

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire قسم

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Biochimie*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Evaluation de la toxicité des extraits hydro-methanoliques des
aiguilles et des cônes de Sapin d'Algérie (*Abies numidica* de
Lannoy ex CARRIERE)**

Présenté par : DIB Amira
LAIDI Noussayba

Le 20/06/2023

Jury d'évaluation :

Encadreur : BELLIL Ines (Pr - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Co-encadreur : BENOUCHENNE Djamilia (Dr - Ecole Nationale Supérieure de Biotechnologie)
Examineur 1 : MOSBAH Esma (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur 2 : BEKHOUCHE Khadidja (Dr - Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutiques).

Année universitaire

2022 – 2023



Remerciements

*Avant tout, nous remercions **ALLAH azzawadjalle** tout-puissant de nous avoir donné la force, le courage, persistance et nous avons permis d'accomplir ce modeste travail.*

*Nous tenons particulièrement à remercier notre directrice de mémoire Madame **BELLIL Ines**, Professeur à l'université des Frères Mentouri Constantine 1 (UFMC1), d'avoir accepté de diriger ce modeste travail, avec beaucoup d'intérêt et d'optimisme, nos gratitude pour son engagement, ses orientations, ses précieux conseils, ses encouragements et sa patience, ainsi sa disponibilité permanente tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Nous adressons également nos vifs remerciements à Madame **BENOUCHE Djamila**, Maître Assistante Classe B (MCB), à l'École Nationale Supérieure de Biotechnologie (ENSB), d'avoir accepté d'être co-encadreur dans ce travail. Un grand merci, pour tout ce qu'elle nous a appris scientifiquement et surtout pour la confiance qu'elle nous avons accordée.*

*J'aimerais également remercier Madame **MOSBAH Esma**, Maître de Conférences Classe A, à l'université Frères Mentouri Consatntine 1, et Madame **BEKHOUCHE Khadidja**, chercheur au Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutiques pour avoir accepté d'être les membres de jury de mémoire, nous tenons à vous exprimer toute gratitude pour les heures investies dans la correction du présent manuscrit.*

*Nous remercions également Madame **BOUCHOUCHE Sarah**, Chef service de laboratoire des analyses au niveau du clinique multiservice (Pierre Choli) Massinissa EL KHROUB pour le climat familial pour réaliser une partie de ce mémoire. Nous tenons également à remercier monsieur **BAHRI El-Aid**, de nous avoir donné la chance de réaliser une partie in vivo au sein des laboratoires d'animalerie.*

Enfin, nous remercions gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*A mon père DIB Masoud Abd al-Wahhab et ma
mère BEN BRIKB Nasima, pour tous leurs
sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et
leurs prières tous au long de mes études, que Dieu
vous protège .*

A mes chers frères : Mouloud Abderrahmane, Mohamed

A mes soeurs : Roumayssa, Mériem

A mes chères amies : Sarah ,Sofia ,Kaouther,Khaoula,...

A toute ma famille DIB et BEN BRIK

Pour toutes mes facultés de la biochimie

A tous ceux qui me sont chers.

AMIRA 

Dédicaces

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail

*A ma très chère mère (BOUDJELAL NAAIMA) qui me donne toujours l'espoir de
vivre et qui n'a jamais cessé de prier pour moi.*

*A mon très cher père (LAIDI ABD ELRAZAK) pour ses encouragements, son
soutien, surtout pour son amour et son sacrifice afin que rien n'entrave le
déroulement de mes études*

*Mon chère frères (LAIDI HAYTHEM et LAIDI YASSER) pour leur dévouement, leur
compréhension et leur grande*

Un dédicace tout particulier à ma meilleur et ma seule ami (LYMONADA)

Et tout qui m'aide et compulse ce modeste travail

*En fin, je remercie mon binôme, DIB AMIRA , qui a contribué à la réalisation de ce
modeste travail*

Noussayba 

Liste des abréviations

A	<i>Abies</i>
JC	Jésus-Christ
UICN	L'Union internationale pour la conservation de la nature
m	mètre
mm	millimètre
Cm	Centimètre
UK	United Kingdom / Le Royaume-Uni
C°	Degré Celsius
IBA	Acide dm-3 Indole-3- Butyrique
GC-MS	Gas chromatography–mass spectrometry
S	<i>Staphylococcus</i>
B	<i>Bacillus</i>
E	<i>Enterococcus</i>
LC–MS/MS	Chromatographie liquide couplé à spectrométrie de masse en tandem
EAF	Fraction Acétate d'Éthyle
AChE	Acétylcholinestérase
C	Carbon
H	Hydrogène
O	Oxygène
R	Radical
E/Z	Isomères
COX	cyclo-oxygénase

g	gramme
GBBV	laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologie Végétales
OCDE	L'Organisation de coopération et de développement économiques
h	Heures
ml	Millilitre
Kg	Kilogramme
p.c	Poid corporel
ASAT	Aspartate aminotransférase
ALAT	Alanine aminotransférases
TGO	Glutamic Oxaloacetic Transaminase
TGP	Glutamic Pyruvic Transaminase
HDL	Lipoprotéines de Haute Densité
AE	La fraction acétate d'éthyle
n-BuOH	La fraction n-butanol
MEC	Extrait hydro-méthanolique des cônes
MEF	Extrait hydro-méthanolique des feuilles
DME	Dose Maximale Efficace
DL 50	Dose Létale Médiane
mg	Milligramme
j	Jour
jrs	Jours
Sc	Souris contrôles
St	Souris traitées

L	Litre
UI	Unité Internationale
dL	Décilitre
mmol	millimole
G	Grossissement

Liste des figures

Figure 1	Distribution globale du genre <i>Abies</i> dans le monde	5
Figure 2	La région de répartition de <i>l'Abies numidica</i> en Algérie	6
Figure 3	Le feuillage distinctif d' <i>Abies numidica</i>	8
Figure 4	Differentes formes de distribution des bourgeons du genre <i>Abies</i> .	8
Figure 5	Cônes d' <i>Abies numidica</i>	9
Figure 6	Structures chimiques des (E)- et (Z)-resvératrols	20
Figure 7	Structure des coumarines	20
Figure 8	Structure chimique générale des flavonoïdes	21
Figure 9	Représentation des principales classes et sous-groupes des flavonoïdes au niveau d'hétérocycle C	22
Figure 10	Structure des anthocyanes	23
Figure 11	Structure de base des tanins galliques	24
Figure 12	Structure de base d'acide ellagique	24
Figure 13	Structure de base des tanins condensés	25
Figure 14	Exemple de structures alcaloïdiques	26
Figure 15	Structure des terpènes	26
Figure 16	Saponine de soja est un exemple des saponines	27
Figure 17	L'arbre d' <i>Abies numidica</i> dans la région de Constantine	30
Figure 18	Aiguilles sèches de <i>l'Abies numidica</i>	31
Figure 19	Agitation du macérât	31
Figure 20	Le filtrat obtenu après macération des aiguilles de <i>l'Abies numidica</i>	32

Figure 21	Photographie des animaux.	33
Figure 22	Administration des extraits par gavage	34
Figure 23	Les souris après dissection	35
Figure 24	Fixation des organes dans le formol.	36
Figure 25	Gonflement des poumons (photo originale).	45
Figure 26	Gonflement et rougeur d'intestins grêles (photo originale).	46

Liste des tableaux

Tableau 1	Caractéristiques botaniques et géographiques du sapin de Numidie.	7
Tableau 2	Classification scientifique de l' <i>Abies numidica</i> de Lannoy.	10
Tableau 3	Les travaux scientifiques réalisés sur le sapin d'Algérie.	12
Tableau 4	Les principaux acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque.	18
Tableau 5	Principaux acides hydroxycinnamiques.	19
Tableau 6	Classe des flavonoïdes.	22
Tableau 7	Les molécules bioactives extraites des différentes parties d'espèce <i>Abies numidica</i> .	28
Tableau 8	Etude de la toxicité aiguë des extraits d' <i>A. numidica</i> chez les souris.	35
Tableau 9	Comportements des souris contrôles et traitées par .mg/kg des extraits MEF et MEC 2000	40
Tableau 10	Effet des extraits MEF et MEC sur le poids des souris dans le test de la toxicité aiguë.	41
Tableau 11	Effet des extraits MEF et MEC sur la fonction rénale des souris traitées (2000mg/kg).	42
Tableau 12	Effet des extraits MEF et MEC sur les paramètres hépatiques des souris dans le test de la toxicité aiguë.	43
Tableau 13	Effet des extraits MEF et MEC sur les paramètres lipidiques des souris dans le test de la toxicité aiguë.	44

Tableau 14	Effet des extraits MEF et MEC sur la glycémie des souris .traitées (2000mg/kg	45
Tableau 15	Coupes histologiques des organes après un traitement par .MEF et le témoin (GX100	47
Tableau 16	Coupes histologiques des organes après un traitement par .MEC et le témoin (GX100	49



Sommaire

Table des matières

Remerciement.....	i
Dédicaces.....	ii
Liste des abréviations.....	iii
Liste des figures.....	vi
Liste des tableaux.....	v
Introduction générale.....	1

Partie 1 : Aperçu bibliographique

Chapitre 1: Généralité sur l'espèce étudiée (*Abies numidica* De Lannoy ex CARRIERE)

1. Historique.....	3
2. Etude botanique.....	3
2.1. Répartition géographique du genre <i>Abies</i>	3
2.2. Répartition géographique de l'espèce <i>Abies numidica</i>	5
2.3. Description de l'espèce étudiée.....	6
2.4. Les conditions climatiques de l'espèce <i>A. numidica</i> de Lannoy.....	9
2.5. Noms vernaculaires.....	9
2.6. Classification systématique	9
3. Usage traditionnel du sapin de Numidie	10
4. Les travaux scientifiques réalisés sur l'espèce <i>Abies numidica</i>	11

Chapitre 2 : Métabolites secondaires des plantes

1. Métabolites secondaires des plantes	15
2. Classification des métabolites secondaires.....	15
2.1. Polyphénols.....	15

Table des matières

2.1.1. Acides phénoliques.....	16
2.1.1.1. Les acides phénoliques	16
2.1.2. Stilbènes	18
2.1.3. Coumarines	18
2.1.4. Flavonoïdes	19
2.1.5. Anthocyanes	21
2.1.6. Tannins.....	22
2.2. Alcaloïdes	24
2.3. Terpènes.....	25
2.4. Saponosides	26
3. Les métabolites secondaires identifiés dans les espèces d' <i>Abies</i>	28

Partie 2 : PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 1: Matériel et méthodes

1. Matériel végétal.....	30
2. Préparation du matériel végétale	30
3. Extraction des métabolites secondaires	31
3.1. Extraction par macération	31
3.2. Rendement d'extraction	32
4. Évaluation de la toxicité des extraits du sapin de Numidie (<i>in vivo</i>).....	32
4.1. Toxicité des plantes médicinales	32
4.2. Évaluation <i>in vivo</i> de la toxicité aiguë des extraits	32
4.2.1. Les animaux.....	32

Table des matières

4.2.2. Etude de la toxicité aiguë des extraits des feuilles d' <i>A. numidica</i> chez les souris.....	33
--	----

Chapitre 2: Résultats et Discussion

1. Résultats.....	39
2. Discussion.....	51

Conclusion et perspectives.....	53
--	-----------

Références bibliographiques.....	55
---	-----------

Annexes

ملخص

Abstract

Résumé

Au cours des dernières années, l'intérêt public pour l'utilisation des plantes médicinales dans l'industrie pharmaceutique a considérablement augmenté non seulement dans les pays en développement, mais aussi dans les pays industrialisés. Parmi les diverses plantes médicinales, certaines espèces endémiques sont particulièrement intéressantes car elles peuvent être utilisées pour la production de matières premières contenant des composés phytochimiques et aux bienfaits divers pour la santé (**Exarchou et al., 2002 ; Shukla et al., 2009**).

