

REPUBLIQUE ALGRIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد - تلمسان-

Université ABOUBEKR BELKAID –TLEMCEM

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département d'écologie et environnement



MÉMOIRE

Fin d'étude pour l'obtention du diplôme de Master Professionnel

En Toxicologie industrielle et environnementale

Présenté par :

M^{elle} Meziane Djazia

M^{elle} Bendiab Wahiba

Thème :

Évaluation in vitro de l'activité anti-inflammatoire, anti hémolytique et la viabilité cellulaire par test MTT de deux extraits de rhizome de « *Carlina gummifera* »

Soutenu le 23/06/2024, devant le jury composé de :

Président : Mme Merzouk amel
Examineur : Mr Chaouch Tarik
Encadrant : Mme Haddam Nahida

M.C.A Université de Tlemcen
M.C.A Université de Tlemcen
professeur Université de Tlemcen

Année universitaire : 2023/2024



Remerciement



Tout d'abord, nous tenons à remercier dieu le tout puissant de nous avoir donné la force et la patience nécessaires afin d'accomplir ce travail.

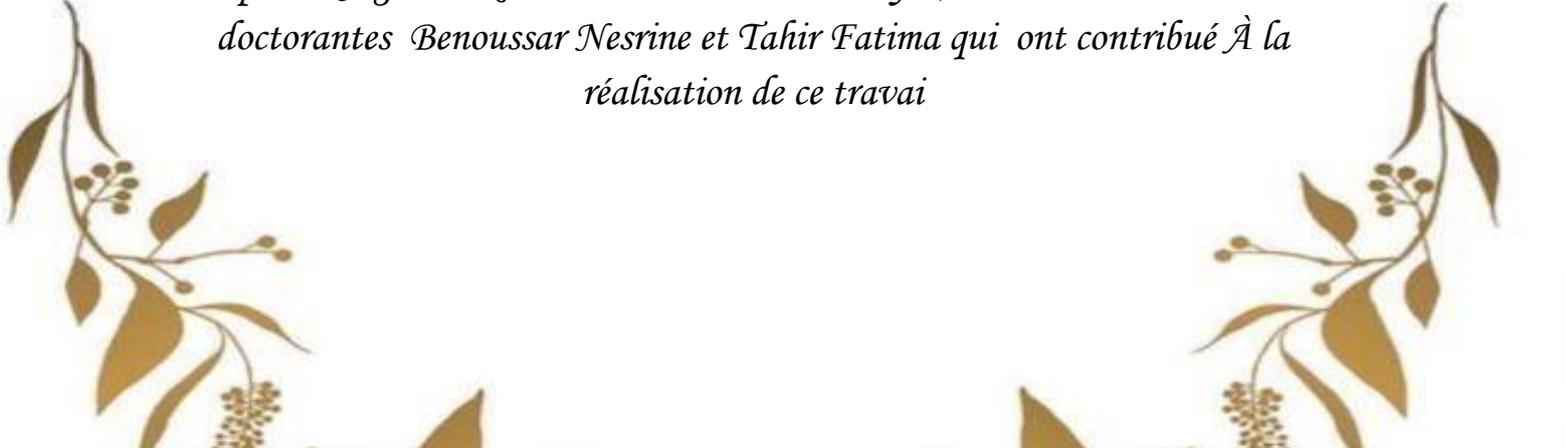
Nos remerciements s'adressent tout d'abord à notre aimable encadreur Mme
Haddam Nahida

Nous avons eu la chance et le privilège d'être parmi vos étudiants et de Profiter de votre enseignement de qualité et de votre sagesse. Nous vous remercions pour le grand honneur que vous nous faites En acceptant de diriger et encadrer cette thèse. De nous avoir soutenus et encouragés dans les moments difficiles. Votre compétence, votre dynamisme, ainsi que vos qualités humaines et professionnelles exemplaires ont toujours suscité notre admiration.

Nous tiens à remercier également notre présidente de jury :

Mme Merzouk amel ; maitre de conférences A, faculté SNV STU, université de Tlemcen Pour le grand honneur que vous nous faites en acceptant de juger Et de présider ce travail ainsi que pour votre accueil et votre disponibilité.

Nos sincères remerciements à Mr chaouch tarik de bien vouloir accepter d'examiner ce travail et d'avoir pris le temps de lire ce mémoire et de ses conseils. Nous sommes particulièrement heureux et honorés que vous avez bien accepté de Juger et examiner notre mémoire. Enfin, nous tiens à remercier les doctorantes Benoussar Nesrine et Tahir Fatima qui ont contribué À la réalisation de ce travail



Sommaire :

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction : 1

Chapitre I: généralités sur la plante étudié "*Carlina gummifera*"

1. Généralités sur les plantes médicinales :.....	3
1.1 Définition des plantes médicinales :.....	3
1.2 Mode d'administration de la plante médicinale :	3
1.3 Forme d'utilisation des plantes médicinales :.....	4
2. Généralités sur la phytothérapie :.....	4
2.1 Définition de la phytothérapie :.....	4
2.2 La phytothérapie en Algérie :.....	5
3. <i>Carlina Gummifera</i> :.....	5
3.1 Définition :.....	5
3.2 Classification :.....	6
3.2.1 Systématique :.....	6
3.2.2 Nomenclature :.....	7
3.3 Description botanique :.....	7

3.4	Distribution géographique :	11
4.	L'étude chimique du <i>Carlina gummifera</i> :	11
5.	Propriété pharmacologie :	13
6.	Propriétés physico- chimiques :	13
6.1	Latex :	13
6.1.1	Suc de racine :	13
6.1.2	Suc de réceptacles :	14
6.2	Racine :	14
6.3	Hétérosides diterpéniques :	14
7.	Principes actif :	15
7.1	Hétérosides diterpéniques :	15
7.1.1	Atractyloside :	15
7.1.2	Carboxyatractyloside :	15
7.2	Polyphénols :	16
7.2.1	Flavonoïde :	16
7.2.2	Anthocyanes:	18
7.2.3	Tanins :	18
8.	Usage thérapeutique :	18
8.1	Partie sous terrain :	18
8.1.1	Usage traditionnels :	18

8.1.2	Usage thérapeutique :	19
8.1.3	Usage criminel :	20
9.	Activités biologique :	21
9.1	Activité antibactérienne :	21
9.2	Activité antioxydant :	21

Chapitre II: La toxicité de la plante "*Carlina gummifera*"

1.	Notion de toxicité :	23
2.	Dose effet/dose réponse :	23
3.	La relation entre dose effet et dose réponse :	23
3.1.1	La relation dose effet :	23
3.1.2	La relation dose réponse :	24
4.	Les types d'étude de la toxicité :	24
5.	La toxicité aiguë :	24
6.	La toxicité subaiguë :	25
7.	Toxicité chronique :	26
8.	Les LOAEL :	26
9.	Les NOAEL :	26
10.	La toxicologie du <i>Carlina gummifera</i> :	26
10.1	La toxicité du <i>carlina gummifera</i> :	26
10.2	Les Principes actifs responsables de l'intoxication :	27

10.2.1	Atractyloside :	27
10.2.2	Carboxyatractyloside :	28
11.	Mode action :	29
11.1	Mécanisme de cytotoxicité :	30
11.2	Lésions tissulaires :	31
11.2.1	Lésions rénales :	31
11.2.2	Lésions hépatique :	32
11.2.3	Lésions cardiaques :	33
11.2.4	Lésions neurologiques :	33
11.2.5	Lésions sur le système reproducteur :	34
12.	La dose toxique de la plante :	34
13.	Circonstances d'intoxication :	35
14.	Symptomatologie :	36
14.1	Phase Latence :	36
14.2	Phase bénigne-digestive :	36
14.3	Phase mortelle :	37
14.4	Aspect biologique:	37
15.	Traitement :	38
15.1	Traitement évacuateur :	38
15.2	Traitement symptomatique :	38

15.3	Traitement antidotal :	38
------	------------------------------	----

Chapitre III: matériels et méthodes

1.	Matériels et méthodes :	34
1.1	Matériel végétal :	34
1.2	Préparation de l'extrait de la plantes :	35
1.3	Rendement de l'extrait brut :	35
2.	Evaluacion de l'activité anti hémolytique in vitro :	36
3.	Evaluation de l'activité anti inflammatoire in vitro :	40
3.1	Méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines :	40
4.	Test MTT (viabilité cellulaire) :	43

Résultats et discussion

1.	Les rendements des extraits :	47
2.	Test anti hémolytique :	47
3.	Test anti-inflammatoire :	48
4.	Test MTT (viabilité cellulaire) :	50

Conclusion et perspectives

Liste des figures

Figure 1 : <i>Carlina gummifera</i>	6
Figure 2 : La tige <i>Carlina gummifera</i>	8
Figure 3 : Feuille de <i>Carlina gummifera</i> disposés en rosette.....	8
Figure 4 : Inflorescence (capitule) de <i>Carlina gummifera</i>	9
Figure 5 : Poils soyeux du capitule floral du <i>Carlina gummifera</i>	9
Figure 6 : Bractées épineuses entourant le capitule floral <i>Carlina gummifera</i>	10
Figure 7 : Bractée externe du capitule floral de <i>Carlina gummifera</i>	10
Figure 8 : Capitule floral desséché avec des pappus.....	10
Figure 9 : Rhizome frais de <i>Carlina gummifera</i>	11
Figure 10 : Structure de l'atractyloside	15
Figure 11 : Structure du carboxyatractyloside	15
Figure 12 : Structure de base des flavonoïdes.....	16
Figure 13 : Structure des flavones.....	17
Figure 14 : Flavones présentes dans <i>Carlina gummifera</i>	17
Figure 15 : Structure de base des tannins condensés	18
Figure 16 : Détermination de la dose létale 50 (DL 50)	25
Figure 17 : Région de la récolte Beni Mester –TLEMCEM.....	34
Figure 18 : Préparation de l'extrait	35

Figure 19 : Extrait de la croute	Figure 20 : Extrait de la pulpe	35
Figure 21 : Prélèvement sanguin dans la boratoire de recherche .	Figure 22 : Le sang dans le tube d'EDTA.....	36
Figure 23 : Lavage de sang par l'eau physiologie.....		37
Figure 24 : Centrifugeuse de laboratoire de recherches		37
Figure 25 : Préparation de suspension 4%		38
Figure 26 : L'ajoute de H ₂ O ₂		39
Figure 27 : L'évaluation de l'activité anti hémolytique.....		39
Figure 28 : Flacon de la solution aqueuse de sérum bovine albumine (BSA) 0,5%		40
Figure 29 : Le standard test (Diclofénaç).....		41
Figure 30 : Préparation de la solution standard test		41
Figure 31 : Flacon de solution phosphate buffer saline pH : 6.3		42
Figure 32 : Lecteur de plaque ELIZA		42
Figure 33 : Le contact du sang avec le ficoll		43
Figure 34 : Le tube dans la centrifugeuse		44
Figure 35 : Les phases de sang.....		44
Figure 36 : Préparation du RPMI		45
Figure 37 : Solution de bleu de trypan		45
Figure 38 : Plaque de malassez		46
Figure 39 : L'observation sur microscope		46
Figure 40 : L'incubateur du laboratoire de recherches		47

Figure 41 : Effet des différentes concentrations des deux extraits de la plante sur le taux d'hémolyse	47
Figure 42 : Le pourcentage d'hémolyse de Queurcitine et les deux extraits	48
Figure 43 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique pour les deux extraits la croute et la pulpe du rhizome	48
Figure 44 : Pourcentage de l'inhibition de la dénaturation protéique de diclofénac et les deux extraits la croute et la pulpe du rhizome	49
Figure 45 : Pourcentage de viabilité cellulaire entre les deux extraits.....	50
Figure 46 : Poucentage de viabilité cellulaire de contrôle et les deux extraits la croute et la pulpe du rhizome	50

Liste des tableaux

Tableau 1 : Mode d'administration de la plante médicinale	3
Tableau 2 : Formes d'intoxication	24
Tableau 3 : Répartition des cas d'intoxications déclaré suivant le lieu et les circonstances de l'intoxication/ <i>Distribution of poisoning cases acording to plance and circumstance</i>	35
Tableau 4 : Rendement des extraits	47

Liste des abréviations

ATR : atractiloside

CATRA : carboxyatractiloside

GSH : glutathion réduite

GSSG : glutathion oxydatif

APGIII : Angiosperm Phylogeny Group

Première partie :
Synthèse
bibliographique



Introduction :

Depuis des siècles, les plantes étaient utilisées par l'homme non seulement pour se nourrir et se protéger, mais aussi pour sa santé et son bien-être. Les extraits et les préparations à base de plantes ont été utilisés depuis longtemps par les guérisseurs et les médecins, et ils sont encore aujourd'hui la source de la plupart des soins de santé primaires de la population rurale mondiale sont basés sur les plantes, même en comparaison avec la médecine moderne, qui fournissent toujours les matières premières essentielles pour environ 25 % des médicaments prescrits. **(Fowler, 2006)**

On considère qu'une plante est médicinale ou officinale lorsqu'un de ses organes présente des propriétés pharmacologiques valables pour la thérapeutique. De manière traditionnelle, on n'utilise qu'une partie particulière de la plante, comme telle. Que ce soit la racine, la feuille, la fleur ou la graine, entre autres choses. Les plantes à usage médicinal sont utilisées depuis les temps anciens et accompagnent l'évolution de l'humanité. Effectivement, la phytothérapie propose une alternative aux médicaments synthétiques. **(Amine Daoudi, 2016)**

La phytothérapie ou la médecine traditionnelle est une méthode ancestrale qui repose sur une connaissance traditionnelle transmise de génération en génération. Les plantes médicinales sont perçues comme un bien essentiel pour l'humanité, notamment pour les populations défavorisées des pays en développement qui sont dépendantes de ces plantes pour leurs soins de santé essentiels et leur mode de vie. **(Souad Salhi, 2010)**

Carlina gummifera est une espèce d'Asteraceae, commune dans les pays du bassin méditerranéen. Elle est commune dans la nature à l'état sauvage, elle est aussi accessible chez les herboristes sous forme de fragments desséchés du rhizome. C'est une plante herbacée, vivace, épineuse, avec une grosse racine qui lui permet de survivre pendant de longues années. Les fleurs fleurissent pendant l'été, de juin à juillet. Elles produisent une sorte de glu avec la racine **(S. Skalli, 2012)**. Elle est une plante médicinale communément utilisées en Algérie dans la gestion traditionnelle de différentes maladies comme l'ulcère, l'épilepsie, syphilitique. Elle été rapportées pour avoir une grande valeur médicinale. Malgré ses propriétés médicinales potentielles, *Carlina gummifera* contient également des composés toxiques, principalement concentrés dans les racines. Les plus importants sont l'atractyloside et la carboxyatractyloside, des diterpénoïdes glucosides qui peuvent inhiber la phosphorylation oxydative mitochondriale **(larabi A., 2012)**

Introduction générale

D'après l'étude in vivo de **Belmahi Mohamed Habib, 2020** pour l'évaluation de la toxicité aiguë d'une substance active de *Carlina gummifera* administré par voie orale chez la souris, afin de déterminer la dose létale 50 (DL50), qui est la dose provoquant la mort de 50% des sujets testés. Les résultats montrent que cette substance a une toxicité aiguë dose-dépendante chez les souris. La DL50 calculée varie entre 83,3 mg/kg et 115 mg/kg selon les méthodes utilisées. Les doses élevées entraînent une mortalité significative et des signes cliniques sévères, indiquant un potentiel toxique important de cette substance. Afin de pouvoir exploiter les propriétés phytothérapeutiques de cette plante en toute sécurité, il est essentiel de déterminer les doses sans effets toxiques. Cela ne peut se réaliser qu'à travers des études de toxicité in vivo aiguë, subaiguë, subchronique ainsi que des études de cytotoxicité (in vitro) comme le pouvoir anti-hémolytique ou encore la viabilité cellulaire.

Actuellement, les études sur les propriétés anti-inflammatoires, anti-hémolytiques et viabilité cellulaire des extraits de rhizome de *Carlina gummifera* sont très limitées d'où la présente étude. Ainsi, à travers ce modeste travail, on va essayer de répondre aux questions suivantes : Dans quelle mesure les extraits de rhizome de *Carlina gummifera* présentent-ils des propriétés anti-inflammatoires, anti-hémolytiques et de viabilité cellulaire ? Quels sont les composés actifs responsables de ces effets ? En répondant à ces deux principales questions, on pourra atteindre les objectifs du présent travail : Evaluation scientifique des effets anti-inflammatoires, anti-hémolytiques et de viabilité cellulaire de deux extraits de rhizome *Carlina gummifera* et cela dans le but de valider en toute sécurité leur potentiel thérapeutique et/ou phytochimique.

Ce travail est organisé en trois parties :

- Synthèse bibliographique: qui occupe des généralités sur les plantes médicinales, la phytothérapie et la plante étudiée
- Matériels et méthodes : les principales techniques utilisées pour évaluer les propriétés pharmacologiques des deux extraits de rhizome de *Carlina gummifera*
- Résultats et discussion : qui montrent l'évaluation de l'activité antihémolytique, activité anti-inflammatoire et la viabilité cellulaire.

1. Généralités sur les plantes médicinales :

1.1 Définition des plantes médicinales :

Les plantes médicinales ont joué un rôle crucial dans les pratiques de guérison au sein des communautés locales à travers le monde pendant des millénaires (Shakya, 2016). Actuellement, elles continuent d'être une méthode de soin de santé privilégiée par 85 % de la population mondiale (Yousefi, 2022)

Selon la Xème édition de la Pharmacopée française, les plantes médicinales sont définies comme des drogues végétales, conformément à la Pharmacopée européenne, possédant au moins une partie dotée de propriétés médicamenteuses (Ouedraogo, 2021) Certaines de ces plantes médicinales sont également utilisées à des fins alimentaires, en tant que condiments ou pour la préparation de boissons hygiéniques.

1.2 Mode d'administration de la plante médicinale :

Tableau 1 : Mode d'administration de la plante médicinale (Nogaret-Ehrhart, 2006)

Infusion	versez de l'eau bouillante sur la plante (environ une cuillerée à café de plante par tasse), puis laissez infuser pendant dix à vingt minutes. Une fois prête, une infusion peut être conservée au réfrigérateur pendant un maximum de 48 heures. Idéalement, il est recommandé de ne pas sucrer les tisanes
La décoction	c'est le processus de faire bouillir une ou plusieurs plantes dans de l'eau, utilisé pour extraire les principes actifs des parties de la plante qui ont du mal à les libérer
Macération	consiste à mettre en contact le médicament correctement divisé avec de l'eau de boisson, maintenue à température ambiante pendant au moins 30 minutes et au maximum 4 heures
Poudre	obtenue par le broyage de la plante séchée ou de ses parties actives à l'aide d'un broyeur ou d'un mortier, elle peut être utilisée pour préparer un extrait. Cette poudre peut être diluée avec de l'eau ou mélangée avec de la nourriture.
Teinture	elle est obtenue par un contact prolongé (entre 3 et 5 semaines) entre des plantes séchées et une quantité variable d'alcool
Cataplasme	dans ce procédé, la plante est hachée grossièrement, puis humidifiée avec un peu d'eau et chauffée pendant 2 à 3 minutes. Ensuite, elle est pressée et recouverte d'un pansement de gaze appliqué sur la zone douloureuse pendant 3 ou 4 heures

Les crèmes	tout comme les onguents, sont composées des mêmes ingrédients, mais elles intègrent de l'eau chaude dans leur préparation
Compression	pour réaliser une compression, immerger un chiffon propre dans l'infusion ou la décoction afin de soulager la douleur
Les pommades	consistent en des mélanges d'huiles végétales telles que l'huile d'amande, combinées à de la cire d'abeille fondue puis refroidie pour durcir. On y ajoute également 20 à 30 gouttes d'huiles essentielles. Elles peuvent être conservées pendant plusieurs mois

1.3 Forme d'utilisation des plantes médicinales :

Les plantes médicinales peuvent être utilisées sous diverses formes : fraîches, sèches ou stabilisées.

