbal medicine and its prevention. *Frontiers in pharmacology*. 11, 569551.

Yabrir, B., Touati, M., Adli, B., Bezini, E., Ghafoul, M., Khalifa, S., & Guit, B. (2018). Therapeutic use of spontaneous medicinal flora from an extreme environment (dune cordon) in Djelfa region, Algeria. *J Pharm Pharmacogn Res*, 6(5), 358-373.

Yu, Z., Li, Q., Wang, J., Yu, Y., Wang, Y., Zhou, Q., & Li, P. (2020). Reactive oxygen species-related nanoparticle toxicity in the biomedical field. *Nanoscale research letters*, 15(1), 1-14.

Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese medicine*, 13(1), 1-26.

Zhang, J., Onakpoya, I. J., Posadzki, P., & Eddouks, M. (2015). The safety of herbal medicine: from prejudice to evidence. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.

Zhang, Y., Murugesan, P., Huang, K., & Cai, H. (2020). NADPH oxidases and oxidase crosstalk in cardiovascular diseases: novel therapeutic targets. *Nature Reviews Cardiology*, 17(3), 170-194.

Annexes

Annexe 1

Fiche questionnaire

La plante: *Echium trygorrhizum* Pomel

Connaissez vous cette plante: Oui Non

– La meilleure période de sa cueillette: Printemps Eté automne
Hiver Toute l'année

– Parties utilisées: Tiges Fleurs Fruits Graine
Ecorce Feuilles Plante entière

– Quelles type de maladies traite cette plante ?

Pathologies digestives Pathologies respiratoires Fièvre Rhumatisme Diabète Autre
maladies

– Mode de préparation: Poudre Infusion Décoction Macération
Inhalation Pommade Lotion Autres

– Dose utilisée: Dose précise Dose non précise

– Mode d'administration: Voie orale Application externe
Voie orale et application externe

– Posologie (nombre de prise par jour): 1 fois/jour 2 fois/jour 3 fois/jour Autres

– Durée d'utilisation (durée de traitement): Moins d'une semaine Une semaine
Deux semaines Un mois
Jusqu'à la guérison

– Etat d'utilisation: Sec Frais Sec et frais

– Utilisation: Seule Mixte

– Effets secondaires:

– Toxicité:

– Précautions d'emploi:

تعتبر الدراسة الأولى التي تهتم بشكل خاص بالنبات الطبي *Echium trygorrhizum Pomel* أو ما يعرف محليا " الحمار " أو " حمميش " ، والذي يستخدم في الطب التقليدي لتأثيراته الفعالة ضد العديد من الأمراض. تحقيقاً لهذه الغاية ، يمثل عملنا في توثيق الاستخدامات التقليدية لهذا النبات ، من خلال جمع كل المعلومات الخاصة به عن طريق اشتباين ، كما فُنا بدراسة السمية وتقييم النشاط الدوائي والتأثير المضاد للأكسدة للمستخلصات. وفقاً لنتائج المسح العرقي الدوائي ، وجد أن الاستخدام الطبي لهذا النبات هو فقط الذي تم الإعلان عنه من قبل المستطلعين لدينا ، وقد استشهد جميع المستجيبين لدينا بثلاث مؤشرات علاجية محتملة لهذا النوع ، مع إشارة ملائمة في علاج اليرقان يبدو أن مؤشرات أخرى أكثر إثارة للاهتمام تظهر بشكل أقل من هذه الدراسة ، مثل الاستخدام المضاد لمرض السكري ، والذي تم الاستشهاد به في 28.33٪ فقط من الحالات ، وبالمثل لعلاج الذبحة الصدرية ، إلى جانب الجذور هي الجزء الأكثر استخداماً في النبات. تم تحديد النشاط المضاد للأكسدة في المستخلصات المختلفة من خلال مجموعة من الاختبارات مثل اختبار DPPH و ABTS واختبار CUPRAC وبيتاكاروتين. أظهرت النتائج أن المستخلصات تمتلك نشاطاً مضاداً للأكسدة يمكن أن يعزى إلى نوعية وتركيب المركبات الفينولية والفلافونويدية. أظهر اختبار السمية الحادة للمستخلص المائي وجرعتي 2000 مغ/كغ و 5000 مغ/كغ عدم إحداث وفيات ولا آثار جانبية مما يعني أن الجرعة المميته أكبر من 5000 مغ /كغ. كما أظهر التناول المتكرر للمستخلص المائي لمدة 28 يوماً زيادة معنوية في مستويات كريات الدم الحمراء في إناث الجرذان بينما لم يلاحظ أي تغيرات في المؤشرات البيوكيميائية والدموية الأخرى. لوحظ تلف في أنسجة الكبد والكلى للفئران من كلا الجنسين التي عولجت بجرعات 500 و 1000 مغ /كغ من للمستخلص المائي كما أظهرت الدراسة المخبرية لنشاط المستخلصات على انزيم الاميلاز و الجليكوزيداز تأثيرها التثبيطي على هذين الإنزيمين. يتعلق التأثير المحمل المضاد لارتفاع السكر في الدم لدى الفئران عن طريق الفم بشكل أساسي بالمستخلص المائي للجذور والمخضر بالطريقة التقليدية أي الغلي. في البداية وكعجربة أولى تم اختبار تأثير المستخلص المائي على مستويات الجلوكوز في الدم لدى جرذان سليمة في الحالة العادية (اختبار تحمّل الجلوكوز). بينما في التجربة الثانية ، تم اختبار تحمل السكرور القوي. تشير النتائج إلى أن التجربة الثانية أظهرت تأثيراً خافضاً لسكر الدم و الذي لوحظ في فترة زمنية تتراوح من 30 إلى 90 دقيقة بعد تحميل الكربوهيدرات. لم تظهر التجربة الأولى أي انخفاض في مستويات السكر في الدم. تؤكد النتائج التي تم الحصول عليها مخبرياً فعالية الاستخدام التقليدي للمستخلص المائي لهذه النبتة و المتمثل في خفض لفراط سكر الدم ، وهذا يتأثيرها التثبيطي على انزيم الاميلاز و الجليكوزيداز يمكن أن تكون نبتة الحمار مصدراً للمركبات الطبيعية التي يمكن دمجها في نظامنا الغذائي والتطبيقات الصيدلانية.