Les ressources naturelles, notamment les plantes, sont utilisées dans un but thérapeutique depuis la nuit des temps. Les plantes ou extraits de plantes contiennent un ensemble de substances actives dont les mécanismes d'action ne sont pas toujours connus. La qualité des produits préparés à partir de plantes médicinales peut varier en fonction de la qualité des plantes récoltées (**Bruno et al., 2019**).

Les plantes étaient la source la plus importante de médicaments en raison de leur abondance de métabolites secondaires (**Bouhadjera, 2005**). Pour ça les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses études menant à leur identification les principaux éléments actifs de la plante (**Curtin, 1983 ; White et al., 1996**).

Tout est poison, rien n'est poison, c'est la dose qui fait le poison, l'identification imprécise des composants de la plante peut rendre toxique une préparation à base de plantes, notamment lorsqu'un de ses constituants, susceptible d'avoir des effets toxiques graves, n'est pas, ou mal identifié (**Zeggwagh et al., 2013**).

La toxicité des plantes peut être causée par différents facteurs intrinsèques: elle peut être due à un de ses composants: les plantes médicinales sont des mélanges complexes de molécules diverses potentiellement toxiques telles les hétérosides cardiotoniques, certains alcaloïdes, les coumarines..., donc avant de dire qu'une plante a un futur médicinale, il faut étudier l'aspect toxicologique des plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle (**Krief, 2003**).

La région méditerranéenne possède une diversité biologique exceptionnelle : sa richesse floristique est estimée à 25000 espèces. La moitié de ces espèces sont réparties le long de la mer Méditerranée et sont bien adaptées aux saisons sèches (**Vela et Benhouhou, 2007**). Grâce à sa situation géographique, l'Algérie possède de nombreux biotopes différents avec une richesse florale importante. Les systèmes forestiers algériens consistent en environ 4 millions d'hectares de forêts "naturelles", le reste étant constitué de maquis et de boisement (**Bneder, 2008**). La flore exceptionnellement riche et diversifiée comprend environ 3000 espèces végétales, dont 15

% sont endémiques et appartiennent à plusieurs familles botaniques (**Quezel et Santa, 1963**). Elles sont caractérisées par une remarquable diversité de résineux (*Pinus halepensis*, *Pinus pinaster*, *Tetraclinis articulata*, *Abies numidica*...) (**Dahmani-Megrerouche, 2015**).

Le sapin est un genre monophylétique largement répandu de conifères (**Sánchez-Robles et al., 2014**), présenté par 50 espèces qui se répartissent dans le pourtour méditerranéen tels que : *A. pinsapo* en Italie, *A. marrocana* au Maroc et *Abies numidica* de Lannoy en Algérie (**Bonnier, 1998**). Ces dernières années, beaucoup d'attention a été accordée aux espèces du genre *Abies*, en raison de leurs activités biologiques (**Yang et al., 2008**), elle est introduite plus tard par plantation dans d'autres régions comme Annaba et Constantine (**Hachi-illoul, 2016**).

Abies numidica de Lannoy ex Carrière est une plante endémique en Algérie, elle se retrouve dans les monts de Babors et Tababort en petite Kabylie, au nord de Sétif (**Quezel, 1964**), elle est une espèce d'arbre en forme des cônes large, n'existe à l'état naturel que dans les montagnes des Kabylie (**Cheers et Burnie, 2005**).

Actuellement peu de recherches se focalisent sur l'étude de la toxicité d'*Abies*, c'est dans cette perspective que nous avons essayé d'étudier la toxicité de l'extrait d'une plante endémique appartenant à ce genre et qui n'est pas fréquemment employée par la population en Algérie qui s'appelle *Abies numidica*. Nous étudions dans le présent travail l'évaluation de la toxicité des extraits hydro-méthanoliques des aiguilles et des cônes de Sapin d'Algérie (*Abies numidica*).

Ce travail se divise en deux parties, un aperçu bibliographique et une partie expérimentale. La partie bibliographique renferme deux chapitres, le premier présente un aperçu sur le genre *Abies* et l'espèce étudiée, *Abies numidica*, leurs utilisations traditionnelles et quelques travaux scientifiques réalisés sur l'espèce. Le deuxième chapitre expose les métabolites secondaires en général avec les principaux métabolites présents dans l'espèce. La partie expérimentale présente les techniques d'extraction des métabolites secondaires. La toxicité des extraits a été examinée également, *in vivo*. La partie correspondant aux résultats et leurs discussions, représente la contribution majeure de l'étude. Enfin une conclusion générale.



Partie 01 :
Aperçu bibliographique



Chapitre 01:
Généralité sur l'espèce étudiée (*Abies numidica* De Lannoy ex CARRIERE).

1. Historique

Le nom *Abies* dérive de "abed", le nom latin du sapin argenté de l'ancien monde. Le nom *Abies* apparaît pour la première fois en 77 après JC dans l'Historia Naturalis de Plin l'ancien (**Bonner, 2008**).

La famille actuelle des Pinaceae comprend 11 genres et environ 200 espèces d'arbres et plusieurs espèces d'arbustes qui dominent de nombreux types de végétation terrestre dans l'hémisphère Nord, en particulier les forêts boréales, tempérées et montagnardes (**Gernandt et al., 2016**).

L'histoire et la distribution contemporaine d'*Abies* sont discutées. L'espèce a trois centres de distribution modernes : l'Europe du Sud, l'Amérique du Nord et l'Asie de l'Est. Ces zones sont également riches en archives fossiles (**Linares, 2011**). En Chine, le genre est présent dans 20 provinces, en particulier dans les monts Heng Duan. Des phénomènes endémiques et relictuels sont désormais visibles dans ce genre.

Il existe sept types de reliques avec des individus limités et des régions dispersées limitées. Sur la base des archives fossiles et des données phylogénétiques récentes, l'hypothèse suivante a été proposée: *Abies* est originaire des altitudes moyennes et élevées de l'hémisphère nord au milieu du crétacé et s'est propagé vers le sud à l'éocène en raison du refroidissement climatique global.

La distribution d'*Abies* a été fortement influencée par des événements géologiques tels que le soulèvement de l'Himalaya, des Alpes, des montagnes rocheuses, l'avènement des moussons asiatiques et les glaciers du quaternaire. Finalement, le schéma de distribution actuelle s'est formé au quaternaire. Le genre *Abies* a une histoire fossile et un modèle de distribution moderne similaire à *Cathaya* et *Pseudolarix* (**Xiang et al., 2007**).

2. Etude botanique

2.1. Répartition géographique du genre *Abies*

Abies comprend plusieurs espèces répandues dans l'hémisphère nord avec centres de distribution en Amérique du Nord et en Asie de l'Est. Les *Abies* sont souvent dominants dans la zone de la forêt boréale du nord et à haute altitude dans les principaux systèmes montagneux des latitudes méridionales, et sont d'une importance écologique cruciale pour la restauration de l'eau et du sol là où ils se trouvent (**Xiang et al. 2018**)(**Figure 1**).

- **En Asie :** Les espèces du genre *Abies* ont une distribution limitée en Asie. Ils occupent le système montagneux de l'Himalaya en Chine et des endroits isolés en Chine. On les trouve également à Taïwan, en Corée, à Sakhaline et au Japon.
- **En Europe :** Le genre *Abies* est présent dans les chaînes de montagnes des Pyrénées à la péninsule balkanique. Ces espèces se trouvent également en Turquie, au Liban et dans le Caucase.
- **En Amérique du Nord :** Le genre *Abies* occupe deux régions discontinues à l'est et à l'ouest avec un grand écart entre elles.
 - Est jusqu'à Terre-Neuve et la péninsule du Labrador, à l'ouest jusqu'à North Albert, Canada.
 - A l'ouest, il s'étend de l'Alaska au Guatemala et des hautes montagnes du Yukon au Honduras. Mais il y a une gamme continue, à l'ouest du Honduras, à l'est du Labrador à la Californie et au Tennessee.
- **En Afrique :** Très peu d'espèces d'*Abies* sont présentes dans les pays d'Afrique du Nord, en Algérie et au Maroc (**Farjon et Filer, 2013**).

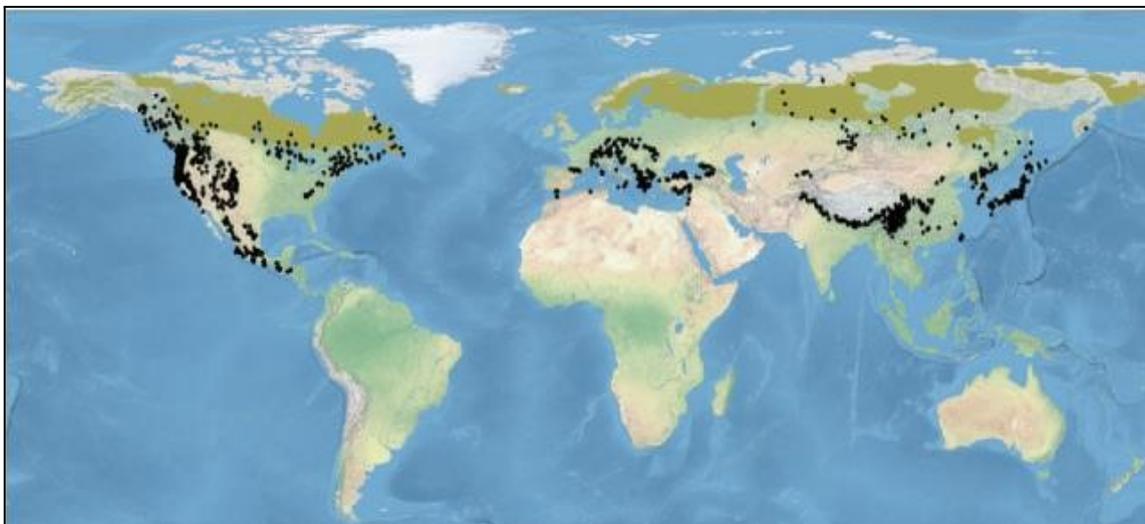


Figure 1. Distribution globale du genre *Abies* dans le monde (**Farjon et Filer, 2013**).

2.2. Répartition géographique de l'espèce *Abies numidica*

La forêt du Mont Babor est la forêt la plus extraordinaire d'Algérie, avec des parties relativement intactes préservées, où des sapins centenaires meurent sur leurs pattes. *Abies numidica* de Lannoy présente uniquement dans la forêt du Mont des Babors, lui donne une toute nouvelle valeur. C'est une ressource naturelle rare qui doit être préservée et protégée afin qu'elle ne soit pas considérée comme une espèce disparue.

Notre choix de Sapin d'Algérie s'explique par la rareté de cette espèce et son aire de répartition diminue chaque jour et son existence en Algérie est menacée de disparition classée dans la liste rouge de l'UICN (Naili, 2018).

La répartition du sapin de numide est limitée aux monts Babors, en Kabylie orientale à 1300-2000 m sur la surface montagneuse humide et mélangée au chêne zeen. Il n'y a pas de forêt d'épicéas pure, *Abies numidica* est encore plus localisé, avec une superficie de moins de 300 hectares, uniquement au sommet des monts de la Petite Kabylie et du massif du Tababor, il est aussi strictement calcaire, formant de belles forêts. Les pentes culminantes de Babor. A l'écart du versant sud, où dominant les chênes vert, il est au contraire abondant dans la plaine 1800-2000 m du côté nord. Sur Tababor, le sapin est moins commun et se situe sur les pentes raides du versant nord (Tlili-Ait Kaki et al., 2013) (Figure 2).