-Les plantes fraîches sont souvent utilisées pour préparer des teintures mères, qui servent de base à la fabrication de médicaments homéopathiques. Il arrive fréquemment qu'elles soient confondues avec les teintures officinales, qui sont employées comme médicaments allopathiques.

-Les plantes séchées sont utilisées pour produire des teintures officinales, des extraits, des nébulisats et des poudres. Bien que commercialement, les poudres semblent avoir reçu une attention particulière, étant considérées comme représentant le « totum » de la plante, elles ne constituent pas pour autant une solution universelle pouvant guérir toutes les maladies, contrairement à ce que l'on pourrait penser.

-Les plantes stabilisées sont utilisées pour la préparation d'intrants, où l'alcool ou la chaleur sont employés pour inhiber les enzymes qui pourraient altérer la qualité des plantes. Cela garantit la conservation des constituants dans leurs structures d'origine (Gurib *et al*, 2006).

2. Généralités sur la phytothérapie :

2.1 Définition de la phytothérapie :

La phytothérapie, selon Bruneton (1999), désigne un traitement allopathique qui utilise des plantes, leurs parties ou des préparations à base de végétaux pour prévenir et traiter divers troubles fonctionnels ou pathologiques, que ce soit par consommation interne ou application externe (WICHTL *et al*, 2003).

2.2 La phytothérapie en Algérie :

L'Algérie, avec une étendue de 2 381 741 km², se distingue comme le plus vaste pays bordant la méditerranée. Sa renommée découle de sa riche diversité en plantes médicinales et aromatiques, largement utilisées à travers tout le territoire national. Ces connaissances traditionnelles sont transmises de génération en génération au sein des populations, principalement rurales, constituant un précieux patrimoine familial oral, souvent préservé par les femmes âgées et analphabètes.

Dans le désert du Hoggar, où les médecins se font rares dans certaines zones éloignées, les Touaregs recourent aux secrets des plantes médicinales et aromatiques, hérités de génération en génération. Dans les montagnes de Kabylie, lorsque les routes sont bloquées par la neige, les habitants utilisent également ces ressources pour traiter divers maux, notamment en fumant les feuilles d'eucalyptus contre la grippe. Pendant les migrations saisonnières dans la steppe, les nomades font appel à l'armoise blanche pour soulager les problèmes d'indigestion (Ilbert et al, 2016).

3. *Carlina Gummifera* :

3.1 Définition :

Carlina gummifera, également connu sous le nom de chardon à glu, est une plante originaire d'Afrique du Nord faisant partie de la famille des Astéracées. Cette plante est impliquée dans plusieurs cas d'intoxications sévères, souvent accidentelles (en raison de la confusion avec l'artichaut sauvage), mais également dans des cas intentionnels lors de tentatives d'autolyse. Selon les données du Centre Anti-Poisons d'Alger pour la période allant de 1991 à 2009, cette plante est la principale cause d'intoxications, représentant 10 % des cas d'intoxication par les plantes. Les décès dus à l'intoxication par cette plante sur la même période représentent 15 % du nombre total de décès, toutes causes confondues (soit un total de 332 décès) (Larabi et al, 2012).



Figure 1 : *Carlina gummifera*

3.2 Classification :

3.2.1 Systématique :

D'après la classification APGIII (Dupont *et al*, 2015) :

Embranchement : Embryophytes

Sous-embranchement : Trachéophytes ;

Super classe : Spermaphytes ;

Classe : Angiospermes ;

Clade : Triporées (anciennement Eudicots) ;

Sous-lasse : Asterideae ;

Clade : Campanulideae (ou Euasterideae II) ; **Ordre :** Astrales ;

Famille : Asteraceae ;

Genre : *Atractylis* ;

Espèce : *Atractylis gummifera* L.

3.2.2 Nomenclature :

Nom scientifique : *Atractylis gummifera* L

Noms vernaculaires :

- Arabe Addad, Chouk el eulk, Laddad .
- Berbère Akhfioun, Taboune khart, Tifrioua, Tilisten, laddad.
- Français Chardon à glu, Caméléon blanc, Carline à gomme.
- Italien Masticogna, Laticifera.
- Anglais Stemless, Atractylis, Bird-lime, Glue thistle (The Euro + Med Plantbase Project (en ligne, 2021)).

Synonymes botanique :

Carlina gummifera DC

Carlina gummifera Less

Acarna gummifera Brot

Acarna gummifera Willd

Acoma gummifera Brot (Lim, 2015) (Dupont et al, 2015)

3.3 Description botanique :

Carlina gummifera est une plante herbacée, épineuse et odorante, caractérisée par ses parties souterraines robustes et persistantes. Elle se compose de deux parties distinctes :

-une partie aérienne comprenant tige, feuilles, fleurs et fruits.

-une partie souterraine dominée par un gros rhizome pivotant et charnu, pouvant mesurer de 30 à 40 centimètres de long et de 7 à 8 centimètres de diamètre (**figure 01**). La croissance de la plante débute à la fin de l'automne, et elle fleurit en été (**Ait youssef, 2006**).

1. Partie aérienne :

- Tige :

La tige est acaule, ce qui signifie qu'elle est soit absente, soit très court. (**Figure 02**)



Figure 2 : La tige de *Carlina gummifera* (**Bezanger et al, 1980**)

- Feuille :

Les feuilles émergentes dès le début de l'hiver, prenant une forme basilique et s'organisant en une rosette étalée sur le sol (**figure 1**) Elles sont caractérisées par leur longueur et leurs épines, mesurant de 50 à 60 centimètres de long pour 10 centimètres de large. Ces feuilles sont regroupées en bouquets étalés sur le sol, conférant à la plante une silhouette semblable à un écusson aplati (**figure2**) (**Anne-Marie et al, 1978**)



Figure 3 : Feuille de *Carlina gummifera* disposés en rosette (**Bezanger et al, 1980**)

-Inflorescence :

L'inflorescence se compose d'un ou de plusieurs gros capitules de fleurs ou de fleurons. Habituellement solitaire, le capitule peut parfois se regrouper en 2 à 4 unités au centre de la rosette, sur une tige très courte. Mesurant de 6 à 10 cm de diamètre, il adopte une forme cylindrique et est entouré de bractées

Chapitre I : Généralités sur la plante étudié « *Carlina gummifera* »

formant un involucre, appelé "gummifère", qui est de forme subglobuleuse. Cet involucre comporte de nombreuses bractées disposées sur trois couches successives (Ait youssef, 2006).



Figure 4 : Inflorescence (capitule) de *Carlina gummifera* (Fiori et al, 2016)

- Fleurs :

Les fleurons émergent pendant l'été, généralement entre les mois de juin et de juillet. Ils sont désignés sous le terme de "fleurons" et se caractérisent par une corolle gamopétale, s'épanouissant très près du sommet en cinq lobes égaux.

À leur base, ils sont entourés de poils soyeux portés par l'ovaire. Ce dernier est uniloculaire, ne contenant qu'un seul ovule (Lefranc et al, 1866).



Figure 5 : Poils soyeux du capitule floral du *Carlina gummifera* (Derraji, 2014)

- Bractées :

Les bractées, pour la plupart munies d'épines, libèrent un latex de couleur crème à blanc jaunâtre à leur base, formant une sorte de glu qui solidifie, d'où le nom vernaculaire « chardon à glu ». Ce latex est

Chapitre I : Généralités sur la plante étudié « *Carlina gummifera* »

également appelé « gomme » par certains auteurs (d'où le nom latin de l'espèce : *gummifera* ou *gummifère*, signifiant « qui porte de la gomme »). Il n'apparaît qu'après la fructification de la fleur (figure05)

On peut distinguer trois types de bractées :

- Les bractées internes : dépourvues d'épines et de couleur rouge purpurin en partie supérieure.
- Les bractées médianes : avec des épines légères.
- Les bractées externes : de forme oblongue linéaire, se rétrécissant en une épine robuste et munie de dents épineuses le long de leurs bords (figure6) (Ait youssef, 2006).



Figure 6 : Bractées épineuses entourant le capitule floral *Carlina gummifera* (Derraji, 2014)



Figure 7 : Bractée externe du capitule floral de *Carlina gummifera* (Derraji, 2014)

- Fruit :

Le fruit est un alkène surmonté d'une aigrette ou pappus de poils blancs (Maisa, 2008).



Figure 8 : Capitule floral desséché avec des pappus (Derraji, 2014)

2. Partie sous terrain :

Les parties souterraines, charnues lorsqu'elles sont fraîches, se composent d'un rhizome principal de grande taille en forme de navet, accompagné de racines fines et de rhizomes rampants. Ces structures ont une section très dure, fibreuse et jaunâtre, avec des stries concentriques visibles. (Ait Youssef, 2006), (Lefranc *et al*, 1866).



Figure 9 : Rhizome frais de *Carlina gummifera* (Derraji, 2014)

3.4 Distribution géographique :

La plante est largement répandue en Europe, en Afrique, en Amérique du Sud et en Asie, mais elle est surtout présente dans la région méditerranéenne. Ses habitats incluent l'Algérie, le Maroc, la Tunisie, la France (notamment dans la Haute-Marne et en Corse), l'Espagne (particulièrement dans les régions de Valence et de Murcie), l'Italie (principalement près de Naples, en Sardaigne et en Sicile), la Grèce, le Portugal, et d'autres régions.

En Algérie, la plante se trouve dans toute la région côtière et dans les montagnes du Tell, depuis le niveau de la mer jusqu'au sommet des Babors et de l'Ouarsenis, à des altitudes allant de 1500 à 1900 mètres. Des gîtes sont signalés dans plusieurs villes algériennes, notamment à El Kala, Annaba, Guelma, Eulma, Constantine, Batna, Tizi Ouzou, Bejaia, Bouira, Alger, Miliana, Tiaret, Mostaganem, Sig, Sidi bel Abbes et Oran. (Khadhri, 2013) (Mejdoub *et al*, 2022).

4. L'étude chimique du *Carlina gummifera* :

En avril 1865, dans les environs de Mostaganem, LEFRANC a effectué une analyse des Racines de *Carlina gummifera*. Qui avaient été récoltées et séchées à l'air. Les proportions des composants suivants ont été obtenues selon cette analyse.

Chapitre I : Généralités sur la plante étudié « *Carlina gummifera* »

-Inuline (46,5%)

-Cellulose (25%)

-Sucres (8%)

-Matière minérales (4.5%)

-Eau (4%) (**Bouabid et al, 2019**)

On trouve aussi les composants suivants :

-Des hétérosides diterpéniques bisulfates (atractyloside et carboxyatractyloside)

-Des hétérosides flavonoïdique (orientine, homo-orientine, corymboside, néocorymboside);

- L'asparagine ;

-Divers acides organiques (acide acétique, iso valérianique, oxalique et malique).

-De nombreux acides aminés (acide aspartique et glutamique, proline, leucine, valine,

Et t- Trace d'huile essentielle ; rypthophane).

-Latex (**Ait youssef, 2006**)

Il est important de noter que les proportions des composants mentionnés ci-dessus présentent des variations en fonction de la région et de la saison. Les taux d'atractyloside dans les racines varient de 0,12 % en juin à 0,33 % en décembre en Sardaigne, et de 0,97 % en mai à 1,34 % en décembre en Algérie. Selon l'analyse effectuée par LEFRANC en 1866 sur le suc des racines récoltées à la fin de février, il a été révélé que l'Asparagine n'est détectée qu'à partir du mois d'avril, spécifiquement sur le littoral de la division d'Oran.

LEFRANC a également réalisé une étude sur les cendres de la racine de *Carlina gummifera*. Cette racine émet, lors de sa combustion, une odeur très prononcée de caramel.

Les constituants de ce résidu comprennent d'une part de la chaux, de la soude, de la magnésie, de la potasse et du fer, et d'autre part de l'acide chlorhydrique, de l'acide sulfurique, de l'acide carbonique et de la silice (**Bouabid et al, 2019**).

5. Propriété pharmacologie :

D'après KHADHRI en 2013, *Carlina gummifera* démontre une capacité antioxydante attribuée à sa concentration élevée en polyphénols. L'évaluation de cette activité antioxydante in vitro se fait en mesurant son activité anti-radicalaire. Il a été observé que la racine affiche une capacité de réduction du fer plus élevée, ce qui confère à *Carlina gummifera* un pouvoir antioxydant significatif (**Lefranc et al, 1866**).

L'étude réalisée par Mejdoub et ses collaborateurs en 2019 sur les huiles essentielles obtenues à partir de la racine de la plante, récoltée à différents stades de croissance (début de la saison de croissance en mars, stade de la floraison en avril, et pleine floraison en mai/juin), a révélé que les huiles essentielles extraites de *Carlina gummifera* en pleine floraison présentaient des propriétés antioxydantes et antifongiques remarquables. En revanche, celles obtenues au début de la saison de croissance et au début de la floraison ont montré une activité insecticide plus prononcée (**Vanessa Steenkamp et al, 1999**).

D'après BOUABID en 2020, l'analyse phytochimique de la partie souterraine de la plante a révélé une concentration élevée de flavonoïdes et de tannins dans les extraits aqueux et organiques. Les études pharmacologiques, tant in vitro qu'in vivo, ont démontré que les extraits de la plante, notamment ceux obtenus par macération aqueuse et méthanolique, constituent une source importante d'antioxydants naturels. Ces extraits ont été observés pour leur capacité à prévenir la peroxydation lipidique et à stimuler la sécrétion du superoxyde dismutase (SOD), une enzyme antioxydante essentielle (**Obatomi et al, 1998**).

6. Propriétés physico- chimiques :

6.1 Latex :

6.1.1 Suc de racine :

Ce liquide légèrement visqueux a une saveur âcre lorsqu'il est frais. Cependant, une fois desséché, il devient insipide et sans odeur. De plus, il est très volatil même à température ambiante

1. Action de l'eau : insoluble dans l'eau froide ou bouillante, il se ramollit et se gonfle dans celle-ci, y fond et s'y divise, par le mouvement de l'ébullition, en flocons soyeux, très-déliés
2. Action de l'alcool : avec l'alcool à 85° bouillant, même phénomène avec l'eau ; mais cet agent en dissout des traces
3. Action de l'éther et de la benzine : la dissolution est complète et prompte même à froid; une addition d'eau précipite ces liqueurs

4. Action de la potasse et des acides forts : il n'est pas attaqué par une solution de potasse concentrée et bouillante

5. Action de l'acide azotique du commerce : à la température de l'ébullition, il se colore en jaune

6. Action de l'acide sulfurique : il prend la teinte groseille, passagère, qui était déjà signalée comme se produisant sur des tranches de racine fraîche soumise à la même épreuve (**Bouabid et al, 2019**).

6.1.2 Suc de réceptacles :

La substance dite gommeuse le liquide qui s'écoule du réceptacle est insipide et sans odeur ; il devient mou entre les doigts en dégageant une odeur caractéristique de caoutchouc. Son comportement face aux agents mentionnés est similaire à celui du latex desséché.

En résumé, il semblerait qu'il s'agisse essentiellement d'une forme de caoutchouc des deux côtés. La seule différence notable réside dans l'état physique du liquide .Dans le cas du latex concret, le caoutchouc est émulsionné, formant des globules et apparaissant sous forme de larmes blanchâtres et opaques.

Tandis que dans le cas du liquide du réceptacle, le caoutchouc est compact et élastique, se présentant sous forme de larmes translucides et jaunâtres (**Bouabid et al, 2019**).

6.2 Racine :

Les alcalis libres ou carbonatés, les persels de fer et l'acide sulfurique développent, au contact de tranche de racine de *Carlina Gummifera*, des colorations qui peuvent aider à l'identifier:

a. Les gaz ammoniac, l'ammoniac liquide, l'eau de chaux, ainsi que la potasse ou la soude libres ou carbonatées entraînent une coloration générale jaune-citron, plus prononcée dans les zones correspondant aux dépôts interstitiels de sucs propres.

b. Les persels de fer provoquent une coloration verdâtre.

c. L'acide sulfurique induit une coloration rouge groseille vive, bien que temporaire (**Bouabid et al, 2019**).

6.3 Hétérosides diterpéniques :

L'atractyloside et le carboxyatractyloside (**Bouabid et al, 2019**)

7. Principes actif :

7.1 Hétérosides diterpéniques :

7.1.1 Atractyloside :

C'est en Algérie, les premières recherches botaniques et chimiques sur *Carlina gummifera* ont été entreprises en Algérie. En 1866, Lefranc, pharmacien militaire et botaniste, entreprend l'étude chimique et pharmacologique de la plante. Il parvient à isoler le principal principe actif, l'atractyloside (ATR), dont Wunschendorf et Braudel établissent la formule, ainsi que celle de ses dérivés issus de l'hydrolyse (ET, 1964) (Lugasi et al, 2003).

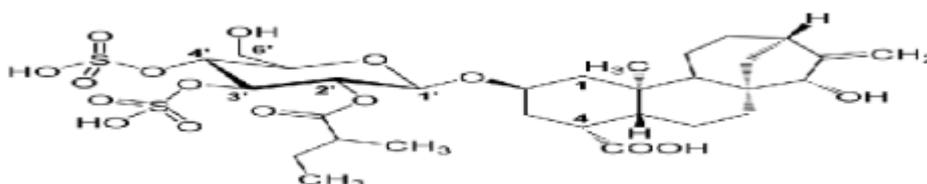


Figure 10 : Structure de l'atractyloside (Jean, 2009)

7.1.2 Carboxyatractyloside :

Ce n'est qu'en 1964 que le deuxième principe toxique a été isolé par Danieli et ses collaborateurs, connu sous le nom de gummiférine ou 4-carboxyatractyloside (CTR). Cette substance se distingue de l'ATR par la présence d'un second groupe carboxylique en position C-4 du cycle diterpénique. C'est un composé voisin de l'atractyloside, mais de toxicité considérablement plus élevée et est également présente dans d'autres plantes telles que *Wedelia asperima*. Sa différence avec l'atractyloside réside dans la présence d'un second groupement carboxylique en position C.

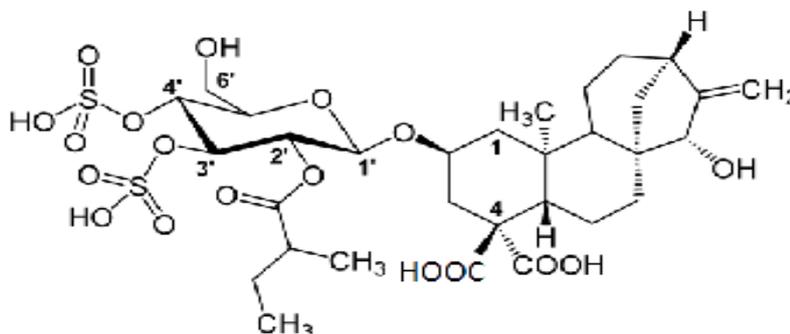


Figure 11 : Structure du carboxyatractyloside (Jean, 2009)

Chapitre I : Généralités sur la plante étudié « *Carlina gummifera* »

Ces deux principes toxiques sont des hétérosides à génine diterpénique dérivée du Kaurèn (Nathalie et al, 2006).

7.2 Polyphénols :

Les polyphénols sont des composés phénoliques sont des produits issus du métabolisme secondaire des plantes, et se caractérisent par la présence d'au moins un noyau benzénique lié à au moins un groupe hydroxyle libre ou impliqué dans une autre fonction telle que les éthers, esters ou hétérosides (Khadhri, 2013) (Marica et al, 2004)

On les retrouve dans toutes les parties des plantes supérieures, y compris les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs et les fruits (Havsteen, 2002)

Les principaux polyphénols présents dans la plante *Carlina gummifera* sont les flavonoïdes et les tanins (Mojca et al, 2005).

7.2.1 Flavonoïde :

Les flavonoïdes représentent une variété étendue de composés naturels est regroupée sous cette catégorie. Ce sont des molécules aromatiques poly-substituées qui agissent comme pigments, conférant des teintes jaunes, oranges et rouges à divers organes végétaux (DACOSTA, 2003) (Effendi et al, 2006).

