



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



**UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCCEN**

# MEMOIRE

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

**MASTER EN CHIMIE**

Spécialité : Chimie des Produits Naturels

Par :

**TRIQUI Ibtihal**  
**KHEDIM Niemat El Kawther**

Sur le thème

---

**Effet protecteur de l'HE de *Salvia officinalis* L. et de  
l'HE de *Curcuma longa* L. sur la membrane du globule  
rouge contre le Glucantime.**

---

Soutenu publiquement le **31 Mai 2023** à Tlemccen devant le jury composé de :

Mr ALLALI Hocine	Professeur	Université de Tlemccen	Président
Mme TABET ZATLA Amina	Professeur	Université de Tlemccen	Encadrante
Mr DIB Mohammed El Amine	Professeur	Université de Tlemccen	Examineur
Mme BRIKCI NIGASSA Nawel	Professeur	Université de Tlemccen	Co-encadrante

## ***Remerciement***

*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

*Nos remerciements s'adressent à toute l'équipe du laboratoire des substances naturelles et bioactives (LASNABIO), pour la totale confiance qu'ils nous ont accordée.*

*Nous tenons à remercier Dr ZIANI Safaa de sa gentillesse, son amabilité et de ses précieux conseils.*

*Nos vifs remerciement à Dr BENAOUA de nous avoir fait profiter de son expérience.*

*Nous voudrions exprimer notre reconnaissance envers MEHDAOUI Walid et BOUDGHENE STAMBOULI Mohamed El Hadi.*

*Nous ne saurions entamer ce sujet sans exprimer notre gratitude à professeur ALLALI Hocine d'avoir accepté la présidence du jury.*

*Nous tenons à remercier sincèrement notre examinateur professeur DIB Mohamed El Amine pour son temps consacré à évaluer ce modeste travail.*

*Enfin, nous adressant nos remerciements à notre encadrante Dr TABET ZATLA Amina et notre co-encadrante Dr BRIKCI NIGASSA Nawel.*

# *Dédicace*

*A ma petite famille, Papa, Maman, Manar, Nadège, Rayhane, Yasmine,*

*A ma meilleure amie Kawther et sa famille,*

*A la mémoire de Mima et Papi,*

*Triqui.i*

## ***Dédicace***

*Je dédie en premier ce mémoire à mon père, mon exemple éternel Muhammed Ali. Tu m'as soutenu tout au long de ma vie et particulièrement au cours de ce travail. Je t'aime Abi.*

*A ma mère,*

*la personne qui se sacrifie chaque jours pour me voire réussir. Je t'aime Oumi.*

*A mes chères sœurs Zahra, Firdaws et Soundous, à mes chers frères Oussama, Omar et Anes pour votre soutien et encouragement. Je vous souhaite bonheur, réussite et santé Inshallah.*

*A ma deuxième famille,*

*Tonton Benaouda, Tata Amel, mes sœurs Manar, Nadège, Rayhane et la petite Yasmine. A mes meilleures Houda et Hanaa*

*A ma chère amie, ma complice, ma binôme Triqui Ibtihal. J'ai pris un énorme plaisir à réaliser ce travail avec. Les nuits qu'on a passé ensemble à réviser, s'entraider et à surmonter les difficultés me resteront gravées à jamais.*

*Sans oublier à mon petit trésor Rahim, que dieu te protège.*

*A la mémoire de mon grand-père Hbib.*

*Je vous aime fort !*

*KN. Khedim*

## TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations.....	IV
Glossaire des termes scientifiques.....	V
Liste des tableaux .....	VI
Liste des figures .....	VII
<b>INTRODUCTION GENERALE .....</b>	<b>1</b>
<b>SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>3</b>
<b>CHAPITRE I : PRESENTATION DES ESPECES ETUDIEES .....</b>	<b>4</b>
<b>I.1. Etude botanique de <i>Salvia officinalis</i> L.....</b>	<b>5</b>
I.1.1. Classification phylogénétique .....	6
I.1.2. Répartition géographique.....	6
I.1.3. Description botanique .....	6
<b>I.2. Etude botanique de <i>Curcuma longa</i> L.....</b>	<b>7</b>
I.2.1 Classification phylogénétique .....	8
I.2.2 Répartition géographique .....	8
I.2.3. Description botanique .....	8
<b>CHAPITRE II : HUILES ESSENTIELLES .....</b>	<b>10</b>
<b>II.1. Qu'est-ce qu'une huile essentielle ? .....</b>	<b>11</b>
<b>II.2. Composition chimique des huiles essentielles .....</b>	<b>11</b>
<b>II.3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles .....</b>	<b>13</b>
<b>II.4. Principaux constituants des HEs du genre <i>Salvia</i> .....</b>	<b>14</b>
<b>II.5. Principaux constituants des HEs du genre <i>Curcuma</i>.....</b>	<b>15</b>
<b>CHAPITRE III : GLUCANTIME ET HEMOLYSE DES GLOBULES ROUGES .....</b>	<b>16</b>
<b>III.1. Glucantime .....</b>	<b>17</b>

III.1.1. Présentation de Glucantime .....	17
III.1.1.1. Dénomination du médicament.....	17
III.1.1.2. Classe thérapeutique.....	17
III.1.1.3. Structure chimique .....	17
III.1.1.4. Indication.....	17
III.1.1.5. Mode d'action .....	18
III.1.1.6. Effets indésirables .....	18
III.1.2. Toxicité de Glucantime .....	18
<b>III.2. Hémolyse.....</b>	<b>20</b>
III.2.1. Définition de l'hémolyse pathologique .....	20
III.2.2. Marqueurs biologiques de l'hémolyse.....	20
<b>ETUDE EXPERIMENTALE.....</b>	<b>22</b>
<b>MATERIEL ET METHODE.....</b>	<b>23</b>
<b>1. Problématique .....</b>	<b>24</b>
<b>2. Objectif de l'étude .....</b>	<b>24</b>
<b>3. Type de l'étude .....</b>	<b>24</b>
<b>4. Lieu et période de l'étude .....</b>	<b>24</b>
<b>5. Analyse des données.....</b>	<b>24</b>
<b>6. Matériels.....</b>	<b>25</b>
6.1. Réactifs et solutions de travail .....	25
6.2. Matériel végétal.....	25
6.3. Matériel biologique .....	26
6.4. Matériel du laboratoire .....	26
<b>7. Méthodes .....</b>	<b>27</b>
7.1. Extraction des huiles essentielles .....	27
7.2. Caractérisation organoleptique des HEs .....	28
7.3. Evaluation de l'effet protecteur des HEs extraites contre le Glucantime .....	28

7.3.1. Préparation des solutions de travail.....	28
7.3.2. Préparation de l'échantillon de travail .....	29
7.3.3. Mode opératoire .....	30
<b>RESULTATS .....</b>	<b>36</b>
<b>1. Calcul des rendements .....</b>	<b>37</b>
<b>2. Résultat de la caractérisation organoleptique des HEs .....</b>	<b>37</b>
<b>3. Résultat de l'évaluation de l'activité antihémolytique des HEs.....</b>	<b>37</b>
3.1. Résultats de l'évaluation de l'activité antihémolytique de l'HE de <i>Salvia officinalis</i> L. .....	37
3.1.1. Résultats de dosage de LDH .....	38
3.1.2. Résultats de dosage de potassium .....	40
3.1.3. Résultats de dosage de l'hémoglobine extracellulaire .....	42
3.2. Résultats de l'évaluation de l'activité antihémolytique de l'HE de <i>Curcuma longa</i> L. .....	44
3.2.1. Résultats de dosage de LDH .....	44
3.2.2. Résultats de dosage de potassium .....	46
3.2.3. Résultats de dosage de l'hémoglobine extracellulaire .....	48
<b>DISCUSSION .....</b>	<b>50</b>
<b>1. Discussion des résultats de l'analyse des HEs extraites .....</b>	<b>51</b>
1.1. Discussion des rendements obtenus .....	51
1.2. Discussion de l'analyse organoleptique des HEs extraites .....	51
<b>2. Discussion des résultats de l'évaluation de l'activité antihémolytique de l'HE de <i>Salvia officinalis</i> L. et de <i>Curcuma longa</i> L. ....</b>	<b>52</b>
2.1. Discussion des résultats de dosage de LDH.....	52
2.2. Discussion des résultats de dosage de potassium.....	54
2.3. Discussion des résultats de dosage de l'hémoglobine extracellulaire.....	56
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>59</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>.....</b>

## Liste des abréviations

**AFNOR** : Association française de normalisation.

**ALAT** : Alanine aminotransférase.

**APG** : Agiosperm Phylogeny Group.

**ASAT** : Aspartate aminotransférase.

**CK** : Créatine kinase.

**dL** : Décilitre.

**g** : Gramme.

**HE** : Huile essentielle.

**L** : Litre.

**mL** : Millilitre.

**mm** : Millimètre.

**nm** : Nanomètre.

**PAL** : Phosphatase alcaline.

**U** : Unité.



## Glossaire des termes scientifiques

**Bilabié** : (adj) qualifie une structure divisée en deux lèvres.

**Bractées** : (nf) feuille modifiée axillant un axe ou une fleur.

**Calice** : (nm) verticille externe du périanthe d'une fleur, c'est l'ensemble des sépales.

**Cône** : n.m. (du latin conus, cône) ;

1. Appareil reproducteur des Conifères, généralement en forme de cône, constitué par un axe porteur d'écaillés à l'aisselle desquelles sont localisés les organes mâles et/ou les organes femelles.

2. Appellation donnée à l'inflorescence femelle du houblon.

**Ellipsoïde** : volume globalement sphérique présentant un aplatissement aux pôles.

**Feuilles lancéolées** : (adj) en forme de fer de lance.

**Feuilles opposées** : (adj) qualifie deux feuilles insérées au même niveau et se faisant face.

**Feuilles simples** : (adj) qui n'est ni composés ni ramifiée en plusieurs éléments.

**Fruit tétrakène** : cénocarpe de certaines Lamiales, formé de quatre nucules qui se dissocient à maturité.

**Labié** : (adj) (du latin labium, lèvre), terme qui caractérise une corolle dont les pétales soudés présentent deux lobes en forme de lèvres.

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Classification phylogénétique APG III de <i>Salvia officinalis</i> L. ....	6
<b>Tableau II</b> : Classification phylogénétique APG III de <i>Curcuma longa</i> L.....	8
<b>Tableau III</b> : Matériels du laboratoire. ....	26
<b>Tableau IV</b> : Contenance des tubes à doser. ....	32
<b>Tableau V</b> : Caractères organoleptiques des HEs extraites. ....	37

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Répartition géographique du genre <i>Salvia</i> dans le monde selon WALKER et al. (2004). .....	5
<b>Figure 2</b> : Fleur de <i>Salvia officinalis</i> L. (2) : feuille de <i>Salvia officinalis</i> L. ....	7
<b>Figure 3</b> : Plante de <i>Curcuma longa</i> L. ....	9
<b>Figure 4</b> : Principe de la technique de l'hydrodistillation .....	14
<b>Figure 5</b> : Structure chimique de l'antimoniote de méglumine. ....	17
<b>Figure 6</b> : Photo de l'espèce <i>Salvia officinalis</i> L. ....	25
<b>Figure 7</b> : (1) : Hydrodistillation de <i>Salvia officinalis</i> L. ; (2) : Hydrodistillation de <i>Curcuma longa</i> L. ....	27
<b>Figure 8</b> : Suspensions filles de travail. ....	31
<b>Figure 9</b> : Suspension obtenue après centrifugation. ....	33
<b>Figure 10</b> : Suspensions cellulaires de dosage de potassium. ....	33
<b>Figure 11</b> : Suspensions cellulaires de dosage de LDH. ....	34
<b>Figure 12</b> : Suspensions cellulaires de dosage de l'hémoglobine extracellulaire. ....	35
<b>Figure 13</b> : Concentration intracellulaire de LDH en présence de Glucantime et de l'HE de <i>Salvia officinalis</i> L. [test a]. ....	38
<b>Figure 14</b> : Concentration intracellulaire de LDH en présence de Glucantime et de l'HE de <i>Salvia officinalis</i> L. [test b]. ....	39
<b>Figure 15</b> : Concentration intracellulaire de potassium en présence de Glucantime et de l'HE de <i>Salvia officinalis</i> L. [test a]. ....	40
<b>Figure 16</b> : Concentration intracellulaire de potassium en présence de Glucantime et de l'HE de <i>Salvia officinalis</i> L. [test b]. ....	41
<b>Figure 17</b> : Dosage de l'hémoglobine extracellulaire en présence de Glucantime et de l'HE de <i>Salvia officinalis</i> L. [test a]. ....	42
<b>Figure 18</b> : Dosage de l'hémoglobine extracellulaire en présence de Glucantime et de l'HE de <i>Salvia officinalis</i> L. [test b]. ....	43
<b>Figure 19</b> : Concentration intracellulaire de LDH en présence de Glucantime et de l'HE de <i>Curcuma longa</i> L. [test a]. ....	44
<b>Figure 20</b> : Concentration intracellulaire de LDH en présence de Glucantime et de l'HE de <i>Curcuma longa</i> L. [test b]. ....	45
<b>Figure 21</b> : Concentration intracellulaire de potassium en présence de Glucantime et de l'HE de <i>Curcuma longa</i> L. [test a]. ....	46

<b>Figure 22</b> : Concentration intracellulaire de potassium en présence de Glucantime et de l'HE de <i>Curcuma longa</i> L. [test b]. .....	47
<b>Figure 23</b> : Dosage de l'hémoglobine extracellulaire en présence de Glucantime et de l'HE de <i>Curcuma longa</i> L. [test a]. .....	48
<b>Figure 24</b> : Dosage de l'hémoglobine extracellulaire en présence de Glucantime et de l'HE de <i>Curcuma longa</i> L. [test b]. .....	49

# **INTRODUCTION GENERALE**

## INTRODUCTION GENERALE

---

Les leishmanioses constituent un ensemble hétérogène d'affections toutes causées par des parasites protozoaires appartenant au genre *Leishmania*. Ces affections constituent un enjeu majeur pour la santé publique, elles sont distribuées le long des régions tropicales et subtropicales ainsi que sur le pourtour du Bassin Méditerranéen dont l'Algérie, le pays le plus touché. La maladie représente un large spectre clinique, allant de lésions cutanées bénignes aux lésions cutanées et viscérales plus graves [1], imposant à développer des modalités de lutte et de prévention.

Les dérivés stibiés pentavalents demeurent la meilleure arme thérapeutique des leishmanioses. L'antimoniote de méglumine (Glucantime®) est le traitement de première intention recommandé par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) [2]. Toutefois, il expose aux risques indésirables parfois graves tels que ; des asthénies, des céphalées, des ictères, des troubles hépatiques, des troubles rénaux et notamment des anémies hémolytiques [3].

Actuellement, les plantes médicinales et aromatiques représentent le premier réservoir de nouvelles molécules dotées d'activités biologiques à intérêt thérapeutique [4], elles suscitent un large intérêt dans le domaine scientifique visant la découverte de la complexité des huiles essentielles élaborées par ces plantes dont *Curcuma longa* L. et *Salvia officinalis* L. font partie [5].

De nombreux travaux de recherche ont mis en évidence les propriétés thérapeutiques de ces deux espèces aromatiques, notamment la propriété antioxydante, anti-inflammatoire et antimicrobienne [6]. Néanmoins, leur effet antihémolytique reste encore peu élucidé, c'est ce que nous inspire à poser la problématique suivante ;

**Est-ce que l'huile essentielle de *Curcuma longa* L. et de *Salvia officinalis* L. possède un pouvoir protecteur sur la membrane des globules rouges contre l'antimoniote de méglumine ?**

C'est dans le souci de valoriser et d'apporter de nouvelles données sur ces espèces que cette présente étude a été réalisée. Son objectif principal est d'évaluer l'activité antihémolytique de l'HE de *Curcuma longa* L. et de *Salvia officinalis* L. *in vitro*.

## **INTRODUCTION GENERALE**

---

En vue de rendre compte de la démarche scientifique adoptée, ce manuscrit comportera deux grandes parties ;

La première partie est une synthèse bibliographique qui porte sur trois chapitres ; dans le premier, nous décrivons les deux espèces objet de cette étude point de vue botanique, le deuxième se porte sur les huiles essentielles et leur composition, dans le dernier chapitre, nous présentons l'effet hémolytique du Glucantime.

La deuxième partie consacrée aux travaux expérimentaux, suivie par une discussion des résultats obtenus et enfin, nous clôturons notre travail par une conclusion générale et des perspectives.

# **SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**



**CHAPITRE I :**  
**PRESENTATION DES ESPECES ETUDIEES**

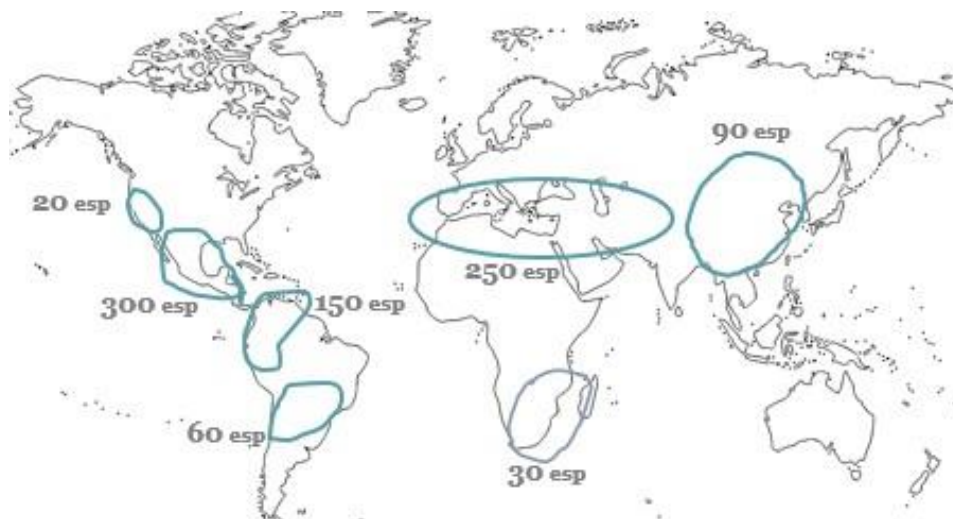
### I.1. Etude botanique de *Salvia officinalis* L.

L'herbe sacrée appelée communément « Merymia » est une plante médicinale appréciée depuis l'Antiquité. On lui attribue de nombreuses propriétés thérapeutiques dont beaucoup sont plausibles. Certes, cette plante méridionale était d'une grande importance dans la médecine médiévale, il fût même écrit ; « Pourquoi mourrait-il l'homme dont la sauge pousse dans le jardin ? » [7].

Le genre *Salvia* faisant partie de la famille des Lamiacées, comprend entre 900 et 1000 espèces, dont 23 espèces existent en Algérie, y compris *Salvia officinalis* L. objet de notre étude [8].

Les sauges manifestent des variations morphologiques et génétiques selon leurs origines géographiques, elles sont aussi bien répandues dans les zones tempérées que subtropicales [9].

Elles sont distribuées dans trois régions principales dans le monde : 530 espèces en Amérique centrale et latine, 250 espèces en Asie centrale et en régions méditerranéennes, 30 en Afrique du Sud et 90 espèces en Asie de l'Est (figure 1) [10].



**Figure 1** : Répartition géographique du genre *Salvia* dans le monde selon WALKER et al. (2004).

## I.1.1. Classification phylogénétique

La position de *Salvia officinalis* L. dans la systématique des Angiospermes est mentionnée dans le tableau suivant (tableau I) [11].

**Tableau I :** Classification phylogénétique APG III de *Salvia officinalis* L. [11].

<b>Règne</b>	Archéplastides
<b>Clade</b>	Angiospermes
<b>Clade</b>	Dicotylédones vraies
<b>Clade</b>	Noyau des Dicotylédones vraies
<b>Clade</b>	Astéridées
<b>Clade</b>	Lamiidées
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiacées
<b>Sous-famille</b>	Népétoïdées
<b>Genre</b>	<i>Salvia</i>
<b>Espèce</b>	<i>officinalis</i>

## I.1.2. Répartition géographique

*Salvia officinalis* L. est originaire du bassin méditerranéen ; elle est aujourd'hui cultivée ou pousse spontanément dans de nombreux pays aux climats tempérés [7]. En Algérie, la sauge officinale est largement répandue [12].