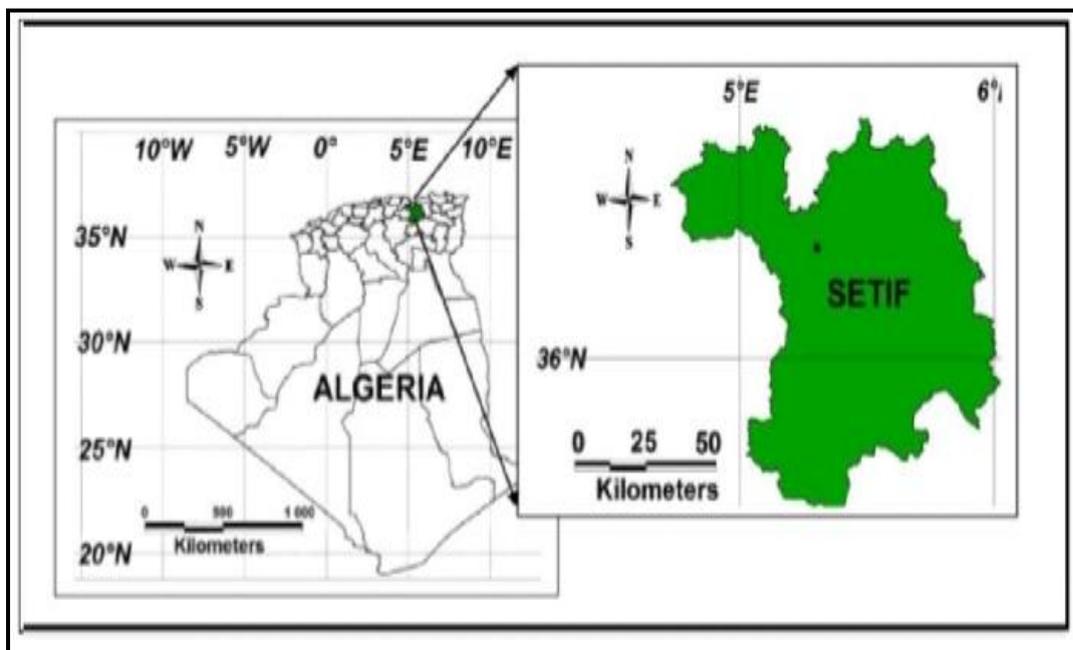


Figure 2. La région de répartition de l'*Abies numidica* en Algérie (Mouloud et al., 2016).

2.3. Description de l'espèce étudiée

Abies numidica de Lannoy ex CARRIERE est un arbre à feuilles persistantes, atteignant 25 mètres de haut, à écorce lisse et grise. Lorsqu'il est jeune, puis écailleux brunâtre. Rameaux vert olive ou brun, légèrement ridés (Maire, 1952).

Tableau 1. Caractéristiques botaniques et géographiques du sapin de Numidie (Hachi-illoul, 2016).

Critère	Description
Feuilles	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Droites mesurent 15 à 25 mm de longueur et 2 à 3 mm de largeur et d'épaisseur. ces aiguilles disposés en pinces, elles sont de deux types : Aiguilles des rameaux stériles droites et Aiguilles des rameaux fertiles disposées en brosse. ▪ Elles ont la moitié les bois laissent des rainures en forme de V dans les branches. ▪ Dessus rond et pas épicé. ▪ Les stomates sur la face supérieure sont sur le côté Haut. ▪ Sur les branches fertiles, ils se trouvent dans les buissons et la crête est relevée, cornée et pointue et présente des stomates très proéminents sur la face inférieure (Figure 03).
Rameaux	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Vert olive ou brun, légèrement ridés.
Bourgeons	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ovoïdes, assez gros, pointus d'un brun rouge résineux à la base, le bourgeon terminal est entouré de 4-5 bourgeons secondaires (Figure 4).

Cônes	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Grandes, oblongues et cylindriques, gris-brun à mature. ▪ La longueur varie entre 8,2 et 18,5 cm et le diamètre varie entre 4 et 6 cm. ▪ Ils mûrissent en octobre-novembre et enfin se fend pour libérer les graines, laissant sur l'arbre le fuseau du cône appeler "colonne vertébrale". ▪ La saison de fructification a lieu chaque année (Figure 5).
Fruits	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Fruit cônes femelles de 12 à 18 cm, de 3 à 5 cm de diamètre, Cylindriques, gris-brun à maturité, résineuse, contenant des bractées, dressées sur branches. ▪ Les cônes mâles sont rougeâtres et jaunes lorsqu'ils sont ouverts.
Flours	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Les bourgeons des fleurs mâles sont rouges et jaunissent lorsqu'ils s'ouvrent. ▪ Les fleurs femelles sont vertes et portent des cônes de 15 cm de diamètre. Long, 3 à 4 cm de diamètre, cylindrique, gris-brun à maturité . ▪ Ils contiennent des graines ailées de 2 à 3 cm de long (graine plus aile).
Floraison	<p>Aura lieu mois d'avril.</p>



Figure 3. Le feuillage distinctif d'*Abies numidica*, vu sur le vieil arbre dans le pinetum à Wakehurst Place, Sussex, UK. Photographié le 22 juillet 2020. Image Tom Christian.

<https://treesandshrubsonline.org/articles/abies/abies-numidica/>

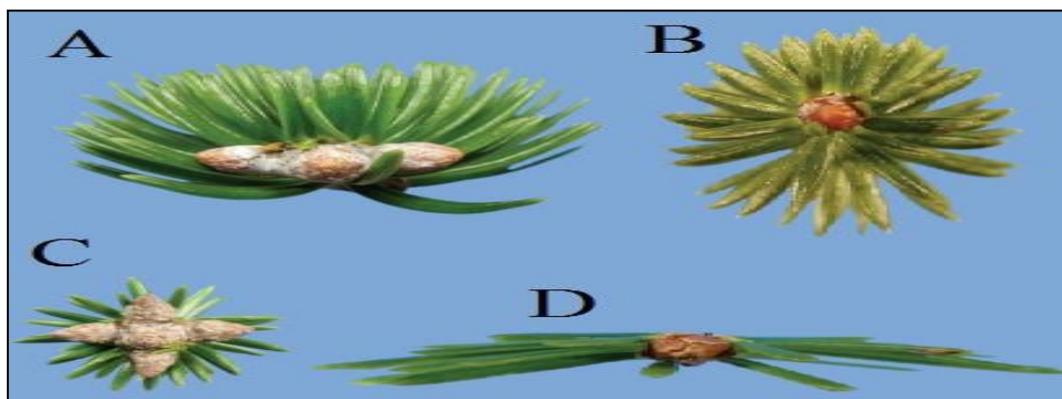


Figure 4. Différentes formes de distribution des bourgeons du genre *Abies*. (A) 3 bourgeons sur lesquels les feuilles inférieures tournent vers le haut et sont encombrées sur la face supérieure de l'axe secondaire de la pousse ; (B) la forme radiale ; (C) un bourgeon terminal entouré par des bourgeons

D : feuilles disposées en deux séries latérales, qui s'étendant de l'axe de la pousse (**Dörken et Nimsch, 2018**)



Figure 5. Cônes d'*Abies numidica* .le vieil arbre dans le pinetum à Wakehurst Place, Royaume-Uni. Juillet 2020.

[\(https://treesandshrubsonline.org/articles/abies/abies-numidica/\)](https://treesandshrubsonline.org/articles/abies/abies-numidica/)

2.4. Conditions climatiques de l'espèce *A. numidica* de Lannoy

Le sapin d'Algérie est un arbre qui se trouve dans les forêts humides de montagne. Le climat est particulièrement humide et froid, la quantité annuelle de précipitations est de 2500 mm, dont la plupart tombe sous forme de neige en hiver. Les étés sont secs et le climat est typiquement méditerranéen, avec une température moyenne de 18 °C et des minimales hivernales de -1 °C et un froid extrême de -8 à -10 °C (**Tehari et Trad Khodja, 2019**).

2.5. Noms vernaculaires

Il ya plusieurs nominations de la plante *A. numidica* de Lannoy ex Carrière. *Abies numidica*: du grec *Abies* est sapin et *numidica* est l'ancien nom d'Algérie.

- **Noms latins** : *Abies numidica* De Lannoy ex Carrière, *A. baborensis*, *A. pinsapo* Boiss. Une variante. *Baborensis* Coss.
- **Noms français** : sapin numide, sapin d'Algérie, de Kabylie, Babors.
- **Noms anglais**: The fir of Numidia, the fir of Algeria (**Farjon, 2010**)

2.6 Classification systématique

La taxonomie du sapin d'Algérie est présentée dans le tableau suivant.

Tableau 2. Classification scientifique de l'*Abies numidica* de Lannoy (**Quezel and Santa, 1963**)

Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Gymnospermesa
Division	Coniferophyta
Classe	Pinopsida
Ordre	Pinales
Famille	Pinaceae
Genre	<i>Abies</i>
Espèce	<i>Abies numidica</i>

3. Usage traditionnel du sapin de Numidie

Les plantes médicinales sont des ressources précieuses pour la plupart des populations rurales et urbaines en Afrique et représentent le principal moyen par lequel les individus sont pris en charge. Malgré les progrès de la pharmacologie, l'utilisation des plantes médicinales est très présentes dans certains pays du monde et surtout pays développés (**Tabuti et al., 2003**).

Recherche sur la médecine traditionnelle et la guérison par donc les plantes sont particulièrement intéressantes à cause du peu de travail recherches liées à cet aspect, et plus particulièrement l'utilisation des espèces naturelles en médecine traditionnelle. En effet, une grande partie du travail a été centré sur l'utilisateur ignorant le véritable aspect floral de la terre (**Hammiche et Gueyouche, 1988**).

Le sapin d'Algérie a été peu étudiée, elle est traditionnellement utilisée pour traiter l'inflammation, la grippe, les problèmes des voies respiratoires, les maladies vasculaires, et aussi pour soigner les maux d'estomac. En outre, cette plante est utilisée comme agent anti-scorbutique, un antiseptique dans les blessures et en cataplasmes sur les plaies et les

brûlures et comme agent antimicrobien (**Tehari et TradKhodja, 2019**) . Ainsi, les cônes d'*Abies numidica* de Lannoy sont utilisés pour traiter certaines maladies comme : l'indigestion, l'ulcère, et les maladies vénériennes (**Fujita et al., 1995**).