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo-gamma-pyrane leur structure de base est constituée de deux noyaux aromatiques (A et B), reliés par un hétérocycle oxygéné qui désigne la lettre C. Ces composés peuvent être classés en plusieurs catégories, parmi lesquelles les flavones, les isoflavandiols, les flavanols, les flavandiols, les chalcones et les anthocyanes sont les plus significatives (Čáková, 2013) (Jean, 2009) .

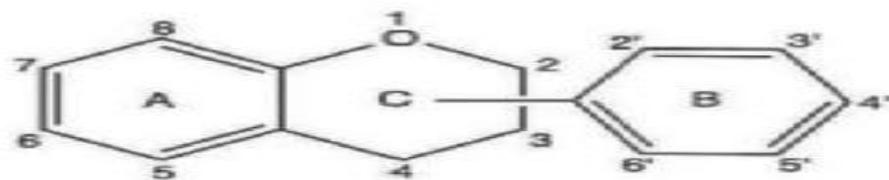


Figure 12 : Structure de base des flavonoïdes (Sandali, 1970)

-Flavones et flavonols :

Chez ce type de flavonoïdes le cycle A est caractérisé par la présence de deux hydroxyles phénoliques, qui peuvent être soit libres soit étherifiés. La distinction majeure entre ces deux sous-groupes réside dans le fait que les flavones ne possèdent pas d'hydroxyle en position C-3 (Sandali, 1970).

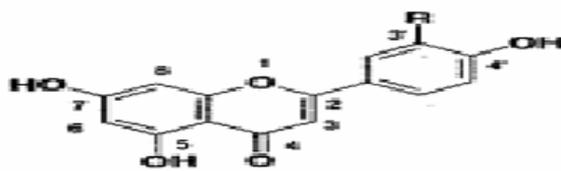
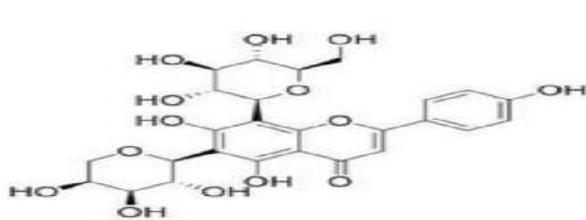
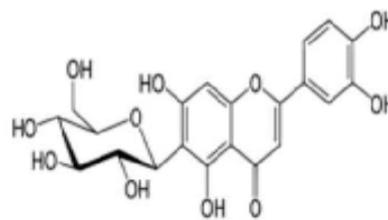


Figure 13 : Structure des flavones (CHAUMONT et al, 2011)

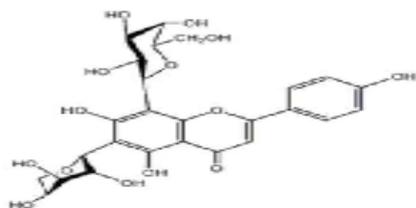
Les principales flavones trouvées dans *Carlina gummifera* sont : l'isoschaftoside, l'orientine, le corymboside, l'homo-orientin, le néocorymboside (EL FENNOUNI, 2012).



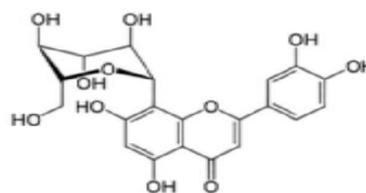
Isoschaftoside



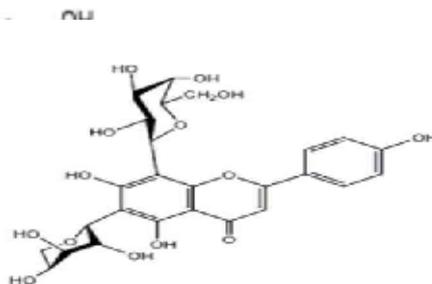
Homo-orientine



Corymboside



Orientine



Néocorymboside

Figure 14 : Flavones présentes dans *Carlina gummifera* (Derraji, 2014)

7.2.2 Anthocyanes:

Le terme «Anthocyane» fait référence à la substance qui est responsable de la coloration bleue des fleurs (du grec; anthos, fleur et kuanos, bleu). Il est généralement utilisé comme un terme général englobant à la fois les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés. Ces composés constituent un groupe de pigments hydrosolubles qui sont responsables de la coloration rouge, rose, mauve, pourpre, bleue ou violette que l'on observe dans la plupart des fleurs et des fruits.

La responsable de la coloration des racines de *Carlina gummifera*, c'est : les anthocyanes à leur structure fondamentale est intégré un noyau "flavone" qui est généralement glucosylé en position C3 (CHAUMONT et al, 2011).

7.2.3 Tanins :

Les tanins condensés, également appelés proanthocyanidols, sont des polymères de flavanoïdes. Ils se forment à partir d'unités de flavan-3-ols reliées entre elles par des liaisons carbone-carbone. L'épicatéchine et la catéchine sont généralement les unités structurales de base de ces polymères (CHAUMONT et al, 2011).

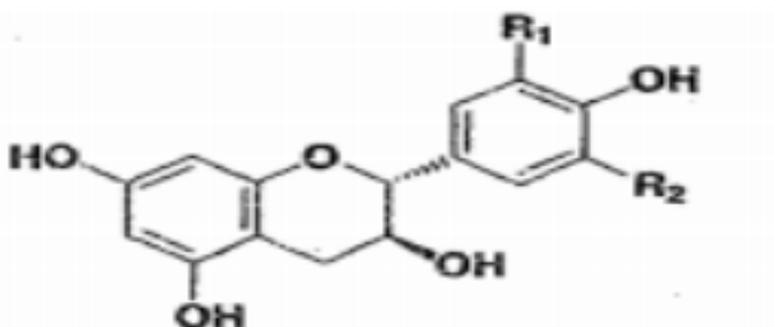


Figure 15 : Structure de base des tannins condensés (CHAUMONT et al, 2011)

8. Usage thérapeutique :

8.1 Partie sous terrain :

8.1.1 Usage traditionnels :

Les propriétés thérapeutiques et les dangers de *Carlina gummifera* sont connus depuis des siècles. Au premier siècle avant J.C., le pharmacologue et médecin grec Pedanius Dioscorides d'Anazarbos a fourni une description détaillée de la plante et de ses effets. De même, Theophrastus a également noté les effets toxiques de la plante sur les animaux (Hmamouchi, 1999).

Il est recommandé d'utiliser localement des extraits de racine de *Carlina gummifera* pour traiter toutes les lésions infectieuses et inflammatoires de la peau. Cependant, il est fortement déconseillé de considérer un traitement par voie interne, en raison de la toxicité de la plante.

En Algérie, la plante était réputée pour sa forte toxicité lorsqu'elle était ingérée, en raison de ses effets narcotiques. Cependant, elle était également reconnue pour ses propriétés purgatives à des doses très faibles. En Grèce antique, elle était utilisée comme plante médicinale pour traiter l'hydropisie et comme vermifuge. De plus, il était noté que cette espèce était déjà réputée pour être toxique pour les chiens et les porcs (**Ait youssef, 2006**).

Cette plante est couramment utilisée dans la médecine traditionnelle, principalement pour traiter L'ulcères syphilitique, l'épilepsie, ses propriétés antipyrétiques, diurétiques, émétiques (**Belarbil et al, 2013**) (**Khabbal et al, 2018**) (**Sandali, 1970**).

8.1.2 Usage thérapeutique :

Dans certaines régions d'Espagne et du Portugal, le chardon à glu est également utilisé pour ses propriétés cicatrisantes. Il est employé pour traiter les ecchymoses, les entorses, l'arthrite, les rhumatismes, ainsi que comme agent purificateur du sang. En application topique, la plante est utilisée sous forme de lavage ou de cataplasme, qu'il soit réalisé à partir de racines fraîches, séchées ou torréfiées. De plus, les morceaux de racine frits dans de l'huile d'olive peuvent également être appliqués (**Bellakhdar, 1998**).

Les fleurs étaient utilisées pour des besoins internes pour sous forme d'infusé pour le traitement des crises de convulsion et de l'épilepsie.

Elle est employée en inhalation aérosol, administrée par fumigation, dans le traitement des céphalées, vertiges (**Ait youssef, 2006**) les paralysies : On prépare la racine du chardon à glu en la faisant cuire dans une marmite neuve remplie d'eau. Ensuite, on expose le membre paralysé aux vapeurs dégagées par la cuisson de la racine (**Bellakhdar, 1998**).

En usage interne, elle est utilisée pour arrêter les hémorragies un fragment d'environ 3 cm de la racine séchée est cuit dans de l'eau pendant une longue période et ensuite pressé, avec l'idée présumée d'éliminer ses éventuelles propriétés négatives, selon les affirmations d'un fqih (bien qu'il n'y ait aucune preuve que les principes actifs toxiques soient sensibles à la chaleur, à la cuisson prolongée, ou à l'essorage) (**Ait youssef, 2006**).

Chapitre I : Généralités sur la plante étudié « *Carlina gummifera* »

En usage interne la racine séchée est employée après avoir été bouillie longuement dans de l'eau pour le traitement des œdèmes et utilisé contre la manie (**Charnot, 1945**) (**Larrey et al, 1995**) (**Karimine, 1986**).

On peut préparer un bouillon avec la racine d'« Addad », dans lequel on cuit des œufs et des fèves. Après cuisson, le bouillon est jeté et les œufs et fèves cuits sont consommés utilisé contre la jaunisse et les maladies de la poitrine (**Yang Wang et al, 2011**).

Une autre préparation permet de vaincre l'asthénie : on peut préparer un bouillon avec la racine d'« Addad », dans lequel on cuit des œufs et des fèves. Après cuisson, le bouillon est jeté et les œufs et fèves cuits sont consommés (**Karimine, 1986**).

Dans la pharmacopée chinoise c'est un médicament traditionnel à base d'atractyloside est employé pour traiter les infections nasales et atténuer les maux de tête (**Yang Wang et al, 2011**).

Une autre préparation permet de vaincre l'asthénie : on peut préparer un bouillon avec la racine d'« Addad », dans lequel on cuit des œufs et des fèves. Après cuisson, le bouillon est jeté et les œufs et fèves cuits sont consommés (**Bellakhdar, 1998**).

Dans la pharmacopée chinoise c'est un médicament traditionnel à base d'atractyloside est employé pour traiter les infections nasales et atténuer les maux de tête (**Hammiche et al, 2013**).

8.1.3 Usage criminel :

La poudre de racine ou, de préférence, le jus de racine fraîche sont habituellement administrés en association avec d'autres toxiques, tels que l'arsenic et la jusquiame blanche. L'ajout de cette plante, dotée de propriétés antiémétiques, vise généralement à empêcher la victime d'expulser le poison par les vomissements (**Ahid el al, 2012**).

Les empoisonnements criminels liés au chardon glu entraînent généralement des conséquences néfastes. Leur méconnaissance par les cliniciens, leur évolution rapide et leur fréquence posent des problèmes médico-légaux qui ne peuvent être résolus que par l'identification post-mortem de l'agent responsable, l'atractyloside. (**Belarbi et al, 2013**).

9. Activités biologique :

9.1 Activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne correspond à l'action d'une molécule ou d'un composé présent dans un végétal qui inhibe le développement d'une bactérie ou la tue. La sensibilité des bactéries aux antimicrobiens varie en fonction du type d'antimicrobien (**Daniel et al, 1998**).

On évalue l'activité antibactérienne en utilisant la méthode fonctionne en inhibant la croissance des micro-organismes après un certain temps de contact entre le produit et le micro-organisme cible.

On peut évaluer l'impact des produits antimicrobiens sur les cibles en mesurant les zones d'inhibition. En fonction du diamètre d'inhibition, la souche sera jugée résistante (-) pour les diamètres inférieurs à 8 mm et sensible (+) pour les diamètres supérieurs à 8 mm. 8 à 14 mm ; extrêmement sensible (++) pour les diamètres compris entre 15 et 19 mm et très sensible (+++) pour les diamètres supérieurs à 20 mm (**Himed et al, 2016**).

9.2 Activité antioxydant :

Les antioxydants sont des substances qui ont la capacité de prévenir ou de ralentir l'oxydation d'autres molécules. (**Swaran, 2009**).

Ces antioxydants se répartissent en deux grandes catégories, endogènes (molécules produites par biosynthèse) et exogènes (vitamines, oligo-éléments ou antioxydants synthétiques) (**Pierre Sprumont et al, 2005**).

Le bêta-carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), les tocophérols (vitamine E), la quercétine, la rutine et le pycnoge sont les antioxydants les plus connus. La majorité des antioxydants, qu'ils soient fabriqués ou issus de la nature, contiennent des groupes hydroxyphénols dans la structure de ces composés naturels et certaines de leurs propriétés antioxydantes sont attribuées à la présence de radicaux libres tels que les radicaux hydroxyle (OH) et le superoxyde (O₂), ce qui leur permet de capter les radicaux (**Antolovich et al, 2002**).

Selon les études contemporaines, il est démontré que les extraits et les composés provenant de diverses plantes contenant de l'atractyloside et du carboxyatractyloside ont des effets pharmacologiques étendus et exploités :

-Des effets anti-inflammatoires, anti-rhinite allergiques et analgésiques. (**Surriya et al, 2016**)

- Des effets antidiabétiques.
- Des effets antilipidémiques (**Bouabid et al, 2019**)
- Des effets insecticides (**Mejdoub et al, 2022**)
- Des effets antiparasitaires (**Talakal et al, 1995**)
- Des effets antioxydants (**Khadhri, 2013**) (**Bouabid, 2020**)

Les recherches menées par Errai et al ont confirmé le pouvoir cicatrisant du chardon à glu en utilisant un cataplasme sec pour traiter les furoncles, la gangrène, les brûlures et le cancer de la peau (**Khabbal et al, 2018**).

Activité anti-tumorale, après l'administration du complexe alpha-foetoprotéine (AFP–ATR). Dans cette situation, l'AFP a été choisi en raison des deux expériences positives lors du traitement des tumeurs dont les cellules sont porteuses de récepteurs AF.P à leur surface.

On a obtenu la préparation en établissant une liaison non covalente entre le Complexe AFP et l'Atractyloside (ATR).Le mécanisme de l'action cytotoxique de l'ATR est associé à l'impact sur la fonction mitochondriale cellulaire, ce qui entraîne l'apoptose (**Treshchalini et al, 2017**).

Il est intéressant de constater que l'efficacité des remèdes est confirmée par des études pharmacologiques.

Étant donné la toxicité élevée et le rapport bénéfice/risque proche de 1, il serait judicieux de se pencher sur d'autres études sur les composés bioactifs liés à cette plante et d'évaluer les mécanismes de détoxification afin de développer des applications thérapeutiques à faible risque (**Wenxiang et al, 2019**).

1. Notion de toxicité :

Depuis longtemps, la toxicologie est considérée comme la science des poisons. Elle se penche sur les conséquences néfastes des produits chimiques sur les êtres vivants. Elle utilise une grande variété de connaissances scientifiques et s'intéresse à divers domaines de l'activité humaine : l'agriculture, l'alimentation, l'industrie pharmaceutique, l'environnement, les milieux de travail.

Un poison, ou substance toxique, est une substance qui peut altérer le fonctionnement normal d'un être vivant. Il peut provenir de la nature ou de l'industrie, ou être de nature chimique ou biologique (**Notion de la toxicologie, CNESST**).

Le risque de toxicité d'une substance possède la capacité intrinsèque de générer des effets néfastes (toxiques) dans des conditions spécifiques d'administration (espèce, voie d'administration, sexe...) (DL50, CL50) (**Polycopie, 2021**).

2. Dose effet/dose réponse :

Il est possible d'utiliser l'évaluation de la toxicité, ainsi que la classification de la toxicité, dans un but réglementaire.

C'est une catégorisation arbitraire des quantités ou des degrés d'exposition (« très toxique », « extrêmement toxique », « modérément toxique », etc.) à l'origine d'effets toxiques qui permet de recenser les produits ayant une toxicité aiguë.

L'analyse de la toxicité permet de classer les substances chimiques en catégories générales en fonction de leur effet toxique essentiel, comme les allergènes, les neurotoxiques, les cancérigènes (**Stephanie et al, 2012**).

3. La relation entre dose effet et dose réponse :

3.1.1 La relation dose effet :

Il s'agit de la corrélation entre la dose et l'impact à l'échelle de l'individu. La prise de plus grande quantité peut augmenter l'intensité ou la gravité d'un effet. On peut tracer une courbe dose-effet pour tout l'organisme, la cellule ou la molécule ciblée. Certains effets néfastes, tels que la mort ou l'apparition d'un cancer, ne sont pas progressifs, ils sont des effets "tout ou rien" (**Stephanie et al, 2012**).

3.1.2 La relation dose réponse :

Elle fait référence à la corrélation entre la quantité administrée et le pourcentage d'individus ayant un effet particulier. Avec l'augmentation de la dose, un plus grand nombre de personnes sont touchées dans la population exposée (Stephanie et al, 2012).

4. Les types d'étude de la toxicité :

L'analyse de la toxicité englobe des domaines extrêmement divers. Effectivement, cela englobe des médicaments, des armes chimiques, des végétaux, des animaux, des produits industriels et bien d'autres. Toute substance qui doit être commercialisée, qu'il s'agisse d'un médicament ou d'un autre produit chimique, doit être soumise à trois types de toxicité afin de déterminer sa dangerosité (Viau, 2003)

Tableau 2 : Formes d'intoxication (Notion de la toxicologie, CNESST)

Forme d'intoxication	Fréquence d'administration	Durée de l'exposition
Aiguë	Unique	< 24 heures
Subaiguë	Répétée	≤ 1 mois
Subchronique	Répétée	De 1 à 3 mois
Chronique	Répétée	< 3 mois

5. La toxicité aiguë :

Elle apparaît rapidement, voire immédiatement, après une seule prise ou à court terme après plusieurs prises rapprochées. Il s'agit de l'analyse qualitative et quantitative des effets toxiques que l'on peut rencontrer suite à l'administration unique de la ou des substances actives présentes dans le médicament (Ruckebusch, 1981)

La toxicité aiguë fait référence à tous les effets néfastes et les symptômes qui surviennent immédiatement après l'exposition de l'organisme à une seule ou plusieurs prises très proches d'un produit chimique. En général, les effets toxiques aigus apparaissent immédiatement ou dans les premiers jours suivant l'exposition (Hodgson, 2010)

Le concept de toxicité orale aiguë est généralement associé aux mesures de létalité et de DL50. La DL50 désigne la quantité statistiquement déterminée qui, lorsqu'elle est administrée dans un test de toxicité aiguë, est susceptible de faire décéder 50% des animaux traités sur une période spécifique (**Oliver, 1986**)

Le produit est généralement administré aux rats ou aux souris répartis en plusieurs groupes, à des doses croissantes suffisantes pour obtenir un pourcentage de mortalité allant de 0 % à 100 %. Dans le cas d'un toxique inhalé, on utilise le terme de concentration létale 50 (CL50) pour désigner la concentration du toxique dans l'air absorbé qui provoque la mort de 50 % des animaux. (**Notion de la toxicologie, CNESST**).