## I.1.3. Description botanique

### - Appareil végétatif

La sauge est un sous-arbrisseau vivace aux tiges lignifiées à section carré, avec un fond blanchâtre et vert grisâtre au-dessus, atteignant en général une hauteur de 30 à 70 cm.

Les feuilles sont opposées, pétiolées, longues de 3 à 10 cm et larges de 3 cm. Elles sont gris verdâtres veloutées, les bords du limbe sont légèrement crénelés [12].

### - Appareil reproducteur

Les fleurs zygomorphes, bilabiées à deux lèvres ; supérieure bilobée et inférieure trilobée, regroupées dans des pseudo-verticilles de 5 à 10 fleurs chacune, avec une inflorescence en glomérules spiciformes et terminales. La longueur du calice peut atteindre les 14 mm, avec des poils sécréteurs, ponctués de glandes. La corolle est de couleur violette rarement rose à bleu. [12].

Les fruits sous forme de tétrakène sphérique de couleur brun foncé à noir [12].



(1)



(2)

**Figure 2** : Fleur de *Salvia officinalis* L. (2) : feuille de *Salvia officinalis* L. [13].

### I.2. Etude botanique de *Curcuma longa* L.

*Curcuma longa* L. est une espèce de la famille des Zingibéracées, utilisée en Asie depuis des siècles pour ses vertus thérapeutiques mais surtout connue comme étant une épice obtenue à partir du rhizome. Le terme « curcuma » provient de la latinisation de l'arabe « al-kurkum » signifiant « jaune » [14].

Dans l'ouvrage de Materia Medica, Dioscoride décrit le curcuma comme ; « une plante indienne proche du gingembre, au goût amer et qui donne une belle couleur jaune ». Le rhizome était a priori très rare en occident à l'époque, introduit en Europe par les marchands arabes au XIIIe siècle [14].

## I.2.1 Classification phylogénétique

Tableau II : Classification phylogénétique APG III de *Curcuma longa* L. [15].

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Liliopsida
<b>Ordre</b>	Zingibérales
<b>Famille</b>	Zingibéracées
<b>Genre</b>	<i>Curcuma</i>
<b>Espèce</b>	<i>longa</i>

## I.2.2 Répartition géographique

Le genre *Curcuma* comprend une quarantaine d'espèces, originaires et très répandues dans les régions d'Asie tropicale et d'Australie septentrionale. Sa distribution est exclusivement intertropicale, la plus grande diversité dans le genre est observée en Inde, en Birmanie et en Thaïlande, beaucoup moins en Chine, en Australie et dans le Pacifique Sud [14].

## I.2.3. Description botanique

### - Appareil végétatif

*Curcuma longa* L. est une espèce vivace à courte tige. Le rhizome aromatique est ellipsoïde, charnu et écailleux, d'environ 5 cm × 2,5 cm, à maturité il présente de nombreux rhizomes latéraux. La surface externe est gris-jaune, portant la cicatrice des racines tandis que l'intérieur est jaune orangé [14].

Les feuilles sont larges, pétiolées, lancéolées, alternes et naissent à partir du rhizome, d'une cinquantaine de centimètres de long, glabres sur les deux faces [14].

### - Appareil reproducteur

L'inflorescence est conique sous forme d'épis issue du rhizome protégée par de grandes bractées. Les fleurs sont zygomorphes, bisexuées, situées entre les feuilles par paires et composées de 3 sépales pétaloïdes et d'un pétale postérieur formant un labelle pétaloïde verdâtre ou blanc à sommet rose [14].

## CHAPITRE I : PRESENTATION DES ESPECES ETUDIEES

---

Le fruit du curcuma est une capsule globuleuse, mais il n'est pas produit chez l'espèce *Curcuma longa* L., plante stérile disséminée par le bouturage spontané des rhizomes [14].



**Figure 3 :** Plante de *Curcuma longa* L. [16].

**CHAPITRE II :**  
**HUILES ESSENTIELLES**

### II.1. Qu'est-ce qu'une huile essentielle ? : Une définition et une réglementation

Il est actuellement difficile de s'arrêter à une définition claire et précise de l'huile essentielle ; L'AFNOR (association française de normalisation) NT 75-6 (Fév 2006) a donné une définition officielle de cette dernière, qui doit être « obtenue à partir d'une matière première d'origine végétale : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicerpe des Citrus, soit par distillation sèche, qui est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » [5].

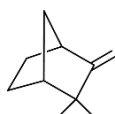
### II.2. Composition chimique des huiles essentielles

L'HE et essence sont deux substances différentes, en nature et en composition, en raison des modifications biochimiques que subit l'huile essentielle au cours de son extraction par distillation de l'essence. On peut ainsi trouver dans une HE des composés que l'on ne trouvait pas initialement dans la plante, et donc c'est le mode d'extraction qui impose sa composition. Une HE est composée d'une part des molécules naturellement synthétisées par la plante et d'autre part, comme nous venons de le voir, des molécules de réarrangement, lors de la distillation [5].

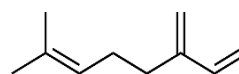
- **Dérivés terpéniques**

Ce sont les plus répandus dans les HEs, il s'agit principalement de monoterpènes en C10, de sesquiterpènes en C15 et de diterpènes en C20 [5] :

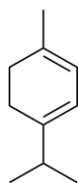
- **Monoterpènes C10 :**



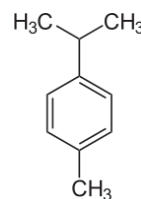
Mono-insaturé (1=) : Camphène



Tri-insaturé (3=) : Myrcène (assez rare)



Di-insaturé (2=) : Alpha-terpinène

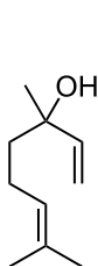


Aromatique : Para-cymène (thym)

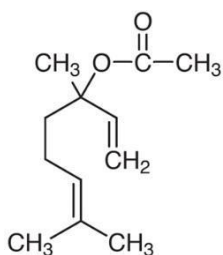


## CHAPITRE II : HUILES ESSENTIELLES

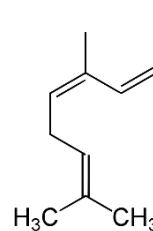
- **Sesquiterpènes C15** : Présents en faible quantité dans les plantes, sauf dans le bois des arbres [5].
  - **Diterpènes C20** : Assez rare dans les HEs, présents en faible quantité [5].
  - **Triterpènes C30** : Ils font souvent partie des structures épi-cuticulaires des plantes aromatiques, et leur structure lourdes fait que leur présence soit aléatoire dans les HEs, car plus la molécule contient un grand nombre de carbones plus il est difficile de l'extraire par distillation [5].
- **Dérivés des acides aminés**
    - **La valine** qui conduit à l'isobutanol.
    - **La leucine** qui conduit à l'iso amyl alcool.
    - **L'isoleucine** qui conduit à l'acide angélique ou à l'acide tiglique.
    - **Les acides aminés soufrés** comme la cystéine qui peut conduire à la formation de dérivés mono-, di-, tri- ou tétrasulfurés [5].
    - **L'acide shikimique**, contenu dans les plantes conduit à l'acide chorismique d'où dérivent des molécules importantes telles cinnamates et dérivés du phényl propane, dérivés salicylés, dérivés coumariniques, méthyl anthranilates [5].
  - **Dérivés des acides gras** : Par exemple de l'acide linoléique en C18.
  - **Autres** :
    - **Dérivés terpéniques** : Exemple : linalol, acétate de linalyle, ocimènes...



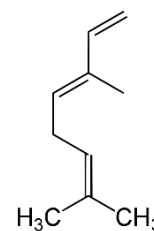
Linalol



Acétate de linalyle



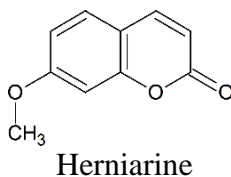
*cis*



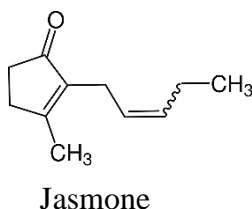
*trans*

Ocimènes

- **Dérivés d'acide shikimique** : Exemple :



- **Dérivés d'acide gras** : Exemple :



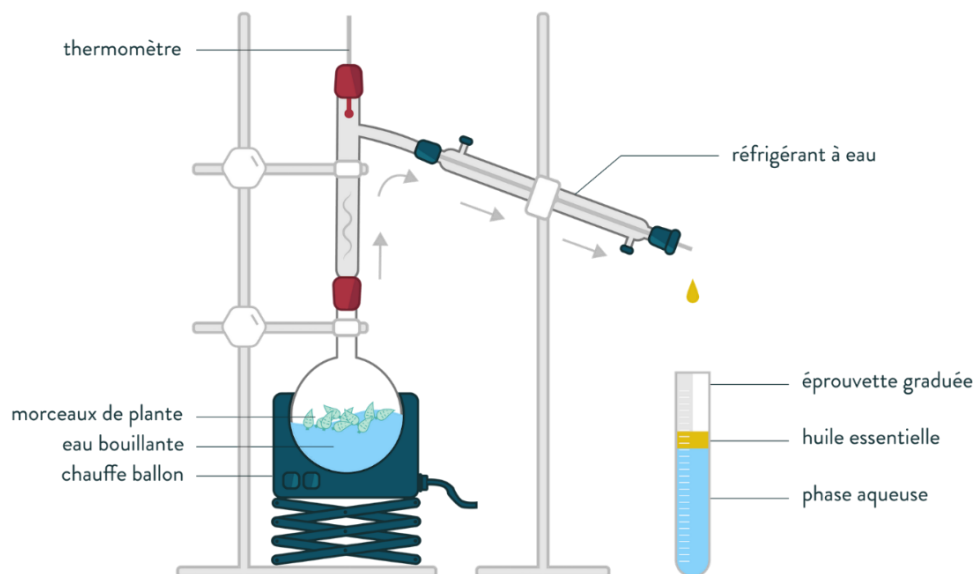
### II.3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Le principe général d'extraction des HEs est basé sur la différence de solubilité des composés d'un mélange (solide ou liquide) dans un solvant (liquide ou fluide supercritique).

Une essence ne peut être définie sans avoir précisé sa méthode d'extraction, d'ailleurs nous distinguons deux types de techniques classés selon leur période de découverte ; techniques d'extraction conventionnelles (entraînement à la vapeur d'eau, hydrodistillation, extraction par solvant volatil, hydrodiffusion, autres...) et techniques d'extraction nouvelles (extraction assistée par microonde ou par ultrasons, extraction par des fluides supercritiques, autres...) [5].

#### - **Extraction par hydrodistillation**

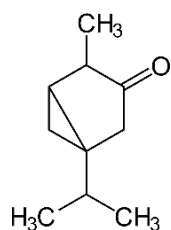
Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Son principe consiste à immerger la matière végétale dans de l'eau bouillante contenue dans un ballon ou un alambic surmonté par un réfrigérant, les molécules odorantes se libèrent après éclatement des cellules végétales et forment avec la vapeur d'eau un mélange dit azéotrope. Cette vapeur est ensuite véhiculée vers le condenseur et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité à la sortie du réfrigérant (figure 4).



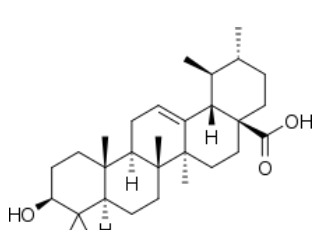
**Figure 4 :** Principe de la technique de l'hydrodistillation [17].

### II.4. Principaux constituants des HEs du genre *Salvia*

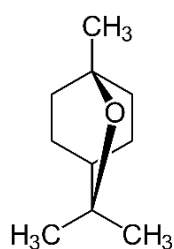
Plusieurs composés ont été identifiés chez ce genre ;  $\alpha$  et  $\beta$ -thuyone, camphre, 1,8-cinéole,  $\alpha$ -humulène,  $\beta$ -caryophyllène et viridiflorol. Des diterpènes et des triterpènes ; acide carnosique, acide ursolique, carnosol et tanshinones [18].



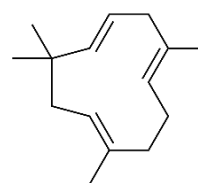
Thuyone



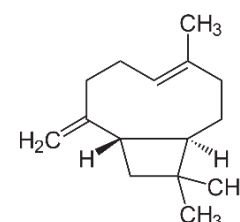
Acide ursolique



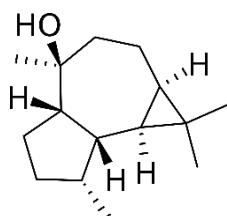
1,8-cinéole



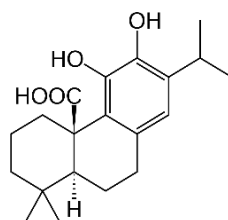
Humulène



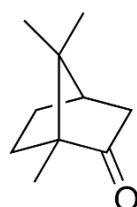
Caryophyllène



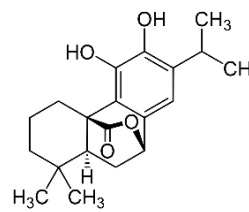
Viridiflorol



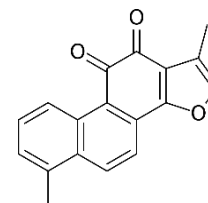
Acide carnosique



Camphre



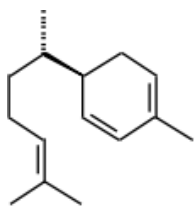
Carnosol



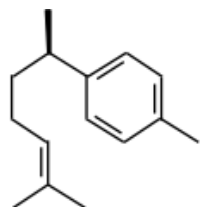
Tanshinones

### II.5. Principaux constituants des HEs du genre *Curcuma*

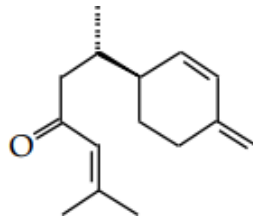
Une grande variation dans la composition des HEs du genre *Curcuma* a été rapportée dans la littérature. Il s'agit de sesquiterpènes volatils, monoterpènes, et d'autres composés aromatiques. Les structures chimiques des principaux composants volatils sont présentées ci-dessous [19] ;



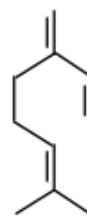
Zingibérène



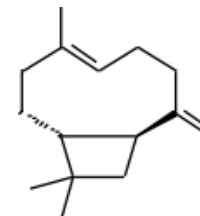
Alpha curcumène



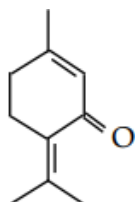
Beta turmérone



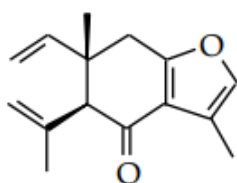
Beta myrcène



Beta caryophyllène



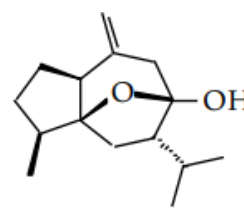
Piperiténone



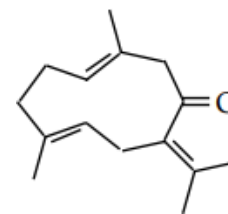
Curzérénone



Camphre



Curcumol



Germacrone

**CHAPITRE III :**  
**GLUCANTIME ET HEMOLYSE DES GLOBULES**  
**ROUGES**

# CHAPITRE III : GLUCANTIME ET HEMOLYSE DES GLOBULES ROUGES

## III.1. Glucantime

### III.1.1. Présentation de Glucantime

Les piliers du traitement de la Leishmaniose sont les dérivés stibiés de sels pentavalents d'antimoine : Glucantime®, ce dernier se présente sous forme de 5 ampoules de 5 mL correspondant à 1,5 g d'antimoniate de méglumine, à reconstituer avec de l'eau pour préparation injectable, à usage parentéral intramusculaire, intraveineux et intra lésionnel [20]. Selon les espèces et les régions, les taux de guérison sont généralement de 80 à 100% [21].

#### III.1.1.1. Dénomination du médicament

GLUCANTIME 1,5 g/5 mL, sous forme d'une solution injectable [20].

#### III.1.1.2. Classe thérapeutique

Antiparasitaire ; Anti-leishmanies [20].

#### III.1.1.3. Structure chimique

L'une des deux préparations anti-leishmaniose disponibles est l'antimoniate de méglumine (Glucantime®), produit en France. Il s'agit de composés antimoniés pentavalents, de formule brute  $C_7H_{18}NO_8Sb$ .

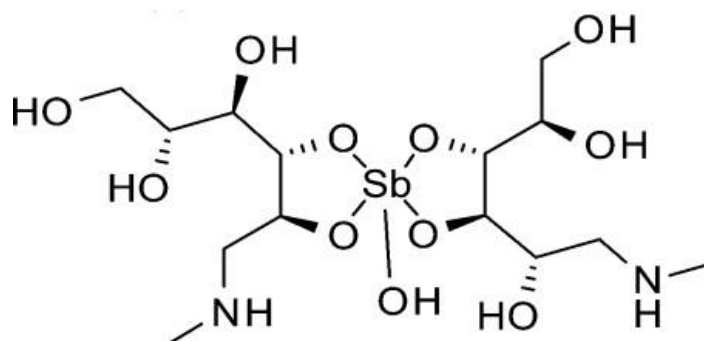


Figure 5 : Structure chimique de l'antimoniate de méglumine.

#### III.1.1.4. Indication

Depuis une cinquantaine d'années, les dérivés pentavalents de l'antimoine représentent le traitement de référence des leishmanioses viscérales (LV) et de la majorité des formes tégumentaires (LT).

## **CHAPITRE III : GLUCANTIME ET HEMOLYSE DES GLOBULES ROUGES**

---

Les schémas d'utilisation de Glucantime® varient d'un pays à l'autre, à l'inverse des pays anglo-saxons qui utilisent le stibogluconate de sodium (Pentostam ®), produit comparable, l'antimoniote de N-méthyl glutamine est largement prescrit dans les pays francophones et en Amérique du Sud. Le Glucantime est utilisé à des doses plus ou moins fortes, mais toujours en cures, espacées de périodes de repos destinées à assurer l'élimination de l'antimoine [22].

### **III.1.1.5. Mode d'action**

Le mécanisme d'action de l'antimoine est encore mal illustré, il semblerait que les dérivés d'antimoine stimulent la réponse immunitaire des patients traités [23]. Des actions sur l'ADN parasite et sur les mécanismes de signalisation intracellulaire liés à la phosphatidylsérine ont été rapportées [24].

Il présente une action inhibitrice sur la synthèse d'ATP en inhibant l'enzyme phosphofructoquinase. Ainsi, une action inhibitrice sur l'oxydation glycolytique et sur le métabolisme des acides gras du parasite [25].

### **III.1.1.6. Effets indésirables**

Les effets indésirables de Glucantime® couramment rencontrés comprennent les maux de tête, les nausées, les céphalées, les rashes cutanés et les œdèmes. De plus, d'autres signes ont été rapportés, notamment hémolyse, douleur abdominale et musculaire, augmentation des enzymes hépatiques et insuffisance hépatique ou rénale [3].

Cette fréquence importante des effets indésirables a incité certains à réduire les doses de Glucantime® à 5 mg/kg par jour d'antimoine pentavalent et de prescrire d'autres médicaments ayant moins d'effets indésirables [26].

### **III.1.2. Toxicité de Glucantime**

Les études portées sur la toxicité de Glucantime® montrent que la tolérance à cette molécule est variable d'un sujet à l'autre, nous distinguons deux tableaux d'intoxication ; la stibio-intolérance et la stibio-intoxication.

Les accidents de stibio-intolérance sont dominés par les arthralgies, myalgies, érythèmes au site d'injection, toux et rashes cutanés qui sont surtout survenus à la fin du traitement. La symptomatologie varie d'un simple inconfort à la limitation de l'activité physique [27].

## CHAPITRE III : GLUCANTIME ET HEMOLYSE DES GLOBULES ROUGES

---

La stibio-intoxication, quant à elle, est plus grave de type cytolysé hépatique ou d'insuffisance rénale aiguë dévolutio fatale. Les signes d'intoxication comportent une atteinte cardiaque, hépatique, rénale, pancréatique et hématologique et la gravité de ces manifestations paraît d'avantage liée à la dose totale administrée [27].

### - Toxicité hématologique

Le Glucantime® est affiné des résidus thiols ce qui explique son affinité pour les globules rouges, plus précisément pour l'hémoglobine et de ce fait sa toxicité [28].