4. Les travaux scientifiques réalisés sur l'espèce *Abies numidica*

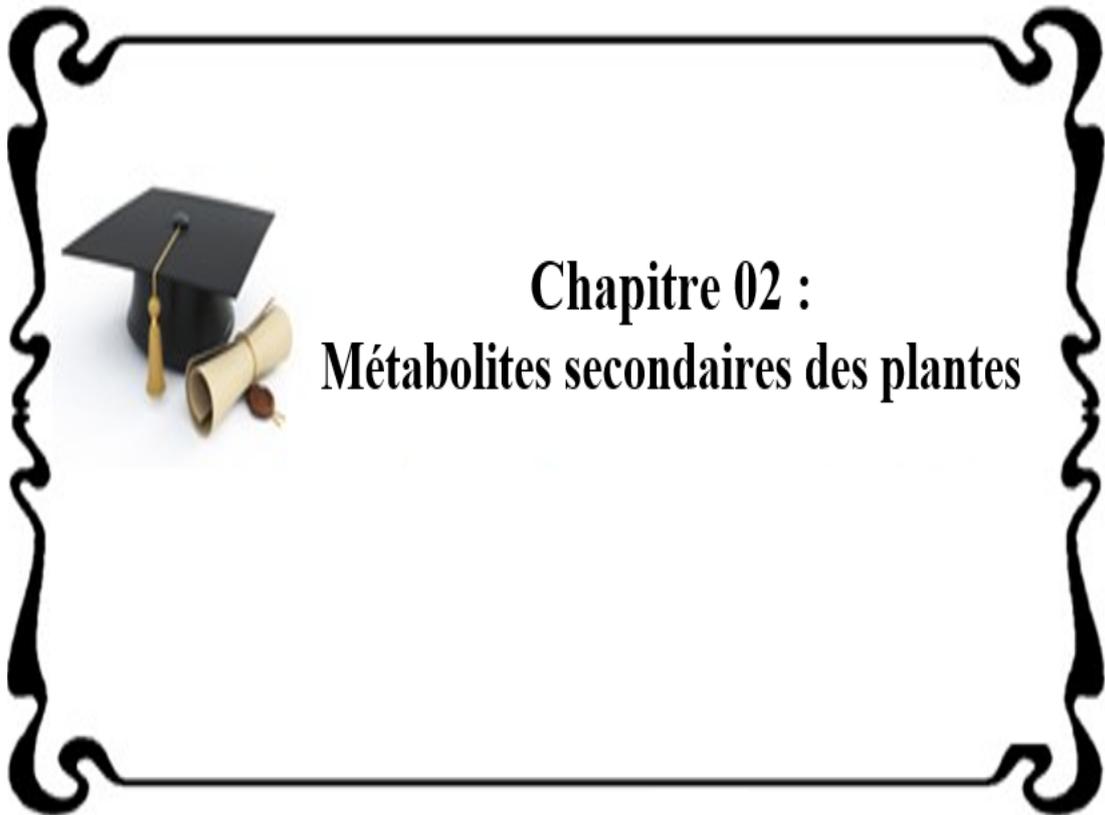
Les plantes médicinales constituent une source importante de métabolites secondaires, dont les huiles essentielles aux nombreuses propriétés bioactives, couramment recherchées dans le domaine de la phytopharmacie et des produits agricoles. *Abies numidica* est une plante endémique algérienne qui a des vertus médicinales, a fait l'objet d'une étude physico-chimique et microbiologique. Malgré les effets bénéfiques de cette plante dans la médecine populaire et ainsi leur rôle écologique très important, peu des études ont été faites et publiées sur cette plante, elles sont classées dans le tableau suivant (**Benouchene et al., 2022**).

Tableau 3. Les travaux scientifiques réalisés sur le sapin d'Algérie

Article	Région	Extrait	Résultats	Référence
Effet de la concentration de saccharose, du charbon de bois et de l'acide indole-3-butyrique sur la germination des embryons somatiques d' <i>Abies numidica</i>	Nitra slovaquie	l'élongation des radicules chez les embryons somatiques d' <i>Abies numidica</i> vis-à-vis des milieux de germination	L'ajout de charbon actif ou de (IBA) a eu un effet positif sur la germination des embryons.	(Vooková et Kormut'ák, 2001)
Revalorisation d'une essence endémique : le sapin de Numidie (<i>Abies numidica</i>).	Sraidi, région d'Annaba (Algérie)	l'huile essentielle extraite des aiguilles	L'analyse GC-MS de l'huile essentielle extraite des aiguilles de sapin algérien et les résultats ont montré que cette huile est riche en acétate de bornyle, camphène, alpha-pinène et bêta-pinène.	(Tlili-Ait Kaki et al., 2013)
Les propriétés chimiques et antimicrobiennes de l'huile essentielle d' <i>A. numidica</i> , espèce endémique en Algérie.	Monts Babors, Sétif, Algérie.		L'huile essentielle avait une activité antibactérienne très efficace contre les souches examinées.	(Ramdani et al., 2014)

<p>Les activités antioxydantes et antimicrobiennes d'une plante endémique <i>Abies numidica</i> dans les montagnes de Babors en Algérie</p>	<p>Ichebilia, M'sila, Algeria.</p>	<p>les extraits méthanoliques bruts et l'huile essentielle des feuilles.</p>	<p>Les résultats ont indiqué que les extraits de méthanol brut et les huiles essentielles ont entraîné les activités antioxydantes les plus puissantes.</p>	<p>(Ghadbane et al., 2016)</p>
<p>Diterpènes abiétanes à partir des cônes d'<i>A.numidica</i> de Lannoy ex Carrière et évaluation de leurs propriétés antimicrobiennes <i>in-vitro</i>.</p>	<p>Constantine, algeria</p>	<p>L'extrait hydrométhanol-ique (huit diterpènes d'abiétane (1–8) des cônes d'<i>A. numidica</i>).</p>	<p>Il a démontré une activité antibactérienne contre <i>B. subtilis</i>, <i>E. faecalis</i>, <i>S. aureus</i> 8325-4, <i>S. aureus</i></p>	<p>(Belhadj Mostefa et al., 2017)</p>
<p>Analyse LC–MS/MS, activités antioxydantes et antibactériennes de la fraction d'acétate d'éthyle de sapin d'Algérie (<i>Abies numidica</i> de Lannoy ex Carrière) extraite des aiguilles.</p>	<p>Constantine, Algeria.</p>	<p>fraction acétate d'éthyle extrait des aiguilles</p>	<p>Les résultats ont montré que dans tous les tests, l'EAF a montré un effet antioxydant puissant et un fort effet inhibiteur contre toutes les souches bactériennes utilisées.</p>	<p>(Benouchenne et al., 2020)</p>

<p>Investigation phytochimique et évaluation des activités antioxydantes et antibactériennes de l'extrait d'<i>Abies</i> (<i>n</i>-butanol).</p>	<p>Constantine, Algeria.</p>	<p>l'extrait de <i>n</i>-butanol d'<i>A. numidica</i></p>	<p>Les résultats de l'activité antioxydante ont révélé que cette fraction a un pouvoir modéré.</p> <p>Les résultats de l'analyse par (LC-MS/MS) ont montré que les principaux composés présentés dans cet extrait étaient l'hyperoside, l'astragaline et la rutine.</p>	<p>(Benouchene et al., 2021)</p>
<p>Profile chimique par GC-MS et évaluation des activités biologiques <i>in vitro</i> d'une huile essentielle extraites des aiguilles d'<i>A. numidica</i> de Lannoy ex Carrière.</p>	<p>Constantine, Algeria.</p>	<p>l'huile essentielle obtenue à partir des feuilles de sapin d'Algérie</p>	<p>Les résultats ont montré que l'huile avait une faible capacité antioxydante.</p> <p>L'huile essentielle a montré une forte activité inhibitrice sur l'α-glucosidase mais une faible activité inhibitrice sur l'α-amylase et l'enzyme AChE.</p>	<p>(Benouchene et al., 2022)</p>



Chapitre 02 :
Métabolites secondaires des plantes

1. Métabolites secondaires des plantes

Un métabolite secondaire est une molécule qui ne fait pas partie des fonctions primaires des cellules comme le métabolisme, mais il a un rôle très important dans la protection, la reproduction...**(Epifano et al., 2007)**.

Les métabolites secondaires sont plus spécifiques aux plantes, aux bactéries et aux champignons. On les retrouve dans certaines sections et à certaines périodes de la vie de la plante. Contrairement aux métabolites primaires, ils ne participent pas directement au métabolisme. Ces composés proviennent parfois des mêmes voies de biosynthèse et certains, par ex. la chlorophylle et la lignine ont des fonctions importantes pour la croissance des plantes et pourraient le faire donc faire partie des principaux métabolites **(Labrani, 2001)**.

Les métabolites secondaires sont des groupes de molécules impliquées dans l'adaptation des plantes à l'environnement, la régulation de la symbiose et d'autres interactions plante-animal, la défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits **(Judd et al., 2002)**.

2. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont synthétisés par différentes parties de plantes, selon leurs rôles biologiques. Les principales familles de métabolites secondaires sont les polyphénols, les alcaloïdes, les terpénoïdes et les saponosides **(Crozier et al., 2006)**.

2.1. Polyphénols

Les polyphénols ont plusieurs groupes phénoliques avec ou sans autres fonctions (Alcool, acide carboxylique). Ils font partie de notre alimentation (légumes, fruits). Ces composés ont une grande variété de structures et sont classés comme suit: non flavonoïdes et flavonoïdes).

Toutes les classes de composés phénoliques présentent de nombreuses structures en fonction du nombre et de la position des groupes hydroxyles. Ces structures peuvent également être substituées de diverses manières (glycosylation, estérification, acylation, etc) **(Nsemi, 2010)**.

Ces composés jouent un rôle primordial contre plusieurs maladies, dont les maladies cardiovasculaires, l'hyperglycémie, l'hypercholestérolémie et l'hyperlipidémie. Plusieurs études épidémiologiques ont également montré ces effets bénéfiques potentiels contre la survenue de cancers et autres pathologies inflammatoires (Halevas et al., 2022).

2.1.1. Acides phénoliques

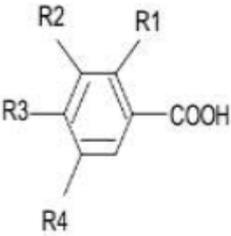
Il existe deux classes principales d'acides phénoliques; dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. Teneur en acide hydroxybenzoïque est généralement très faible dans les plantes comestibles. Ces dérivés sont assez rares dans l'alimentation humaine, par contre, les dérivés de l'acide hydroxycinnamique sont très abondants (Macheix et al., 2005).

2.1.1.1. Classification des acides phénoliques

A) Acides hydroxy-benzoïques

Sont des composés aromatiques dérivés de l'acide benzoïque et ont généralement une structure de base C₆-C₁ (Tableau 4).

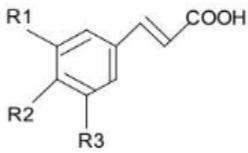
Tableau 4. Les principaux acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Structure	R1	R2	R3	R4	Acide phénolique
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p-hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH ₃	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	H	OH	H	OH	Acide gentisique

B) Acides hydroxycinnamiques

Les acides hydroxycinnamiques sont plus abondants que les acides hydroxybenzoïques. Ils sont principalement des composés d'acide *p*-coumarique, caféique, férulique et sinapique. L'acide caféique se combine avec l'acide quinine pour former l'acide chlorogénique, que l'on retrouve dans de très nombreux fruits et à forte concentration dans le café. Ils existent souvent liés à des molécules organiques (El Gharras, 2009). Ils ont une structure de base de type C6-C3 (Tableau 5).

Tableau 5. Principaux acides hydroxycinnamiques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Structure	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide <i>p</i> -coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH ₃	OH	H	Acide férulique
	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide sinapique

2.1.1.2. Les effets biologiques des acides phénoliques

Les acides phénoliques jouent un rôle très important dans la protection contre le stress oxydatif, qui provoque des pathologies dégénératives comme le cancer, les maladies cardiovasculaires, la maladie d'Alzheimer... (El-seedi et al., 2017). Ils ont également des effets biologiques bénéfiques, notamment : antioxydant, anticancéreux, anti-inflammatoire, cardioprotecteur... (Sova et Saso, 2020).

2.1.2. Stilbènes

Les stilbènes ont une structure en C6-C2-C6 : deux cycles benzéniques reliés par un pont éthylène. Il existe deux formes isomériques : (E)-1,2-diphényléthylène ((E)-stilbène) et (Z)-1,2-diphényléthylène ((Z)-stilbène) (**Figure 6**) (**Hart, 1981**).

Ils sont présents dans de nombreuses familles de plantes supérieures. L'unité de base des stilbènes est le (E)-3,5,4'-hydroxystilbène ou (E)-resvératrol (**Figure 6**). Les dérivés du resvératrol varient en fonction du nombre de groupements hydroxyle, des substitutions par les sucres, les groupements méthoxy, par la conformation (Z) ou (E) et par le degré d'oligomérisation, etc (**Arraki, 2014**).