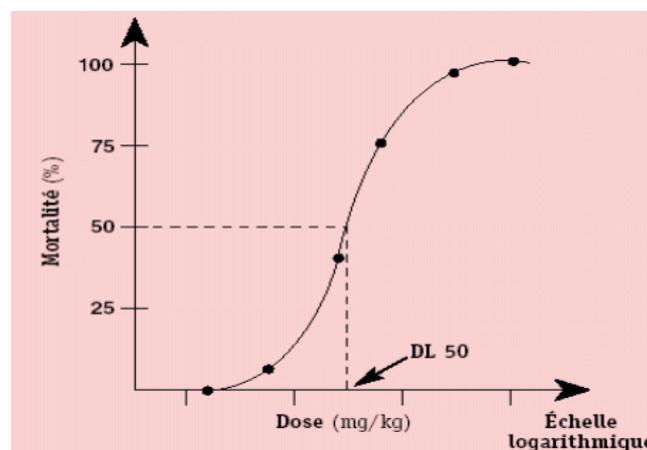


Figure 16 : Détermination de la dose létale 50 (DL 50) (**Notion de la toxicologie**)

6. La toxicité subaiguë :

La toxicité subaiguë désigne la libération de substances toxiques qui ne causent pas de décès rapide pendant des semaines, des mois, voire des années. C'est la situation la plus fréquente et nous paraît la plus risquée en raison de son caractère insidieux. Les répercussions sont subtiles au début, mais inévitables à long terme (**Bulletin de l'académie de France ,1988**)

On administre quotidiennement la substance à tester à différents niveaux de dose à différents groupes d'animaux. En règle générale, il est nécessaire d'utiliser au moins trois groupes d'essai et un groupe témoin (**OECD/OCDE, 2008**)

Il se distingue de la toxicité aiguë par le fait qu'une grande partie de la population peut survivre à l'intoxication, même si tous les individus présentent des symptômes cliniques à court terme sur les

organes cibles, parfois réversibles et résultant de l'absorption répétée du toxique, mais à des doses inférieures à celles de la toxicité aiguë (Ramade, 1979).

7. Toxicité chronique :

Une étude de toxicité chronique a pour objectif de mesurer les effets d'une substance d'essai chez une espèce de mammifère spécifique après une exposition prolongée et répétée (OCDE, 1979)

Plusieurs groupes d'animaux d'expérience reçoivent quotidiennement la substance d'essai à des doses progressives, en général pendant 12 mois. Ce laps de temps est suffisamment long pour permettre l'apparition des effets de toxicité cumulée, tout en évitant les effets perturbateurs des modifications liées au vieillissement (OECD/OCDE, 2008).

8. Les LOAEL :

Le LOAEL est la dose initiale testée, dans l'ordre croissant, qui entraîne un effet - considéré comme néfaste - d'une intensité ou d'une fréquence qui présente une différence statistiquement significative par rapport au témoin. L'hypothèse nulle (égalité de réponse entre la dose D_i et le témoin) est donc rejetée pour la première dose du protocole. Le LOAEL n'est pas une limite biologique, mais plutôt une limite statistique qui varie en fonction du protocole expérimental.

9. Les NOAEL :

On définit le NOAEL comme la dose testée qui est immédiatement inférieure au LOAEL. Quand la dose initiale testée (D_1) entraîne déjà un effet significativement différent du témoin, il n'est pas envisageable de définir un NOAEL. (Nathalie et al, 2009).

10. La toxicologie du *Carlina gummifera* :

10.1 La toxicité du *carlina gummifera* :

- Les cas d'intoxication en algérie :

Une analyse descriptive rétrospective a été réalisée sur l'ensemble des cas d'intoxication recensés entre 1981 et 2004 au centre antipoison et de pharmacovigilance. Durant cette période, 240 individus ont été admis à l'hôpital en raison d'une intoxication au chardon à glu, dont 72 % sont des enfants de moins de 16 ans. La gravité de cette intoxication a été confirmée par une mort intra-hospice. De manière significative,

en effet, parmi les 182 patients dont l'évolution est connue, 98 sont décédés. ce qui représente 54 % des décès (**Hami et al, 2011**) (**Larabi et al, 2012**)

D'après les résultats du centre anti-poisons d'Alger (entre 1991 et 2009), cette plante se classe en première position parmi les plantes responsables d'intoxications, représentant 10 % des intoxications par les plantes. La mortalité causée par l'intoxication par cette plante, identique période, elles représentent 15 % du total des décès (**Hammiche, 2013**) (**Ahid et al, 2012**)

Selon une étude menée au sein du service de pédiatrie du CHU de Tizi-Ouzou de janvier 2010 à 25 mai 2012, il a été constaté que le chardon à glu est l'une des quatre premières plantes responsables d'intoxications, représentant 7% des cas d'intoxication par les plantes (**Aumoraci et al, 2015**)

Une étude menée dans les régions de Sétif (Est de l'Algérie) révèle que le Chardon à glu est le deuxième consommateur avec 17,50 % d'intoxication par les plantes (**Ahid et al, 2012**)

Par conséquent, une autre étude menée à Tlemcen en 2014 montre que le Chardon à glu représente 13% des empoisonnements causés par les plantes (2 cas sur 15 cas d'intoxication par les plantes) (**Berrezoug et al, 2014**).

10.2 Les Principes actifs responsables de l'intoxication :

La toxicité de *Carlina gummifera* est dû à la présence des composés toxiques, formés par l'atractyloside (l'atractylate de potassium) et le carboxyatractyloside (la gummiférine) (**Hammiche, 2013**)

10.2.1 Atractyloside :

A-Propriétés physico-chimiques :

La solubilité élevée de l'Atractyloside dans l'eau est observée dans la majorité des extraits aqueux provenant des parties souterraines de *Carlina gummifera* (**Bellakhdar, 1998**)

Il est soluble dans l'alcool 95° et, plus au moins soluble, dans les solvants organiques (**Ahid et al, 2012**).

B-toxicocénitique :

Il existe peu d'informations sur les effets toxicocinétiques de l'ATR ; il n'y a aucune monographie sur la distribution plasmatique et/ou tissulaire et il y a peu d'informations sur les voies d'excrétion

Les travaux effectués sur le métabolisme de l'ATR sont peu nombreux (**Obatomi et al, 1998**)

Il n'est pas encore parfaitement élucidé le rôle du métabolisme, mais les données indiquent que l'atractyloside interagit avec les systèmes de biotransformation hépatiques. Le cytochrome P450 (CYP-450) et le cytochrome b5 (CY b5) diminuent dans le contenu hépatique à cause de modifications morphologiques et de modifications du réticulum endoplasmique (**Hedhili et al, 1989**)

Les dérivés de l'ATR, issus des grains de café, extraits des urines des consommateurs de café, ont une structure légèrement altérée par rapport à celle de la molécule. En isolant le glucuronide de l'acide 2-hydroxyl-15-oxoatractylane-4-carboxylique de l'urine chez les consommateurs de café, il est possible que la fonction alcool du groupement allyl, présente dans l'analogue-ATR de l'arabica C, soit biotransformée en un métabolite intermédiaire (**Ahid et al, 2012**)

Selon Bye et ses collègues, l'administration d'atractyloside intra-péritonéale pendant 4 jours à des doses de 5, 10 et 25 mg/kg chez des rats entraîne une excrétion urinaire quotidienne du toxique, en particulier chez les animaux ayant reçu les deux doses les plus élevées. Ces derniers ont excrété environ 200 mg d'ATR/mL d'urine dans les 24 heures suivant l'administration (**Sandra, 1991**)

Il n'y a pas de recherches concernant la gravité de la toxicité aiguë de l'ATR en relation avec les concentrations plasmatiques ou urinaires de la molécule mère ou de ses métabolites (**Ahid et al, 2012**)

10.2.2 Carboxyatractyloside :

Le CATR se distingue de l'ATR en raison de la présence d'un deuxième groupe carboxylique en position C-4 du cycle diterpénique. Il se trouve dans les végétaux frais, mais pas dans les végétaux séchés car il est décomposé en ATR lors du vieillissement ou de la dessiccation.

A-Propriétés physico-chimiques :

Formule: C₃₁ H₄₄ O₁₈ S₂; PM = 770,81 g

Pouvoir rotatoire $[\alpha]_{20^\circ\text{C}} = -45$

Maximum d'absorption en UV : à 200-220 nm Très soluble dans l'eau et soluble dans l'alcool à 95° ; plus ou moins dans les solvants organiques.

Dans la racine fraîche, il y a du carboxyatractyloside, mais pas dans la racine sèche. Cette transformation du carboxyatractyloside en atractyloside se produit lors du séchage ou du vieillissement des racines de *Carlina gummifera* (Obatomi et al, 1998).

B-Toxicocénitique :

Le 4-carboxyatractyloside (CATR), qui est décarboxylé en ATR dans les plantes séchées, semble présenter le même système métabolique que celui des plantes séchées l'ATR.

Chaque élément de la plante renferme de l'Atractyloside. La plus grande quantité de toxiques est présente dans la racine, suivie de la tige, des bractées, de la fleur, de la graine et enfin de la feuille. La toxicité varie en fonction de la dose, de l'âge du sujet et de la quantité et de la composition de la nourriture consommée (Ahid et al, 2012).

11. Mode action :

Les deux glycosides inhibent le transport des nucléotides phosphorylés ADP et ATP à travers la membrane mitochondriale interne, ce qui empêche la phosphorylation oxydative.

L'atractyloside agit au niveau de l'adénine nucléotide translocase ou de l'ADP/ATP translocase. Cette enzyme est responsable de l'incorporation de l'ADP dans la matrice mitochondriale. En raison de son analogie structurale avec l'ADP, l'atractyloside entre en compétition avec l'ADP et se fixe sur la translocase, l'empêchant ainsi de pénétrer dans la matrice mitochondriale et d'être transformé en ATP (Hami et al, 2011).

Le carboxyatractyloside a une plus grande affinité pour le transporteur que l'atractyloside. Cela est dû aux interactions qu'il établit, le groupe carboxylique supplémentaire, avec les acides aminés proches du site de fixation. En effet, l'inhibition de la seule translocase par l'un de ces toxiques entraîne l'inhibition de toute la chaîne respiratoire mitochondriale (Obatomi et al, 1998) (Boutoub, 2015) (Chardon et al, 1964) (David et al, 2002).

L'atractyloside favorise la perméabilisation des cellules. La capacité de l'atractyloside à ouvrir le port de transition de perméabilité, qui perméabilise la membrane mitochondriale, explique ses effets

cytotoxiques *in vivo* et *in vitro*. Les cellules du foie, du rein, du pancréas et du système immunitaire sont les plus vulnérables au cœur.

L'action des deux glycosides augmente la consommation de glucose, épuise le stock de glycogène musculaire et hépatique et inhibe la glycogénogenèse (**Belarbi et al, 2013**).

11.1 Mécanisme de cytotoxicité :

Par conséquent, la liaison sélective de l'ATR à l'ANT a deux conséquences significatives. Tout d'abord, l'ATR inhibe le transport d'ADP et l'accès supplémentaire d'ADP mitochondrial au site de phosphorylation du compartiment mitochondrial. Cela bloque la phosphorylation oxydative et les réactions oxydatives du cycle Krebs (**Quintanilla et al, 1979**) (**Kholodenko et al, 1988**).

Dans un deuxième temps, l'ATR provoque l'ouverture des pores de transition de perméabilité (PTP) de la mitochondrie, ce qui perméabilise la membrane et libère des protéines intra-membranaires, y compris la cytochrome C. La translocation du cytochrome C des mitochondries au cytosol est un élément essentiel de l'induction du cytochrome C la mort (**Vancompernelle et al, 1998**).

On pense que la quantité d'ATP disponible après l'ouverture du pore est un facteur déterminant dans l'induction de la nécrose ou de l'apoptose (**Kroemer, 1997**).

La nécrose hépatique et l'insuffisance rénale, chez les animaux et les humains, sont des effets toxiques dus à l'inhibition de la phosphorylation mitochondriale (**Streicher et al, 1993**).

Les effets de l'atractyloside (ATR) et du carboxyatractyloside (CATR) sur l'activité des canaux chlorure des mitochondries ont été étudiés sur le muscle cardiaque du rat (**Haouzi et al, 2002**).

Il est connu que l'ATR (50 μ M) dans la cornée humaine inhibe l'ATPase mitochondriale et l'ATPase rénale dans les fragments tubulaires proximaux (**Lubica et al, 2007**).

L'ATR est un inhibiteur puissant de la chaîne respiratoire mitochondriale chez le rat (étape 3), mais pas sur les fragments cellulaires des glomérules. Cela suggère que le transport de ce diterpénoïde dans le tube proximal, peut expliquer où se trouve l'atteinte. Alors que les processus sont absents au niveau des glomérules, le système de transport au niveau du tubule proximal est bien défini et pourrait jouer un rôle dans la sélection du transport d'ATR dans ces cellules. Une compréhension de cette sélectivité pourrait

aider à développer une intervention thérapeutique raisonnable pour réduire l'impact néphrotoxique d cette végétation (Obatomi et al, 1996).

11.2 Lésions tissulaires :

Les effets les plus importants, après avoir ingéré la racine du chardon à glu, sont une hépatotoxicité et/ou néphrotoxicité mortelle chez l'homme ou chez les animaux domestiques, avec une grande similitude principalement sur les paramètres biologiques de l'intoxication.

Chez les individus, les symptômes débutent entre 6 et 36 heures après avoir consommé des extraits de rhizome de *Carlina gummifera* (Bye et al, 1990) (Capdevielle et al, 1980).

11.2.1 Lésions rénales :

Dans leur étude sur le rat, Hopps et ses collègues ont exposé les conséquences de l'ATR et de certains de ses dérivés sur la fonction rénale (Hopps et al, 1997).

Le taux d'excrétion urinaire des enzymes (bêta-N acétyl-d-glucosaminidase, alanine aminopeptidase, gamma glutamyltransférase) et les concentrations en +- électrolytes (Na, K et Cl) ainsi que les concentrations sanguines et urinaires de la créatinine ont été évalués chez les rats traités par ATR, atractyligénine et deux dérivés d'atractyloside (l'un sans groupes sulfate et isovalérate, l'autre sans groupes su) Fais-le seulement.

Les résultats ont montré que l'atractyloside a une toxicité importante pour le rein en modifiant les paramètres biologiques et en particulier en réduisant la clairance de la créatinine, alors que l'atractyligénine laisse presque intacte la fonction rénale.e inchangée (Hedhili et al, 1989).

Au sein des cellules du tubule proximal, l'ATR a entraîné une baisse importante de la concentration d'ATP et une diminution du GSH cellulaire (Hopps et al, 1997).

Chez le rat, l'administration d'une seule injection intra péritonéale ATR à une dose de 1/3 de la dose qui a entraîné la mort de 50% des animaux (DL50) a entraîné des dommages à la structure et à la fonction des reins .Les dommages structurels sont donc très précoces, même à faible dose (Carpenedo et al, 1974).

Une nécrose tubulaire des cellules de la partie distale du tubule proximal a été observée dans les 180 minutes suivant l'administration, accompagnée d'une augmentation du volume d'urine avec une

augmentation de l'excrétion d'albumine, de glucose, de corps cétonique et de pota. L'étude des paramètres biochimiques du sang a mis en évidence une augmentation de la concentration en urée (3 fois la valeur physiologique) et une légère hausse des taux élevé de créatininémie (**SANTI, 1958**).

Chez les humains, l'ingestion massive d'ATR commence généralement par une augmentation du taux de créatine sérique, une polyurie qui se transforme en une atteinte rénale aiguë avec une hyperkaliémie, en moins de 24 heures (**Daniel et al, 1998**).

11.2.2 Lésions hépatique :

Toutes les manifestations cliniques observées chez l'homme empoisonnant d'ATR étaient difficiles à reproduire.

91% des événements sont catastrophiques et de courte durée (**Seedat et al, 1971**).

Le décès des patients est généralement causé par un coma hypoglycémiant et une insuffisance hépatique aiguë (**Sandali, 1970**) (**Miclowiz et al, 1976**).

La peroxydation lipidique, l'épuisement du GSH et l'élévation du GSSG sont les causes des manifestations hépatiques. Ces modifications indiquent que l'ATR peut avoir des effets dangereux en raison d'un processus oxydatif impliquant sa fraction méthylène, créant ainsi un radical libre. Bien que le métabolite réactif produit n'ait pas été identifié, il est possible que des espèces réactives de l'oxygène tel que les anions superoxyde, le peroxyde d'hydrogène ou les radicaux hydroxyles soient impliquées.

L'injection intrapéritonéale d'ATR et de CATR a entraîné une augmentation significative des activités de l'alanine aminotransférase (ALT), de l'asparate aminotransférase (AST) et de la phosphatase alcaline (ALP) par rapport aux témoins dans la détermination des taux d'enzymes dans le sérum.

Les dosages de l'activité enzymatique liés aux antioxydants ont également montré que l'administration d'ATR et de CATR augmentait considérablement la concentration de malondialdéhyde hépatique (MDA) et réduisait l'activité du superoxyde.

La dismutase SOD, la catalase (CAT) et les concentrations de glutathion (GSH) étaient toutes à la hauteur des résultats de l'activité de l'aminotransférase sérique et des examens histopathologiques.

Les résultats combinés montrent que les glycosides provoquent une hépatotoxicité chez les souris en provoquant une peroxydation lipidique dans le foie (Yang *et al*, 2011).

Une biopsie du foie chez les personnes qui ont survécu à l'empoisonnement a révélé une nécrose centrolobulaire et une distorsion graisseuse des hépatocytes situés à la périphérie des lobules hépatiques. (Miclowiz *et al*, 1976).

Cependant, il a été observé que l'interaction et/ou la contamination des plantes peuvent entraîner une hépatotoxicité après un traitement médical conventionnel (Rezig, 1967).

11.2.3 Lésions cardiaques :

L'ATR a un effet toxique sur la contraction cardiaque, qui est peut-être lié à des dommages mitochondriaux.

On n'a pu constater aucun dommage structurel et/ou métabolique, certains auteurs expliquent cela par le fait que l'ATR ne dépasse pas le cardiomyocyte (Carpenedo *et al*, 1974).

Toutefois, certaines situations cliniques ont montré des signes cardiaques sur la contractilité du muscle lisse et sur la paroi des artères myocardiques (Anne-Marie *et al*, 1978) (Rui *et al*, 2012).

Durant la phase initiale, on observe une hypertension temporaire qui évolue vers une hypotension sévère pouvant entraîner un collapsus chez les jeunes enfants. On a également constaté des problèmes de repolarisation et de conduction intra-ventriculaire à l'ECG (électrocardiogramme) (Ben Salah *et al*, 2001).

En effet, les recherches de Gilmour *et al*. En physiologie utilisent la perfusion intra coronarienne d'ATR comme modèle expérimental (Gilmour *et al*, 1981).

11.2.4 Lésions neurologiques :

L'atteinte neurologique se caractérise par l'apparition d'un coma profond, calme, qui s'installe rapidement et brutalement, avec l'absence de réflexes de déglutition.

Parfois, une encéphalopathie se manifeste par un œdème cérébral accompagné de troubles neurovégétatifs, souvent accompagnés de contractures généralisées, on observe des contractions pseudo-

tétaniques, accompagnées de spasmes et de crises convulsives. Il est possible qu'ils apparaissent. La période de troubles neurologiques est un indicateur de pronostic décevant (Capdevielle et al, 1980).

L'examen neurologique révèle une disparition ou une exacerbation des réflexes ostéo-tendineux. Souvent, un signe de Babinski bilatéral est observé, avec les pupilles en myosis puis en mydriase à la fin de la phase. Dans les cas graves d'intoxication, il y a des anomalies de l'électroencéphalogramme a été signalé. Les troubles thermiques accompagnés d'hypothermie ont été signalés après une intoxication collective par le chardon à glu de six enfants d'une moyenne de même famille (Bhoola et al, 1983).

11.2.5 Lésions sur le système reproducteur :

L'extrait de *Carlina gummifera* présente une toxicité significative sur le système reproducteur des rats mâles, avec une modification significative de la morphologie du sperme, en particulier du flagel. L'aspect des testicules et de l'épididyme a également été modifié, ces observations d'évoluaient être confirmées par des recherches plus approfondisses (Dahamna et al, 2007).

12. La dose toxique de la plante :

-animal :

- Extrait de racine :

Chez la souris, la DL50 par voie IP varie en fonction de l'origine géographique de la plante : 49 mg/kg (Khemis Miliana) contre 101,5 mg/kg (Ténè).L'ingestion de l'extrait aqueux de la racine dans le rat entraîne une DL50 de 250 mg/kg.

- Glycoside :

Chez le rat, les doses toxiques par voie orale sont élevées, avec une DL50 dépassant 1000 mg/kg pour l'atractyloside et environ 350 mg/kg pour le carboxyatractylos. Cela suggère que l'homme est plus vulnérable aux hétérosides du chardon à glu que le rongeur.