Les dérivés pentavalents de l'antimoine affectent les trois lignées sanguines provoquant un abaissement du taux de l'hémoglobine, des leucopénies ou des thrombopénies. Ces complications sont survenues lors de traitement de Leishmaniose viscérale. Des manifestations hématologiques de type anémie hémolytique, des agranulocytoses et parfois des hémorragies importantes sont décrites. Les cas d'agranulocytose ont été rapportés chez les enfants au 6<sup>ème</sup> jour du traitement par l'antimoniote de méglumine [28,29].

### - Toxicité cardiovasculaire

La toxicité cardiaque a été rapportée chez des patients recevant des doses d'antimoine pentavalent conformes à celles proposées par l'OMS (20–30 mg/kg par jour). Des modifications électriques, avec allongement de QT dépassant 0,50 secondes, ont été également observées chez des sujets traités pour Leishmaniose cutanée par des doses réduites de Glucantime® (15 mg/kg par jour d'antimoine pentavalent) et avec des cures plus brèves [30].

Des troubles cardiaques plus graves ont été observés chez 2 à 10 % des cas, notamment des myocardites, des tachycardies ventriculaires, des fibrillations ventriculaires, des bradycardies, des torsades de pointes ou des insuffisances cardiaques [31].

### - Toxicité hépatique et rénale

La toxicité rénale est rare. Il s'agit surtout d'un trouble de la concentration des urines sans altération de la fonction rénale. Les cas de néphrotoxicité sont expliqués par des tubulopathies de type nécrose tubulaire ou glomérulopathie liée à des dépôts de complexes immuns [27,29].

De plus, des études ont rapporté la présence d'une cytolysé hépatique avec une insuffisance rénale et une pancytopenie rapidement fatale, malgré l'arrêt du traitement [29].



## **CHAPITRE III : GLUCANTIME ET HEMOLYSE DES GLOBULES ROUGES**

---

### **- Toxicité neurologique**

La toxicité neurologique se manifeste par des hémorragies cérébro-méningées au niveau du système nerveux central et par des polyneuropathies au niveau du système nerveux périphérique [22].

## **III.2. Hémyolyse**

### **III.2.1. Définition de l'hémolyse pathologique**

La bi-concavité du disque érythrocytaire, la flexibilité membranaire et la fluidité du contenu hémoglobinique, conditionnent la flexibilité d'un érythrocyte normal. Ainsi, toute modification altérant l'un de ces facteurs pouvant empêcher prématurément les globules rouges de passer à travers les interstices du filtre splénique, aboutissant à leur séquestration et leur destruction précoce. Autrement dit, à leur « hémolyse pathologique » [32].

### **III.2.2. Marqueurs biologiques de l'hémolyse**

#### **- Hémoglobine**

L'indicateur le plus direct de la gravité clinique des maladies hémolytiques. Ses taux peuvent être proches des valeurs normales dans les formes bénignes (Hb < 10 g/dL) ou significativement réduites dans les formes modérées (Hb 8–10 g/dL), sévères (Hb 6–8 g/dL) et très sévères (Hb 6 g/dL) [33].

#### **- Réticulocytes**

Constituent un indice de l'activité hématopoïétique de la moelle osseuse et sont généralement augmentés dans l'hémolyse, ainsi que dans d'autres conditions pathologiques et physiologiques (par exemple, hémorragie, grossesse, accouchement et acclimatation). Dans les conditions hémolytiques, la réticulocytose compensatoire peut être inadéquate ou absente en présence d'une atteinte médullaire concomitante (affections oncohématologiques, syndromes dysérythropoïétiques ou d'insuffisance médullaire) [33].

#### **- Lactate Déshydrogénase**

Le lactate déshydrogénase (LDH) est une enzyme intracellulaire ubiquitaire qui catalyse la transformation réversible du pyruvate en lactate en présence de NAD<sup>+</sup>/NADH.

## CHAPITRE III : GLUCANTIME ET HEMOLYSE DES GLOBULES ROUGES

---

Physiologiquement mesurable dans le sérum en raison du renouvellement cellulaire physiologique, la LDH sérique possède cinq variétés d'isoenzymes différentes [34] ; dans les conditions hémolytiques, les principales isoenzymes concernées sont LDH-1 et LDH-2 et peuvent être utiles pour distinguer l'hémolyse extravasculaire de l'hémolyse intravasculaire. Etant légèrement augmentées dans l'hémolyse extravasculaire et 4 à 5 fois supérieures la limite normale dans l'hémolyse intravasculaire [34].

### - **Haptoglobine**

L'haptoglobine neutralise l'hémoglobine produite lors d'une hémolyse intravasculaire physiologique en formant un complexe haptoglobine-hémoglobine qui est éliminé rapidement.

Dans les conditions hémolytiques, les concentrations en haptoglobine sont effondrées, il a été montré qu'une chute de 1 g/L de l'haptoglobine est enregistrée suite à une hémolyse de 20 mL de sang [34].

### - **Bilirubine**

La bilirubine est un bon marqueur de l'hémolyse extravasculaire et, dans une moindre mesure, également de l'hémolyse intravasculaire [33].

### - **Autres marqueurs**

Schistocytes, ferritine et d'autres paramètres biochimiques : potassium, cholestérol, triglycérides, acide urique, ASAT, ALAT, CK et PAL [35].

# **ETUDE EXPERIMENTALE**

## **MATERIEL ET METHODE**

### 1. Problématique

La Leishmaniose est une maladie parasitaire causée par plusieurs espèces de leishmanies chez l'homme, les carnivores et les rongeurs. Le traitement de première intention est l'antimoniote de méglumine, cependant, il est toxique et son efficacité est limitée. De ce fait, il est nécessaire de chercher à améliorer l'index thérapeutique du Glucantime, c'est-à-dire augmenter son efficacité tout en diminuant sa toxicité.

Dans notre étude, nous avons utilisé des huiles essentielles de deux plantes connues pour leur effet antioxydant et antileishmanie. Que nous avons mis au contact avec le Glucantime et le globule rouge *in vitro* afin d'évaluer leur effet antihémolytique causé par la molécule. Donc, Est-ce que l'huile essentielle de *Curcuma longa* L. et de *Salvia officinalis* L. possède un pouvoir protecteur sur la membrane des globules rouges contre l'antimoniote de méglumine ?

### 2. Objectif de l'étude

- Evaluer l'activité antihémolytique *in vitro* de l'HE de *Salvia officinalis* L. et de l'HE de *Curcuma longa* L. contre l'antimoniote de méglumine.

### 3. Type de l'étude

Il s'agit d'une étude de type analytique prospective, ce qui signifie que nous avons collecté des données prospectives sur une période donnée et que nous avons utilisé des méthodes d'analyse pour examiner les relations entre les variables d'intérêt.

### 4. Lieu et période de l'étude

L'activité antihémolytique des deux huiles essentielles s'est déroulée au niveau du service de biochimie du laboratoire central du centre Hospitalo-universitaire Dr. TIDJANI DAMERDJI de Tlemcen et au niveau du laboratoire des substances naturelles et bioactives (LASNABIO). L'étude a duré quatre mois (du février 2023 jusqu'au mois de mai 2023).

### 5. Analyse des données

La saisie et l'analyse des données collectées ont été effectuées par le logiciel MICROSOFT OFFICE EXCEL 2013. Les graphes ont été également générés en utilisant les fonctionnalités graphiques de ce même logiciel.

### 6. Matériels

#### 6.1. Réactifs et solutions de travail

- Solution Tampon PBS.
- Solution de lavage glacée.
- Glucantime.
- Ether diéthylique ((C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>O).
- Chlorure de magnésium (MgCl<sub>2</sub>).
- Chlorure de sodium (NaCl).
- Hydrogénophosphate de sodium (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>).
- Phosphate disodique (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>).
- Eau distillée.
- Solution tampon (0,015% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + DMSO).
- Colorant TMB.
- Acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

#### 6.2. Matériel végétal

La présente étude s'est portée sur les parties aériennes de l'espèce *Salvia officinalis* L. (Sauge officinale) et sur les parties sous terraines de *Curcuma longa* L.



**Figure 6 :** Photo de l'espèce *Salvia officinalis* L.

### - Identification botanique des espèces étudiées

L'identité botanique des deux espèces a été confirmée non seulement en se référant à la nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales de Quézel & Santa, 1962 mais aussi par un botaniste spécialiste.

### 6.3. Matériel biologique

Prélèvement sanguin d'un sujet sain n'ayant pris aucun traitement et ne présentant aucun problème d'ordre hématologique (anémie, VGM allongé).

### 6.4. Matériel du laboratoire

Les appareils et la verrerie utilisés dans cette étude sont répertoriés dans le tableau ci-dessous (tableau III) ;

**Tableau III** : Matériels du laboratoire.

	<b>Appareillage</b>	<b>Verrerie</b>
<b>Matériel du laboratoire</b>	- Hydrodistillateur type Clevenger.	- Tubes à vise.
	- Balance analytique.	- Pipettes Pasteur.
	- Ionomètre type RAPIDpoint 500 SIEMENS.	- Flacons ombrés.
	- Automate SIEMENS ADVIA 1800.	- Eprouvettes.
	- Centrifugeuse type HuMax 14K Human.	- Fioles jaugées 100 mL, 250 mL.
	- Agitateur magnétique type Heidolph.	- Bêchers.
	- Spectrophotomètre type JENWAY 7315.	- Pipette 10 mL.
	- Vortex.	- Spatule.
	- Micropipettes.	- Papier filtre.
	- Chronomètre.	- Entonnoir.
		- Pots à prélèvement stériles.
		- Tubes secs.
		- Tubes EDTA et tubes à l'Héparinate de sodium.
		- Cuves de spectrophotomètre.
	- Tube Eppendorf.	

### 7. Méthodes

#### 7.1. Extraction des huiles essentielles

Nous avons eu recours aux techniques classiques d'extraction des huiles essentielles, en se servant d'un dispositif d'extraction par hydrodistillation de type Clevenger. Avant de procéder à l'extraction, les parties aériennes (de *Salvia officinalis* L.) sont débarrassées des impuretés puis coupées en petits morceaux et les parties sous terraines (de *Curcuma longa* L.) sont brouillées et tamisées.

Nous avons introduit 300 g de matière végétale dans un ballon préalablement rempli d'une quantité suffisante d'eau distillée de façon à éviter le débordement lors de l'ébullition. Le montage doit être bien fermé pour éviter toute fuite de vapeur, et la température est maintenue stable à l'aide d'un thermostat. Après 4 heures, et à la sortie du réfrigérant, l'HE se sépare de l'eau par différence de densité, cette HE est récupérée par l'éther diéthylique, qui sera par la suite évaporé.



(1)

(2)

**Figure 7 :** (1) : Hydrodistillation de *Salvia officinalis* L. ; (2) : Hydrodistillation de *Curcuma longa* L.



### - Conservation des HEs extraites

L'instabilité relative des HEs rend leur conservation délicate. Nous avons conservé les deux huiles essentielles extraites dans des flacons opaques bien scellés à basse température (4 °C - 8°C).

### - Rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle (RHE), a été estimé en utilisant la formule suivante [36] :

$$RHE (\%) = (M' / MS) \times 100$$

RHE : Rendement en huile essentielle en %.

M' : Masse de l'huile essentielle extraite en g.

Ms : Masse de la matière végétale utilisée en g.

## 7.2. Caractérisation organoleptique des HEs

L'analyse des caractères organoleptiques des huiles essentielles extraites notamment, la couleur, l'odeur, l'aspect physique à différentes températures, constitue une étape initiale de l'évaluation de sa qualité. Les trois paramètres ont été appréciés par nous-même et par notre enseignant encadrant.

## 7.3. Evaluation de l'effet protecteur des HEs extraites contre le Glucantime

En vue d'évaluer l'activité antihémolytique des huiles essentielles extraites nous avons suivi le protocole décrit dans les travaux de (Belhachem A., et Mansour Benaouf Y.) [22].

Le protocole expérimental a été répété deux fois, avec deux séries de manipulations indépendantes (test a et test b) effectuées dans les mêmes conditions de travail.

### 7.3.1. Préparation des solutions de travail

#### • Solution de lavage glacée

La solution de lavage glacée est un mélange de NaCl (150 m.mole/L) avec MgCl<sub>2</sub> (2 m.mole/L de). La solution est instable à température ambiante, elle doit être conservée au frigo à 2-5°C.

#### - Préparation d'une solution de NaCl (150 m.mole/L) ;

A partir d'une solution mère 1 molaire du NaCl (58.44 g/mole), nous avons dissous une quantité de 29,22 g de NaCl dans 500 mL d'eau distillée.

## MATERIEL ET METHODE

---

### - Préparation d'une solution de $\text{MgCl}_2$ (2 m.mole/L) ;

A partir d'une solution mère 1 molaire du  $\text{MgCl}_2$  (203,30 g/mole), nous avons dissous une quantité de 40,66 g de  $\text{MgCl}_2$  dans 100 mL d'eau distillée.

### - Préparation de la solution de lavage glacée ;

Dans une fiole jaugée de 100 mL, nous mélangeons 15 mL de la solution de  $\text{NaCl}$  (150 m.mole/L) avec 0,1 mL de la solution de  $\text{MgCl}_2$  (2 m.mole/L), nous complétons avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

### • Solution tampon (PBS)

La solution tampon PBS est un mélange de deux solutions mères à 0,2 molaire de dihydrogénophosphate de sodium ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) et d'hydrogénophosphate de sodium ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ). La solution doit avoir un pKA proche de 7,2.

### - Préparation d'une solution de phosphate monosodique $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ;

A partir d'une solution mère 1 molaire de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (119,98 g/mole), nous avons dissous une quantité de 5,999 g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  dans 250 mL d'eau distillée.

### - Préparation d'une solution de phosphate disodique $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ;

A partir d'une solution mère 1 molaire de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (358,14 g/mole), nous avons dissous une quantité de 17,907 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  dans 250 mL d'eau distillée.

### - Préparation de la solution mère ;

Dans une fiole jaugée de 200 mL, nous mélangeons 19 mL de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  avec 81 mL de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  dans 100 mL d'eau distillée pour obtenir une solution mère tampon 0,1 molaire.

### - Préparation de la solution fille ;

Dans une fiole jaugée, nous mélangeons 10 mL de la solution mère préalablement préparée avec 14 mL de  $\text{NaCl}$  (1M), le volume est ajusté à 100 mL avec de l'eau distillée. La solution obtenue est la solution tampon de travail.

## 7.3.2. Préparation de l'échantillon de travail

### • Prélèvement

Nous avons réalisé un prélèvement sanguin sur un volontaire sain à jeun, tout en évitant l'agitation excessive des tubes, l'aspiration trop rapide du sang au cours du prélèvement, la pose prolongée d'un garrot ou toute autre manipulation inappropriée pouvant fausser nos résultats.

## MATERIEL ET METHODE

---

Nous avons partagé notre prélèvement sanguin sur deux tubes ;

- Un tube EDTA : pour faire une FNS (dans le but de s'assurer que les cellules érythrocytaires ne présentent aucune anomalie et qu'elles soient dans les normes).
- Un tube hépariné : pour effectuer nos tests.

- **Préparation de suspension de travail**

L'échantillon du tube hépariné a été centrifugé pendant 5 minutes à 4000 tr /min. Nous avons marqué le niveau du plasma à l'aide d'un feutre. Nous avons éliminé puis remplacé le volume du plasma par la solution de lavage glacée et nous mélangeons doucement pour éviter l'hémolyse mécanique.

Un 2<sup>ème</sup> lavage est nécessaire pour éliminer toute trace du plasma. Une deuxième centrifugation permet d'éliminer le surnageant et le remplacer par la solution tampon PBS. La suspension obtenue est notre échantillon de travail.

### 7.3.3. Mode opératoire

- **Préparation de la suspension cellulaire mère ;**

Nous avons introduit dans un bécher, 63 mL de la solution tampon PBS et 3 mL du sang modifié. Nous obtenons la suspension cellulaire mère.

- **Préparation de la dilution de Glucantime ;**

Nous mélangeons 9 mL d'eau distillée avec 1 mL de Glucantime pour obtenir une solution de Glucantime diluée à 1/10<sup>ème</sup>.

- **Préparation de la dilution de l'HE ;**

Nous avons fait diluer une quantité de 80 µL de l'HE de *Salvia officinalis* L. dans 1000 µL de PBS. Et une quantité de 200 µL de l'HE de *Curcuma longa* L. dans ce même volume de PBS.

- **Préparation des suspensions filles de travail ;**

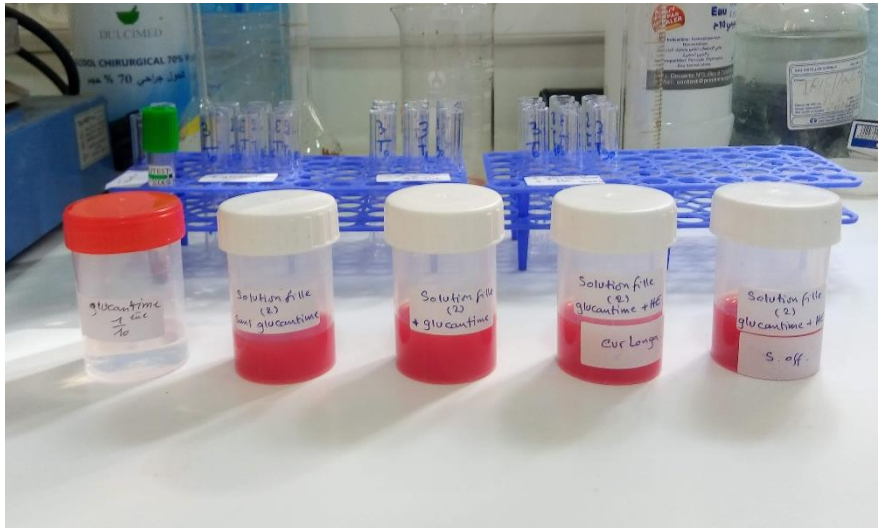
A partir de la suspension cellulaire mère, nous avons préparé quatre suspensions filles de travail, en se servant des pots de prélèvement stériles ;

- Pots (1) : Solution témoin : 17,8 mL de la suspension cellulaire mère.
- Pots (2) : 17,8 mL de la suspension cellulaire mère + 75 µL de Glucantime dilué à 1/10<sup>ème</sup>.

## MATERIEL ET METHODE

- Pots (3) : 17,8 mL de la suspension cellulaire mère + 75  $\mu$ L de Glucantime dilué à  $1/10^{\text{ème}}$  + 500  $\mu$ L de l'HE de *Curcuma longa* L.
- Pots (4) : 17,8 mL de la suspension cellulaire mère + 75  $\mu$ L de Glucantime dilué à  $1/10^{\text{ème}}$  + 500  $\mu$ L de l'HE de *Salvia officinalis* L.

Nous mettons les quatre pots sur un agitateur magnétique et nous lancerons le chronomètre.



**Figure 8 :** Suspensions filles de travail.

- **Préparation des tubes à doser ;**

Nous préparons 4 séries de tubes secs, chaque série se compose de 4 tubes secs correspondant aux instants  $T_0$ ,  $T_{30}$ ,  $T_{45}$  et  $T_{90}$ . Nous remplissons les 16 tubes par 3 mL de la solution de lavage glacée.

A l'instant  $T_0$ , nous introduisons 2 mL de la suspension fille de travail (suspension témoin, suspension contenant le Glucantime, suspension contenant l'HE de *Curcuma longa* L. et suspension contenant l'HE de *Salvia officinalis* L.) dans le premier tube ( $T_0$ ) de chaque série (série 1, série 2, série 3 et série 4), respectivement (tableau IV). Nous centrifugeons à 4000 tr/min pendant 5 min et nous récupérons séparément le culot et le surnageant.

Nous répétons la même manipulation après 30 minutes, après 45 minutes et après 90 minutes.