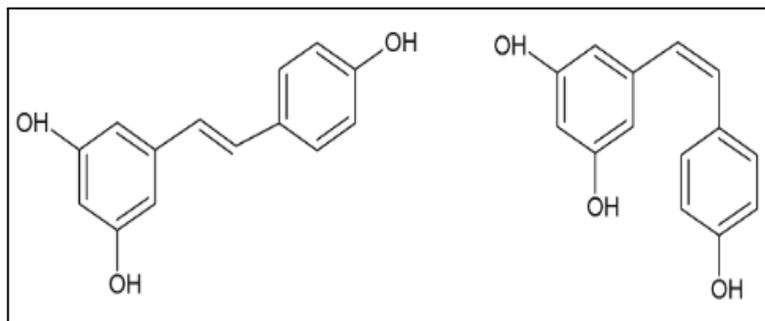


Figure 6. Structures chimiques des (E)- et (Z)-resvératrols (**Arraki, 2014**).

2.1.2.1. Les effets biologiques des stilbènes

Les stilbènes ont plusieurs effets biologiques qui peuvent être bénéfiques pour la santé et ont été d'un grand intérêt scientifique. Le resvératrol et ses dérivés sont des substances chimiopréventives, ils ont un éventuel effet antioxydant. Ces molécules ont des effets anticancéreux en agissant à différents niveaux et stades en inhibant l'activité de l'enzyme inflammatoire cyclooxygénase COX 2 (**Robb et Stuart, 2014 ; Simerol et al., 2016**). Ils ont également des effets neuroprotecteurs contre diverses pathologies neurodégénératives selon différents mécanismes. Ils réduisent la sécrétion de β A chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer en activant les protéasomes (**Richard et al., 2014**).

2.1.3. Coumarines

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés avec la structure de base de la benzo-2-pyrone. Ils ont été isolés pour la première fois par Vogel en 1820 à *Coumarouna*

odorata. Aujourd'hui, près de 1000 composés coumariniques ont été isolés de plus de 800 espèces végétales et micro-organismes. Chez les plantes, on les trouve dans les Apiaceae, les Astéracées, les Fabaceae, les Rosaceae, les Rubiaceae, les Rutaceae et les Solanaceae. Structurellement, elles sont classées en coumarines simples avec des substituants sur le cycle benzénique, furanocoumarines, pyranocoumarines, coumarines 3- et/ou 4-substituées. Le dernier groupe serait les dimères (Sakagami et al., 2005).

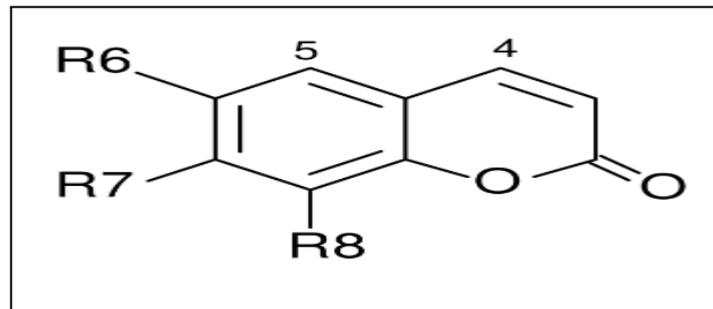


Figure 7. Structure des coumarines (Frihaoui et al., 2022).

2.1.3.1. Les effets biologiques des coumarines

Certains composés coumariniques ont une activité antimicrobienne, telle que l'activité inhibitrice de *Candida albicans*, il peut donc être utilisé pour traiter la candidose vaginale. De plus, les coumarines peuvent induire des macrophages, qui ont un effet négatif sur les infections bactériennes (Bor et al., 2016).

2.1.4. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des groupes de composés polyphénoliques, qui sont largement distribués dans les plantes. Ils sont présents sous forme de pigments végétaux dans de nombreux fruits et légumes et dans des boissons telles que le thé (Panche et al., 2016).

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires en C15, constitués de deux cycles aromatiques liés par un pont à trois carbones et une fonction éther à l'extrémité du pont (Figure 8). Ils peuvent être divisés en plusieurs classes de flavonoïdes tels que les dihydrochalcones, les chalcones, les flavanones, les isoflavanones et les aurones (Palma-Tenango, 2017).

À ce jour, plus de 9000 flavonoïdes ont été répertoriés et des milliers d'autres sont encore en cours de découverte car le squelette des flavonoïdes peut être remplacé par divers

groupes tels que les groupes hydroxy, méthoxy, méthyle, benzyle et isoprényle (Kueny-Stotz, 2008).

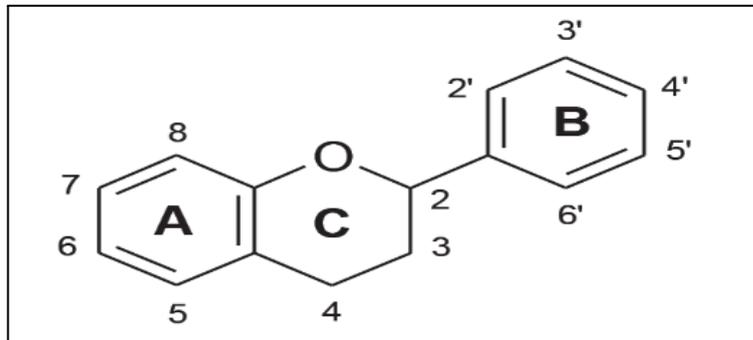


Figure 8. Structure chimique générale des flavonoïdes (Stalikas, 2007).

2.1.4.1. Classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont donc, en commun, une même structure, dont la nature du pont à 3 atomes de carbone et les multiples substitutions permettent de les diviser en plusieurs classes, ce qui est représenté par le **tableau 6** et la **figure (9)** (Nijveldt et al., 2001).

Tableau 6. Classe des flavonoïdes (Massimo et al., 2007).

Flavones	Flavonols	Flavonone	Isoflavones	Chalcones	Aurones
Apigénine Lutéoline	Kaempférol quercétine	Eriodictyol	Génistéine	Butéine Phlorétine	Sulfurétine

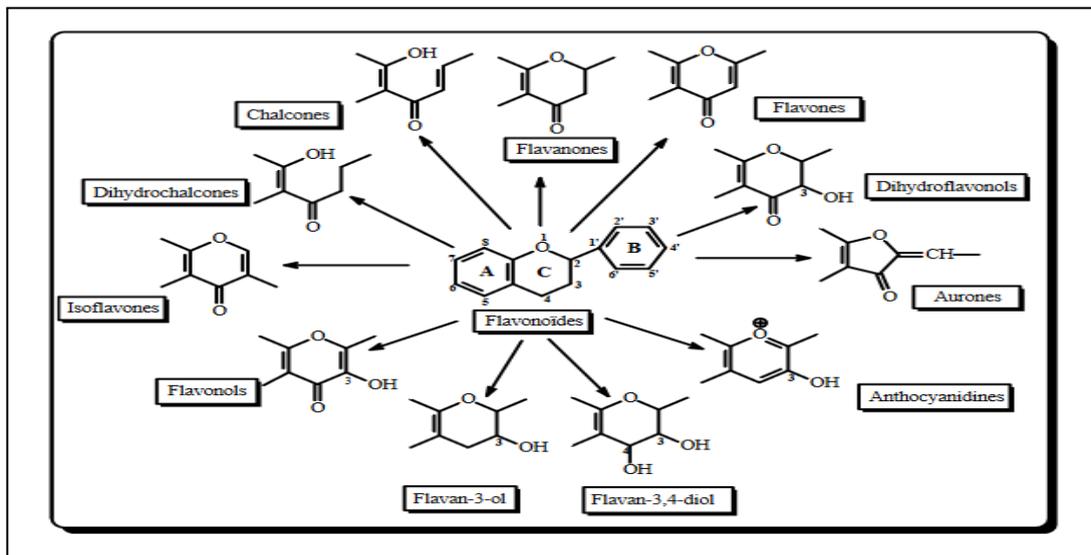


Figure 9. Représentation des principales classes et sous-groupes des flavonoïdes au niveau de l'hétérocycle C (Malešev et kunti, 2007).

2.1.4.2. Les effets biologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont un large éventail d'effets biologiques qui protège la santé humaine et aide à réduire le risque de maladie, ces fonctions incluent : activité antioxydante, effet hépato-protecteur, effet anti-inflammatoire, effets anticancéreux (Kumar et Pandey, 2013). Ils ont longtemps été utilisés pour lutter contre diverses maladies telles que le diabète. Cette activité pharmacologique est due à la présence de groupements hydroxyles dans leur structure polyphénolique (D'Amelia et al., 2018). Ainsi, les flavonoïdes ont des propriétés anti-radicalaires, chélatrices d'ions métalliques, des interactions avec des enzymes, des propriétés antibactériennes, antivirales et anti-allergiques (Russo, 2018).

2.1.5. Anthocyanes

Les anthocyanes (du grec anthos, fleur et kuanos, violet bleu) sont un terme général qui regroupe les anthocyanidines appartenant à la famille des flavonoïdes et tous leurs dérivés glycosylés. Les anthocyanes peuvent absorber la lumière visible à l'œil, montrant des plantes avec des pigments bleus, rouges, violets, roses ou orange.

Ces pigments hydrosolubles sont situés dans des vacuoles et des poches remplies d'eau dans les cellules épidermiques des plantes, et les anthocyanes sont responsables des couleurs

des fleurs et des fruits, ainsi que des tiges, des feuilles et des graines (**Arab et Demmouche, 2020**).

Leur structure de base est caractérisée par un noyau « flavone », généralement glycosylé en position C3. Les anthocyanes se distinguent par le degré d'hydroxylation et de méthylation, la nature, le nombre et la localisation des monosaccharides attachés à la molécule. L'aglycone ou l'anthocyanidine forme le groupe chromophore du pigment (**Hareb, 2020**).

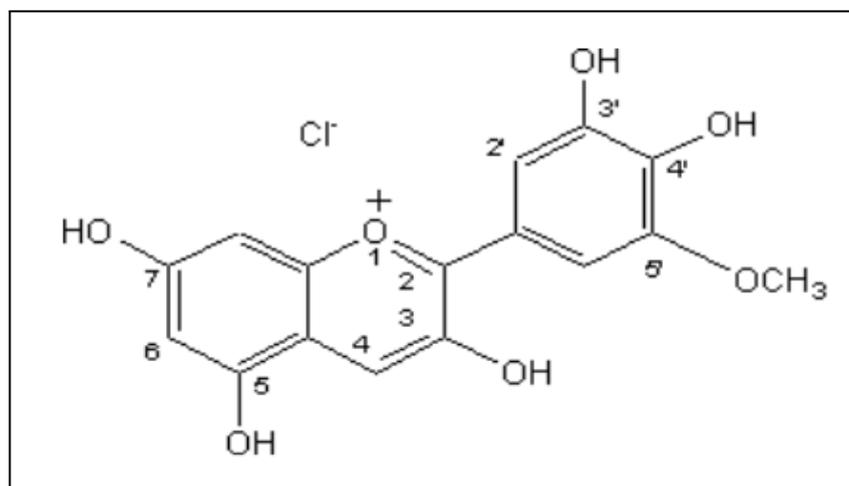


Figure 10. Structure des anthocyanes (**Arab et Demmouche, 2020**).

2.1.6. Tanins

Les tanins sont définis comme des composés phénoliques de haut poids moléculaire allant de 500 Da à plus de 3000 Da qu'ils ont trouvés dans les feuilles, l'écorce, les fruits, le bois et les racines des plantes situés essentiellement dans les vacuoles (**Hassanpour et al., 2011**).

2.1.6.1. Classification des tanins

A) Tanins hydrolysables

- **Les tanins galliques** : sont les tanins les plus simples contenant un résidu polyphénolique et un résidu de polyol, la plupart des tanins galliques isolés à partir

de plantes contiennent des résidus de polyol dérivé de D-glucose (**Santos-Buelga et Scalbert, 2000**).