-Homme :

Les doses mortelles de l'atractyloside ne sont pas connues et la transposition des données animales à l'homme ne peut être mise en œuvre en raison de l'absence de données sur son volume de distribution dans l'organisme (Hammiche, 2013).

13. Circonstances d'intoxication :

Accidentelle-criminel :

Il s'agit d'intoxications accidentelles, rarement criminelles, souvent collectives, touchant plusieurs enfants d'une même famille, vivant à la campagne, qui confondent la racine du chardon à glu avec d'autres plantes comestibles (artichauts sauvages, *Scolymus hispanicus* (« guernina ») ; ils utilisent aussi la glu sécrétée par la plante comme chewing-gum. L'évolution est généralement mortelle (Ahid et al, 2012) (Hami, 2011).

Tableau 3 : Répartition des cas d'intoxications déclaré suivant le lieu et les circonstances de l'intoxication/*Distribution of poisoning cases according to place and circumstance*

	%
Lieu de l'intoxication	
Domicile	45 (37.2)
Hors domicile	
Lieu de travail	2 (1.7)
Lieu public	57 (47.1)
Autre	17 (14.0)
Circonstances	
Intoxication accidentelles	162 (73.6)
Intoxication volontaires	49 (22.3)
Intoxication indéterminées	9 (4.1)

Volontaire :

Il est possible que l'intoxication soit causée par une utilisation abusive du chardon à glu dans un but thérapeutique, en raison de ses propriétés antipyrétiques, diurétiques, abortives, purgatives et émétiques (Hami, 2011) (Axel et al, 2001).

14. Symptomatologie :

Le tableau clinique varie selon la dose consommée ; si elle est faible, l'issue peut être positive, ce qui est le cas dans les formes dites bénignes ou digestives, car la symptomatologie est principalement caractérisée par des problèmes digestifs .La dose est excessive, ce qui signifie que le traitement symptomatique ne pourra pas rétablir les grandes fonctions organiques atteinte (**Hammiche, 2013**).

-Dans les formes bénignes digestives :

Elles se manifestent par des diarrhées, des vomissements, des douleurs et un ballonnement abdominal.

Son pronostic est favorable et la guérison est obtenue sans séquelles (**Mouaffak et al, 2013**).

-Dans les formes graves :

14.1 Phase Latence :

Les symptômes ne commencent qu'entre 8 et 12 heures et durent jusqu'à 36 heures, après avoir ingéré. Dès l'apparition des symptômes, toute tentative de supprimer le toxique demeure inefficace performant (**Vivek et al, 2012**) (**Dupont et al, 2015**).

14.2 Phase bénigne-digestive :

Troubles gastro-hépatiques : Ces symptômes se manifestent par des nausées et des vomissements (bilieux, hémorragiques).La sensation d'âcreté persiste dans la bouche et l'arrière-bouche. Les selles présentent une diarrhée et sont noirâtres. Les examens histopathologiques ont révélé une hépatite fulminante accompagnée d'une nécrose hépatocellulaire majeur.

Troubles neurologiques : Ils présentent déjà un pronostic préoccupant, pouvant aller jusqu'au coma accompagné de contractures, de rigidité de la décision, de trismus, de collapsus, d'encombrement, d'hypersalivation avec apnée au stade final.

Troubles hématologiques: Ils comportent purpura et hémorragies (digestives, bronchiques, pulmonaires et urinaire).

Troubles neuro-végétatifs: On les observe fréquemment, ils sont représentés par l'hypotherm. Les situations les plus sévères sont accompagnées de problèmes respiratoires, cardiovasculaires et

hépatorénaux. En général, un coma profond se manifeste et la mort survient le plus souvent lors d'une crise de tétaniforme (Ahid *et al*, 2012).

14.3 Phase mortelle :

Identifier par :

- Une lésion neurologique qui se manifeste par une augmentation du réflexe ostéo-tendineux, une somnolence, une mydriase bilatérale, des convulsions et une hypertoniemusculaire (Capdevielle *et al*, 1980) (Bhoola, 1983) (Catanzano *et al*, 1969).
- Des troubles thermiques avec une hypothermie initiale suivie d'un état fébrile (Lemaigre *et al*, 1975).
- Des troubles respiratoires accompagnés d'une dyspnée variable qui se manifeste progressivement suite à l'encombrement des bronchique (Karimine, 1986).
- Les troubles cardiovasculaires se manifestent par une accélération du pouls, une irrégularité tensionnelle qui se traduit, en phase terminale, par une hypotension et un collapsus (Catanzano *et al*, 1969) (Lemaigre *et al*, 1975).
- Des troubles hématologiques avec hémorragie digestive et rénale (Caravaca-Magarinos, 1985).
- Une insuffisance rénale légère qui se transforme en lésions entraînant une altération des paramètres biologiques, entraînant ainsi une oligurie ou une anurie (Capdevielle *et al*, 1980) (Nogue *et al*, 1992).
- Il est possible d'observer une insuffisance hépatocellulaire qui peut survenir en moins de 24 heures, un ictère cutanéomuqueux avec une augmentation des enzymes hépatiques, de la bilirubine sérique et de l'ammoniaque, ainsi qu'une cholestase intra hépatique (Bhoola, 1983) (Antonia *et al*, 2017) (Jian *et al*, 2008).
- La mort peut survenir à la suite d'une grave atteinte hépatique où le malade sombre dans un coma profond (Bouzidi *et al*, 2002) (Felix *et al*, 2005).

14.4 Aspect biologique:

Le bilan biologique montre une variation :

- De la glycémie : (hyperglycémie suivie d'une hypoglycémie) (Hammiche, 2013)
- Hématologique : avec un taux de prothrombine bas entre 70 à80%

- Hépatique : avec des taux de transaminases et phosphatase alcaline très élevées.

- Rénale (urée et créatinine élevées)

- Acidose métabolique (**Stephanie et al, 2012**) et hyponatrémie sévère (**Vanessa et al, 1999**)

Ces perturbations biologiques mettent en évidence un syndrome hépatocellulaire et rénal aigu accompagné d'anurie et d'insuffisance rénale terminale (**Bhoola, 1983**) (**Nogue et al, 1992**)

Ces variations sont suivies par une altération de l'état général et, enfin, un coma et la mort, 4 à 5 jours, après l'ingestion (**SANTI, 1958**) (**Miki, et al, 1982**).

15. Traitement :

Actuellement, il n'y a pas de traitement spécifique pour l'intoxication par *Carlina gummifera*, il est essentiellement symptomatique et évacuateur.

15.1 Traitement évacuateur :

Il est essentiel de procéder à l'évacuation digestive dès que possible, en utilisant le lavage gastrique, les vomissements provoqués, l'administration de charbon activé et/ou l'accélération du transit.

15.2 Traitement symptomatique :

Le traitement symptomatique à instaurer toujours en priorité, comporte :

-La perfusion de solution de glucose à 5 ou 10%.

-L'apport de facteurs de coagulation et une administration des drogues vaso-actives en cas de besoin

-Le contrôle des troubles respiratoires;

-Le maintien d'une diurèse supérieure à la normale (**Ahid et al, 2012**).

15.3 Traitement antidotal :

Les études s'orientent vers l'immunothérapie afin de générer des fragments d'anticorps antitoxines capables d'agir sur les substances toxiques (**Hamliche, 2013**).

En absence de données probantes, l'administration de la N-acétylcystéine pourrait être envisagée.

La transplantation hépatique, reste le traitement ultime en cas de facteur de pronostic Défavorable (Mouaffak *et al*, 2013).

Deuxième partie :
Partie expérimentale



1. Matériels et méthodes :

1.1 Matériel végétal :

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein de laboratoire de recherche au niveau de l'Université de Tlemcen Abou Bakr Belkaid. Pour étudier la toxicité de La plante *Carlina gummifera*

La plante étudiée (*Carlina gummifera*) a été récoltée en mois de février 2024 dans la région des montagnes de BENI MESTER.



Figure 17 : Région de la récolte Beni Mester –TLEMEN

Les deux parties (la croûtes et la pulpe du rhizome)de *Carlina gummifera* ont été bien nettoyés, lavées avec de l'eau du robinet puis séchés à lumière du soleil pendant une semaine, puis séchés dans une étuve à 30°C pendant 24h après été broyées manuellement jusqu'à l'obtention d'une poudre végétale ainsi récupérées sont par la suite soumises à des extractions par des solvants de polarités différentes.

1.2 Préparation de l'extrait de la plantes :



Figure 18: Préparation de l'extrait

L'extraction a été effectuée par macération en utilisant successivement trois solvants de polarité croissante hexane, dichlorométhane et en fin dans un mélange de trois solvants (méthanol- acétone – eau)(70/20/10) V/V/V selon la méthode décrit par (**Chaouche et al ,2016**) L'extraction dure 24 heures pour chaque solvant, et la quantité de solvant doit être appropriée à la quantité de matière végétale dont on dispose. Après le passage de chaque solvant on a obtenu deux extrait sont filtrés puis évaporées à l'aide d'un évaporateur rotatif à la température appliquée à leur évaporation, et maintenus à sec pour les analyse ultérieures.



Figure 19 : Extrait de la croute



Figure 20 : Extrait de la pulpe

1.3 Rendement de l'extrait brut :

On a déterminé le rendement des plantes en extrait sec en calculant le rapport suivant :
(**Chouache et al,2016**)

Rendement (%) = $[P1 - P2 / P3] \times 100$

P1 : poids du ballon après évaporation.

P2 : poids du ballon vide avant évaporation.

P3 : poids de la matière végétale sèche de départ.

2. Evaluation de l'activité anti hémolytique in vitro :

Principe : Le principe de cette méthode est basé sur la capacité des extraits de la plante à empêcher l'hémolyse des GRh, induite par l'hypotonie et la chaleur et donc prévenir la libération de l'hémoglobine. Ce test a été réalisé selon la méthode décrite par d'autres auteurs (**Sadique J, 1986**), (**Oyedapo et al, 2010**).

Mode opératoire :

La suspension érythrocytaire a été préparée suivant les étapes décrites par (**sarandha, 2013**)

- Du sang fraîchement prélevé à l'aide d'une seringue graduée a été mis dans des tubes (EDTA) ensuite centrifugé à 3000 trs /min pendant 10 min pour séparer les globules rouges des autres éléments constitutifs du sang.

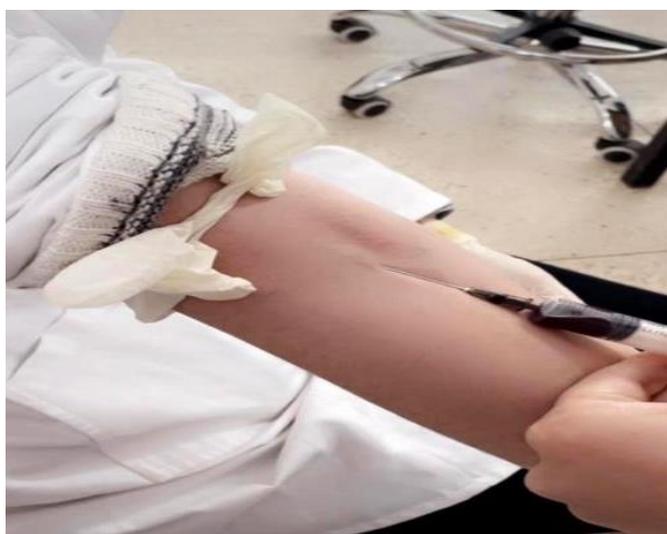


Figure 21 : Prélèvement sanguin dans
laboratoire de recherche



Figure 22 : Le sang dans le tube d'EDTA

- Après élimination du surnageant, le culot a été récupéré et lavé 3 fois avec une solution d'eau physiologique (NaCL) à 0,9% à température ambiante.



Figure 23 : Lavage de sang par l'eau physiologie

- Chaque lavage consiste en une centrifugation à 3000 trs /min pendant 10 min et une suspension du culot dans l'eau physiologique à 0,9%.



Figure 24 : Centrifugeuse de laboratoire de recherches

- Après la dernière centrifugation, le culot est resuspendu à nouveau dans une solution constituée de tampon phosphate salé (PBS) à 0,2M, pH= 7,4 pour obtenir une suspension à 4%.



Figure 25 : Préparation de suspension 4%

Différentes concentrations de l'extrait (150-500-1000-3500 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ont été solubilisées dans le PBS.

- Le réalisé selon la méthode de **(Nabavi et al, 2012)**.
- Mettre dans des tubes 1mL de l'extrait à différentes concentrations (150-500-1000-3500 $\mu\text{g}/\text{mL}$) de solution saline tamponnée avec 2mL de suspension érythrocytaire (4%) puisajouter 2mL de tampon phosphate.
- Incuber les tubes pendant 5min à la température ambiante.
- Ajouter 0,5 mL de H_2O_2 .
- Test permettant de rechercher un effet anti hémolytique des extraits étudiés a été dans un autre ensemble, la quercétine (150-500-1000-3500 $\mu\text{g}/\text{mL}$) a été prise comme composé de référenceet traitée de la même manière.



Figure 26 : L'ajoute de H₂O₂

- Centrifuger les tubes à 3000 trs /min pendant 10 min.
- Récupérer le surnageant.
- Lire l'absorbance du surnageant de chaque tube à 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Pour obtenir une hémolyse à 100% on a ajouté 2 mL d'H₂O distillé à 2 mL de suspension de RBC.
- L'hémolyse relative a été calculée en comparaison avec l'hémolyse du témoin qui a été pris comme 100%.



Figure 27 : L'évaluation de l'activité anti hémolytique

L'évaluation de l'activité anti hémolytique a été réalisée par mesure du pourcentage d'hémolyse et par observation sous microscope (Okoko *et al*, 2012).

-Expression des résultats :

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse a été calculé selon la formule suivante (Rajeshwari *et al*, 2012).

Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse (%) = $(\text{Abs contrôle} - \text{Abs extrait} / \text{Abs contrôle}) \times 100$

Ou : Abs contrôle : Absorbance du contrôle négatif. Abs extrait : Absorbance d'extrait.

3. Evaluation de l'activité anti inflammatoire in vitro :

3.1 Méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines :

L'activité anti inflammatoire in vitro des extraits brut de propolis a été effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines (Kar, 2012) .La méthode consiste a préparé quatre solution :

1-La solution d'essai : (0,5 mL) composé de 0,45 mL de la solution aqueuse de sérum bovine albumine (BSA) 0,5% w/v et 0,05 mL des différents extraits de la plante avec des concentrations varié (150-500-1000-3500 $\mu\text{g/mL}$).

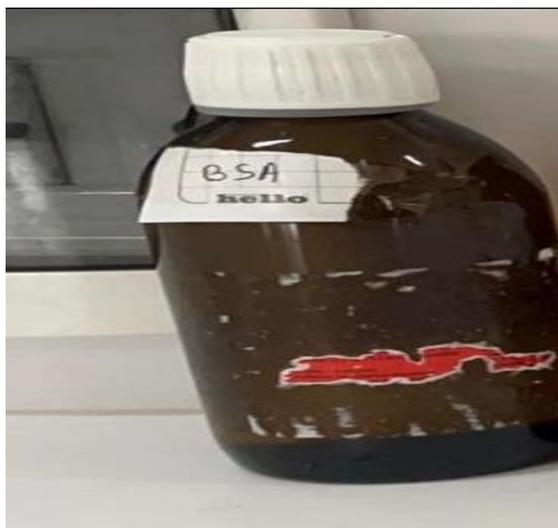


Figure 28 : Flacon de la solution aqueuse de sérum bovine albumine (BSA) 0,5%

2 - La solution control test :(0,5 mL) composé de 0,45 mL de la solution aqueuse de BSA 0,5% w/v et 0,05 mL d'eau distillé.

3- La solution contrôle produit : (0,5 mL) composé de 0,45 mL d'eau distillé et 0,05 mL

Des différents extraits de la plante avec des concentrations variées (150-500-1000-3500 μ g/mL).

4-La solution standard test : (0,5 mL) composé de 0,45 mL de la solution aqueuse de BSA 0,5% w/v et 0,05 mL de la solution standard Diclofénac avec des concentrations varié (150-500-1000-3500 μ g/mL).

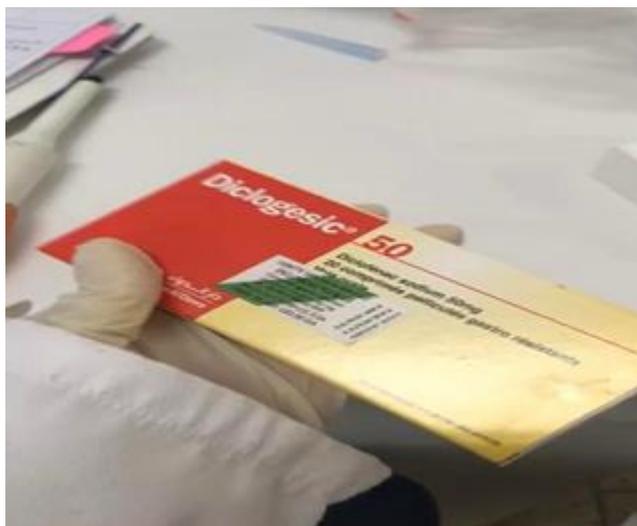


Figure 29 : Le standard test (Diclofénac)



Figure 30 : Préparation de la solution standard test

5-Les échantillons ont été incubées à 37 °C pendant 20 min, ensuite la température était augmentée jusqu'à 57°C pendant 3 min. après refroidissement des tubes, 2,5 mL de la solution phosphate buffer saline (pH 6,3) a été ajoutée aux solutions (Kar, 2012).

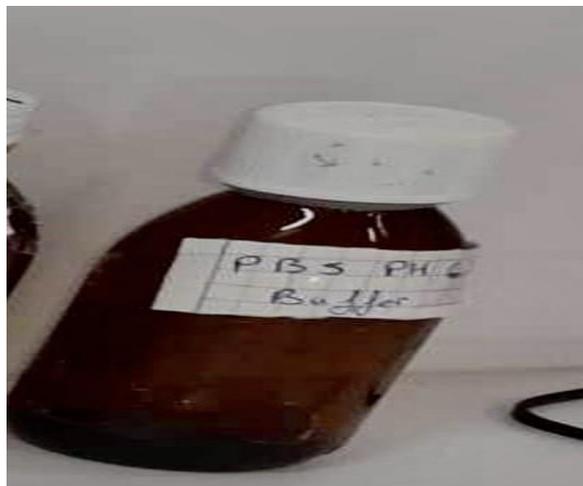


Figure 31 : Flacon de solution phosphate buffer saline pH : 6.3

6-L'absorbance a été lue par spectrophotomètre UV-visible à 255 nm et le pourcentage D'inhibition de la dénaturation des protéines été calculée comme suit:



Figure 32 : Lecteur de plaque ELISA

Pourcentage d'inhibition = $[100 - (\text{DO de la solution d'essai} - \text{DO de contrôles des produits}) / \text{DO de test contrôle}] \times 100$.

Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées.

4. Test MTT (viabilité cellulaire) :

Principe : La technique du MTT [3-(4,5dimethylthiazol-2-yl) 2,5-diphenyl tetrazolium bromide] est une méthode colorimétrique appliquée pour la quantification de la viabilité cellulaire (Carmichael *et al*, 1987) (Mosmann, 1983) elle consiste à mesurer l'activité de la succinate déshydrogénase mitochondriale des cellules vivantes actives, qui réduit les sels de tetrazolium présents dans le MTT en cristaux de formazon.

Mode opératoire : On prépare ce test dans un milieu sous haute bien stérilisé pour éviter la contamination.

- Prélevé du sang dans un tube EDTA.