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

**Tableau IV :** Contenance des tubes à doser.

	Série 1	Série 2	Série 3	Série 4
<b>Tube 1 (T<sub>0</sub>)</b>	3 mL solution de lavage glacée + 2 mL suspension témoins ajoutée à T <sub>0</sub>	3 mL solution de lavage glacée + 2 mL suspension contenant le Glucantime ajoutée à T <sub>0</sub>	3 mL solution de lavage glacée + 2 mL suspension contenant le Glucantime et l'HE de <i>Curcuma longa</i> L. ajoutée à T <sub>0</sub>	3 mL solution de lavage glacée + 2 mL suspension contenant le Glucantime et l'HE de <i>Salvia officinalis</i> L. ajoutée à T <sub>0</sub>
<b>Tube 2 (T<sub>30</sub>)</b>	3 mL solution de lavage glacée + 2 mL suspension témoin ajoutée à T <sub>30</sub>	3 mL solution de lavage glacée + 2 mL suspension contenant le Glucantime ajoutée à T <sub>30</sub>	3 mL solution de lavage glacée + 2 mL suspension contenant le Glucantime et l'HE de <i>Curcuma longa</i> L. ajoutée à l'instant T <sub>30</sub>	3 mL solution de lavage glacée + 2 mL suspension contenant le Glucantime et l'HE de <i>Salvia officinalis</i> L. ajoutée à T <sub>30</sub>
<b>Tube 3 (T<sub>45</sub>)</b>	3 mL solution de lavage glacée + 2 mL suspension témoin ajoutée à T <sub>45</sub>	3 mL solution de lavage glacée + 2 mL suspension contenant le Glucantime ajoutée à T <sub>45</sub>	3 mL solution de lavage glacée + 2 mL suspension contenant le Glucantime et l'HE de <i>Curcuma longa</i> L. ajoutée à l'instant T <sub>45</sub>	3 mL solution de lavage glacée + 2 mL suspension contenant le Glucantime et l'HE de <i>Salvia officinalis</i> L. ajoutée à T <sub>45</sub>
<b>Tube 4 (T<sub>90</sub>)</b>	3 mL solution de lavage glacée + 2 mL suspension témoin ajoutée à T <sub>90</sub>	3 mL solution de lavage glacée + 2 mL suspension contenant le Glucantime ajoutée à T <sub>90</sub>	3 mL solution de lavage glacée + 2 mL suspension contenant le Glucantime et l'HE de <i>Curcuma longa</i> L. ajoutée à l'instant T <sub>90</sub>	3 mL solution de lavage glacée + 2 mL suspension contenant le Glucantime et l'HE de <i>Salvia officinalis</i> L. ajoutée à T <sub>90</sub>

## MATERIEL ET METHODE

---

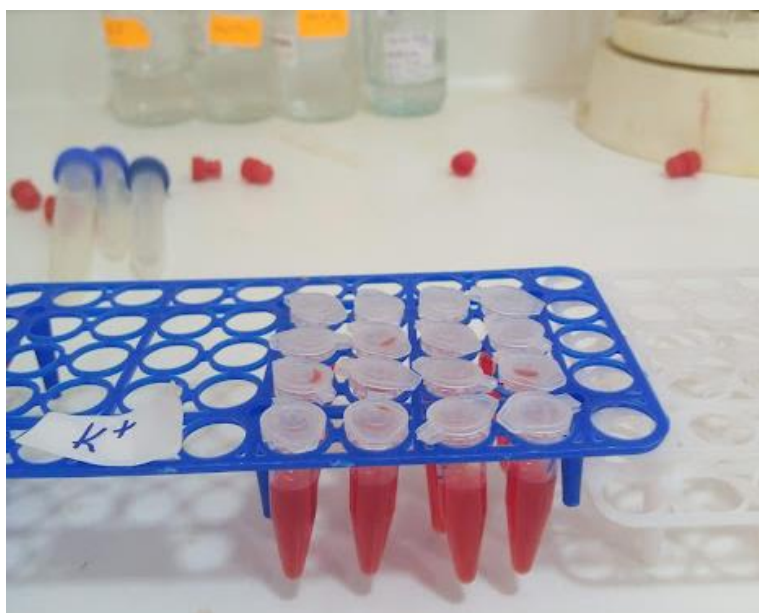
Les surnageants nous permettent de doser le taux d'hémoglobine extracellulaire dans chaque suspension cellulaire. Tandis que, les culots nous permettent de doser les autres paramètres biologiques notamment, la concentration intracellulaire de LDH et de potassium.



**Figure 9 :** Suspension obtenue après centrifugation.

### - Détermination de la concentration de potassium

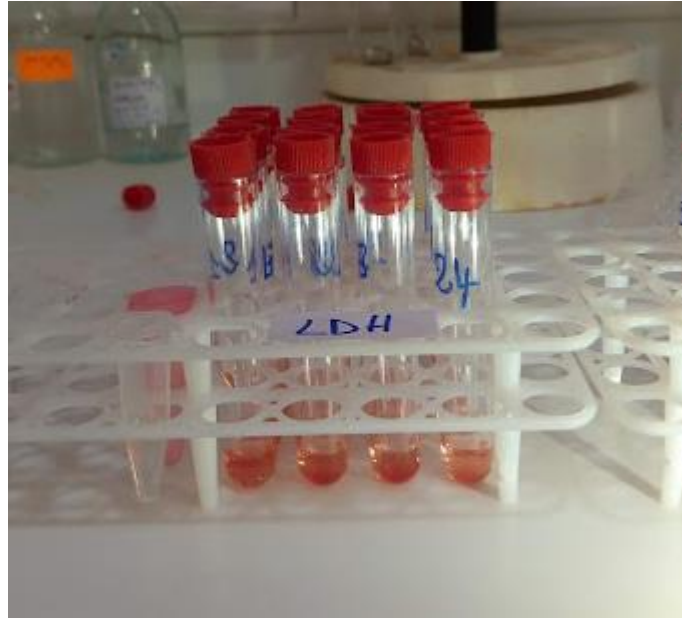
A chaque instant T ( $T_0$ ,  $T_{30}$ ,  $T_{45}$ ,  $T_{90}$ ), nous récupérons le culot dans 1 mL d'eau distillée puis nous le mélangeons à l'aide d'un vortex afin de lyser les cellules. Le dosage est fait à l'aide d'ionogramme.



**Figure 10 :** Suspensions cellulaires de dosage de potassium.

### - Détermination de la concentration de LDH

A chaque instant T ( $T_0$ ,  $T_{30}$ ,  $T_{45}$ ,  $T_{90}$ ), nous récupérons 50  $\mu\text{L}$  de la solution préalablement préparée pour le dosage de potassium dans 450  $\mu\text{L}$  d'eau distillée. Le dosage est fait à l'aide d'un automate SIEMENS ADVIA 1800.



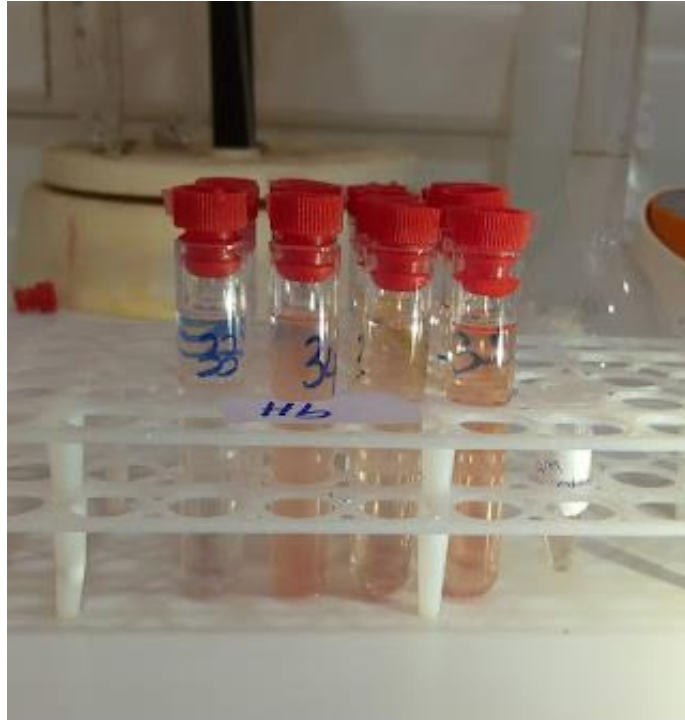
**Figure 11** : Suspensions cellulaires de dosage de LDH.

### - Détermination de la concentration de l'hémoglobine extracellulaire

A l'abri de la lumière et à l'intérieure des cuves de spectrophotomètre, nous mélangeons 500  $\mu\text{L}$  de la solution tampon (0,015%  $\text{H}_2\text{O}_2$  + DMSO) avec 50  $\mu\text{L}$  de colorant (chromogène). Nous laissons incuber pendant 5 à 10 minutes.

Nous ajoutons 10  $\mu\text{L}$  de surnageant, puis nous laissons incuber pendant 5 à 10 minutes. Ensuite nous ajoutons 500  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  en vue de stopper la réaction. La lecture de l'absorbance de nos échantillons ainsi que celle de l'étalon ( $[\text{Hb}]=0,582 \text{ g/L}$ ) a été faite au bout de 10 minutes d'incubation à température ambiante au spectrophotomètre à 450 nm en utilisant l'eau distillée comme blanc, et le pourcentage d'hémoglobine extracellulaire a été calculé en utilisant la formule suivante ;

$$A_{\text{étalon}} \rightarrow 0,582 \text{ g/L}$$



**Figure 12 :** Suspensions cellulaires de dosage de l'hémoglobine extracellulaire.



## **RESULTATS**

## 1. Calcul des rendements

### 1.1. Rendement en HE de *Salvia officinalis* L.

Le rendement en huile essentielle des parties aériennes de *Salvia officinalis* L. de la présente étude est de 0,66%.

### 1.2. Rendement en HE de *Curcuma longa* L.

Le rendement en huile essentielle des parties sous terraines de *Curcuma longa* L. obtenu est de 1%.

## 2. Résultat de la caractérisation organoleptique des HEs

Les caractères organoleptiques des huiles essentielles extraites par hydrodistillation sont résumés dans le tableau ci-dessous (tableau V) :

**Tableau V** : Caractères organoleptiques des HEs extraites.

Caractère organoleptique	Couleur	Odeur	Aspects à différentes températures
HE de <i>Salvia officinalis</i> L.	Incolore à jaune très pâle	herbacée, Camphrée	Liquide à température ambiante Liquide à 4°C
HE de <i>Curcuma longa</i> L.	Jaunâtre	Epicée, boisée	Liquide à température ambiante Liquide à 4°C

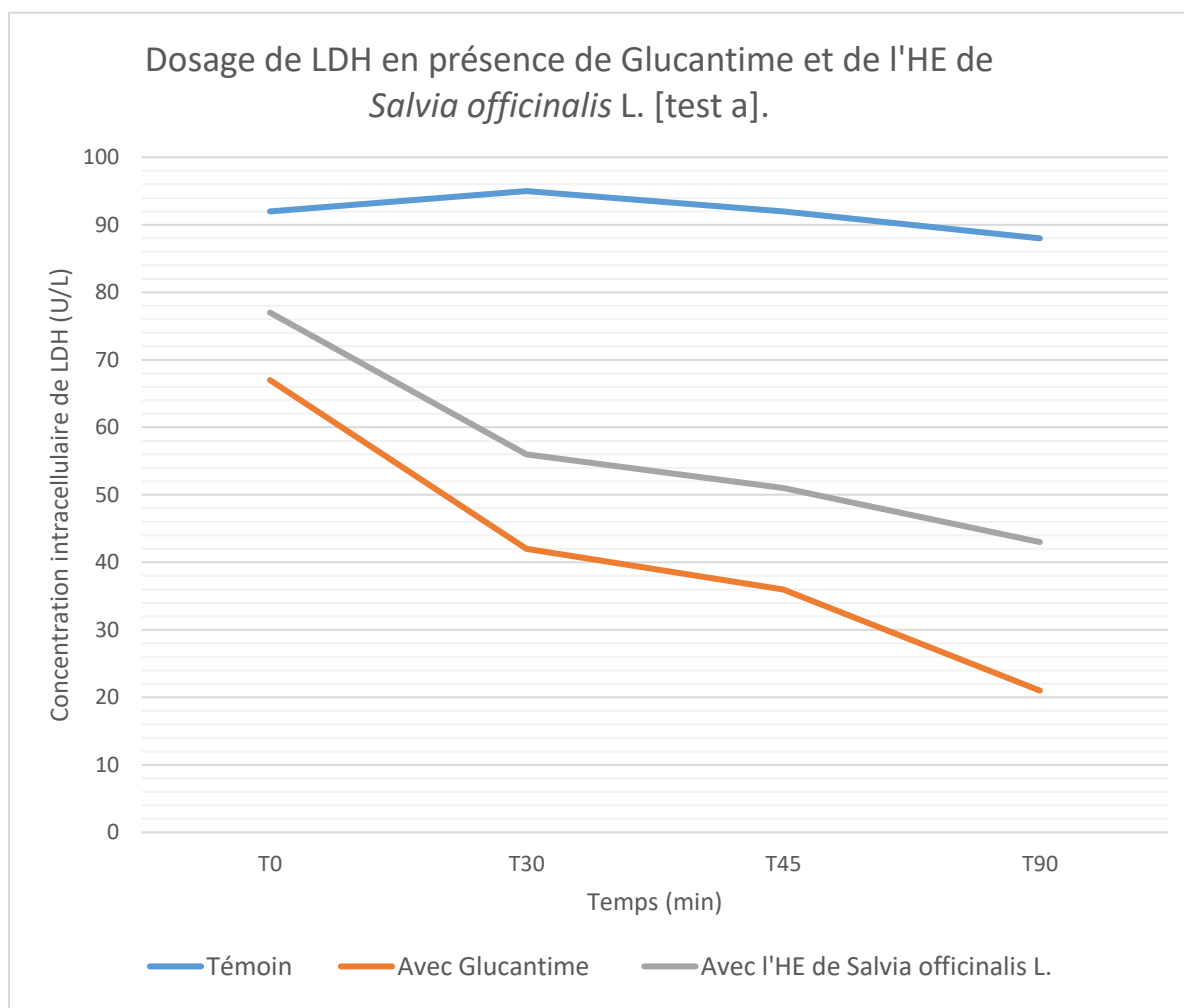
## 3. Résultat de l'évaluation de l'activité antihémolytique des HEs

### 3.1. Résultats de l'évaluation de l'activité antihémolytique de l'HE de *Salvia officinalis* L.

Les résultats biochimiques des tests effectués par la présente étude sont présentés dans les graphes ci-dessous ;

### 3.1.1. Résultats de dosage de LDH

#### - Résultats obtenus à partir du premier test



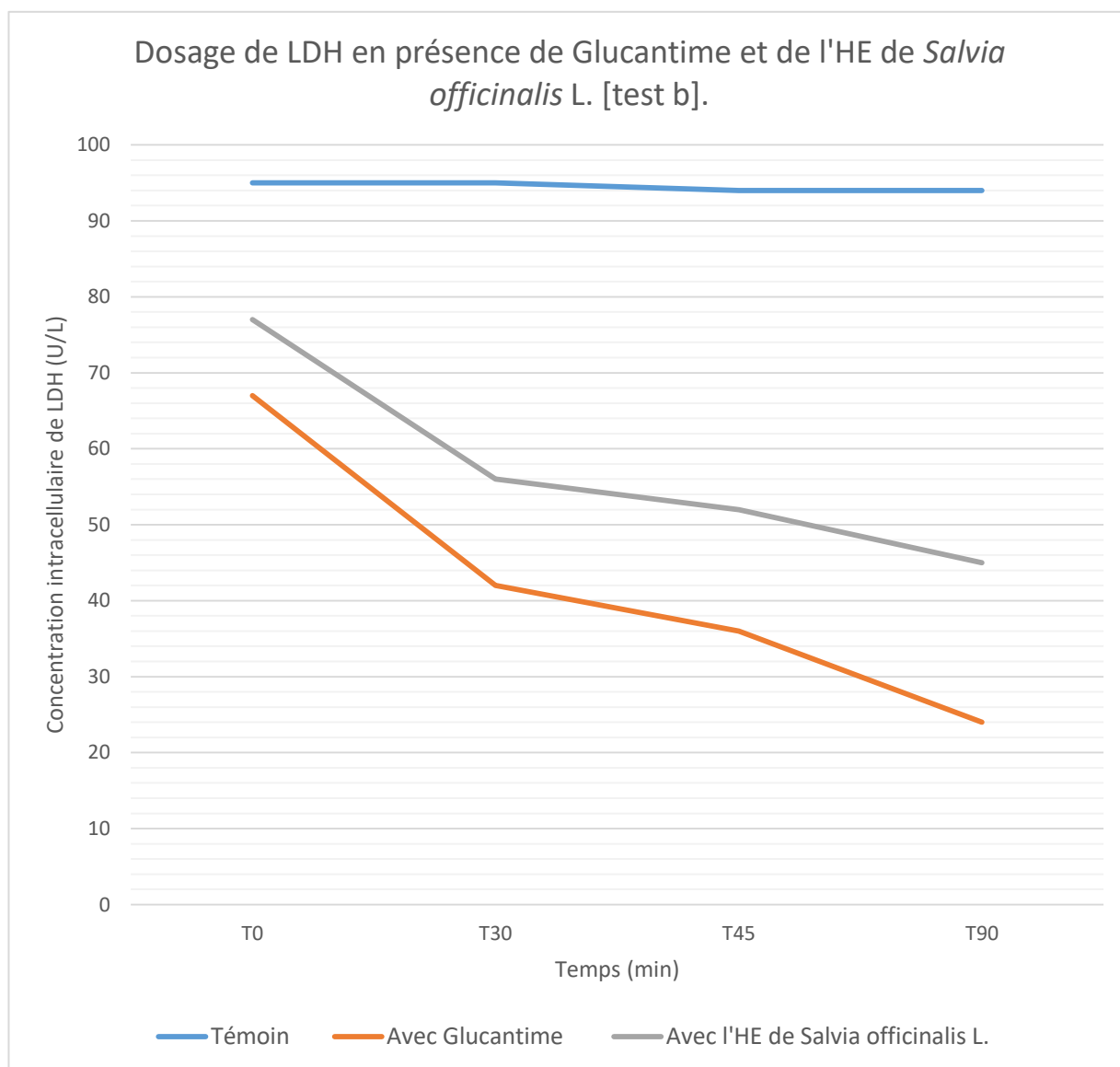
**Figure 13 :** Concentration intracellulaire de LDH en présence de Glucantime et de l'HE de *Salvia officinalis* L. [test a].

Les valeurs enregistrées des suspensions témoins se stabilisent à une plage étroite de concentrations proches de 92 U/L.

La présence de Glucantime entraîne une diminution progressive des concentrations au fil du temps, provoquant ainsi une chute considérable à T<sub>30</sub> atteindront une concentration de 42 U/L. Cette diminution est également observée en présence de l'HE de *Salvia officinalis* L. Cependant, elle est moins importante par rapport à celle provoquée par le Glucantime.

## RESULTATS

### - Résultats obtenus à partir du deuxième test



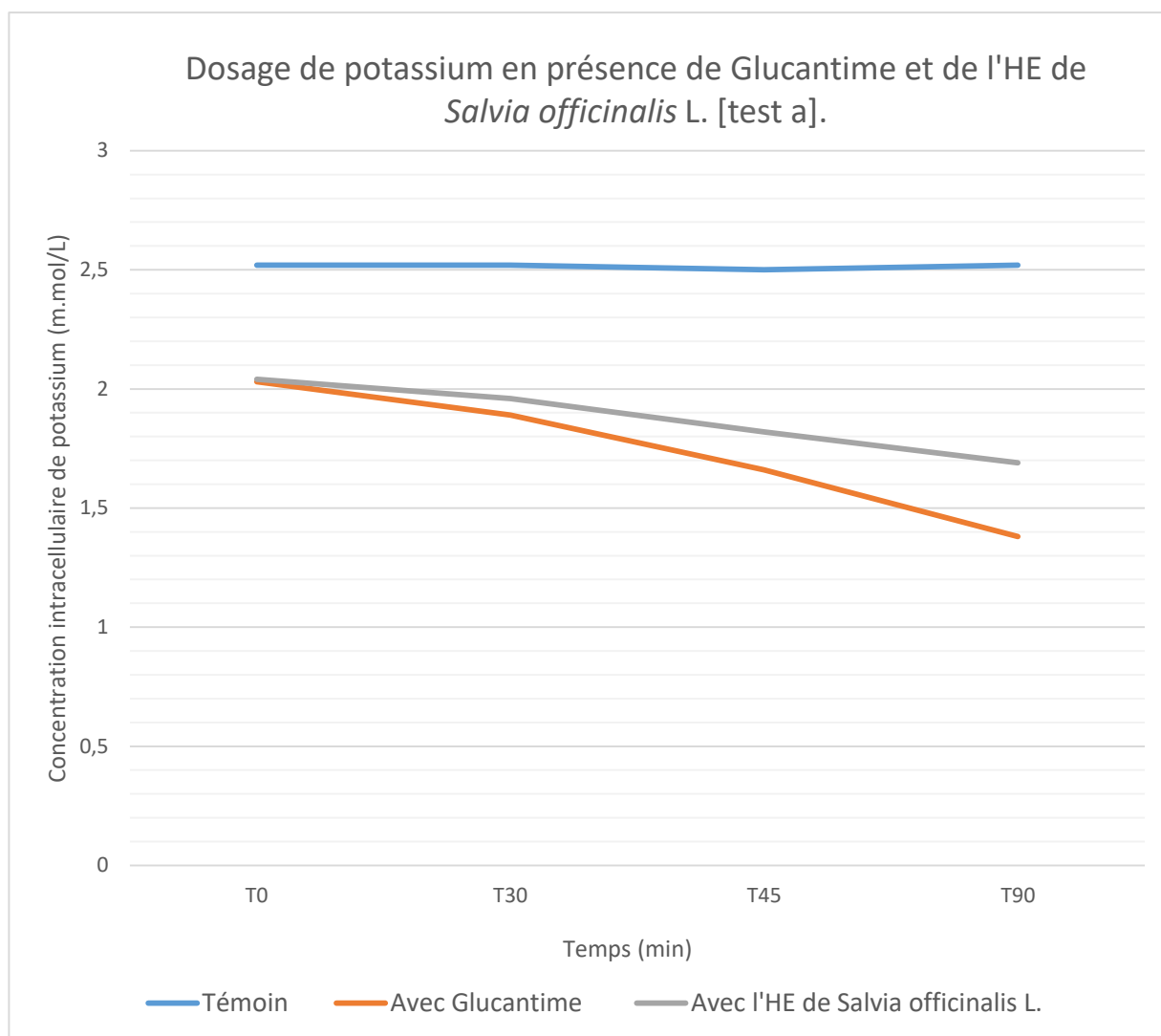
**Figure 14 :** Concentration intracellulaire de LDH en présence de Glucantime et de l'HE de *Salvia officinalis* L. [test b].