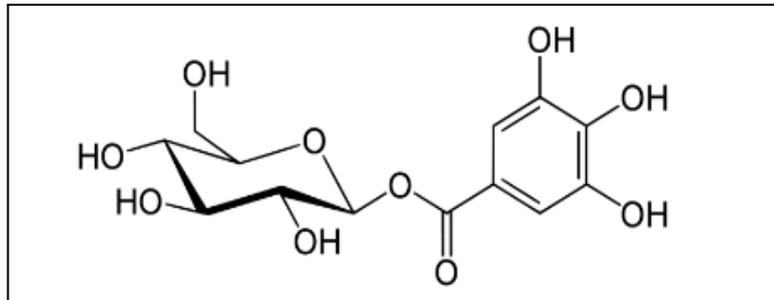


Figure 11. Structure de base des tanins galliques (**Khanbabaee, 2001**).

- **Les tanins ellagiques :** Ils sont formés à partir des tanins galliques par l'oxydation couplage d'au moins deux unités galloyl liés via le 4, 6 ou les positions 2, 3 de leur unité D-glucosyle (**O'Connell et al., 2001**).

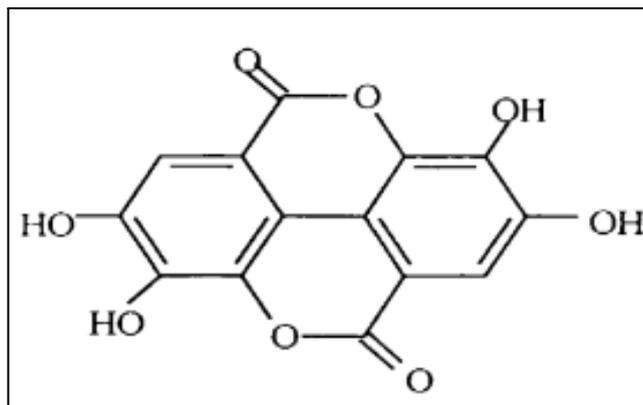


Figure 12. Structure de base d'acide ellagique (**Khanbabaee, 2001**).

B) Tanins condensés

Ils sont des proanthocyanidines oligomères et polymères constituées de flavan-3-ol couplés (catéchine) (proanthocyanidines oligomères ou polymères = proanthocyanidines condensées = tanins condensés (**Wollgast et Anklam, 2000**)).

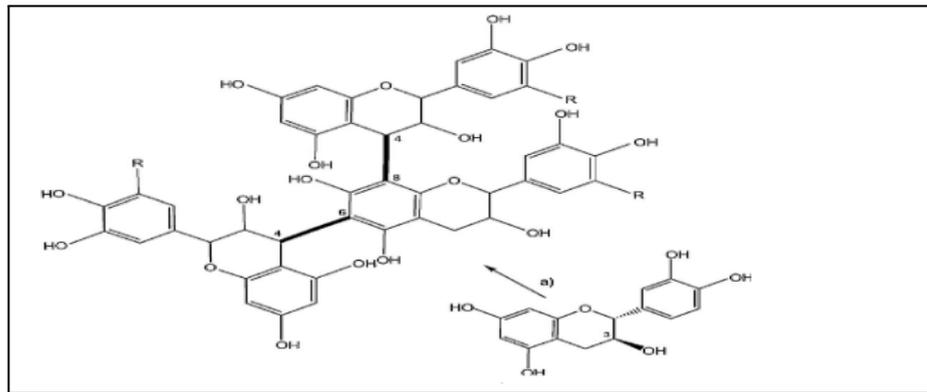


Figure 13. Structure de base des tanins condensés (Khanbabaee, 2001).

2.1.6.2. Activités biologiques des tanins

Les tanins possèdent plusieurs activités biologiques et pharmacologiques qui sont : l'activité antioxydante, anticancéreuse, antimicrobienne, cardio-protectrice et antidiabétique (Smeriglio et al., 2017). Ils ont aussi un effet anti diarrhée et antiseptique (Hassan et al., 2020).

2.2. Alcaloïdes

Le terme alcaloïde a été introduit par W. Meisner au début du 19^{ème} siècle fait référence à des substances naturelles qui réagissent comme des bases, telles que les, il suggère toujours que les alcaloïdes sont composés organiques d'origine naturelle, principalement végétale, contenant de l'azote, plus ou moins alcalin et avec des propriétés pharmacologiques importantes à petites doses. A forte dose ce sont des composés toxiques et il est parfois difficile de trouver des limites qui pour distinguer les alcaloïdes des autres métabolites azotés naturels (Bruneton, 2009).

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles rappelant les alcalis par leurs propriétés. Alcalis tire son origine de l'arabe al kaly, du eidos signifiant respectivement soude et aspect (Chenni, 2010).

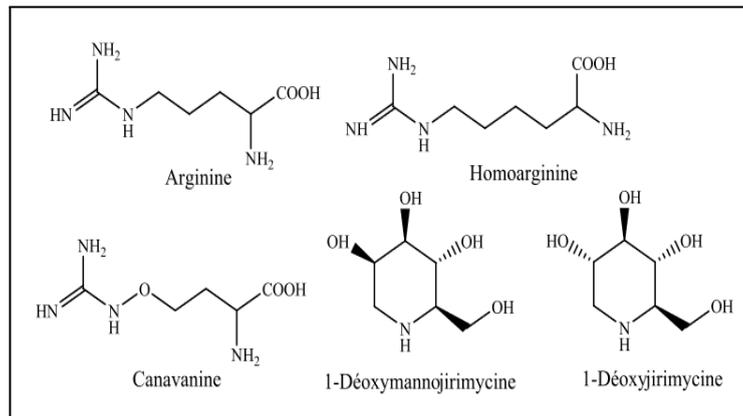


Figure 14. Exemple de structures alcaloïdiques (Stöckigt et al., 2002).

2.2.1. Les effets biologiques des alcaloïdes

Les plantes contenant des alcaloïdes comme la protoberbérine sont utilisées comme analgésiques, sédatifs (Bribi, 2018). Ces molécules ont également un potentiel antioxydant. Ils ont un rôle anti-inflammatoire. Plusieurs études ont rapporté que ces substances végétales ont des activités antimicrobiennes et antiparasitaires (Othman et al., 2019).

2.3. Terpènes

Les terpènes sont une classe d'hydrocarbures produits par de nombreuses plantes, surtout les conifères. Ce sont les principaux composants de la résine et son essence térébenthine à base de résine. Les terpènes sont des dérivés de l'isoprène C_5H_8 et leur formule de base est multiple dont $(C_5H_8)_n$. L'isoprène peut être considéré comme l'un des éléments constitutifs le préféré de la nature (Benabdelkader, 2012).

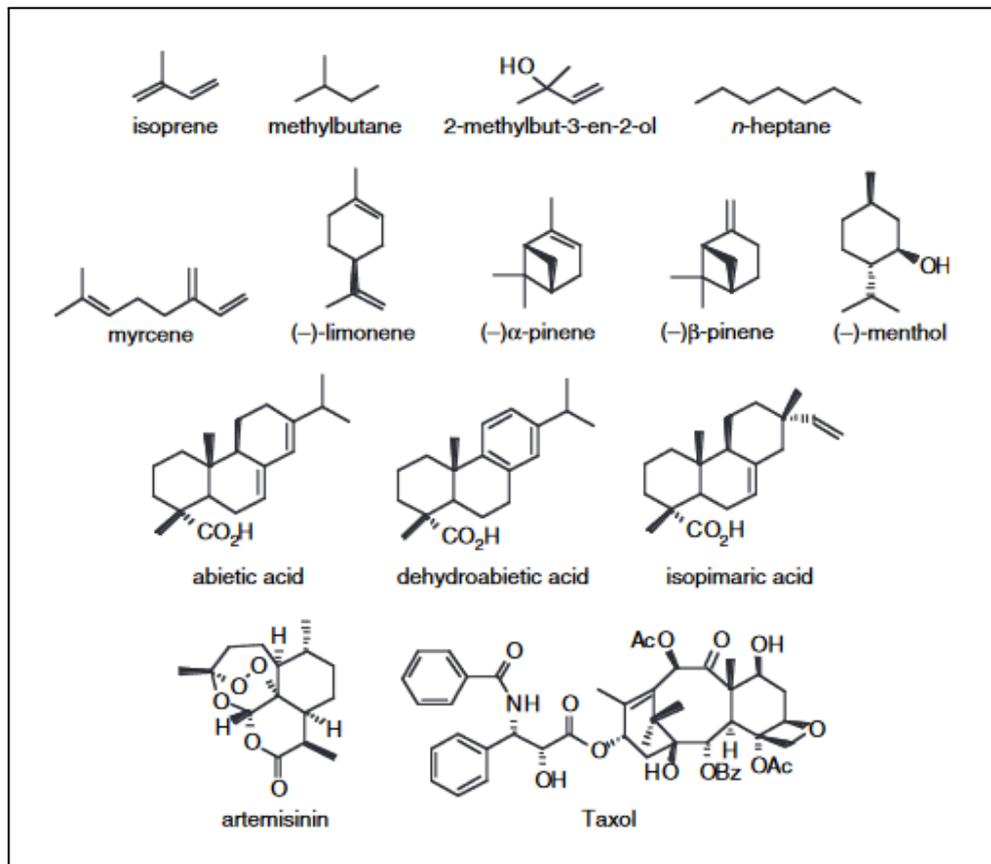


Figure 15. Structure des terpènes (Bohlmann et Keeling, 2008).

2.3.1. Les effets biologiques des terpènes

les terpènes ont plusieurs effets sur l'être-humain. Connus comme des huiles essentielles, ils s'utilisent actuellement pour l'aromathérapie. L'aromathérapie permet de ressentir des effets relaxants, stimulants ou aphrodisiaques sur les patients (Janoussi et al., 2005). En plus, parmi les effets biologiques des terpènes (antiseptique, antifongique, anti-inflammatoire, antibactérien, anxiolytique, antidépresseur, Bronchodilatateur) (Klaas et al., 2002).

2.4. Saponosides

Les saponines sont généralement connues comme des composés non-volatils, tensio-actifs qui sont principalement distribués dans le règne végétal (Vincken et al., 2007).

Le nom saponine vient du mot latin "sapo" qui signifie savon, car ils composés de mousse lorsqu'ils sont mélangés avec de l'eau.

Ils sont constitués d'aglycones non polaires attaché à un ou plusieurs sucres. Cette combinaison de blocs de construction polaires et non polaires explique leur mousse en solution aqueuse. Par définition, nous dirait que la saponine est un stéroïde ou un glycoside triterpénique. En gros nous faire la distinction entre les saponines stéroïdiennes et les saponines triterpéniques, toutes deux dérivées biosynthétique à partir d'oxyde de squalène (**Manach et al., 2004**).