-Mettre 1 volume (500 μ L) du ficoll et ajouter 2 volumes de sang (100 μ L) avec le contact du ficoll

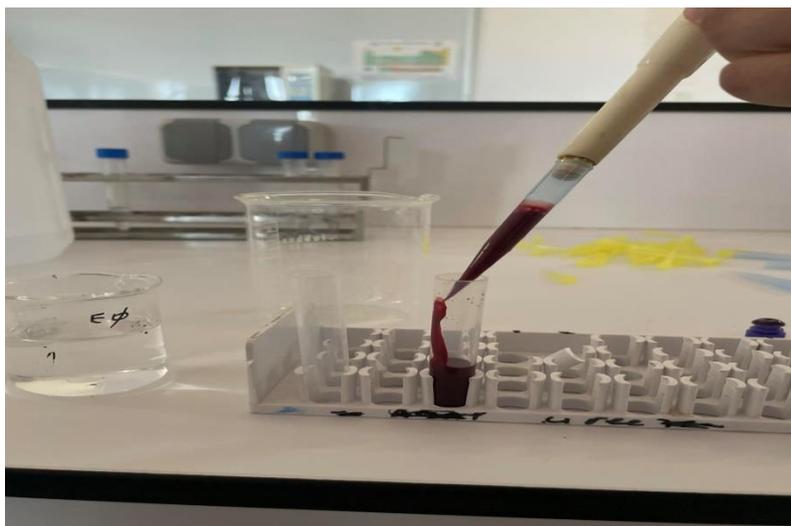


Figure 33 : Le contact du sang avec le ficoll

-Mettre le tube dans la centrifugeuse à 1200/g pendant 50min.

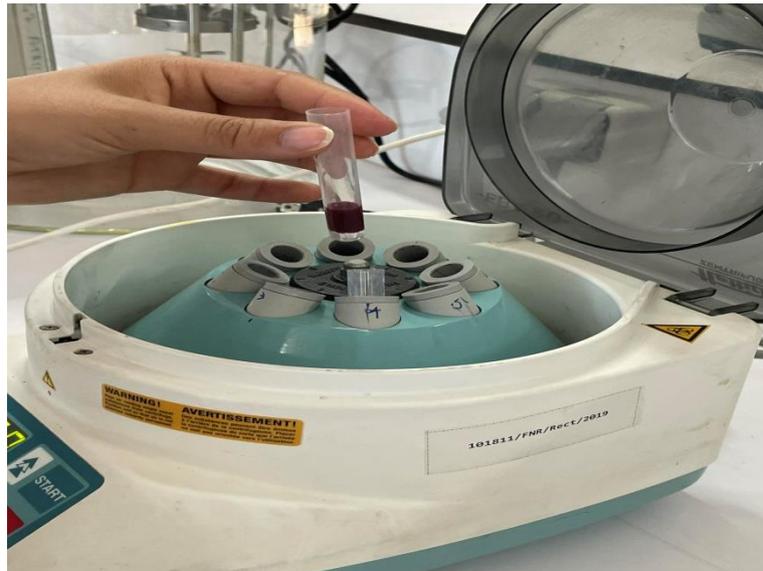


Figure 34 : Le tube dans la centrifugeuse

-Après 50min, obtenir le tube qui contient les phases :

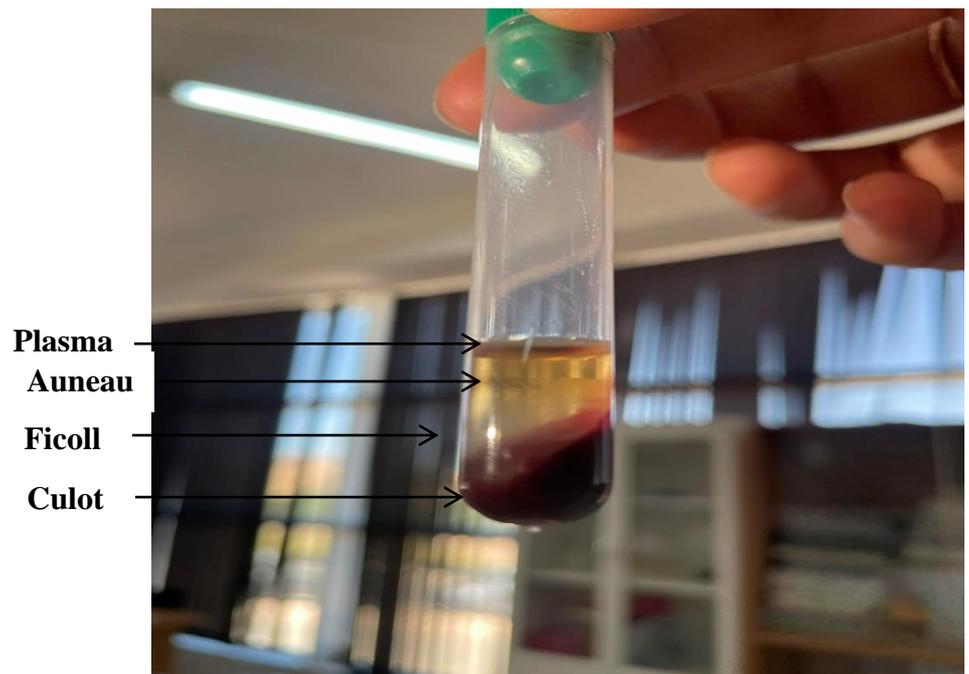


Figure 35 : Les phases de sang

- l'Auneau a été récupéré et lavé 2 fois avec une solution d'eau physiologique, chaque lavage consiste en une centrifugation à 6000 trs /min pendant 5 min.

- Après la dernière centrifugation, éliminer le surnageant et ajouter le RPMI (+antibiotique) à l'Auneau.



Figure 36 : Préparation du RPMI

-Puis ajouter le bleu de trypan sur la plaque de Malassez.



Figure 37 : Solution de bleu de trypan



Figure 38 : Plaque de malassez

-Observer sur microscope :



Figure 39 : L'observation sur microscope

Numération cellulaire : nombre (4rectangle \times 100 \times 10^s cellule/ μ L)

-Dans une plaque d'ELIZA : ajouter 100mL de la solution RPMI +l'Auneau dans chaque puits de la plaque.

-Diluer l'extrait dans RPMI +antibiotique.

Matériels et méthodes

-Obtenir des concentrations, mettre 100 μ L de RPMI+ l'Auneau dans toute la plaque et ajouter 100 μ L de l'extrait.

-L'incubation à 48h



Figure 40 : L'incubateur du laboratoire de recherches

-Après l'incubation, prendre 100 μ L de mélangr (l'extrait +RPMI+l'auneau) dans une nouvelle plaque.

-Ajouter 100mL de MTT puis l'incubation dans les tuves T 37°C pendant 2h.

-Ajouter 50mL de MTT trypan ensuite, l'incubation pendant 30min.

-La lecture dans l'appareil de lecture ELIZA à 570nm.

Résultats et discussion:



Résultats et interprétation

1. Les rendements des extraits :

Suite à une extraction à polarité croissante (hexane, dichlorométhane et méthanol/ acétone/ eau) sous reflux, réalisée sur deux parties du rhizome de *Carlina gummifera* : la pulpe et la croûte. On a obtenu les résultats représentés dans le tableau 4.

Tableau 4 : rendement des extraits

Les extraits	La croûte	La pulpe
Rendement	11%	9%

Les résultats montrent que la croûte a un rendement plus élevée (11%) que celui de la pulpe (9%).

2. Test anti hémolytique :

L'effet anti hémolytique d'extraits de *Carlina gummifera* est évalué in vitro par l'utilisation du modèle érythrocytaire qui est facile à isoler à partir du sang et que sa membrane présente une similitude avec d'autres membranes cellulaires. Les résultats obtenus sont présentés selon les graphes suivants :

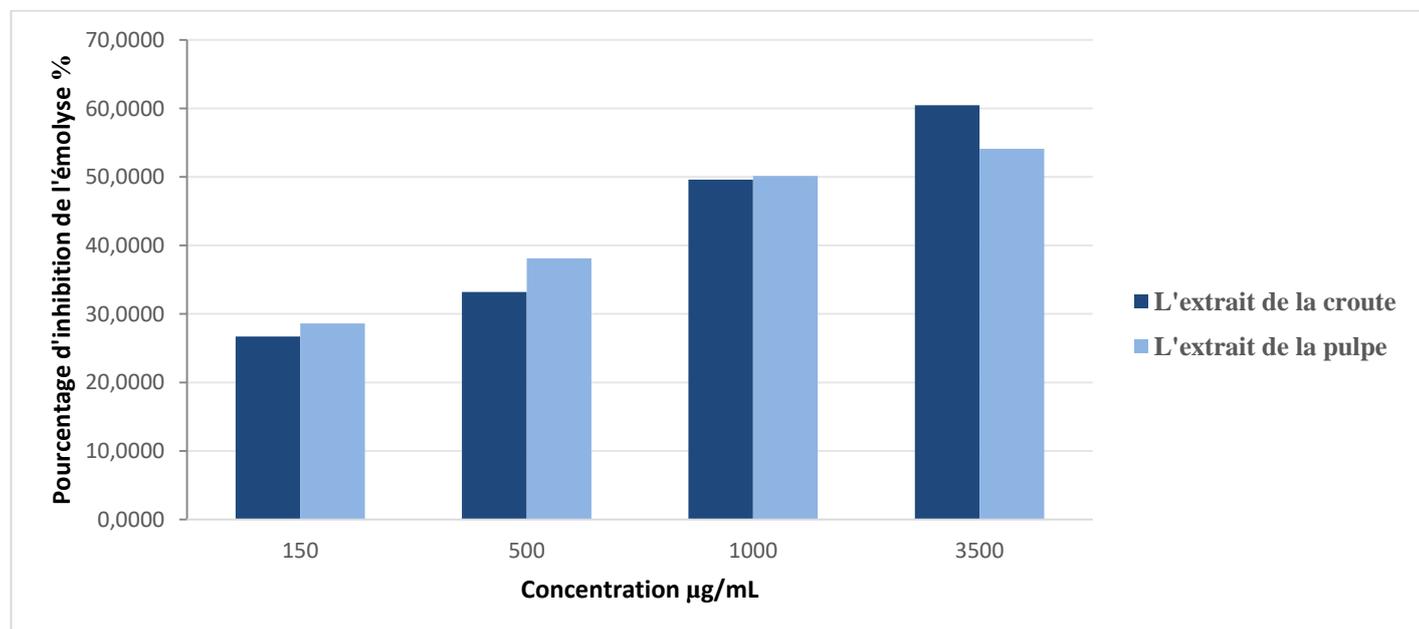


Figure 41 : Effet des différentes concentrations des deux extraits de la plante sur le taux d'hémolyse

La figure 41 montre le pourcentage d'inhibition d'hémolyse par rapport à différentes concentrations des deux extraits de la plante. On observe que le pourcentage de l'hémolyse augmente proportionnellement avec l'augmentation des concentrations des deux extraits. Mais de manière plus sévère avec l'extrait de la croûte.

Résultats et interprétation

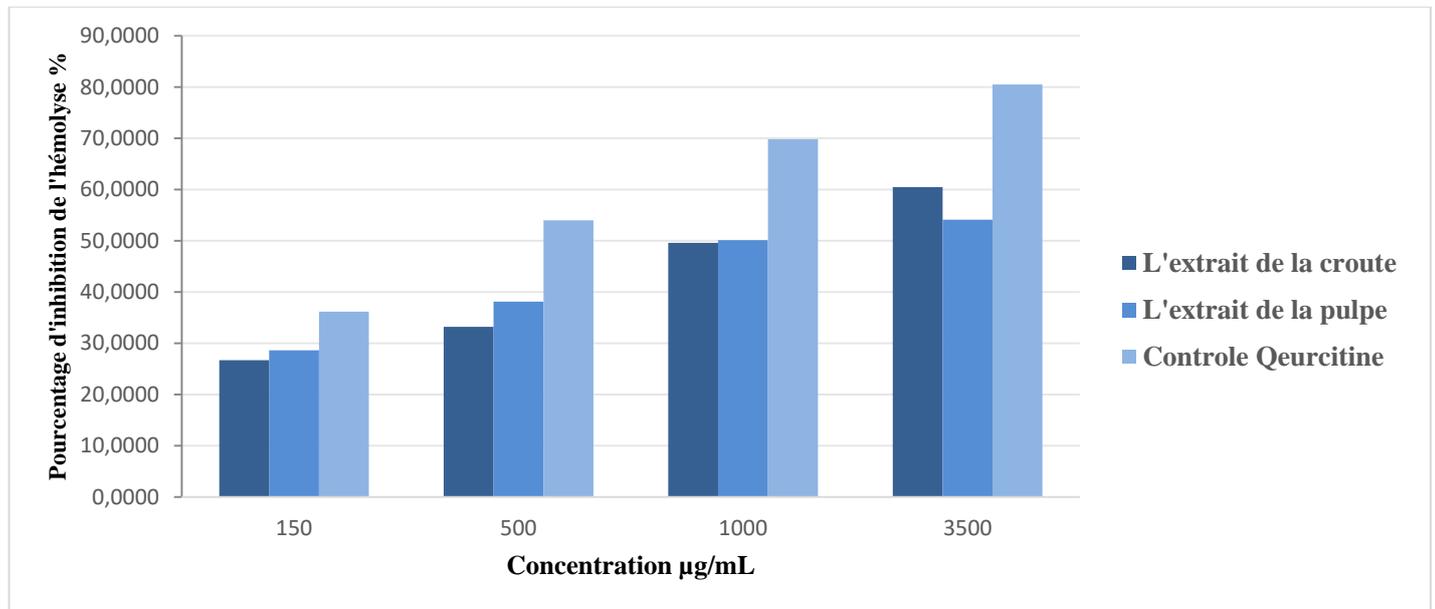


Figure 42: Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse de Qeurticine et les deux extraits

La figure 42 montre la molécule de référence Qeurticine comparé aux échantillons qui sont la croute et la pulpe. D'après le graphe on observe que les deux extraits présentent également une activité anti hémolytique intéressante, mais leur activité est inférieure à celle de la Qeurticine pure. L'analyse statistique test ANOVA (AV1) pour le test antihémolytique montre qu'il y a différence très hautement significative en fonction des deux extraits pour tous les concentrations ($p < 0.001$).

3. Test anti-inflammatoire :

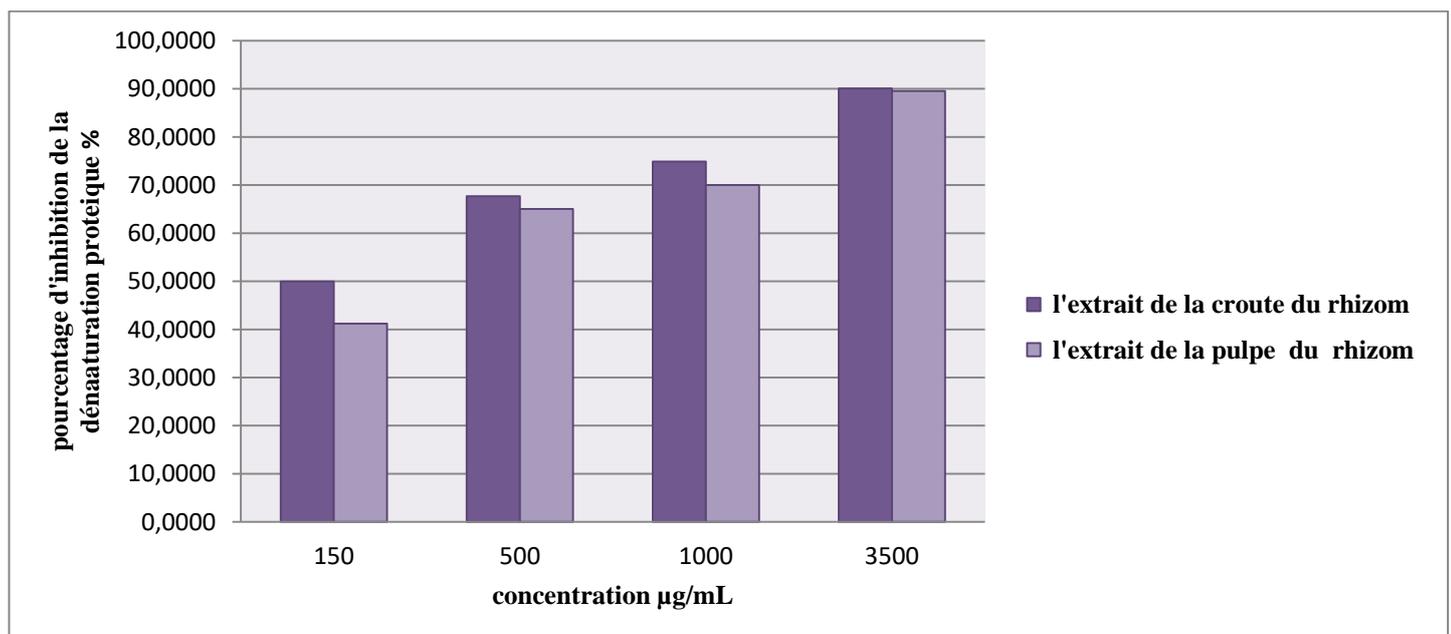


Figure 43: Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique pour les deux extraits la croute et la pulpe du rhizome

Résultats et interprétation

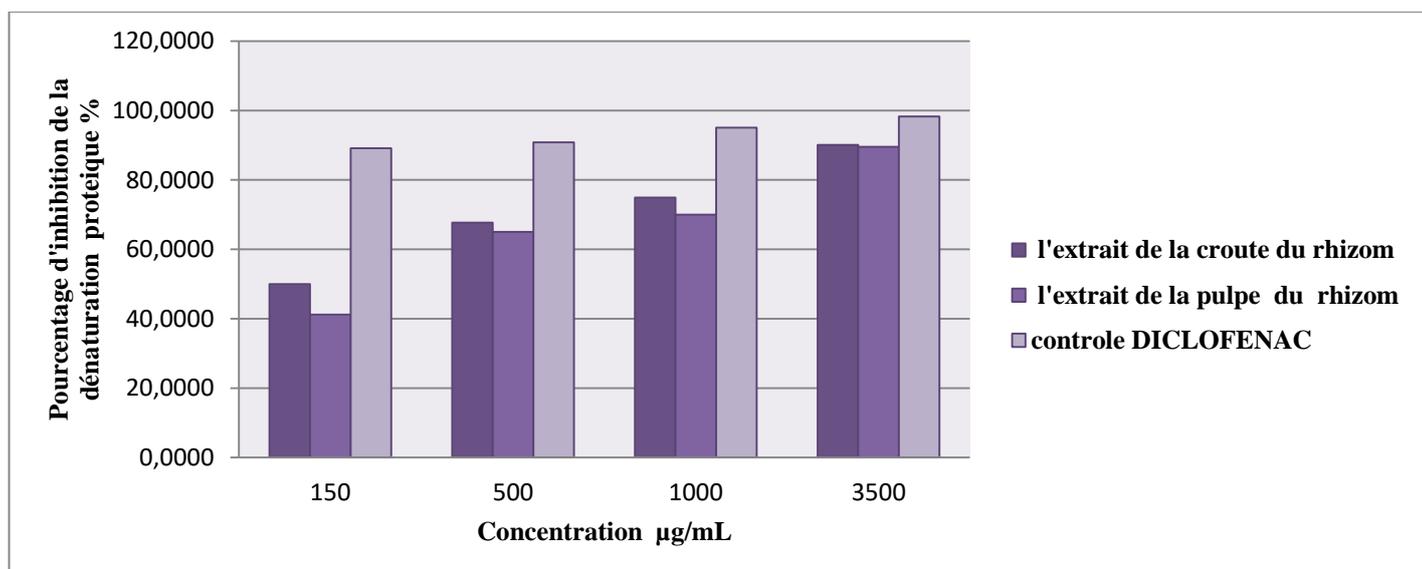


Figure 44: Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique de diclofénac et les deux extraits la croute et la pulpe du rhizome

La figure 44 comporte les différentes concentrations du deux extraits la croute et la pulpe en comparaison avec le dichlofénac vis-à-vis de l'inhibition de la dénaturation protéique. on observe que l'effet inhibiteur de l'extrait de la croute est comparable à celui du contrôle de Diclofenac donc il a une activité anti-inflammatoire plus importante que l'extrait de la pulpe. L'analyse statistique test ANOVA (AV1) pour le test anti-inflammatoire montre qu'il y a différence très hautement significative en fonction des deux extraits pour tous les concentrations ($p < 0.001$).