La variation des concentrations intracellulaires observée entre T<sub>0</sub>, T<sub>30</sub> et T<sub>45</sub> est similaire à celle obtenue dans la première manipulation (test a). Toutefois, nous notons une légère différence à T<sub>90</sub>.

## RESULTATS

### 3.1.2. Résultats de dosage de potassium

#### - Résultats obtenus à partir du premier test

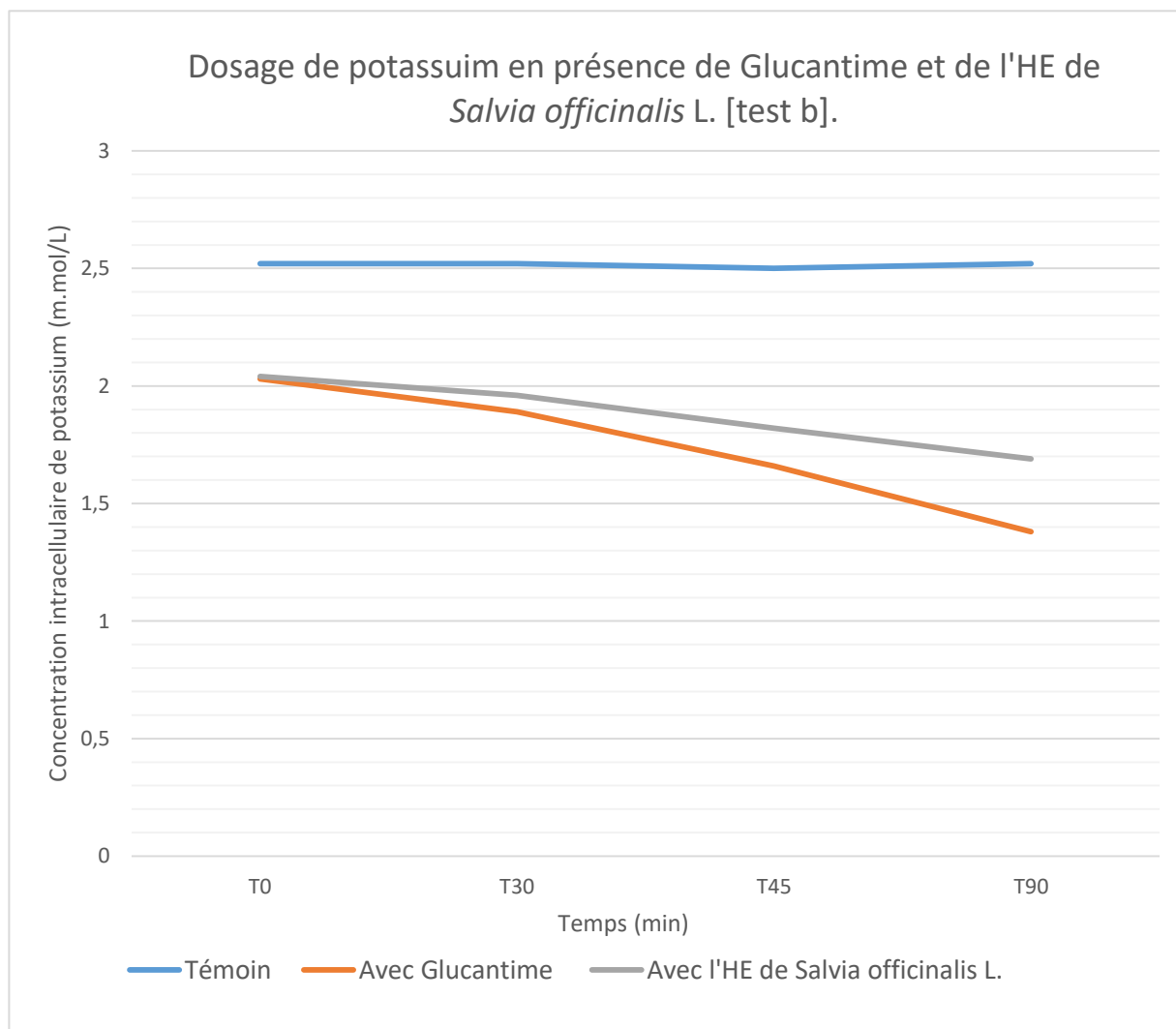


**Figure 15 :** Concentration intracellulaire de potassium en présence de Glucantime et de l'HE de *Salvia officinalis* L. [test a].

La présence de Glucantime provoque une diminution des concentrations intracellulaires de potassium allant de 2,03 m.mole/L à T<sub>0</sub> à 1,38 m.mole/L à T<sub>90</sub>. Cependant, les valeurs enregistrées de T<sub>30</sub> à T<sub>90</sub> en présence de l'HE de *Salvia officinalis* L. sont légèrement plus importantes que celles obtenues en présence de Glucantime seul.

## RESULTATS

### - Résultats obtenus à partir du deuxième test

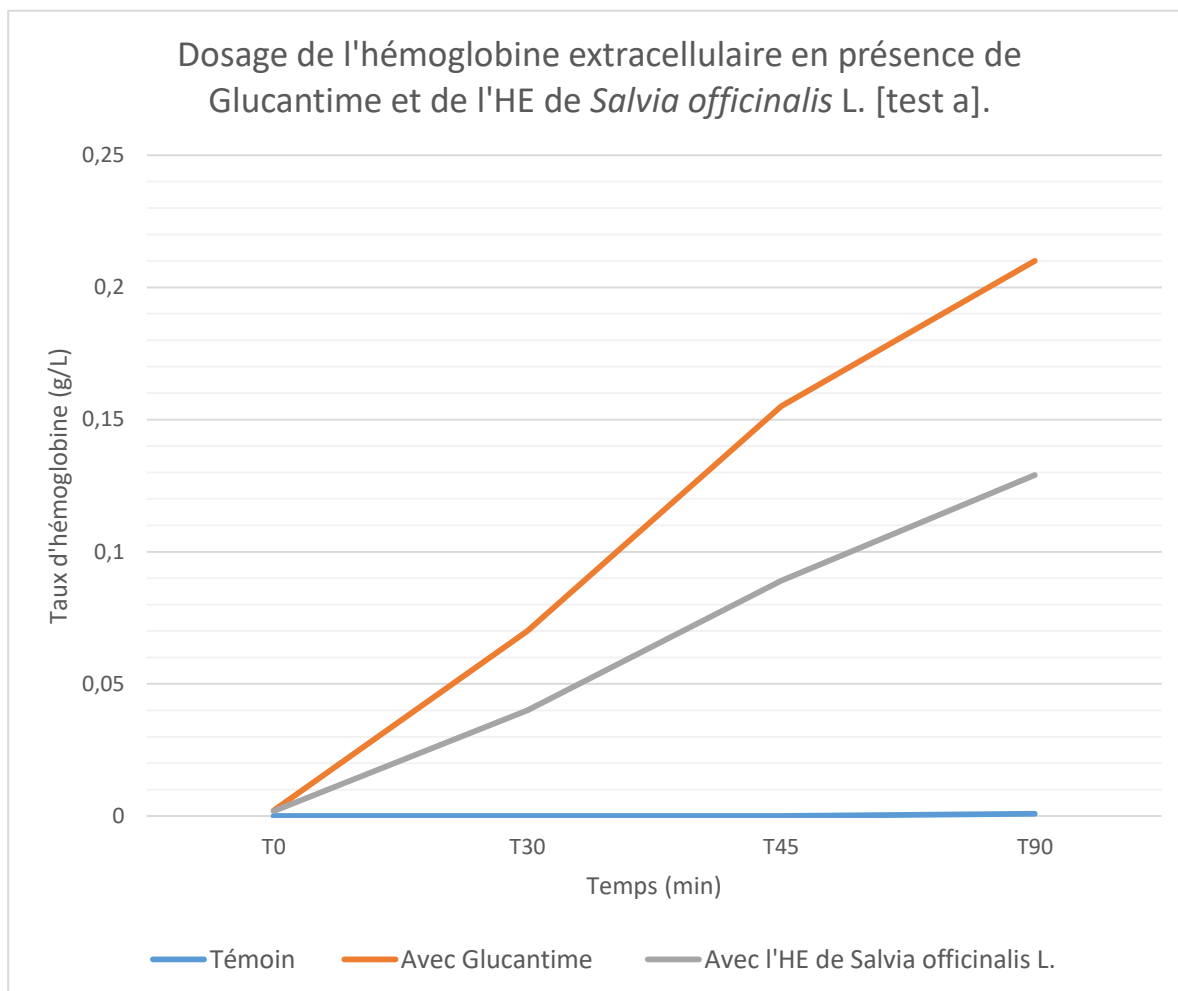


**Figure 16 :** Concentration intracellulaire de potassium en présence de Glucantime et de l'HE de *Salvia officinalis* L. [test b].

Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par le biais de la première manipulation (test a).

## 3.1.3. Résultats de dosage de l'hémoglobine extracellulaire

### - Résultats obtenus à partir du premier test



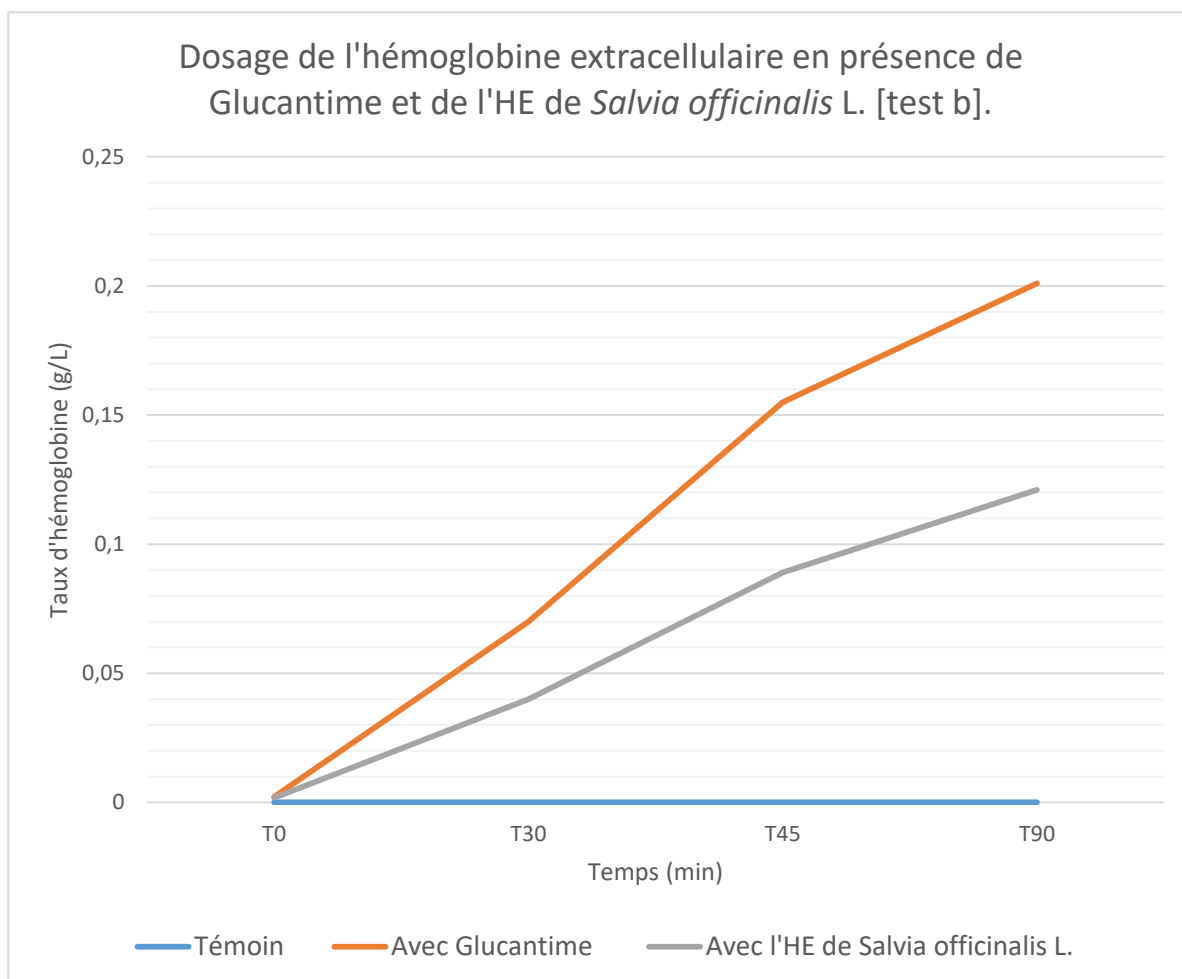
**Figure 17 :** Dosage de l'hémoglobine extracellulaire en présence de Glucantime et de l'HE de *Salvia officinalis* L. [test a].

Dans les suspensions contenant le Glucantime, nous avons détecté la présence d'hémoglobine extracellulaire dès les premiers instants de la réaction, soit un taux de 0,0021 g/L à T<sub>0</sub>. Ce taux a ensuite augmenté de manière progressive au fil du temps.

Les taux d'hémoglobines enregistrés en présence de l'HE de *Salvia officinalis* L. sont nettement moins importants que ceux obtenus en présence de Glucantime seul.

## RESULTATS

### - Résultats obtenus à partir du deuxième test



**Figure 18 :** Dosage de l'hémoglobine extracellulaire en présence de Glucantime et de l'HE de *Salvia officinalis* L. [test b].

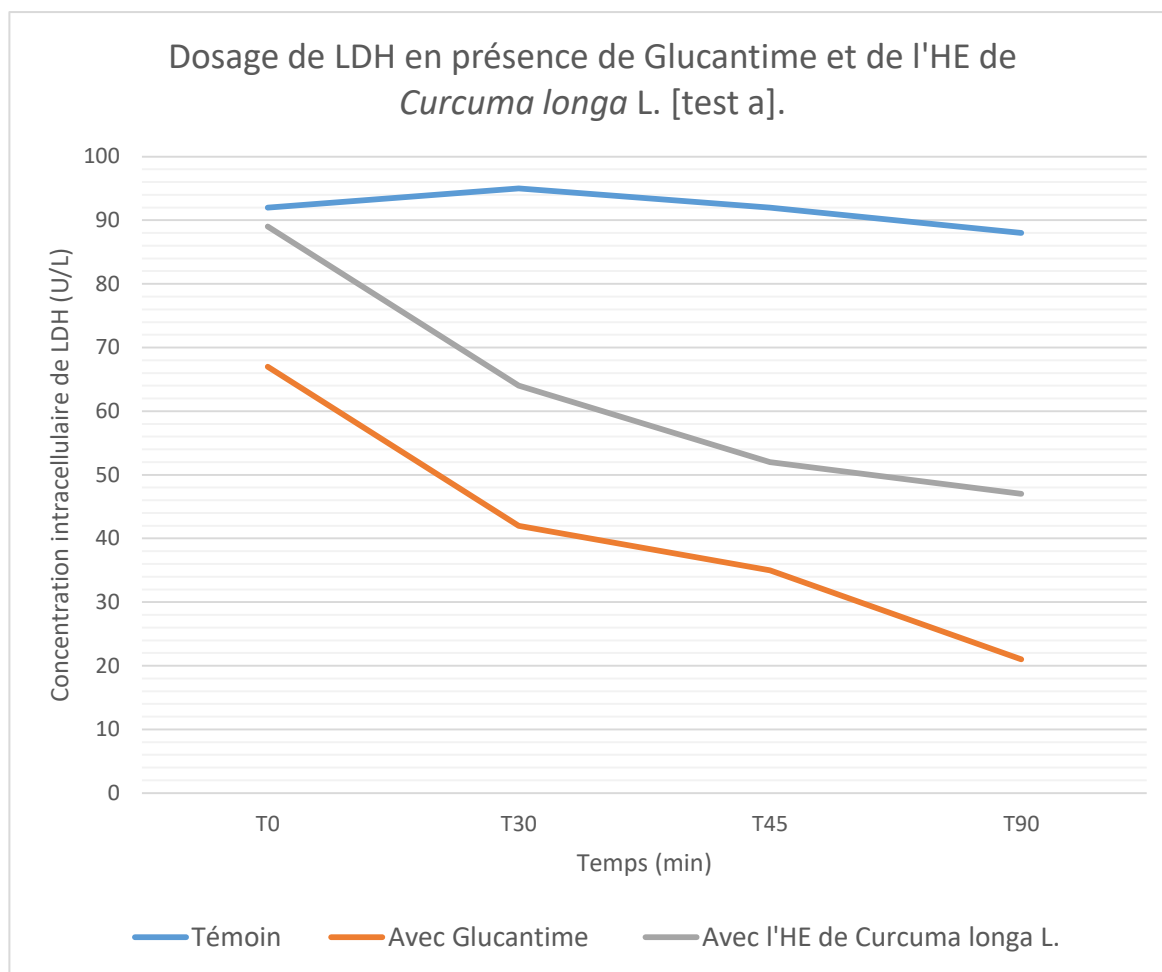
Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par le biais de la première manipulation (test a).