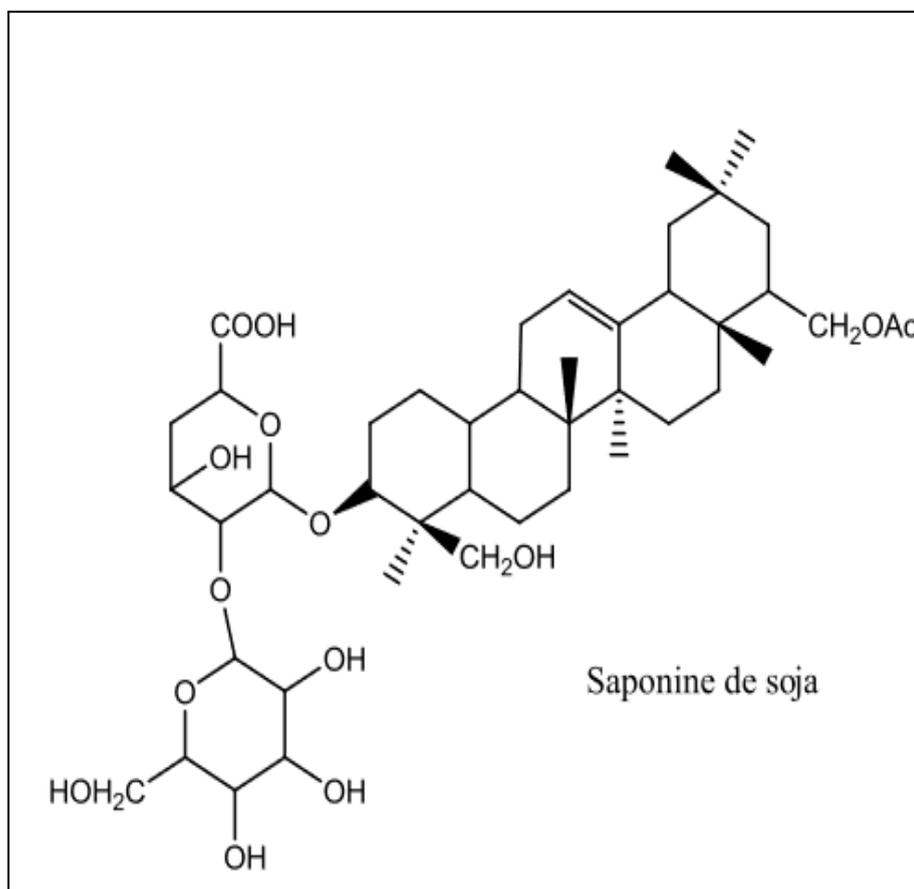


Figure 16. Saponine de soja est un exemple des saponines (**Muanda, 2010**).

2.4.1. Les effets biologiques des saponines

Les saponines possèdent un large éventail de propriétés biologiques et pharmacologiques, notamment des propriétés immunomodulatrices, elles influencent le système immunitaire par leur activité auxiliaire (**Bano et al., 2018**). Les saponines ont la capacité de faciliter l'absorption de nombreuses molécules différentes. Ils peuvent réduire le cholestérol dans le corps en empêchant son absorption dans l'intestin grêle. Ces molécules bioactives ont également des effets anticancéreux (**Abed El Aziz et al., 2019**).

3. Les métabolites secondaires identifiés dans les espèces d'*Abies*

Actuellement, des recherches scientifiques ont été dirigées vers les arbres forestiers, notamment le genre *Abies*, à l'égard de leur utilisation dans la médecine populaire. Le **tableau 7** représente quelques molécules bioactives extraites des différentes parties d'espèce *Abies numidica*.

Tableau 7. Les molécules bioactives extraites des différentes parties d'espèce *Abies numidica*.

Métabolites secondaires	Groupe	Molécules	Références
Terpènes	Di-terpènes	Abiétane	(Belhadj Mostefa et al., 2017)
	Sesquiterpènes	Caryophyllene, 2,2,6,10-Tetramethylbicyclo [5.4.0] undeca-9,11diene, β -silinène	(Benouchene et al., 2022)
		Monoterpènes	
			Bornyl acétate, camphène, α -pinène

		α -pinene, limonene, β -pinene, camphene, β phellandrene	(Ramdani et al., 2014)
Polyphénols	Flavonoles glycosides	Astragaline, hypéroside, quercitrine	(Benouchene et al., 2020)
	Flavones	Rutine, apigétrine, luteoline-7-glycoside- apigénine	(Benouchene et al., 2021)
	Flavanone	Hespéridine	
	Composés phénoliques	Acide chlorogénique, acide protocatéchique	



Partie Experimentale

Chapitre 1: Matériel et Méthodes

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologie Végétales (GBBV), Université Frères Mentouri Constantine 1 et à l'animalerie (Biologie animale).

1. Matériel végétal

Les aiguilles et les cônes du sapin de Numidie ont été récoltés le mois de Février 2023, au niveau de l'université des frères Mentouri Constantine 1 (**Figure 17**).

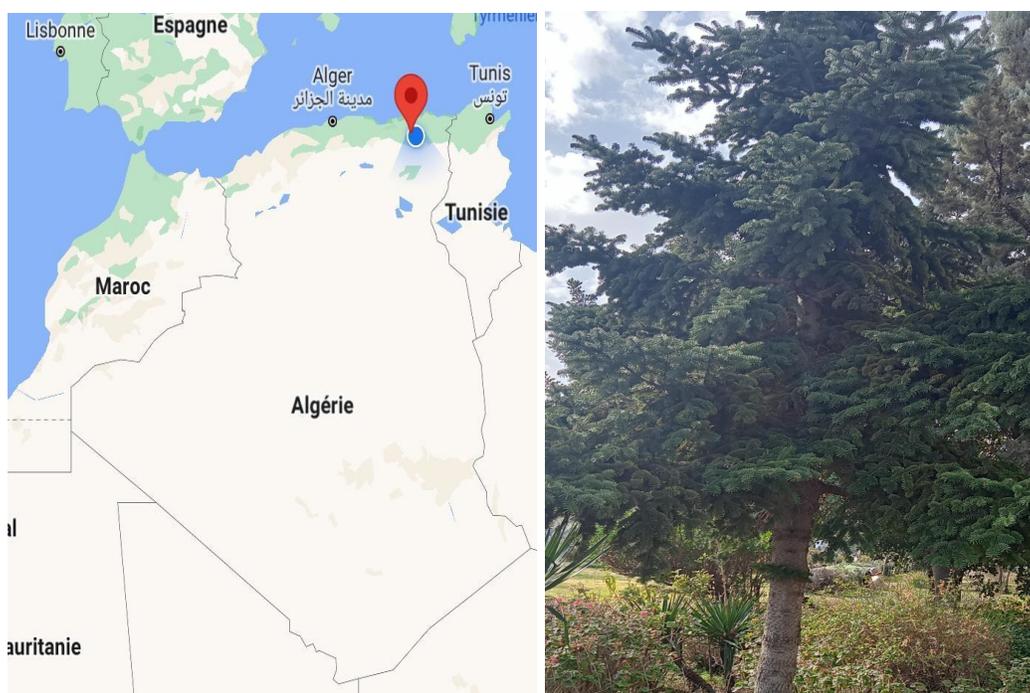


Figure 17. L'arbre d'*Abies numidica* dans la région de Constantine (photo originale).

2. Préparation du matériel végétale

Les feuilles et les cônes ont été séchés (**Figure 18**) dans un endroit sec et à l'abri de la lumière. Le matériel végétal une fois séché est broyées par un broyeur mécanique (Moulinex)

poudre obtenue (**Annexe 2**) a été soumise à une extraction afin de récupérer les différentes classes de composés chimiques contenus dans les feuilles et les cônes de la plante pour des tests phytochimiques et biologiques.



Figure 18. Aiguilles et cônes sèches de l'*Abies numidica*.

3. Extraction des métabolites secondaires

3.1. Extraction par macération

Les métabolites secondaires ont été extraits des feuilles et des cônes par macération à froid selon la méthode décrite par (**Boudjada et al ., 2018**), avec quelques modifications. Une quantité de 50 g de la plantes (aiguilles ou cônes) broyées a été macéré dans une solution hydro-méthanolique (80 % ; v/v) (**Annexe 3**) à une température ambiante sous agitation continue (**Annexe 4**) pendant 24 heures (**Figure 19**).

Après filtration (**Figure 20**), le méthanol est évaporé à sec dans un évaporateur sous pression type rotatif Buchi R-215 à 40 °C (**Annexe 5**). La macération a été répétée plusieurs fois pour extraire autant de métabolites secondaires que possible.



Figure 19. Agitation du macérât.



Figure 20. Le filtrat obtenu après macération des aiguilles de l'*Abies numidica*.

3.2. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = (M_{\text{extrait}} / M_{\text{échantillon}}) \times 100$$

- **R** : est le rendement en %.
- **M_{extrait}** : la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg.
- **M_{échantillon}** : la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

4. Évaluation de la toxicité des métabolites secondaires du sapin de Numidie (*in vivo*)

4.1. Toxicité des plantes médicinales

Les plantes contiennent des terpènes, des alcaloïdes, saponines et autres produits chimiques. Cela augmente le risque d'effets secondaires par les effets additifs ou synergiques des interactions chimiques (**Trevoux et al., 2000 ; Saad et al., 2006**).

4.2. Évaluation *in vivo* de la toxicité aiguë des extraits

La toxicité aiguë est la toxicité induite par une dose unique et massive d'un produit administré. Cette étude implique la détermination de la toxicité aiguë des cônes et des aiguilles d'*Abies numidica* administrées par gavage selon les lignes directrices de l'organisation de coopération financière et de développement pour l'essai de produits chimiques (**OCDE, 2001**).

4.2.1. Les animaux

Les Animaux utilisés dans cette partie de l'évaluation de la toxicité aiguë des extraits sont des souris SWISS albinos, mâles et femelles, âgées de 8 à 10 semaines, pesant 20 à 40 g (**Annexe 6**).

Dans les laboratoires, les chercheurs utilisent des souris pour tester sur elles des traitements, car ces rongeurs ont 90% de leurs gènes en commun avec l'espèce humaine. Ces animaux peuvent par exemple souffrir d'obésité, de stress ou plus généralement d'autres maladies qui observées chez l'homme.

Tous les animaux sont manipulés et traités selon les normes décrites dans le document de la ligne directrice 423 de l'OCDE. La nourriture et l'eau du robinet sont offertes à l'animal ad libitum.

Dans cette expérience, des souris reçoivent de la nourriture sous forme de croquettes (**Annexe 7**), qui la composition est la suivante : 14 % d'humidité, 49,5 % de glucides, 14 % de protéines brutes, 3,5 % de matières grasses, 5 % de cendres et 1 % de complexe minéralo-vitaminique (**Figure21**).



Figure 21. Photographie des animaux.

4.2.2. Etude de la toxicité aiguë des extraits des feuilles d'*A. numidica* chez les souris

La toxicité aiguë des extraits de feuilles et de cônes d'*A. numidica* a été testée chez des souris réparties en trois groupes ($n = 3$) (**Annexe 8**), chaque groupe recevant une dose orale unique de l'extrait à une concentration de 2 000 mg/kg de poids corporel (**Annexe 9**) à l'aide d'une sonde intragastrique (**Figure22**) (**tableau 8**).

Les souris ont été mises à jeun pendant 16 h avant le test avec accès à eau. L'administration a été faite par gavage, après 3-4 heures de jeûne (pas d'accès à eau).

a) Enregistrement des performances

Après administration des extraits, les animaux ont été d'abord mis en observation pendant quelques heures (pour noter les cas de morts immédiates).

L'observation a continué jusqu'à deux semaines pour déceler les effets tardifs du traitement (les modifications comportementales des animaux ou les signes de toxicité comprennent les tremblements, la somnolence, la douleur, les changements de la peau, convulsions, sédation, masse, toilettage, respiration, apparence fécale, la mobilité ainsi que les décès ont été enregistrés).

b) Changement du poids: les pesées des souris ont été effectuées individuellement sur les animaux sans mise à jeun et les poids moyens ont été calculés (**Annexe 10**).

- c) **Le taux de mortalité:** les mortalités ont été relevées tous les jours au niveau de chaque lot durant toute la durée de l'élevage.



Figure 22. Administration des extraits par gavage.

Un groupe (n=3) a été utilisé comme témoin, qui a reçu 10 ml/kg (p.c) d'eau physiologique (0,9%) (**Annexe 11**).

Tableau 8. Etude de la toxicité aiguë des extraits d'*A. numidica* chez les souris

Extraits	MEF et MEC
Doses (mg/kg p.c)	2000mg/kg
Voie d'administration	Orale
Paramètres déterminés chez les souris	- Signes de toxicité - Mort
Analyses	- Biochimiques - Histologiques

MEF: extrait hydrométhanlique des feuilles; **MEC:** extrait hydrométhanlique des cônes

Après 14^{ème} jour, les comportements des souris ont été enregistrés. La dissection est effectuée (**Figure 23**). Des analyses biochimiques et histologiques ont été également réalisées.