الكلمات المفتاحية: مسح نباتي دوائي ، التأثير المضاد للأكسدة ، المركبات الفينولية ، السمية الحادة وفوق الحادة ، الاميلاز ، الجليكوزيداز

ABSTRACT

This is the first study to focus on the medicinal plant *Echium trygorrhizum Pomel* or also called "Hamar" or "Hmimiche", traditionally used for its useful effects against several diseases. To this end, our work consists in documenting its traditional uses, by establishing the toxicological profile, evaluating the pharmacological activity and the antioxidant effect of the extracts. According to the results of the ethnopharmacological survey, it was found that only the medicinal use of this plant was declared by our respondents, therapeutically three potential therapeutic indications of this species were cited by all our respondents, with a notable indication in the treatment of jaundice. Other more interesting indications seem to emerge less from this study, such as anti-diabetic use, which was cited in only 28.33% of cases, similarly for the treatment of angina, besides the roots are the most used part of the plant. The antioxidant activity of the different extracts has been determined by the combination of several tests such as DPPH, ABTS, reducing power, cuprec, and β -carotene bleaching test. The results showed that the extracts possess antioxidant activity which can be attributed to the quality and quantity of phenolic and flavonoid compounds. The toxicological assessment of AQ demonstrated that their acute administration induces neither mortality nor adverse effects indicating that the LD₅₀ is greater than 5000 mg/kg. Repeated administration of the AQ extract for 28 days showed a significant increase in erythrocyte levels in female rats while no alterations in other biochemical and hematological parameters were observed. Histopathological alteration was observed in the liver and kidney tissues of rats of both sexes treated with the 500 and 1000 mg/kg doses of the AQ extract. The *in-vitro* study of the activity of the extracts on α -amylase and α -glucosides showed its inhibitory effect on both these enzymes. The potential anti-hyperglycemic effect in vivo in rats by the oral route essentially concerned the total aqueous extract of the roots obtained by the traditional method (decoction). In the first procedure, normal animals were tested for oral glucose tolerance after gavage with the extract. While in the second procedure, the effect of the extract was tested in normal rats, following an oral sucrose tolerance test. The results indicate that only the second procedure showed an antihyperglycemic effect observed in a time interval of 30 to 90 minutes after carbohydrate loading. The first procedures did not show any decrease in blood glucose levels. On the light of the previous results, the plant extract has a remarkable antihyperglycemic activity, which was manifested in our experiments, by a decrease in hyperglycemia induced by an oral sucrose load and the inhibitory effect on both α -amylase and α -glucosides. This plant can be considered as a source for natural compounds that can be incorporated into our diet and pharmaceutical applications.

Keywords: ethnopharmacological survey, Phenolic compounds, antioxidant activity, acute and Sub-acute toxicity, α -amylase, α -glucosides.