### 3.2. Résultats de l'évaluation de l'activité antihémolytique de l'HE de *Curcuma longa* L.

#### 3.2.1. Résultats de dosage de LDH

##### - Résultats obtenus à partir du premier test

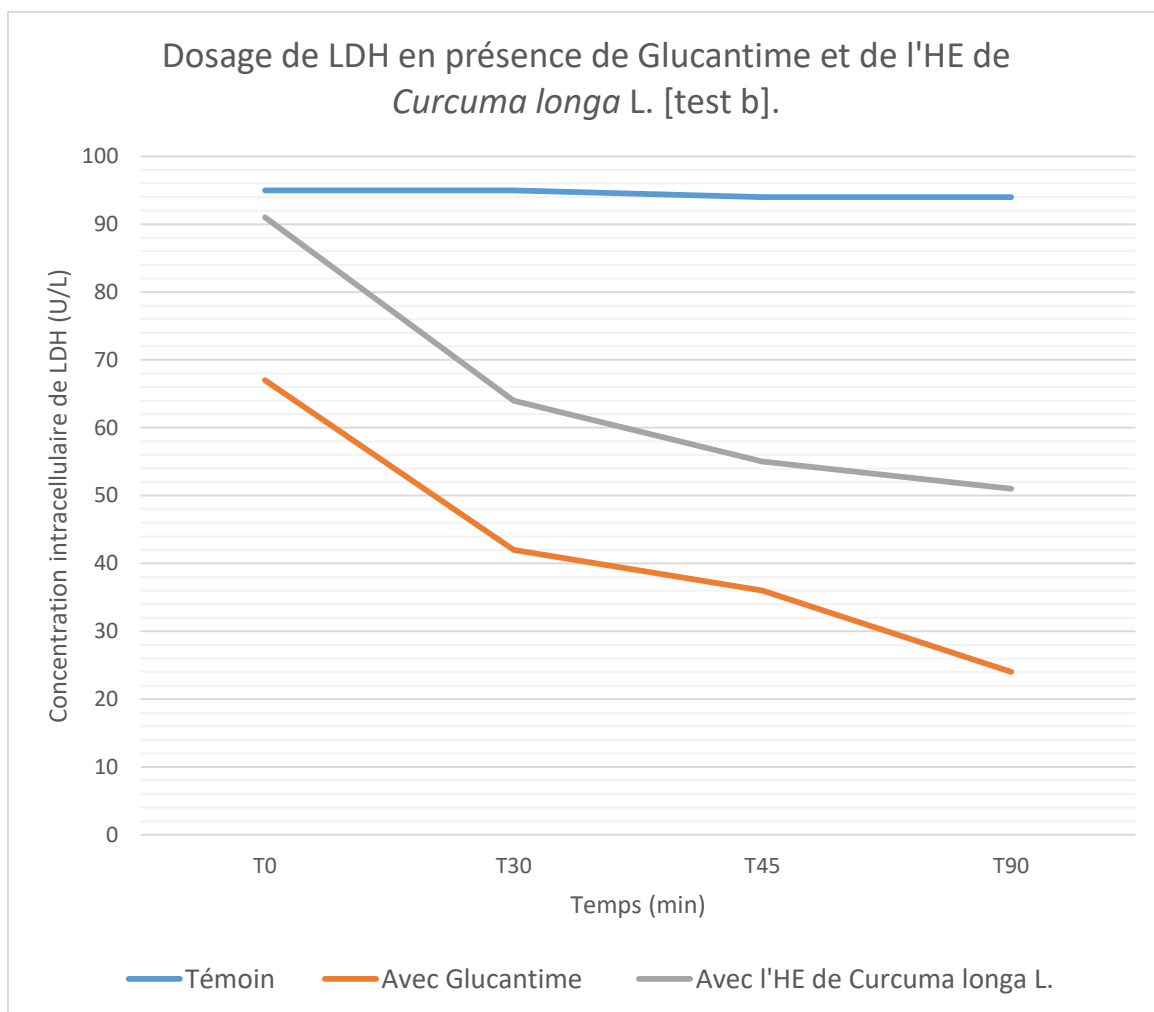


**Figure 19 :** Concentration intracellulaire de LDH en présence de Glucantime et de l'HE de *Curcuma longa* L. [test a].

La présence de Glucantime entraîne une diminution progressive des concentrations au fil du temps, provoquant ainsi une chute considérable à T<sub>30</sub> atteignant 42 U/L. Cette diminution est également observée en présence de l'HE de *Curcuma longa* L. Cependant, elle est moins importante par rapport à celle provoquée par le Glucantime.

## RESULTATS

### - Résultats obtenus à partir du deuxième test

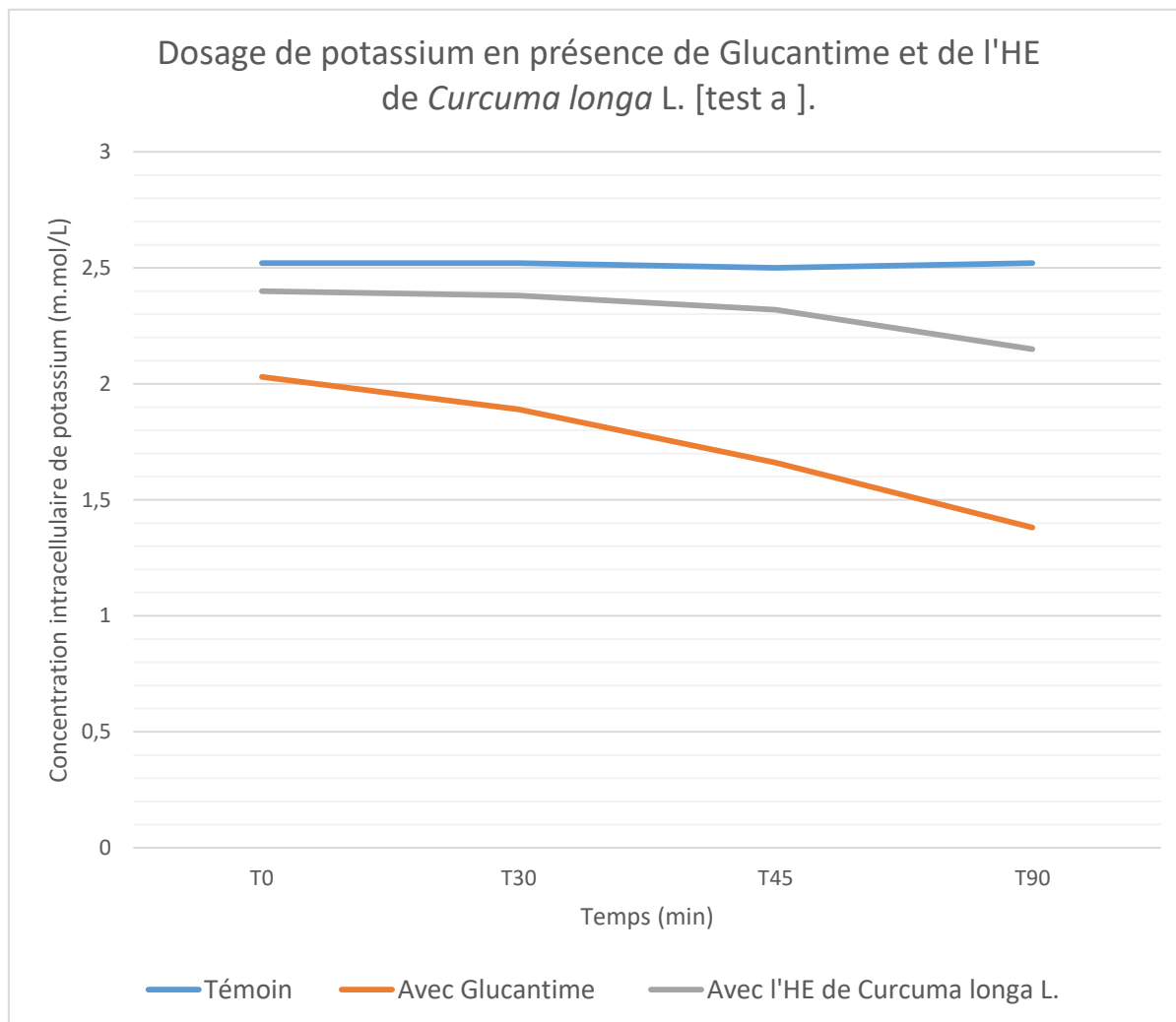


**Figure 20 :** Concentration intracellulaire de LDH en présence de Glucantime et de l'HE de *Curcuma longa* L. [test b].

Les concentrations obtenues par le biais des deux manipulations semblent se rassembler aux instants T<sub>0</sub>, T<sub>30</sub> et T<sub>45</sub>. Néanmoins, une légère différence a été observée à T<sub>90</sub>.

## 3.2.2. Résultats de dosage de potassium

### - Résultats obtenus à partir du premier test

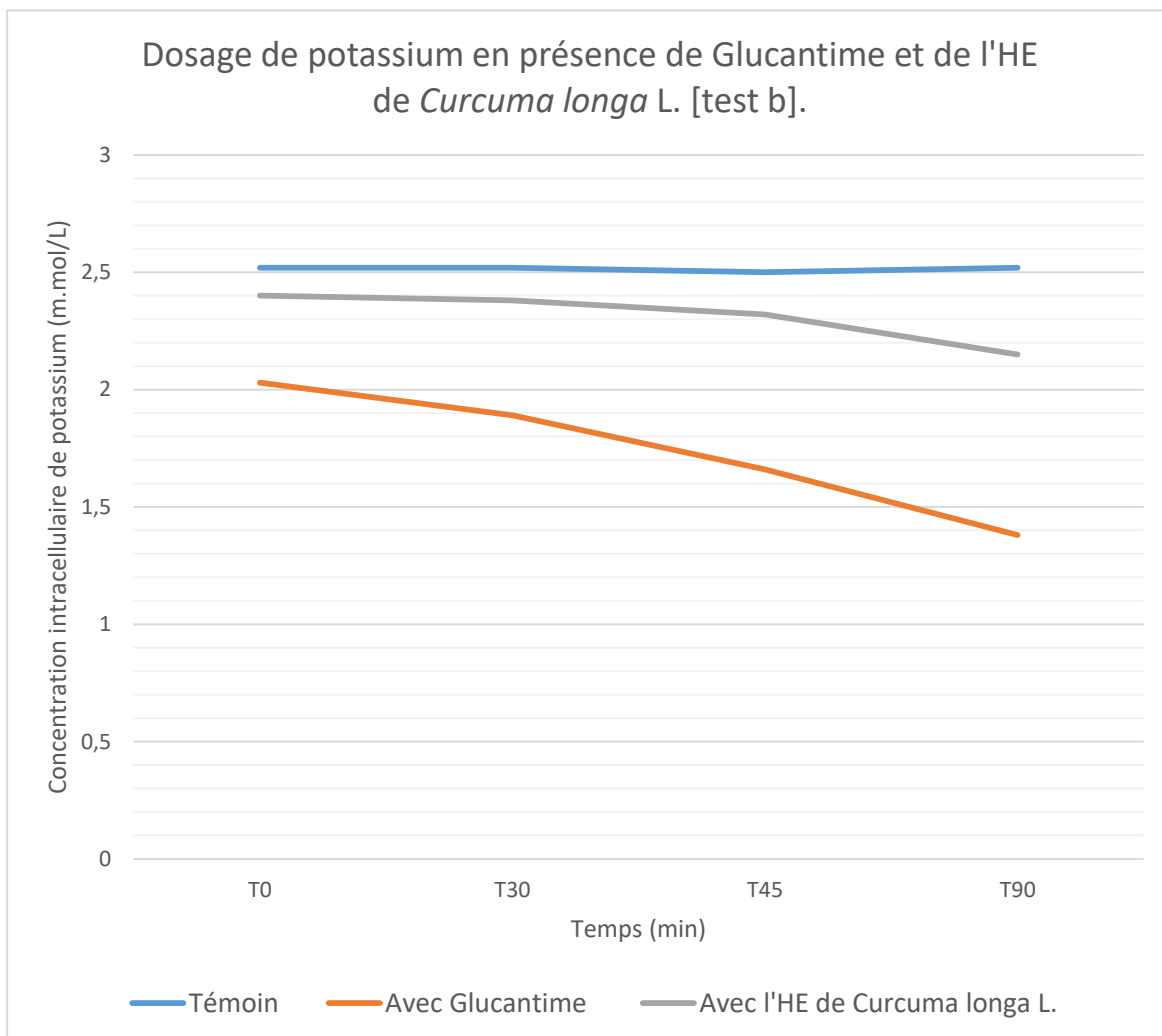


**Figure 21** : Concentration intracellulaire de potassium en présence de Glucantime et de l'HE de *Curcuma longa* L. [test a].

De ces résultats, nous remarquons qu'à chaque instant T (T<sub>0</sub>, T<sub>30</sub>, T<sub>45</sub>, T<sub>90</sub>), les taux enregistrés de potassium en présence de l'HE de *Curcuma longa* L. étaient plus importants que ceux enregistrés à partir des suspensions contenant uniquement la molécule de Glucantime.

## RESULTATS

### - Résultats obtenus à partir du deuxième test



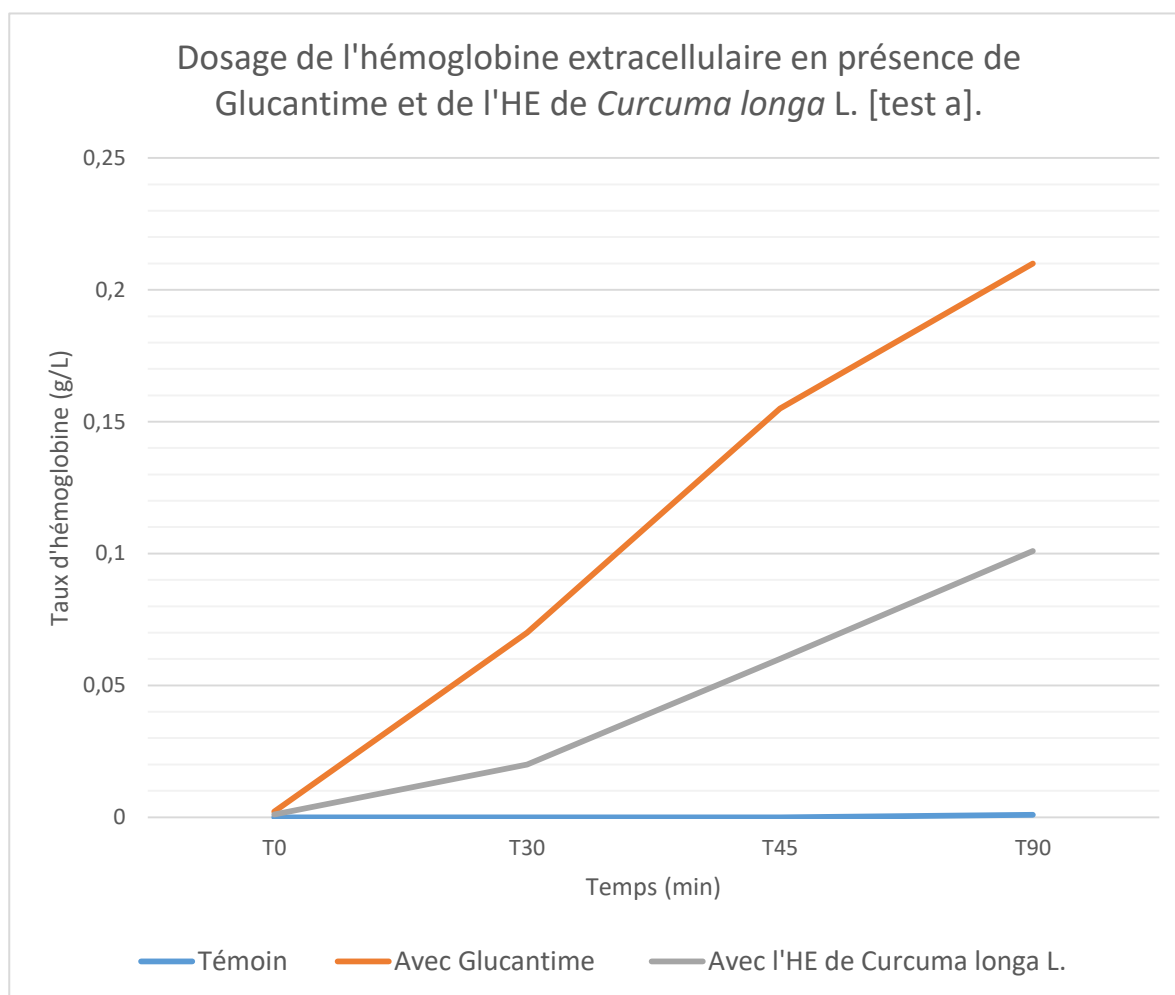
**Figure 22 :** Concentration intracellulaire de potassium en présence de Glucantime et de l'HE de *Curcuma longa* L. [test b].

Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par le biais de la première manipulation (test a).

## RESULTATS

### 3.2.3. Résultats de dosage de l'hémoglobine extracellulaire

#### - Résultats obtenus à partir du premier test



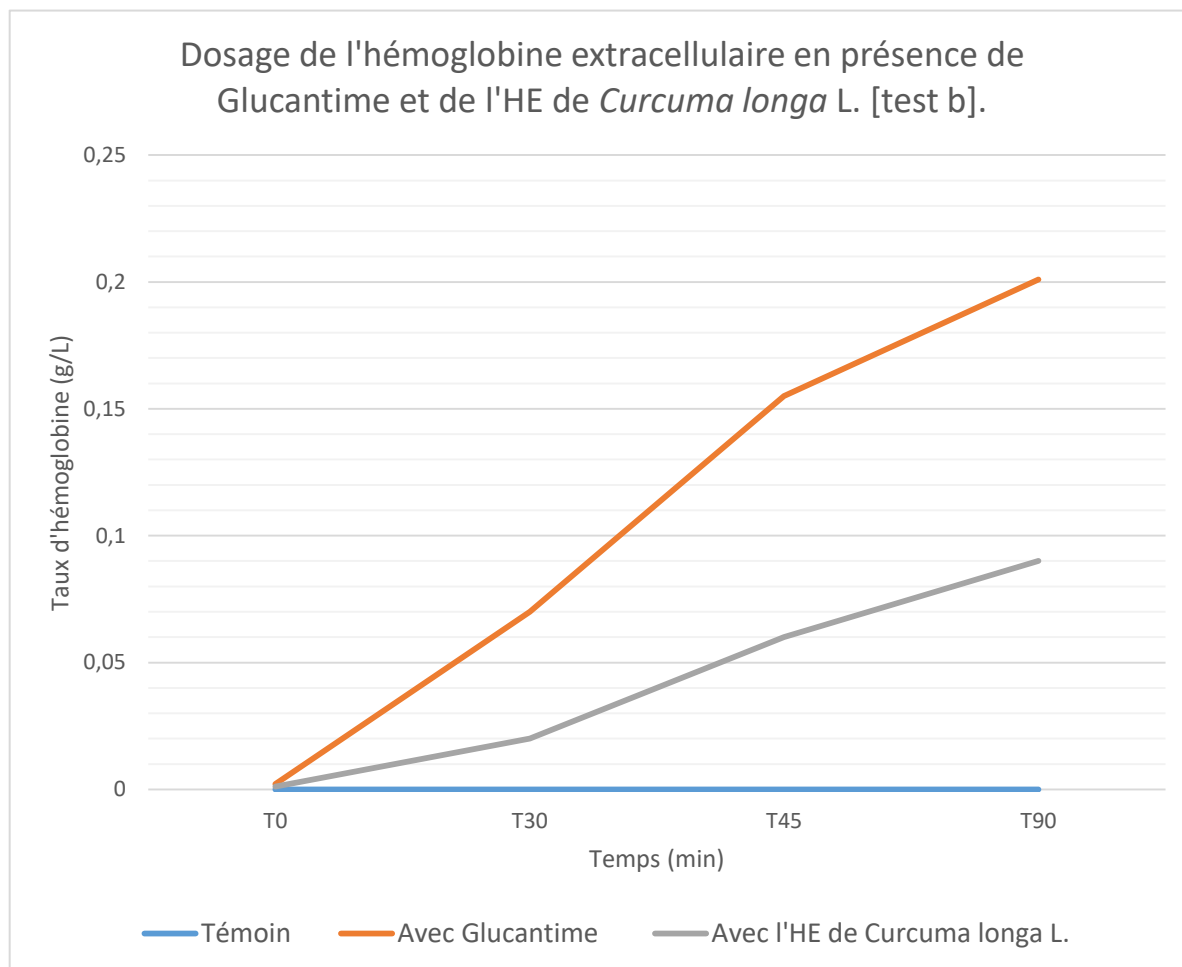
**Figure 23 :** Dosage de l'hémoglobine extracellulaire en présence de Glucantime et de l'HE de *Curcuma longa* L. [test a].

Les valeurs obtenues à partir des suspensions témoins étaient nulles pour toutes les mesures de temps.

Dans les suspensions contenant le Glucantime, nous avons détecté la présence d'hémoglobine dès les premiers instants de la réaction, soit un taux de 0,0021 g/L à T<sub>0</sub>. Ce taux a ensuite augmenté de manière progressive au fil du temps.

Les taux d'hémoglobines enregistrés en présence de l'HE de *Curcuma longa* L. sont nettement moins importants que ceux obtenus en présence de Glucantime seul.

### - Résultats obtenus à partir du deuxième test



**Figure 24 :** Dosage de l'hémoglobine extracellulaire en présence de Glucantime et de l'HE de *Curcuma longa* L. [test b].

Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par le biais de la première manipulation (test a).

## **DISCUSSION**

### 1. Discussion des résultats de l'analyse des HEs extraites

#### 1.1. Discussion des rendements obtenus

Dans la présente étude, le rendement en huile essentielle des deux espèces étudiées ; *Salvia officinalis* L. et *Curcuma longa* L. était respectivement de l'ordre de 0,66% et 1%.