Résultats et interprétation

4. Test MTT (viabilité cellulaire) :

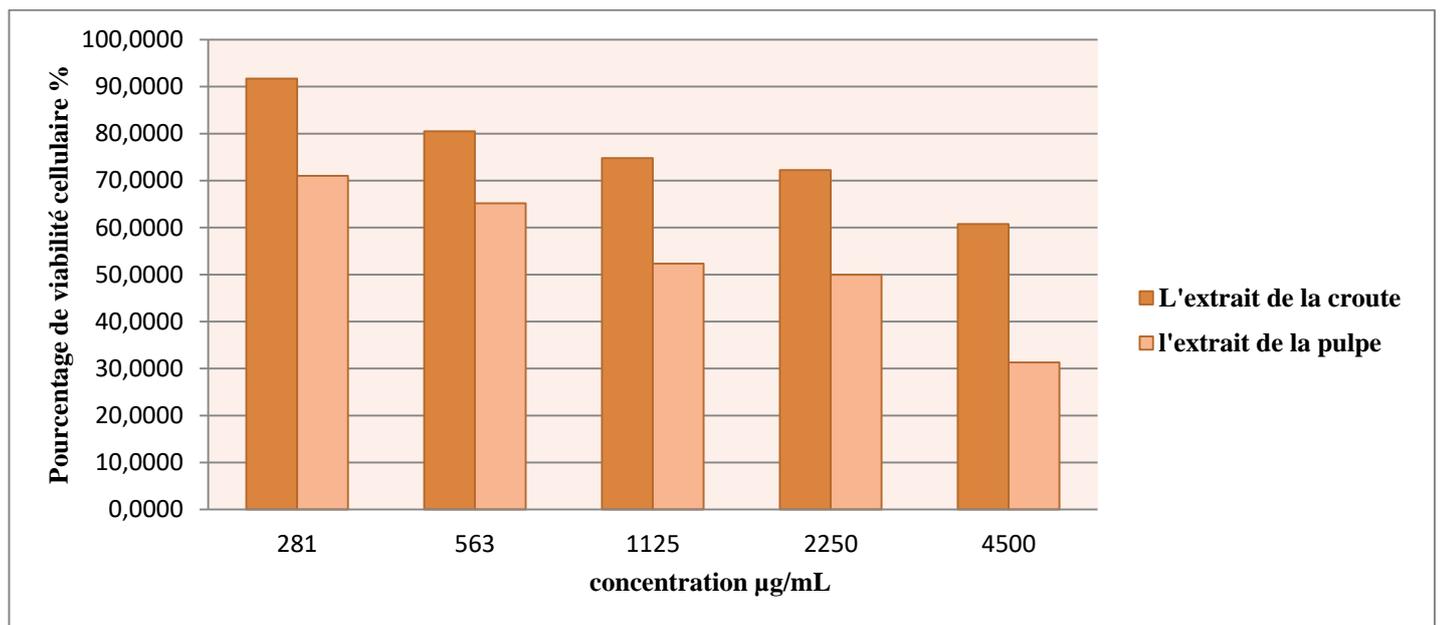


Figure 45: Pourcentage de viabilité cellulaire entre les deux extraits

On observe que le pourcentage diminue avec l'augmentation des concentrations des deux extraits. Les extraits montrent qu'ils ont des effets différents sur les cellules. L'extrait de la croute induit une augmentation de la viabilité cellulaire, tandis que l'extrait de la pulpe n'a pas d'effet significatif sur ce paramètre.

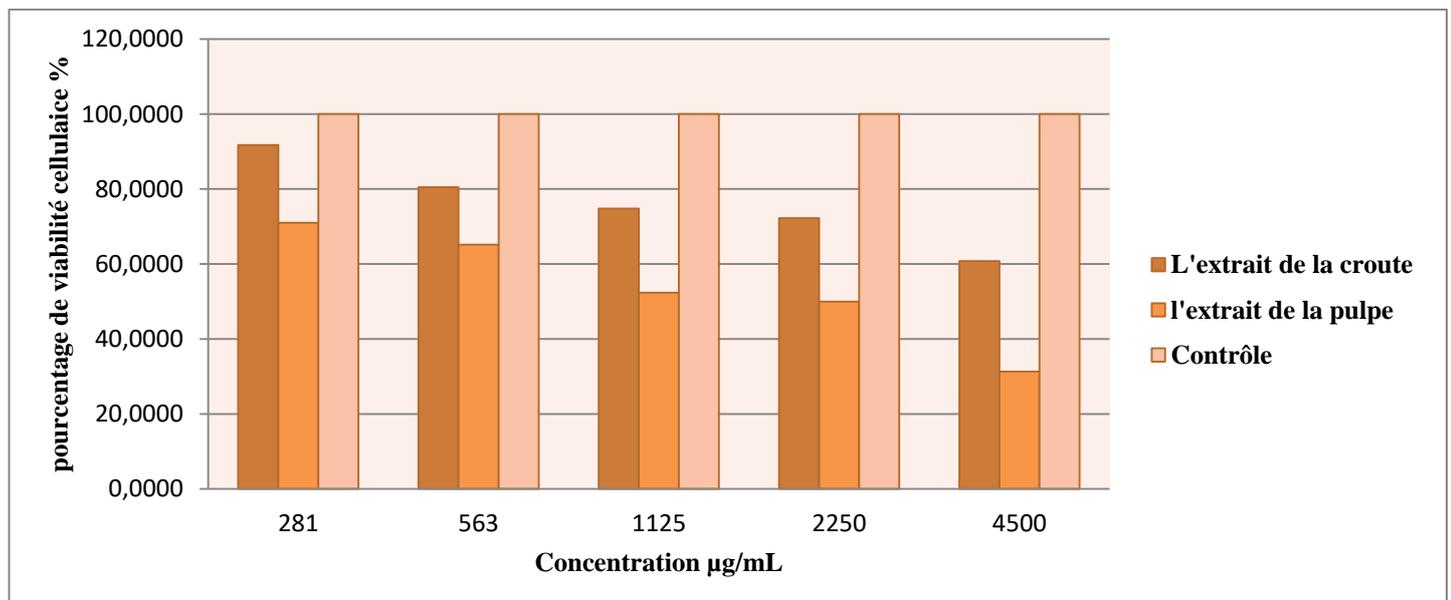


Figure 46: Pourcentage de viabilité cellulaire de contrôle et les deux extraits la croute et la pulpe du rhizome

Résultats et interprétation

La figure 46 montre que le contrôle présente un pourcentage de viabilité cellulaire plus élevé que les deux extraits à toutes les concentrations. L'extrait de la croute présente un pourcentage plus élevé que l'extrait de la pulpe

Les résultats suggèrent que le contrôle présente un environnement plus favorable à la survie des cellules que les extraits. L'extrait de la croute semble avoir un effet moins nocif sur les cellules que l'extrait de la pulpe.

L'analyse statistique test ANOVA (AV1) pour le test MTT montre qu'il y a une différence très hautement significative en fonction de l'extrait de la pulpe pour toutes les concentrations ($p < 0.001$) et il y a une différence significative en fonction de l'extrait de la croute pour les concentrations 1125 et 2250 ($p > 0.05$) et une différence très hautement significative pour les concentrations 281, 563, 4500 ($p < 0.001$).

Discussion

Les plantes médicinales jouent un rôle crucial dans la recherche pharmacologique et la création de médicaments, non seulement lorsqu'elles sont utilisées directement comme agents thérapeutiques, mais aussi lorsqu'elles sont utilisées comme matières premières pour la fabrication de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmaco-logiquement actifs (**Ameenah, 2006**).

Dans la société algérienne, la phytothérapie est largement répandue et de nombreuses plantes et leurs extraits sont utilisés dans la thérapeutique traditionnelle, tant pour les maladies bénignes que pour les maladies incurables (**Hamel, 2018**).

Notre travail de master porte sur les activités biologiques et la cytotoxicité de deux extraits méthanolique de la plante *Carlina gummifera*.

L'extraction est une étape qui joue un rôle crucial dans l'isolement et la récupération des composés d'intérêt, elle est influencée par plusieurs facteurs notamment la méthode utilisée et la présence de substances interférentes (**Pacôme Serge et al,2018**)

Parmi les techniques d'extraction on a choisi l'extraction par macération en utilisant successivement trois solvants de polarité croissante : hexane, dichlorométhane et enfin dans un mélange de trois solvants (méthanol- acétone – eau) (70/20/10) V/V/V. Ce type d'extraction a été utilisé pour obtenir les polyphénols par le solvant polaire : le méthanol. L'élimination des composés les moins polaires a eu lieu à travers l'hexane et le dichlorométhane (**chaouch et al,2016**). Ces résultats démontrent que ce type d'extraction est une technique plus efficace pour extraire les composés d'intérêt du *Carlina gummifera*.

Après avoir comparé les rendements de nos deux extraits méthanolique : l'extrait de la croute et l'extrait de la pulpe avec celui des extraits méthanolique de tout le rhizome (la croute et la pulpe) (**Bouabid et al, 2020**) nous avons constaté que :

- Notre approche d'extraction méthanolique a permis d'obtenir un rendement de 11% pour la croute et de 9% pour la pulpe, par rapport à 15% pour les extraits méthanolique de tout le rhizome .Néanmoins, l'extraction aqueuse a donné de meilleurs résultats : 24,5% par macération.

L'étude de l'activité anti-hémolytique in vitro, a été réalisée, en utilisant une méthode basé sur la capacité des extraits de la plante à empêcher l'hémolyse des GRh, induite par l'hypotonie et la chaleur et donc prévenir la libération de l'hémoglobine. La mesure de la libération d'hémoglobine est ensuite réalisée à 560 nm pour les différentes concentrations des deux extraits la croute et la pulpe de rhizome du *Carlina gummifera* en les comparant à une molécule de référence qui est le Queurcitine. Comme l'hypotonie, les températures élevées, changent la morphologie des érythrocytes les rendant ainsi vulnérables à l'hémolyse en perturbant leurs membranes plasmiques (**Shinde et al, 1999**).

Très peu de travaux ont été réalisés sur l'étude des activités antihémolytique et anti- inflammatoire de la plante choisie.

Nos résultats ont montré que l'extrait de la croute de rhizome de *Carlina gummifera* a présenté un pourcentage d'inhibition d'hémolyse de 60% et donc était supérieur à celui de la pulpe (54%). Ces pourcentages étaient tout de même inférieurs à la Queurcitine qui était de 80%.

Après avoir comparé les pourcentages d'inhibition d'hémolyse de nos deux extraits méthanolique de rhizome de *Carlina gummifera* avec ceux des extraits mehanolique de quatres plantes sahariennes (*Cymbopogon schoenanthu*, *Panicum turgidum*, *Pituranthos scoparius* et *Asteriscus graveolens*) (**chaouche et al, 2016**), on a remarqué que :

- Les deux extrais de deux plantes *Cymbopogon schoenanthus* et *Panicum Turgidum* peuvent étaient légèrement hémolytiques à des concentrations élevées 50mg/mL après une heure de contact avec les érythrocytes humains.
- Contrairement les autres extraits *Pituranthos scoparius* et *Asteriscus graveolens* présentaient un effet hémolytique très faible face aux érythrocytes isolés, avec un taux d'hémolyse qui ne dépasse pas les 8 %.

Aussi d'autre comparaison de pourcentages d'inhibition d'hémolyse de nos deux extraits méthanolique de rhizome de *Carlina gummifera* avec extraits méthanolique de feuilles et de graines de coriandre (**Rajeshwari et al,2012**), on a remarqué que:

- les extraits méthanoliques des feuilles et des graines de coriandre possédaient une activité antihémolytique significative, en particulier les fractions aqueuses.
- La fraction aqueuse des feuilles de coriandre a présenté la plus forte activité antihémolytique, suivie de la fraction aqueuse des graines de coriandre.

Après avoir comparé nos résultats avec ceux de (**chaouche et al, 2016**) et de (**Rajeshwari et al,2012**), nous avons observé presque une similitude.

L'étude de l'activité anti-inflammatoire in vitro effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des proteines présentent des pourcentages d'inhibition de deux extraits méthanolique du *Carlina gummifera*. L'inflammation est un moyen de défense naturelle des organismes supérieurs contre toute agression extérieure (infection, blessure (agression mécanique...)) Elle a pour rôle essentiel l'élimination de l'agent pathogène et la réparation du tissu lésé. Les inflammations aiguës peuvent se guérir de manière spontanée ou avec un traitement en faisant appel aux anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) et non stéroïdiens. Ces molécules bien qu'étant efficaces sont associées à des effets iatrogènes tels des dommages digestifs (ulcères gastroduodénaux, sténose, perforation) et des toxicités rénales (insuffisance rénale aiguë, rétention hydrosodée) (**Sawadogo, 2015**).

Parmi les AINS bien connus, le d clocf nac présente des effets anti-inflammatoires, analgésiques, anti-thrombotiques et antipyrétiques. Les principaux constituants de la membrane sont les phospholipides, et les interactions entre les AINS et les phospholipides peuvent modifier les propriétés physico-chimiques des membranes. La présence des AINS dans la région polaire altère les caractéristiques électrostatiques des phospholipides, ce qui affecte la composition de la bicouche lipidique (**Moreno et al, 2009**).

Nos résultats montrent que le Diclofenac se distingue par son efficacité remarquable en tant qu'inhibiteur de la dénaturation protéique, avec un taux d'inhibition approchant les 100%.

De son côté, les deux extraits la croute et la pulpe du rhizome de *Carlina gummifera* présentaient un effet anti-dénaturant significatif, montrant une inhibition minimale de 41% pour l'extrait de la pulpe et 49% pour l'extrait de la croute et une inhibition maximale de 89% pour l'extrait de la pulpe et 90% pour l'extrait de la croute.

Après avoir comparé les pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines de nos deux extraits méthanolique de rhizome de *Carlina gummifera* avec ceux des extraits aqueux et organiques de *Ficus exasperata* (**MASENGO et al, 2023**), on a remarqué que :

- L'extrait de percolat des feuilles de *Ficus exasperata* avaient un effet protecteur contre la dénaturation des protéines sans signification se rapprochant de l'extrait de la pulpe de rhizome de *Carlina gummifera*. L'effet anti-dénaturant de tous ces extraits augmentaient avec la concentration. Cet effet restait toujours légèrement plus faible par rapport au Diclofenac.
- L'extrait de décocté des feuilles de *Ficus exasperata* avaient un effet plus protecteur puisque plus significatif contre la dénaturation des protéines se rapprochant de l'extrait de la croute de rhizome de *Carlina gummifera*.

Pour évaluer l'activité métabolique des cellules on a utilisé le test MTT (3-(4,5- dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diph nyltetrazolium bromide) est une méthode colorimétrique pour quantifier la viabilité cellulaire en mesurant l'activité de la succinate déshydrogénase mitochondriale dans les cellules vivantes actives. Cette enzyme réduit le MTT en cristaux de formazan.

Nos résultats pour les deux extraits méthanolique de rhizome de *Carlina gummifera* présentaient des propriétés cytotoxiques à des concentrations élevées (4500 g/mL) mais pouvait également stimuler la croissance cellulaire à faible concentration (281 g/mL).

Nos résultats ont montré que l'extrait de la croute de *Carlina gummifera* améliorait la viabilité cellulaire, ce qui pourrait indiquer une présence de composés bioactifs favorisant la protection cellulaire comme les composés phénoliques qui sont bien connus par leur propriétés biologiques. Ainsi, la présence de ces

composés en plus grande quantité au niveau de la croute pourrait donner des résultats plus significatifs de viabilité cellulaire par rapport à l'extrait de la pulpe.

Dans l'étude (**Werner Cordier, 2015**) qui a porté sur la cytotoxicité des fruits de *Solanuma culeastrum* , il a été démontré que les extraits aqueux étaient moins cytotoxiques que les extraits méthanolique pour les lignées cellulaires HeLa, MCF-7 et HT29. Les deux types d'extraits méthanolique (la croute de rhizome de *Carlina gummifera* et les fruits de *Solanuma culeastrum*) présentaient une activité cytotoxique dose-dépendante. L'importance de cette observation réside dans le fait que les deux extraits peuvent potentiellement être employés dans des applications qui requièrent une régulation de la protection cellulaire.

Conclusion

Et

Perspectives

L'étude des propriétés biologiques des extraits de rhizome de *Carlina gummifera* a révélé des résultats prometteurs concernant les effets anti-inflammatoires et anti-hémolytiques de cette plante. Les résultats obtenus montrent que les extraits de la croûte du rhizome présentent un rendement d'extraction plus élevé que la pulpe et une activité biologique plus prononcée.

L'extrait de la croûte a démontré une meilleure capacité anti-hémolytique par rapport à l'extrait de la pulpe, bien que tous deux soient moins efficaces que la quercétine, un agent de référence. En termes d'activité anti-inflammatoire, l'extrait de la croûte inhibe la dénaturation des protéines de manière comparable au diclofénac, surpassant l'extrait de la pulpe. De plus, les tests de viabilité cellulaire indiquent que l'extrait de la croûte améliore la viabilité cellulaire de manière dose-dépendante, tandis que l'extrait de la pulpe n'a pas d'effet significatif.

Ces résultats suggèrent que les extraits de la croûte du rhizome de *Carlina gummifera* pourraient être développés en tant qu'agents thérapeutiques potentiels pour leurs propriétés anti-hémolytiques et anti-inflammatoires. Cependant, des études complémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes d'action et évaluer les applications cliniques possibles de ces extraits.

Perspectives :

- Extraction et Analyse Chimique : Utiliser des techniques telles que la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) et la spectrométrie de masse (MS) pour identifier les composés bioactifs responsables des propriétés médicinales de *Carlina gummifera*.
- Études de Signalisation Cellulaire : Investiguer les voies de signalisation cellulaires et moléculaires impliquées dans l'activité anti-inflammatoire et anti-hémolytique de la plante
- Liaison Protéine-Composé : Identifier les cibles moléculaires spécifiques (protéines ou enzymes) des composés actifs à l'aide de techniques comme le criblage à haut débit ou la modélisation moléculaire.
- Études de Pharmacocinétique et de Pharmacodynamie : Évaluer comment les composés actifs sont absorbés, distribués, métabolisés et excrétés dans l'organisme, ainsi que leur interaction avec les cibles biologiques.
- Essais sur Modèles Animaux : Effectuer des essais sur des modèles animaux pour évaluer l'efficacité thérapeutique et la toxicité à court et long terme

- Cibles Thérapeutiques : Explorer l'utilisation de *Carlina gummifera* dans le traitement de conditions spécifiques telles que l'arthrite, les maladies inflammatoires chroniques, les troubles auto-immuns, et les anémies hémolytiques.

Synergie avec d'autres Traitements : Étudier les interactions potentielles et la synergie avec d'autres médicaments anti-inflammatoires et antioxydants.

- Études de Toxicité et de Sécurité à Long Terme : Évaluation de la Toxicité : Réaliser des études approfondies sur la toxicité aiguë et chronique de la plante et de ses composés isolés.

Études de Viabilité Cellulaire à Long Terme : Examiner les effets à long terme sur la viabilité cellulaire pour garantir la sécurité de l'utilisation prolongée.

-Production à Grande Échelle et Développement Durable.

- Méthodes de Culture : Développer des méthodes de culture durables pour la plante afin de garantir une production suffisante pour les besoins médicaux sans épuiser les ressources naturelles

- Développement de Produits : Créer une gamme de produits à base de *Carlina gummifera* pour le marché de la phytothérapie et des compléments alimentaires.

Référence bibliographique

A

Ahid S, A. E. (2012). *Atractylis gummifera* : de l'intoxication aux méthodes analytiques. *Annales de Biologie Clinique [En ligne]*.

Ameenah. (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. 1–93.

Amine Daoudi, M. B. (2016). Étude ethnobotanique de la flore médicinale dans la commune rurale d'Aguelmouss province de Khénifra (Maroc). 220–228.

Anne-Marie Debelmas, P. D. (1978). Dans *Guide des plantes dangereuses*. Paris.

Antonia Kotsiou, T. C. (2017). Hepatotoxicity of herbal medicinal products. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 80-88.

Antolovich Michael, P. D. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*.

Aumoraci A, O. D. (2015). Contribution à l'étude de quelques plantes et champignons toxiques [Mémoire]. *Tizi Ouzou: Université Mouloud Mammeri*.

Axel Ghestem, E. S. (2001). Le Préparateur en pharmacie, dossier 2 : Botanique - Pharmacognosie - Phytothérapie - Homéopathie. Dans *Le Préparateur en pharmacie, dossier 2 : Botanique - Pharmacognosie - Phytothérapie - Homéopathie*. Edition : Tec et Doc.

Ait youssef, Mohaned(2006). Plantes médicinales de Kabylie. Dans *Plantes médicinales de Kabylie*. Paris.

B

Bellakhdar, J. (1998). Dans J. Bellakhdar, *La pharmacopée marocaine traditionnelle*. Paris.

Belarbi.N, R. N. (2013). Intoxication par l'Atractylis gummifera-L au Maroc.

Ben Salah N, Z. I. (2001). Quelques spécialités de chez nous: intoxications par les plantes, la chloralose et le méthano. *Disponible: <http://www.samu.org>*.

Berrezoug H., B. A. (2014). Contribution à la prise en charge des intoxications par les végétaux : aide à la diagnose des plantes toxiques de la région de Tlemcen [Mémoire]. *Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid*.

Bezanger L, B. M. (1980). *Plantes médicinales des régions tempérées*. Paris.

Bouabid Khadija, F. L. (2019). In vivo anti-diabetic effect of aqueous and methanolic macerated extracts of *Atractylis gummifera*. *Journal of Ethnopharmacology [En ligne]*.

Bouabid Khadija, F. L. (2020). Phytochemical investigation, in vitro and in vivo antioxidant properties of aqueous and organic extracts of toxic plant: *Atractylis gummifera* L. *Journal of Ethnopharmacology*.

Bhoola, K. D. (1983). Clinico-pathologic and biochemical study of the toxicity of *Callilepis laureola*(*Impila*). *Durban: University of Natal*, 28–33.

Boutoub Oumaima,. (2015). Validation statistique du Dosage du carboxyatractyloside du chardon à glu par spectrophotométrie UV [Licence en Sciences & Techniques]. *UNIVERSITÉ SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH*.

Bouzidi A, M. (2002). Étudesépidémiologiquesurlesplantes toxiques dans les régions de Setif et Bordj Bouarreridj. . *Bulletin d'information toxicologique*

Bye S N, T. H. (1990). An enzyme immunoassay for atractyloside, the nephrotoxin of *Callilepis laureola* (*Impila*). *Toxicon*.

C.

Čáková, V. (2013). Contribution à l'étude phytochimique d'orchidées. [*Thèse*]. *Strasbourg*.

Caravaca-Magarinos. (1985). Renal and hepatic injuries in human intoxication with *Atractylisgummifera*. *Nefrologia*, 205-210.

Carmichael, W. G. (1987). Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res*, 936-942.

Catanzano G, D. S. (1969). A propos de deux cas d'intoxication par le chardon à glu (*Atractylisgummifera* L.). *Evolution clinique et liaisons anatomo-pathologiques*, 651-655.

Chardon G., Viala A, Vignais P, Stanislas E (1964). L'intoxication par le chardon à glu, *Atractylis gummifera* L.: essai de traitement du chien intoxiqué par un extrait. *Thérapie*.

Charnot Abel, (1945). La Toxicologie au Maroc. [*Mémoires de la Société des sciences naturelles du Maroc*].

Chaouche, F. H. (2016). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique. *Phytothérapie*.

CHAUMONT Jean-Pierre, M.-C. J. (2011). Phyto-aromathérapie appliquée à la dermatologie. Dans *Phyto-aromathérapie appliquée à la dermatologie*. paris: ditions Tec & Doc Lavoisier.

Capdevielle P, R. D. (1980). [Poisoning by bird-line thistle (*Astractylis gummifera* L.) (author's transl)]. *Trop*.

Carpenido F, S. L. (1974). Nephrotoxic effect of atractyloside in rats. *Archives of Toxicology*.

D

Daoudi Amine, M. B. (2016). Étude ethnobotanique de la flore médicinale dans la commune rurale d'Aguelmouss province de Khénifra (Maroc). 220–228.

Dacosta Yves, D. (2003). Dans Les phytonutriments bioactifs. édition YVES DACOSTA, Paris :

Dahamna, S., & Sekfali, N. (2007). Biochemical and histological indicators of atractylis gummifera L. Toxicity. *toxicity [Thèse Doctorat Biologie animal.*

Daniel Christian, J. F. (1998). *Activités technologiques en microbiologie 1-Techniques de base et méthodologie.* CRDP D'Aquitaine-Bordeaux.

David N Bowser, S. P. (2002). Release of mitochondrial Ca²⁺ via the permeability transition activates endoplasmic reticulum Ca²⁺ uptake. *FASEBJ.*

Derraji, A. (2014). Chardon à glu: remède ou poison. *info santé, la revue des professionnels de santé et du médicament.*

Dupont F, G. J. (2015). Les familles de plantes. 16e éd. Elsevier Masson.

E

EL FENNOUNI Meryem, (2012). Les plantes réputées abortives dans les pratiques traditionnelles d'avortement au Maroc. [Thèse Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie.

Effendi Leonard, Y. Y. (2006). Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in Escherichia coli.

ET, S. (1964). Les constituants toxiques de l'Atractylis Gummifera L. *Toulouse pharmaceutique.*

F

Felix Stickel, E. P. (2005). Herbal hepatotoxicity. *Journal of Hepatology* 43, 901–910.

Fowler, M. W. (2006). Plants, medicines and man. *J Sci Food Agric*, 86:1797–804.

Fiori A, P. C. (2016). Dans *Flora Analitica D'italia.* Italian Edition.

G

Garbi .Mohamed, M. S. (2016). In vitro anti-inflammatory properties of methanolic extract of Hibiscus sabdariffa. *International Journal of Home Science*, 3(1): 234-237. ISSN: 2395-7476.

Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine.*

Gilmour R F Jr, E. S. (1981). Effects of carnitine and atractyloside on canine cardiac electrical activity. *Am J Physiol.*

H

- Hami, A. S. (2011). Intoxication par *Atractylis gummifera* L. Données du centre antipoison et de pharmacovigilance du Maroc. *Bull. Soc. Pathol. Exot vol [En ligne]*.
- Hamel, S. S. (2018). Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'edough (nord-est algérien). *Ethnopharmacologia, n°59*.
- Hammiche Victoria, M. R. (2013). Dans M. R. Hammiche Victoria, *Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen*. paris: Springer Verlag .
- Haouzi D., I. C.-S. (2002). Mitochondrial permeability transition as a novel principle of hepatorenal toxicity in vivo. *Apoptosis*.
- Havsteen, B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol.Ther.*
- Hedhili A, W. J. (1989). Biochemical investigation of *Atractylisgummifera* L. hepatotoxicity in the rat. *Arch Toxicol*.
- Himed Louiza, Merniz Salah, Barkat Malika . (2016). Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle de Citrus limon (variété Lisbon) extraite pa hydrodistillation. *Algerian Journal of Natural Products*.
- Hmamouchi, M. (1999). Dans *Les plantes médicinales et aromatiques marocaines*. . Maroc: Fédala-Mohammedia.
- Hodgson, E. (2010). A TEXTBOOK OF MODERN TOXICOLOGY. *Hoboken, New Jersey*.
- Hopps V, V. P. (1997). Effects of atractyligenin and some of its naturalderivates on renal function. *Fitoterapia*.

I

- Ilbert H, H. V. (2016). Le marché des plantes aromatiques et médicinales : analyse des tendances de marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie. Dans H. V. Ilbert H, *Le marché des plantes aromatiques et médicinales : analyse des tendances de marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie*. Montpellier: CIHEAM Editions.

J

- Jean, B. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). Dans *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinale* . TEC & DOC.
- Jian Yin, D. L. (2008). Effects of glycyrrhizic acid on cocklebur-induced hepatotoxicity in rat and human hepatocytes. *Phytotherapy Research, 395-400*.

K

Karimine. (1986). Les intoxications végétales en pédiatrie. [*Thèse de médecine*].

Kar, A. (2012). Antioxidant and in vitro anti-inflammatory activities of *Mimusops elengi* leaves. *Journal of Tropical Biomedicine*.

Khabbal Y, L. (2018). Attenuation of Toxic Power of *Atractylis Gummifera*. *European Journal of Scientific Research*.

Khadhri, A. (2013). COMPOSES PHENOLIQUES ET ACTIVITES ANTIOXYDANTES DE DEUX EXTRAITS DE CHARDON A GLU: *Atractylis gummifera*. *Revue Soc. Sci. Nat. de Tunisie*.

Kholodenko B N, V. I. (1988). [The role of adenine nucleotide translocator in the regulation of oxidative phosphorylation in heart mitochondria]. *Biochimica*.

Kroemer. (1997). The proto-oncogene Bcl-2 and its role in regulating apoptosis. *Natural medicine* N°3.

L

Larabi A, A. M. (2012). Déterminations des teneurs en atractyloside dans les racines d'*Atractylis gummifera* L. provenant de six régions d'Algérie.

Larrey D, P. G. (1995). Hepatotoxicity of herbal remedies and mushrooms. *Seminars in Liver Disease*.

Lefranc, M. E. (1866). Étude Botanique, Chimique Et Toxicologique. *Bulletin de la Société Botanique de France*.

Lemaigre G, T. Z. (1975). Hépatite fulminante par intoxication due au chardon à glu (*Atractylis gummifera*-L). *Nouv Presse Med*, 286.

Lim T.K. (2015). *Alocasia macrorrhizos*. In *Edible Medicinal and Non Medicinal Plants*.

Lubica Malekova, V. K. (2007). Bongkrelic acid and atractyloside inhibits chloride channels from mitochondrial membranes of rat heart. *Biochimica et Biophysica Acta*.

Lugasi A, H. J. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta .biologica*.

M

Marica Medi Saric, I. J.-B. (2004). Optimization of Chromatographic Conditions in Thin Layer. *Croatica Chemica Acta*.

MASENGO C. A., K. N. NGBOLUA, J. OMALANGA, C. L. INKOTO, P. T. MPIANA, J.-C. V. MUDOGO (2023). Profil chromatographique et activité anti-falcémiant, anti-inflammatoire, antioxydante et cytotoxique des feuilles de *Ficus exasperata*, 85-494.

Mejdoub Kenza, I. R. (2022). Chemical Variability of *Atractylis gummifera* Essential Oils at Three Developmental Stages and Investigation of Their Antioxidant, Antifungal and Insecticidal Activities.

Mentouri, A. (1976). . A propos de nouvelles données cliniques et biologiques concernant l'intoxication par le chardon à glu. *Annales médicales de Nancy*, 367-368.

Miclowiz S, T. Z. (1976). A propos de l'atteinte hépatique dans l'intoxication par le chardon à glu. *Rev.Tossical.speriment.clin*, 81-84.

Miki, J. B.-G.-W. (1982). HERB DRUGS AND HERBALISTS IN THE MAGHRIB. Dans J. B.-G.-W. Miki, *HERB DRUGS AND HERBALISTS IN THE MAGHRIB* (p. 339). Institute for the Study of Languages and Cultures of Asia and Africa.

Mojca Škerget a, P. K. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*.

Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assays growth and survival: Application. *ImmunoLmethods*, 55-63.

Maisa, Khadra.(2008). PHARMACOPEE TRADITIONNELLE SAHARIENNE SAHARA ALGERIEN.

Mouaffak Y., M. B. (2013). Intoxication mortelle au chardon à glu : à propos d'un cas. *Archives de Pédiatrie En ligne*, 496-498.

N

Nabavi, F. N. (2012). Antioxidant and antihemolytic activities of methanol extract of *Hyssopus angustifolius*. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 85: 198-201.

Nathalie Boizot, J.-P. C. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques del'INRA*.

Nathalie Bonvallot, L. B. (2009). Benchmark dose : définitions, intérêt et usages en évaluation des risques sanitaires. *Environnement, Risques & Santé*.

Nogaret-Ehrhart .A. (2006). La phytothérapie se soigner par les plantes, Erolles,Pratique.

NogueS, S. (1992). Insuffisance Rénale Aiguë due à une intoxication par le Chardon à glu (*Atractylisgummifera* L.). *Press Médicale*, 21:130.

O

Obatomi DK, Bach. PH. (1998). Biochemistry and toxicology of the diterpenoid glycoside atractyloside. *Food Chem Toxicol*.

OCDE. (1979). Résumé des considérations du rapport des groupes d'experts de l'OCDE sur la Toxicologie à court et à long terme. *In : Lignes directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques.*

OECD/OCDE. (2008). Étude de toxicité orale à dose répétée pendant 28 jours sur les rongeurs. *LIGNES DIRECTRICES DE L'OCDE POUR LES ESSAIS DE.*

Ouedraogo, S. (2021). Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. *Int. J. Bio. Chem. Sci.*

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

Oliver JA (1986). Opportunities for using fewer animals in acute toxicity studies. *In Chemicals Testing and Animal Welfare(The National Chemicals Inspectorate).*

P

Pierre Sprumont, C. M. (2005). *Le sport après 50 ans.* DE BOECK SUP.

Pacôme Serge Gouegoui Bohui, A. A. (2018). Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales : *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie* , 50-58.

Q

Quintanilla A P, M. L. (1979). Effect of diuretics on ADP incorporation in kidney mitochondria. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.*

R

RAHMANI Smahia, B. N. (2016). EVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTI-INFLAMMATOIREe d'extraits aqueux de feuilles *Limoniastrum feei*(PLUMBAGINACEA). *Algerian journal of arid environment*, vol. 6, n°1,80-86. ISSN 2170-1318

Rajeshwari, C. S. (2012). Anti-hemolytic activity of various fraction of methanolic extract of coriander (*Coriandrum sativum* L.) leaves and seeds :A comparative study. . *Pak .J.Food Sci.*, 22(1):1-6. .

Ramade, F. (1979). Ecotoxicologie. Seconde édition révisée et augmenté. *Masson, Collection d'Ecologie.* Paris.

Rezig. (1967). contribution à l'étude de l'intoxication par le chardon à glu. [*Thèse de doctorat : Médecine*]. *Université d'Alger.*

Ruckebusch, Y. (1981). *Physiologie, Pharmacologie, Thérapeutiques animales.* Paris.

Rui Song, H. B.-s. (2012). Atractyloside induces low contractile reaction of arteriolar smooth muscle through mitochondrial damage. *J App Toxicol*, 402–8.

S

Sadique J, A.-R. W.-G. (1986). The bio-activity of certain medicinal plants on the stabilization of RBC membrane system. *Fitoterapia*, 60:525-532.

Salhi Souad, M. F. (2010). Etudes floristique et ethnobotanique des plantes. *LAZAROA*, 31: 133-146.

Skalli S., I. A. (2012). L'intoxication par le chardon à glu (*Atractylis gummifera* L.) ; à propos d'un cas clinique. [Revue Santé publique].

Sandali. (1970). Intoxication à l'Haddad. [*Thèse de médecine*]. Rabat.

Sandra, B. (1991). The development of assays for atractyloside and its localisation in rat tissue. *These de doctorat Département de Biochimie University Natal Afrique du Sud*.

SANTI, R. (1958). Potassium atractylate, a new inhibitor of the tricarboxylic acid cycle. *Nature*.

sarandha, a. (2013). Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of the Methanolic Leaf Extract of Traditionally Used Medicinal Plant *Mimusops elengi*L. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* , 125 - 130.

Seedat Y K, P. J. (1971). Acute renal failure from *Callilepis laureola*. *S Afr Med J*.

Shakya, A. K. (2016). Correspondence, Medicinal plants. *Future source of new drugs*.

Stephanie Ibarra-Moreno, F. I.-V.-A. (2012). In Vitro Evaluation of Fasciolicide Activity with Hexane, Methanol and Ethyl Acetate with Extracts Processed and Obtained from Some Mexican Plants Used in Traditional Medicine Based on Ethno Botanical Studies.

Streicher Scott, L. R. (1993). se of atractyloside and tight bindinginhibitor theory to determine the concentration of functional mitochondrial adenine nucleotide translocators in a reconstituted system. *Anal Biochemistry*.

Surriya Amin, B. H. (2016). Pharmacology of *Xanthium* species. A review. *The Journal of Phytopharmacology*.

Swaran JS Flora (2009). Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. *Oxidative medicine and cellular longevity*.

Sawadogo, Y. ... (2015). Activités anti-inflammatoire, analgésique et antioxydante de l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis* Pichon (Apocynaceae). *PHARMACOGNOSIE*

T

Talakal, T S S. K. (1995). In vitro and in vivo antitrypanosomal activity of *Xanthium strumarium* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*.

Treshchalini D, G. V. (2017). Profil toxicologique d'Aimpiladans une expérience chronique sur des rats. *Russian journal of biotherapy*.

V

Vanessa Steenkamp, M J Stewart. M Zuckerman. (1999). Detection of poisoning by *Impila* (*Callilepis laureola*) in a mother and child.

Vancompernelle K, F. V. (1998). Atractyloside-induced release of cathepsin B, a protease with caspase-processing activity. *FEBS*

Viau, C. (2003). Toxicologie. In : *Environnement et sante publique-fondements et pratiques*.

Vivek S, S. M. (2012). Biological activities of *Alocasia macrorrhiza*. *Journal of ISSN-22 77-1883 sciences [En ligne]*.

W

Wenxiang Fan, L. F. (2019). Traditional Uses, Botany, Phytochemistry, Pharmacology, Pharmacokinetics and Toxicology of *Xanthium strumarium* L.: A Review. *Published online 2019*.

Werner Cordier, V. S. (2015). Evaluation of Four Assays to Determine Cytotoxicity of Selected Crude Medicinal Plant Extracts In vitro. *Journal of Pharmaceutical Research*, 7(1): 16-21.

WICHTL M., A. R. (2003). _ Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale. Dans A. R. WICHTL M., *Plantes thérapeutiques*. Science et thérapeutique, 2ème édition, Ed. TEC & DOC.

Wunschendorff, B. P. (s.d.). Etude chimique de l'atractylate de potassium. *Bull.Soc.Chem et Biol*.

Y

Yang Wang 1, T. H.-M.-Y.-K.-L.-P. (2011). Hepatotoxicity of kaurene glycosides from *Xanthium strumarium* L. fruits in mice.

Yousefi, R. (2022). Medicinal plants. *A comprehensive review*.

ANNEXE

Préparation des solutions:

-Saline hypotonique : 0,36 g chlorure de sodium dissous dans 100 mL d'eau distillée.

-Saline isotonique : 0,85 g chlorure de sodium dissous dans 100 mL d'eau distillée.

-Tampon phosphate (pH 7,4 ; 0,15 M) : 2,38 g d'hydrogène phosphatedisodium, 0,19 g de dihydrogène phosphate de potassium et 8 g chlorure de sodium ont été dissous dans 100 mL d'eau distillée.

-Préparation du milieu RPMI :

-500 mL de Hepes (poudre préparé à 10%)

-13 mL de glutamine (poudre préparé à 10%)

-5 mL d'antibiotique (la streptomycine et la pénicilline+sérum de veau 10%)

-Bleu de trypan 0.4 : 40mg dissout dans 10mL H₂O (eau distillé)

-Solution MTT : 5mg/mL de PBS (25mg/5mL) ou 5mL H₂O physiologique

-Tampon de lyse MTT : soit : 99.4mL DMSO : on a préparé 9.94MI DMSO, 60µl HCL, 1g SDS

0.6 mL HCL

10g SDS

Ou bien 9mL isopropanol

150mg SDS

1MI HCL