En comparant ces résultats avec ceux rapportés par la littérature, les valeurs obtenues sont nettement inférieures à celles obtenues par l'étude d'**AMIROUCHE et al** ; où le rendement de *Salvia officinalis* L. était de 0,98%, ainsi que celles obtenues par l'étude de **BOUTAMANI** ; où le rendement de *Curcuma longa* L. était de 2,65% [37,38].

Cette différence pourrait dépendre des facteurs environnementaux (climat, pluviométrie, taux d'ensoleillement, pollution, conditions édaphiques...) comme a montré l'étude de **BOIRA et BLANQUER**, des facteurs physiologiques tels que le type de matériel végétal et le stade de développement de la plante, des facteurs géographiques, ainsi de la méthode et des conditions d'extraction [39,40].

De plus, nos rendements sont inférieurs aux rendements obtenus avec d'autres espèces du genre *Salvia* et du genre *Curcuma*. D'une part, l'étude de **KOTAN et al** et l'étude de **KIVRAK et al** ont rapporté un rendement de 1,33% en HE de *Salvia tomentosa* L. et un rendement de 0,88% en HE de *Salvia potentillifolia* [41].

D'autre part, l'étude de **SAKUNTALA et al** menée sur l'HE de *Curcuma aromatica* a enregistré un rendement de l'ordre de 1,45%, montrant ainsi que les rendements en HE varient considérablement entre les espèces du même genre [42].

#### 1.2. Discussion de l'analyse organoleptique des HEs extraites

L'évaluation des caractères organoleptiques d'une huile essentielle nous renseigne sur sa pureté ; l'odeur, la couleur et l'aspect varient en fonction de la composition chimique de cette huile.

A l'issue des distillations réalisées, l'HE de *Salvia officinalis* L. obtenue est de couleur jaune très pâle à incolore, d'une odeur herbacée camphrée et liquide à température ambiante. Ces caractères semblent être similaires à ceux décrits par l'étude de **HAOUAM et KIROUANI** [43].



## DISCUSSION

---

Cependant, l'HE de *Curcuma longa* L. est de couleur jaune, d'une odeur fraîche, épicée et puissamment boisée et d'un aspect liquide à température ambiante. Ces résultats concordent avec les résultats obtenus par l'étude de **GHALI et YFRAH**, confirmant la pureté de notre huile essentielle [44].

### **2. Discussion des résultats de l'évaluation de l'activité antihémolytique de l'HE de *Salvia officinalis* L. et de *Curcuma longa* L.**

De nombreux paramètres biologiques permettent de confirmer la présence d'une éventuelle pathologie hémolytique, notamment le dosage de LDH, la mesure de potassium dans la circulation sanguine, le dosage de l'hémoglobine extracellulaire ...etc.

Dans la présente étude et en vue d'analyser l'effet protecteur de l'HE de *Salvia officinalis* L. et de l'HE de *Curcuma longa* L. sur la membrane des globules rouges contre l'hémolyse provoquée par l'antimoniote de méglumine nous avons évalué la variation de la concentration sanguine en LDH, en potassium et en hémoglobine extracellulaire.

#### **2.1. Discussion des résultats de dosage de LDH**

Le dosage de LDH revêt une grande importance dans les tests d'évaluation de l'activité hémolytique, en fait ce paramètre permet, et d'indiquer la présence d'une éventuelle hémolyse et d'évaluer la sévérité des états hémolytiques.

Dans la présente étude, nous avons suivi l'évolution de la concentration intracellulaire de LDH dans notre échantillon du sang en fonction du temps et cela à T<sub>0</sub>, à T<sub>30</sub>, à T<sub>45</sub> et à T<sub>90</sub>.

A la lumière des résultats enregistrés, nous remarquons que les concentrations intracellulaires de LDH mesurées dans les suspensions témoins sont stables et elles se maintiennent dans une plage étroite de valeurs au cours du temps. De ce fait, nous suggérons que les conditions expérimentales sont stables et que les variations dues à des facteurs externes sont minimisées, ce qui nous permet d'exclure la présence d'une éventuelle hémolyse pouvant être déclenchée au cours des manipulations ou au cours de l'agitation mécanique.

De nombreuses études confirment que le lactate déshydrogénase (LDH) est une enzyme présente dans les érythrocytes à des concentrations beaucoup plus élevées que dans le plasma sanguin (**COHEN, ROIGAS., BRAUNWALD et al.**) [45,46].

## DISCUSSION

---

Par conséquent, la rupture des globules rouges provoque la libération de LDH dans le plasma entraînant une augmentation significative de la concentration plasmatique de cette enzyme et de ce fait une diminution de la concentration intracellulaire de LDH [47].

De ce sens, la diminution des concentrations intracellulaires de LDH dans les suspensions qui contenaient la molécule de Glucantime, allant de 67 U/L au début de l'étude ( $T_0$ ) à 21 U/L après 90 minutes ( $T_{90}$ ), pourrait être expliquée par le déclenchement d'une hémolyse provoquant une rupture des globules rouges présents dans l'échantillon de sang, entraînant une libération de LDH dans le plasma sanguin.

En consultant les résultats issus d'autres études, l'étude de **KHOUANI et ABED** portant sur la toxicité de Glucantime sur la membrane des globules rouges a mis en évidence une diminution graduelle des concentrations intracellulaires de LDH de  $T_0$  à  $T_{45}$  à  $T_{90}$  [48].

Ainsi, les travaux menés par **CHARBAGI et al** et ceux de **MASMOUDI** et ses collaborateurs ont révélé différentes manifestations de la toxicité de Glucantime, incluant des manifestations hématologiques telles qu'une anémie hémolytique, des agranulocytoses et parfois des hémorragies importantes [49,50].

En se basant sur ces études, nos résultats concordent avec ceux rapportés par **KHOUANI et ABED**, renforçant l'hypothèse que la molécule de Glucantime est susceptible de provoquer une hémolyse des globules rouges. Ainsi, l'étude de **CHARBAGI et al** et celle de **MASMOUDI et al**, nous confirment la toxicité hémolytique des antimoniates de méglumine autrement dit, de Glucantime [48, 49, 50].

En vue d'évaluer l'effet protecteur de l'HE de *Salvia officinalis* L. et de l'HE de *Curcuma longa* L. sur la membrane des globules rouges, nous comparant les résultats obtenus à partir des suspensions contenant la molécule de Glucantime avec ceux obtenus à partir des suspensions contenant la molécule de Glucantime en présence de l'HE étudiée à différents instant T.

D'une part, les résultats révèlent une diminution progressive des concentrations intracellulaires de LDH dans les suspensions qui contenaient les HEs étudiées. Cependant, cette diminution est moins importante par rapport à celle provoquée par le Glucantime. Ainsi, à chaque instant T, les taux enregistrés de LDH étaient plus importants que ceux enregistrés à partir des suspensions contenant uniquement la molécule de Glucantime. De ces résultats, nous remarquons que les deux huiles essentielles étudiées possèdent une activité antihémolytique remarquable contre cette molécule chimique.

## DISCUSSION

---

**MAHMOUDI et al** ont mené une étude pour examiner l'impact de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. sur l'hémolyse provoquée par l'acide peroxy-nitrique chez les globules rouges humains. Les résultats ont montré que cette huile essentielle possédait une activité antihémolytique significative, permettant ainsi de protéger les globules rouges contre les dommages oxydatifs. D'autres études ont confirmé ce même constat, notamment celles menées par **BOUGHERRA et al**, **JAFARI et al** [51, 52, 53].

Peu d'études ont été portées sur l'effet antihémolytique de l'huile essentielle de *Curcuma longa* L. En revanche, de nombreuses études démontrent que la composition chimique de cette HE, notamment sa richesse en Curcumine lui confère des propriétés antioxydantes importantes [54].

D'autres études, révèlent que les huiles essentielles ayant une forte activité antioxydante ont également des effets antihémolytiques potentiels en protégeant les globules rouges contre les dommages oxydatifs provoquant l'hémolyse.

En prenant en compte les résultats issus des études précédemment mentionnées ainsi que nos propres résultats, nous confirmons l'effet antihémolytique des huiles essentielles étudiées (*Salvia officinalis* L. et *Curcuma longa* L.).

Par comparaison, à chaque instant T ( $T_0$ ,  $T_{30}$ ,  $T_{40}$  et  $T_{90}$ ) les concentrations intracellulaires obtenues en présence de l'HE de *Curcuma longa* L. étaient légèrement plus importantes que celles obtenues en présence de l'HE de *Salvia officinalis* L. De ces résultats, nous supposons que l'huile essentielle de *Curcuma longa* L. possède un effet protecteur légèrement plus important que l'HE de *Salvia officinalis* L.

D'autre part, et sachant que le taux de LDH initial ( $T_0$ ) enregistré à partir des suspensions témoins estimées comme référence, était de 95 U/L. Nous déduisons que bien que l'HE de *Salvia officinalis* L. et de *Curcuma longa* L. aient un pouvoir protecteur remarquable capable de réduire l'intensité de l'hémolyse, elles ne sont pas aussi efficaces pour supprimer l'état hémolytique provoqué par le Glucantime.

### **2.2. Discussion des résultats de dosage de potassium**

En vue de mener une analyse plus profonde de l'effet protecteur antihémolytique des deux huiles essentielles évaluées, il nous semble indispensable de quantifier les concentrations intracellulaires de potassium dans les suspensions cellulaires étudiées.

## DISCUSSION

---

Les valeurs enregistrées à différents temps nous ont permis de tracer des courbes descendantes à l'exception de la courbe obtenue à partir des suspensions témoins où les valeurs étaient stables dans une plage étroite de concentrations proches de 2,52 m.mol/L.

A T<sub>0</sub>, une valeur de 2,03 m.mol/L a été enregistrée dans les suspensions contenant la molécule de Glucantime. La même concentration a été obtenue en présence de l'HE de *Salvia officinalis* L., soit 2,04 m.mol/L. Une valeur plus importante a été enregistrée dans les suspensions contenant l'HE de *Curcuma longa* L. de l'ordre de 2,4 m.mol/L.

A T<sub>30</sub>, une chute considérable des concentrations a été obtenue avec toutes les suspensions cellulaires où la chute la plus importante était enregistrée dans les suspensions contenant uniquement le Glucantime et cela d'une concentration initiale de 2,03 m.mol/L à une concentration de 1,89 m.mol/L. Nous avons également enregistré des valeurs de 2,38 m.mol/L et de 1,96 m.mol/L avec les suspensions contenant l'HE de *Curcuma longa* L. et de *Salvia officinalis* L., respectivement.

Les concentrations continuent à diminuer au cours du temps de T<sub>30</sub> à T<sub>45</sub> à T<sub>90</sub>, allant de 1,66 m.mol/L (T<sub>45</sub>) à 1,38 m.mol/L (T<sub>90</sub>) en présence de Glucantime et de 2,32 m.mol/L (T<sub>45</sub>) à 2,15 m.mol/L (T<sub>90</sub>) en présence de l'HE de *Curcuma longa* L. ainsi, de 1,82 m.mol/L (T<sub>45</sub>) à 1,69 m.mol/L (T<sub>90</sub>) en présence de l'HE de *Salvia officinalis* L.

Par comparaison, nos résultats concordent avec ceux obtenus par l'étude de **KHOUANI et ABED** et ceux de **BENMIRA et ATTAR** [48,55].

De ces résultats, la présence de Glucantime provoque une diminution considérable de la concentration intracellulaire de potassium. Par contre, son action est atténuée en présence de l'HE de *Curcuma longa* L. et de l'HE de *Salvia officinalis* L. à moindre degré.

Cette tendance est cohérente avec les résultats obtenus à partir de dosage de LDH de la présente étude, montrant également une diminution des concentrations intracellulaires, prouvant ainsi l'effet hémolytique de la molécule de Glucantime d'une part, et d'autre part l'effet protecteur des deux huiles essentielles étudiées contre cette même molécule.

En prenant en compte les différents mécanismes qui peuvent être à l'origine de la sortie de potassium, la diminution des concentrations intracellulaires de potassium provoquée par la molécule de Glucantime pourrait être due à l'inhibition de la pompe K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> ATP<sub>ase</sub>, à la lyse de la membrane des globules rouges, ou à une combinaison des deux mécanismes.

### 2.3. Discussion des résultats de dosage de l'hémoglobine extracellulaire

Le dosage de l'hémoglobine extracellulaire semble être un paramètre primordial de détection des états hémolytiques présents au sein des suspensions sanguines. En effet, lorsque les cellules sont lysées, l'hémoglobine est libérée dans le milieu extérieur, ce qui augmente sa concentration dans les suspensions étudiées. La mesure de cette augmentation permet de quantifier l'étendue de la lyse cellulaire et de déterminer l'effet des différents agents sur la membrane des globules rouges.

Dans le contexte de cette présente étude, le dosage de l'hémoglobine extracellulaire nous a permis d'évaluer l'effet protecteur de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. et de *Curcuma longa* L. sur la membrane des globules rouges traitées par 75  $\mu$ L de Glucantime dilué à 1/10<sup>ème</sup>.

Les valeurs obtenues à partir des suspensions témoins étaient nulles pour toutes les mesures de temps ( $T_0$ ,  $T_{30}$ ,  $T_{45}$  et  $T_{90}$ ). En revanche, nous avons détecté la présence d'hémoglobine dans les suspensions contenant le Glucantime dès les premiers instants de la réaction, soit un taux de 0,0021 g/L à  $T_0$ . Cette concentration a ensuite augmenté de manière progressive au fil du temps, avec des taux mesurés à  $T_{30}$  de 0,07 g/L, à  $T_{45}$  de 0,155 g/L et de 0,201 g/L à  $T_{90}$ .

A la lumière de ces résultats, l'absence d'hémoglobine dans les suspensions témoins nous permet d'écarter la présence de toute hémolyse mécanique pouvant être déclenchée lors de la manipulation ou de l'agitation mécanique des suspensions filles de travail. De ce fait, la présence d'hémoglobine extracellulaire dans les surnageants récupérés à partir des suspensions contenant le Glucantime pourrait être expliquée par la présence d'une lyse cellulaire, probablement due à l'interaction de Glucantime avec la membrane des cellules érythrocytaires.

Ce résultat concorde avec celui obtenu par l'étude de **KHOUANI et ABED** et celle de **BENMIRA et ATTAR**, confirmant ainsi l'effet hémolytique de Glucantime sur la membrane des globules rouges [48, 23].

De plus, nous remarquons que la durée de contact entre le Glucantime et les globules rouges influe sur l'intensité de l'hémolyse. En effet, l'augmentation des concentrations de  $T_0$  à  $T_{90}$  nous laisse suggérer que plus la durée d'exposition entre le Glucantime et la membrane des globules rouges est longue, plus la quantité de Glucantime qui interagit avec les globules rouges augmente, entraînant ainsi une augmentation de la destruction de la membrane cellulaire, en d'autres termes, une augmentation de l'effet hémolytique.

## DISCUSSION

---

Cette corrélation entre l'interaction entre le Glucantime et les globules rouges et l'intensité de l'hémolyse a été également mise en évidence dans l'étude menée par **YARA DA SILVA OLIVEIRA et al** où les résultats ont montré que le Glucantime peut causer une hémolyse dose-dépendante des globules rouges en perturbant la structure membranaire et en induisant la formation de pores dans la membrane [55].

D'autre part, les taux d'hémoglobine enregistrés étaient nettement moins importants en présence de l'HE de *Salvia officinalis* L. et de l'HE de *Curcuma longa* L., indiquant que ces dernières ont la capacité de réduire les dommages causés par la molécule de Glucantime, notamment la destruction de la membrane des globules rouges et de ce fait elles ont la capacité de protéger les cellules érythrocytaires contre les phénomènes hémolytiques induites par cette molécule.

De nombreuses études ont été portées sur l'effet antihémolytique de l'HE de *Salvia officinalis* L. A titre d'exemple, **KARAMI et al** ont examiné l'effet de cette huile essentielle sur l'hémolyse induite par le peroxyde d'hydrogène dans les globules rouges humains. Les résultats ont montré que l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. avait un effet antihémolytique significatif en réduisant l'intensité de l'hémolyse [56].

D'autres études démontrent l'effet antihémolytique des constituants phytochimiques de *Curcuma longa* L. notamment, l'étude menée par **YASMEEN et HASSMAIN** [57].

Nos résultats concordent avec ceux de **KARAMI et al** et ceux rapportés par l'étude de **YASMEEN et HASSMAIN** [56,57].

Néanmoins, les concentrations en hémoglobine extracellulaire obtenues en présence de l'HE de *Curcuma longa* L. étaient relativement inférieures à celles obtenues en présence de l'HE de *Salvia officinalis* L., suggérant que l'effet protecteur antihémolytique diffère entre ces deux huiles essentielles.

Ce résultat nous laisse supposer que l'HE de *Curcuma longa* L. pourrait avoir une capacité antihémolytique relativement plus importante que celle attribuée par l'HE de *Salvia officinalis* L. Cette différence d'activité pourrait être liée aux chémotypes caractéristiques de chacune des huiles essentielles évaluées.

De plus, tant que la présence de ces huiles essentielles nous n'a pas permis d'enregistrer des valeurs nulles en hémoglobine extracellulaire, nous déduisons que bien que l'HE de *Salvia officinalis* L. et de *Curcuma longa* L. aient démontré une capacité protectrice notable en

## DISCUSSION

---

réduisant l'intensité de l'hémolyse, elles ne sont pas aussi efficaces pour inhiber l'état hémolytique induit par le Glucantime.

## **CONCLUSION**



## CONCLUSION

---

Par le biais de cette présente étude, nous avons cherché à évaluer l'activité antihémolytique *in vitro* de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. et de l'huile essentielle de *Curcuma longa* L. contre l'antimoniote de méglumine, principal traitement de la Leishmaniose en Algérie.

L'extraction de ces huiles essentielles par hydrodistillation nous a permis d'obtenir un rendement de 1% en HE de *Curcuma longa* L. et un rendement de 0,66% en HE de *Salvia officinalis* L.

Trois paramètres biologiques nous ont permis d'évaluer l'effet protecteur de ces huiles essentielles sur la membrane des globules rouges en présence de la molécule de Glucantime notamment, la concentration intracellulaire de LDH, de potassium et d'hémoglobine extracellulaire.

La diminution des concentrations intracellulaires de LDH et de potassium, ainsi que l'augmentation des concentrations d'hémoglobine extracellulaire induites par la molécule de Glucantime mis en avant son effet hémolytique résultant de la destruction des membranes cellulaires.

La variation de ces concentrations en faveur d'une hémolyse modérée par la présence de l'HE de *Curcuma longa* L. et de l'HE de *Salvia officinalis* L. indique que ces dernières ont la capacité de réduire les dommages causés par la molécule de Glucantime, notamment la destruction de la membrane des globules rouges et de ce fait elles ont la capacité de protéger les cellules érythrocytaires contre les phénomènes hémolytiques induites par cette substance chimique.

Néanmoins, nous avons constaté que bien que l'HE de *Salvia officinalis* L. et de *Curcuma longa* L. aient un pouvoir protecteur remarquable capable de réduire l'intensité de l'hémolyse, elles ne sont pas aussi efficaces pour inhiber l'état hémolytique provoqué par le Glucantime. Ainsi, les résultats ont montré que l'HE de *Curcuma longa* L. avait une capacité antihémolytique relativement plus importante que celle de l'HE de *Salvia officinalis* L.

En se référant aux résultats issus d'autres études portées sur l'effet antihémolytique de ces huiles essentielles, nous estimons que notre objectif est atteint. Cependant, ces résultats restent préliminaires et ne constituent qu'une ébauche dans le domaine de la recherche des antihémolytiques naturels, il serait intéressant d'étaler ce travail par d'autres systèmes *in vitro*

## CONCLUSION

---

comme *in vivo* afin de mieux cerner les interactions moléculaires de ces huiles vis-à-vis de leurs cibles.

De cette optique, multiples nouvelles pistes de recherche peuvent être envisagées et empruntées à savoir les recommandations suivantes :

- Rechercher le mécanisme d'action des extraits naturels de *Salvia officinalis* L. et de *Curcuma longa* L. contre l'antimoniote de méglumine.
- Optimiser les conditions d'extraction pour améliorer le rendement des extraits.
- Evaluer leur effet antihémodolytique contre le Glucantime à différentes concentrations *in vitro* et *in vivo*.
- Explorer la possibilité d'utiliser ces extraits naturels en combinaison avec d'autres agents antiparasitaires pour améliorer leur efficacité et minimiser les effets secondaires associés aux traitements actuels.
- Explorer d'autres extraits naturels afin de trouver de nouveaux composés possédant des propriétés antihémodolytiques potentielles contre le Glucantime.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

1. **herif K, Boudrissa A, Cherif MH, Harrat Z.** Un programme social pour la lutte physique contre la leishmaniose cutanée zoonotique dans la wilaya de M'Sila en Algérie. *Santé Publique.* 2012;24(6):511-22.
2. **Sellami K, Chami I, Chaari I, Bahloul E, Masmoudi A, Chaabane H, et al.** Leishmaniose cutanée traitée par Glucantime® en intramusculaire : redouter une toxicité pancréatique ! *Annales de Dermatologie et de Vénérologie.* 1 déc 2014;141(12, Supplement):S460.
3. **Desai C.** Meyler's side effects of drugs: The international encyclopedia of adverse drug reactions and interactions. *Indian J Pharmacol.* 2016;48(2):224.
4. **Bruneton J.** Pharmacognosie - Phytochimie, Plantes médicinales. Editions Tec & Doc, Editions médicales internationales; 1999-1120.
5. **Mickel F.** Traité d'Aromathérapie Scientifique et Médicale; les Huiles Essentielles [Internet]. 3<sup>e</sup> éd. Paris. Disponible sur: <https://www.livres-medicaux.com/botanique/19382-traite-d-aromatherapie-scientifique-et-medicale-les-huiles-essentielles.html>.
6. **Ahmed Chaouch C, Benzoukh A.** Etude rétrospective sur l'activité hémolytique et anti-hémolytique des huiles essentielles de quelques plantes médicinales. Université Kasdi Merbah Ouargla; 2020.
7. **Chevallier A.** Encyclopédie Des Plantes Médicinales [Internet]. 2<sup>e</sup> éd. Paris; 2001. Disponible sur: <http://archive.org/details/encyclopedia-des-plantes-medicinales-2001-larousse>.
8. **Quézel P, Santa S.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Vol. 2. Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique; 1962.
9. **Palomino G, Mercado P, Ramamoorthy TP.** Chromosomes of *Salvia subgenus* Calospatha (Lamiaceae), A preliminary report. *cytologia.* 1986;51(2):381-6.
10. **Jay B. W, Kenneth J. S, Jens T, Michael W.** *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Menthae [Internet]. *American Journal of Botany.* 2004. Disponible sur: <https://bsapubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3732/ajb.91.7.1115>.
11. **Deysson G.** Labiées in Organisation et classification des plantes vasculaires – Systématique. Tome II. Ed. CDU et CEDES, Paris, 1979, 453-9.
12. **Amamra S, Hedhoud A.** Les méthodes biotechnologiques de la régénération et la conservation des plantes: le cas d'une plante aromatique *Salvia officinalis* L. [Internet] [Thesis]. Larbi Tebessi University - Tebessa; 2022 [cité 19 janv 2023]. Disponible sur: <http://dspace.univtebessa.dz:8080/xmlui/handle/123456789/http://localhost:8080/jspui/handle/123456789/5050>.
13. *Salvia officinalis* (Garden Sage) [Internet]. *Gardenia.net.* [cité 20 janv 2023]. Disponible sur: <https://www.gardenia.net/plant/salvia-officinalis>.
14. **Ali ZC.** Chemical and biological study of *Aframomum sceptrum* (Zingiberaceae) and of curcumin [Internet] [phdthesis]. Université Paris Sud - Paris XI; 2012 [cité 19 janv 2023]. Disponible sur: <https://theses.hal.science/tel-00812878>.
15. **Hombourger C.** Turmeric, from spice to medicine [Internet]. UHP - Université Henri Poincaré; 2010 [cité 19 janv 2023]. Disponible sur: <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01734318>.

- 
16. Le curcuma dans tous ses états [Internet]. Plantes et Santé. [cité 20 janv 2023]. Disponible sur: <https://www.plantes-et-sante.fr/articles/jardin-medicinal/4778-le-curcuma-dans-tous-ses-etats>.
17. Réaliser une hydrodistillation [Internet]. SchoolMouv. [cité 20 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.schoolmouv.fr/savoir-faire/realiser-une-hydrodistillation/fiche-pratique>.
18. **Lopresti AL**. Salvia (Sage): A Review of its Potential Cognitive-Enhancing and Protective Effects. *Drugs R D*. mars 2017;17(1):53-64.
19. **Dosoky NS, Setzer WN**. Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils of Curcuma Species. *Nutrients*. 1 sept 2018;10(9):1196.
20. VIDAL, la base de référence sur les médicaments [Internet]. VIDAL. [cité 22 janv 2023]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments.html>.
21. **Benjamin M**. Prise en charge de la leishmaniose cutanée : intérêt de nouvelles formulations de paromomycine topique [Internet]. [cité 4 janv 2023]. Disponible sur: <https://scanr.enseignementsup-recherche.gouv.fr/publication/dumas-01643492>.
22. **Belhacem A, Mansour Benaouf Y**. Quelques tests de toxicité du Glucantime [Internet]. [cité 4 janv 2023]. Disponible sur: <https://www.theses-algerie.com>.
23. **Attar N, Benmira M**. Etude in vitro de l'influence de l'albumine sur la toxicité de Glucantime [Internet] [Thesis]. 2017 [cité 16 janv 2023]. Disponible sur: <http://dspace.univ-tlemcen.dz/handle/112/dspace.univ-tlemcen.dz/handle/112/10301>.
24. **Sereno D, Holzmuller P, Mangot I, Cuny G, Ouaisi A, Lemesre JL**. Antimonial-Mediated DNA Fragmentation in *Leishmania infantum* Amastigotes. *Antimicrob Agents Chemother*. juill 2001;45(7):2064-9.
25. **Charbagi K, Ben Salah N, Yacoub M**. Antimony and salts. *MO Rambourg Schepens*. juill 1992 [cité 16 janv 2023]; Disponible sur: <https://inchem.org/documents/pims/pharm/pmg678fr.htm>.
26. **Olivera-Neto MP, Schubach A, Mattos M, Concalves Costa SC, Pirmez C**. Treatment of American cutaneous leishmaniasis: a comparison between low dosage (5mg/kg per day) and high dosage (20 mg/kg per day ) antimony regimens. *Path Biol* 1995;45:496–9.
27. **Masmoudi A, Maalej N, Mseddi M, et al**. [Glucantime injection: benefit versus toxicity]. *Medecine et Maladies Infectieuses*. 2005 Jan;35(1):42-45. DOI: 10.1016/j.medmal.2004.07.032. PMID: 15695033.
28. **Boukhris I, Rachdi I, Cherif E**. Hemophagocytic syndrome; Hemophagocytosis; Cytopenia [Internet]. [cité 16 janv 2023]. Disponible sur: [https://www.latunisiemedicale.com/article-medicale-tunisie\\_2665\\_en](https://www.latunisiemedicale.com/article-medicale-tunisie_2665_en).
29. **Ezzine Sebai N, Khaled A, Zeglaoui F**. Effets indésirables du Glucantime , Leishmaniose cutanée [Internet]. [cité 16 janv 2023]. Disponible sur: [http://www.latunisiemedicale.com/article-medicale-tunisie\\_1235\\_fr](http://www.latunisiemedicale.com/article-medicale-tunisie_1235_fr).
30. **Chtourou L**. Gastroparosis. Faculté de Médecine de Sfax – Université de Sfax -Tunisie; 2021.

31. **Matoussi N.** Toxicité cardiaque de l'antimoniote de méglumine (Glucantime®). À propos d'une observation - ScienceDirect [Internet]. [cité 16 janv 2023]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0399077X07002879?via%3Dihub>.
32. **Kechkeche W, Maouedj M.** Contribution à l'évaluation de l'effet hémolytique de quelques pesticides à usage domestique [Internet] [Thesis]. 2022 [cité 20 janv 2023]. Disponible sur: <http://dspace.univ-tlemcen.dz/handle/112/dspace.univ-tlemcen.dz/handle/112/19493>.
33. **Barcellini W, Fattizzo B.** Clinical Applications of Hemolytic Markers in the Differential Diagnosis and Management of Hemolytic Anemia [Internet]. [cité 20 janv 2023]. Disponible sur: <https://www.hindawi.com/journals/dm/2015/635670/>.
34. **Meyer-Michel S, Daniel G, Pierre K.** Précis de Biopathologie - Analyses médicales spécialisées [Internet]. [cité 20 janv 2023]. Disponible sur: <https://www.eurofins-biomnis.com/files/book/files/assets/basic-html/page-23.html>.
35. **Benckroun L, Rtabi N, Guedira A, Tanani DS, Abouqal G.** Interférence De L'hémolyse Sur La Détermination Des Paramètres De Biochimie Clinique. Maroc Médical [Internet]. 2007 [cité 20 janv 2023];29(4). Disponible sur: <https://revues.imist.ma/index.php/MM/artic le/view/1141>.
36. **Merouane A.** Caractérisation, activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de trois espèces de sauges (Salvia algeriensis, Salvia argentea et Salvia barrelieri) [Internet]. [Chlef]: Université Hassiba Ben Bouali; 2013 [cité 9 janv 2022]. Disponible sur: <https://studylibfr.com/doc/955462/voir-ouvrir---université-hassiba-benbouali-de-chlef>.
37. **Oukil N, Amirouche R, Belkolai F.** Effet in vitro de l'association des huiles essentielles de Salvia officinalis, Melaleuca alternifolia et deux composés majoritaires sur les bactéries. 2013 [cité 4 avr 2023]; Disponible sur: <http://172.17.1.105:8080/xmlui/handle/123456789/5574>.
38. **Meriem B.** Etude de la variation du rendement et de la composition chimique du Curcuma longa et Myristica fragrans en fonction du temps et de la technique utilisée [Internet]. [cité 4 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.memoireonline.com/01/14/8674/Etude-de-la-variation-du-rendement-et-de-la-composition-chimique-du-Curcuma-longa-et-Myristica-fragr.html>.
39. **Boira H, Blanquer A.** Environmental factors affecting chemical variability of essential oils in Thymus piperella L. Biochemical Systematics and Ecology. déc 1998;26(8):811-22.
40. **Figueiredo A, Barroso J, Pedro L, Scheffer J.** Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. Flavour and Fragrance Journal. 2008;23(4):213-26.1.
41. **Kivrak, I., Duru, M.E., Öztür, M., Mercan, N. and Harmandar, M.** (2009) Antioxidant, Anticholinesterase and Antimicrobial Constituents from the Essential Oil and Ethanol Extract of Salvia potentillifolia. Food Chemistry, 116, 470-479. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.069>.

42. **Behura S, Sahoo A, Singh S, Jena S, Kar B, Nayak S.** Variation in Essential Oil yield and Volatile Constituents of *Curcuma aromatica* Rhizome from Different Regions of Eastern and Southern India. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2 nov 2021;24(6):1248-55.
43. **Haouam A, Kirouani C.** Etude de rendement et caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de *Salvia officinalis* [Internet] [Thesis]. Université laarbi tebessi tebessa; 2020 [cité 7 avr 2023]. Disponible sur: <http://dspace.univ-tebessa.dz:8080/xmlui/handle/123456789/http://localhost:8080/jspui/handle/123456789/2207>.
44. **Yfrah A, Ghali K.** Effet Antimicrobien Des Huiles Essentielles De *Curcuma Longa* L. Sur Quelques Agents Pathogènes Humain. [Internet]. [cité 7 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.theses-algerie.com>.
45. **Cohen M, Roigas J.** Enzymatic and immunochemical properties of human lactate dehydrogenase isoenzymes. *Clin Chem*. 1974 Nov;20(11):1446-52.
46. **Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL.** Harrison's principles of internal medicine. Vol. 2. New York: McGraw-Hill; 2008.
47. **Kehl H, Neumaier M, Wessel K.** Kinetic investigations on the release of lactate dehydrogenase from damaged cells in vitro. *Clin Chem Lab Med*. 1995 Sep;33(9):767-773.
48. **Abed N, Khouani F.** Etude in vitro de la toxicité du Glucantime sur le globule rouge. Abou Bekr Belkaid-Tlemcen; 2016.
49. Antimony and salts [Internet]. [cité 22 janv 2023]. Disponible sur: <https://inchem.org/documents/pims/pharm/pmg678fr.htm>.
50. **Masmoudi A, Maalej N, Mseddi M, Souissi A, Turki H, Boudaya S, et al.** [Glucantime injection: benefit versus toxicity]. *Med Mal Infect*. janv 2005;35(1):42-5.
51. **Mahmoudi M, Ebrahimzadeh MA, Abdi S, Arimi SA.** Protective effects of sage (*Salvia officinalis* L.) essential oil against oxidative damage induced by potassium bromate in human erythrocytes. *Food Chem Toxicol*. 2015;84:1-6. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691515000296>.
52. **Bougherra HH, Bissati S, Benkhaled A, et al.** Antioxidant and antihemolytic activities of *Salvia officinalis* L. essential oil against oxidative stress. *J Herbal Med*. 2017;9:20-26. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2210803317300101>.
53. **Jafari S, Farsam H, Sahebkar A, et al.** Sage (*Salvia officinalis* L.) essential oil as a potential natural antioxidant and anti-hemolytic agent against oxidative stress-induced hemolysis. *Food Chem Toxicol*. 2020;138:111205. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691519313991>.
54. **Avanço GB, Ferreira FD, Bomfim NS, Santos PA de SR dos, Peralta RM, Brugnari T, et al.** *Curcuma longa* L. essential oil composition, antioxidant effect, and effect on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production. *Food Control*. 1 mars 2017;73:806-13.

55. **Oliveira YS, Oliveira MP, de Mendonça IL, Reimão JQ, da Silva DP, da Silva LGF, Meireles Guerra RN, de Souza Sampaio CM, Melo MN.** In vitro effect of antimonial drugs on the morphology, viability, and ultrastructure of *Leishmania infantum* promastigotes. *Parasitology Research*. 2015;114(11):4025-4036. DOI: 10.1007/s00436-015-4618-6.

56. **Karami M, Hassani FV, Mehri S, et al.** In vitro evaluation of antioxidant and antihemolytic activities of essential oil of *Salvia officinalis* L. *BMC Complement Altern Med*. 2016;16(1):484. doi:10.1186/s12906-016-1472-1.

57. **Yasmeen H, Hassnain S.** Comparative analysis of different bioactivities of *Curcuma longa*, *Nigella sativa* seeds, and *Camellia sinensis* extracted by four different methods: A green way to reduce oxidative stress. *Food Sci Biotechnol*. 1 juin 2016;25(3):811-9.



## RESUME

Les dérivés stibiés pentavalents demeurent la meilleure arme thérapeutique des leishmanioses. L'antimoniote de méglumine (Glucantime®) est le traitement de première intention en Algérie. Toutefois, il expose aux risques indésirables parfois graves notamment des risques hémolytiques. Malgré l'importance non négligeable de l'huile essentielle de *Curcuma longa* L. et de *Salvia officinalis* L. en termes de richesse en molécules dotées d'activités biologiques à intérêt thérapeutique, leur effet antihémolytique reste encore mal élucidé. C'est dans le souci d'apporter de nouvelles données sur ces espèces que cette présente étude a été réalisée. Son objectif principal est d'évaluer l'effet protecteur de l'HE de *Curcuma longa* L. et de *Salvia officinalis* L. sur la membrane des globules rouges contre la molécule de Glucantime *in vitro*. Les deux huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation, les valeurs optimales des rendements obtenus sont de 1% (*Curcuma longa* L.) et de 0,66% (*Salvia officinalis* L.). L'activité antihémolytique a été évaluée en se basant sur trois paramètres biologiques notamment, la concentration intracellulaire de LDH, de potassium et de l'hémoglobine extracellulaire. Les résultats montrent que l'HE de *Salvia officinalis* L. et l'HE de *Curcuma longa* L. ont la capacité de réduire la destruction de la membrane des globules rouges. De ce fait elles ont la capacité de protéger les cellules érythrocytaires contre les phénomènes hémolytiques induites par le Glucantime. De plus, les résultats indiquent que l'HE de *Curcuma longa* L. possède une capacité antihémolytique relativement plus importante que celle de l'HE de *Salvia officinalis* L. De ces résultats, plusieurs nouvelles pistes de recherche peuvent être empruntées et envisagées dans le futur.

**Mots clés :** Glucantime, Hémolyse, Huile essentielle, *Salvia officinalis* L., *Curcuma longa* L., Globules rouges.

## ABSTRACT

Pentavalent stibium derivatives remain the best therapeutic weapon against leishmaniasis. Meglumine antimoniate (Glucantime®) is the first-line treatment in Algeria. However, it exposes patients to severe adverse effects, including hemolytic risks. Despite the significant importance of the essential oils of *Curcuma longa* L. and *Salvia officinalis* L. in terms of richness in molecules with biological activities with therapeutic interest, their antihemolytic effect remains poorly understood. This study was conducted to provide new data on these species. Its main objective is to evaluate the protective effect of the essential oils of *Curcuma longa* L. and *Salvia officinalis* L. on the red blood cell membrane against Glucantime *in vitro*. The two essential oils were extracted by hydrodistillation, with optimal yield values of 1% (*Curcuma longa* L.) and 0.66% (*Salvia officinalis* L.) obtained. The antihemolytic activity was evaluated based on three biological parameters, namely, intracellular LDH concentration, potassium concentration, and intracellular hemoglobin concentration. The results show that the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Curcuma longa* L. have the ability to reduce the destruction of red blood cell membranes. Therefore, they have the ability to protect erythrocytes against the hemolytic phenomena induced by Glucantime. Furthermore, the results indicate that the essential oil of *Curcuma longa* L. has a relatively higher antihemolytic capacity than that of the essential oil of *Salvia officinalis* L. From these results, several new research avenues can be pursued and considered in the future.

**Keywords :** Glucantime, Hemolysis, Essential oil, *Salvia officinalis* L., *Curcuma longa* L., Red blood cells.

## ملخص

المشتقات البنتافالينية للسنتيبية تبقى أفضل أدوات العلاج لداء الليشمانيا. ويعد ملح الأنتيمونيات الميجلومين (غلوكانتيم) العلاج الأول لهذا المرض في الجزائر. ومع ذلك، يعرض هذا العلاج للمخاطر الغير مرغوب فيها، بما في ذلك المخاطر الهيموليتية. وعلى الرغم من أهمية الزيت العطري لنبات *Curcuma longa* L. ونبات *Salvia officinalis* L. من حيث غناهما بالجزينات ذات النشاطات البيولوجية ذات الفائدة العلاجية، فإن تأثيرهما المضاد للهيموليز لا يزال غير واضح تمامًا، لذلك تم إجراء هذه الدراسة من أجل تقديم بيانات جديدة حول هذه الأنواع. هدفها الرئيسي هو تقييم تأثير زيت *Curcuma longa* L. وزيت *Salvia officinalis* L. على حماية غشاء الكريات الحمراء ضد جزيء غلوكانتيم في المختبر. تم استخلاص الزيوت العطرية بالتقطير بالبخار، وقد حصلنا على نسبة استرداد مثلي بلغت 1% (*Curcuma longa* L.) و 0.66% (*Salvia officinalis* L.). تم تقييم النشاط المضاد للهيموليز باستخدام ثلاثة معلمات حيوية، وهي التركيز الداخلي للاكتات ديهيدروجيناز (LDH)، والبوتاسيوم، والتركيز الخارجي للهيموجلوبين. وأظهرت النتائج أن زيت *Curcuma longa* L. وزيت *Salvia officinalis* L. لديهما القدرة على التقليل من تدمير غشاء الكريات الحمراء وبالتالي، فإن لديهما القدرة على حماية خلايا الدم الحمراء من الظواهر الهيموليتية المحفزة بواسطة الجلوكانتيم. وعلاوة على ذلك، تشير النتائج إلى أن الزيت الأساسي لنبات *Curcuma longa* L. يتمتع بقدرة مضادة للهيموليز أعلى نسبيًا من الزيت الأساسي لنبات *Salvia officinalis* L. من خلال هذه النتائج، يمكن أخذ العديد من السبل الجديدة للبحث والنظر فيها مستقبلاً.

**الكلمات المفتاحية:** جلوكانتيم، هيموليز، زيت أساسي، *Curcuma longa* L.، *Salvia officinalis* L.، خلايا الدم الحمراء.