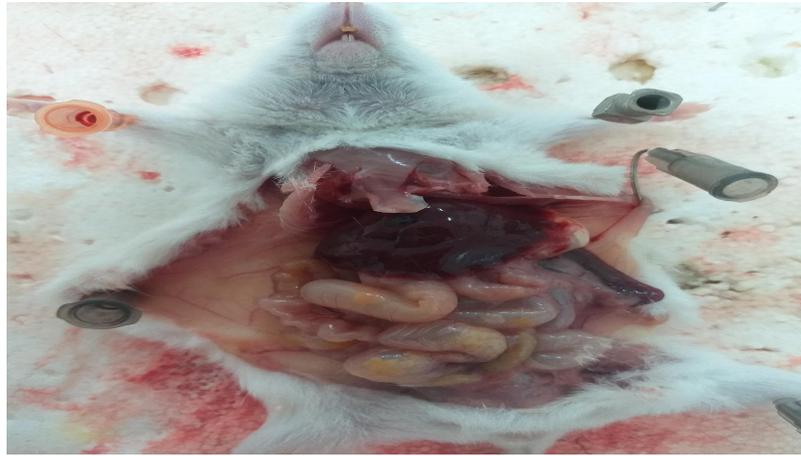


Figure 23. Les souris après dissection.

d) Analyses biochimiques

Après un prélèvement par ponction cardiaque (**Annexe 12**), et afin d'évaluer l'effet de l'administration de nos extraits sur le métabolisme hépatique et rénale du souris, il nous a paru utile d'évaluer les paramètres sériques suivants : (ASAT, ALAT, Triglycérides, Cholestérol total, Créatinine sanguine, Urée, Glycémie, HDL).

e) Étude histologique

Les différentes étapes de la préparation des blocs de paraffine sont résumées ci-dessous.

- **Fixation**

Les organes prélevés ont été immédiatement fixés dans le formol (10 %) (**Annexe 13**) (**Figure 24**). Après fixation, les organes ont été sciés en petits morceaux puis placés dans des cassettes avant d'être déterminée.



Figure 24. Fixation des organes dans le formol.

- **Déshydratation**

Le trempage dans la paraffine (milieu hydrophobe) nécessite au préalable déshydratation des échantillons histologiques. L'éthanol est l'agent déshydratant le plus couramment utilisé. Il assure une bonne conservation des structures cellulaires. Cette étape se fait dans des bains d'alcool à degré croissant (60°, 70°, 90°, 95°, absolue (deux fois)) pendant une heure pour chaque bain.

- **Eclaircissement**

Cette étape permet d'éliminer complètement les traces d'alcool et de le remplacer par un produit miscible à la paraffine, en particulier le solvant organique le plus utilisé, le xylène qui est un excellent agent. Deux bains en 1 heure chacun effectués.

- **Imprégnation**

Le but de l'imprégnation est de bien remplir toutes les cavités tissulaires, de créer un consistance uniforme et de fournir un support interne solide pour le motif. Cela évitera les déchirures des coupes seront faites par un microtome.

La paraffine a été utilisée comme milieu d'imprégnation, deux plateaux ont été préparés, la paraffine est fondue dans un four (étuve) à 56°C. Les cassettes préparées sont placées dans

premier réservoir (bac) pendant 1 heure, deuxième réservoir pendant 12 heures. Cette étape permet d'éliminer complètement les traces de xylène.

- **Confection des blocs (enrobage à la paraffine)**

Le bloc de paraffine est constitué d'une petite tasse (cupule) en acier inoxydable (moule) dans lequel le tissu est inséré au centre du moule, après avoir placé une fine couche paraffine fondue dans ce dernier.

- La cassette de montage est posée sur l'échantillon dans le moule puis entièrement recouverte par paraffine fondue à l'aide d'un distributeur automatique de paraffine sur cassette.

- Après refroidissement complet, le bloc de paraffine est démoulé. Les médias intégrés sont similaire à celui utilisé pour l'imprégnation des tissus (**Annexe 14**).

- **Les coupes histologiques, la coloration, et l'observation**

Des coupes histologiques ont été réalisées dans un laboratoire d'analyses médicales NIHA à Annaba, utilisant un microtome. Le diamètre de la coupe est de 0,4 m.

L'éosine et l'hématoxyline ont été utilisées pour la coloration. La coloration Permet d'identifier différents tissus et structures (coloration topographique) ainsi que leur nature (coloration chimique). Comme les colorants sont en solution aqueuse, les coupes doivent d'abord être réhydratées. Ceci se fait après déparaffinage des coupes (par chauffage et bain de solvants organiques) en plongeant les lames dans un bain d'alcool à température décroissante (100° - 90° - 70°) et enfin trempées dans de l'eau distillée (**Annexe 15, 16**).



Discussion générale

1. Résultats

1.1. Extraction des métabolites secondaires

Le rendement en extrait hydro-méthanoliques brut était de 6,56 % et 5,5% pour les extraits MEF et MEC ; respectivement en utilisant la formule précédente.

1.2. Etude *in vivo* de la toxicité des extraits MEF et MEC d'*A. numidica* chez les souris

1.2.1. Comportement et signes de toxicité

Le **tableau 9** présente les différents comportements observés après administration orale de 2000 mg/kg des extraits de MEF et MEC d'*A.numidica*.

Le comportement des souris traitées a été enregistré pendant 14 jours de traitement par les extraits MEF et MEC. Les résultats ont montré que certains signes de toxicité, comportement anormal (déséquilibre dans le poids des souris à partir des 48 heures, diminution de la consommation d'eau et l'aliment, changement de la peau étaient observés à cette concentration (2000 mg/kg).

Tableau 9. Comportements des souris contrôles et traitées par 2000 mg/kg des extraits MEF et MEC.

Observation	30min		4h		1j		2j		7j		14jrs	
	Sc	St	Sc	St	Sc	St	Sc	St	Sc	St	Sc	St
Poids	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
Consommation aliment	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
Respiration	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tremblements	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Douleurs	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Convulsions	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Changement de la peau	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
Somnolence	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Sédation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Coma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mortalité	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sc : Souris contrôle ; St : Souris traitées ; (-) : pas de changement ; (+) : il ya un changement

1. 2.2. Changement du poids

Le **tableau 10** montre les poids corporels des souris témoins ayant reçu une solution saline physiologique et des souris traitées avec des extraits de MEF et de MEC. D'après les résultats, nous avons remarqué un changement significatif dans le poids des souris.

Premièrement, chez les souris traitées par l'extrait des feuilles MEF, on note un déséquilibre dans le poids, diminution des poids entre le premier et le septième jour (de $26,67 \pm 1,25$ g à $25,67 \pm 1,25$ g). Et après, il ya une augmentation des poids entre le septième et le quatorzième jour (de $25,67 \pm 1,25$ g à $29,00 \pm 1,63$ g).

Deuxièmement, chez les souris traitées par l'extrait des cônes MEC, nous avons remarqué la même remarque pour les autres souris traitées. Une diminution des poids dans la première semaine (de $21,67 \pm 1,69$ g à $20,67 \pm 1,69$ g). Par contre dans la deuxième semaine nous avons observé une augmentation (de $20,67 \pm 1,69$ g à $23,00 \pm 1,41$ g).

Tableau 10. Effet des extraits MEF et MEC sur le poids des souris dans le test de la toxicité aigüe.

Groupes	Poids corporels (g)		
	Première jour	Septième jour	Quatorzième jour
Contrôle	$39 \pm 0,81$	$39,33 \pm 1,29$	$39,66 \pm 2,00$
MEF (2000 mg/Kg)	$26,67 \pm 1,25$	$25,67 \pm 1,25$	$29,00 \pm 1,63$
MEc (2000 mg/ kg)	$21,67 \pm 1,69$	$20,67 \pm 1,69$	$23,00 \pm 1,41$

1.2.3. Analyses biochimiques

Le profil sanguin est un indice important de l'état physiologique des animaux (**Khan et Zafar, 2005**). Ainsi, le sang fournit beaucoup de renseignements sur leur état nutritionnel à long terme (**Aderemi, 2004**). Cependant, les composantes biochimiques et hématologiques du sang varient en fonction de certaines conditions telles que le stress, les infections et la toxicité (**Khan et Zafar, 2005**).

a) Effet de les extraits MEF et MEC sur les fonctions rénales

Les analyses biochimiques sont des indicateurs important pour l'évaluation de la fonction rénale car la moindre perturbation des fonctions rénales se révèlent par une augmentation de la créatinine et l'urée.

Le **tableau 11** affiche le taux de la créatinine et de l'urée des souris après un traitement par 2000 mg/kg des extraits MEF et MEC d'*A. numidica* de Lannoy.

D'après les résultats, on note une augmentation significative de la créatinine dans le sérum des souris traitées par MEF à 4,5 mg/L, et à 3,7 mg/L chez des souris traitées par le MEC, par contre le taux de la créatinine chez les souris contrôles est de 1,40 mg/kg.

Ainsi, on note aussi une diminution significative de l'urée dans le sérum des souris traitées par MEF à 0,69 g/L, et à 0,51 g/L chez des souris traitées par le MEC, par contre le taux d'urée chez les souris contrôles est de 0,77 mg/kg.

Tableau 11. Effet des extraits MEF et MEC sur la fonction rénale des souris traitées (2000mg/kg).

Paramètre	Unité	Contrôle	MEF (2000 mg/kg)	MEC (2000 mg/kg)
Créatinine	mg/L	1,40	4,5	3,7
Urée	g/L	0,77	0,69	0,51

b) Effet des extraits MEF et MEC sur les fonctions hépatiques

Les tests de la fonction hépatique comprennent les tests utilisés pour détecter, diagnostiquer ou surveiller certaines conditions, telles que l'hépatite et les dommages causés par des infections ou des toxines.

Une grande partie de composés toxiques y compris les métabolites secondaires des plantes médicinales, s'accumulent dans le foie où ils sont détoxifiés (**Reichl, 2004**). Les enzymes transaminases (TGO, TGP) sont considérées comme indicateurs de la fonction hépatique.

Les résultats obtenus à partir de l'analyse biochimique des paramètres hépatiques résumés dans le **tableau 12** ont montré une augmentation significative d'ASAT des souris traitées par MEF à 93,8 UI/L, et à 193,2 UI/L chez des souris traitées par le MEC, par contre le taux d'ASAT chez les souris contrôles est de 58,3 UI/L.

Ainsi, on note aussi une augmentation importante d'ALAT dans le sérum des souris traitées par MEF à 121,5 UI/L, et à 67,7 UI/L chez des souris traitées par le MEC, par contre le taux d'ALAT chez les souris contrôles est de 39 UI/L.

Tableau 12. Effet des extraits MEF et MEC sur les paramètres hépatiques des souris dans le test de la toxicité aiguë.

Paramètre	Unité	Contrôle	MEF (2000 mg/Kg)	MEC (2000 mg/kg)
ASAT	UI/L	58,3	93,8	193,2
ALAT	UI/L	39	121,5*	67,7

ALAT/TGP: Alanine aminotransférase ; ASAT/TGO : aspartate aminotransférase

c) Effet des extraits MEF et MEC sur le bilan lipidique

Le bilan lipidique est un bilan sanguin permettant de mesurer les lipides dans le sang : le cholestérol (cholestérol total, LDL considéré comme le "mauvais cholestérol" et HDL /pour high density lipoproteins ou lipoprotéines de haute densité). Ces dernières interviennent notamment pour décharger les vaisseaux sanguins des amas de cholestérol susceptibles de s'y accumuler, et les triglycérides qui représentent les graisses sucrées.

Le **tableau 13** présente les résultats du profil lipidique, trois paramètres ont été estimés : les triglycérides, le cholestérol total et les HDL. Nos résultats ont montré une modification significative des paramètres lipidiques après traitement avec les deux extraits, une augmentation

des triglycérides chez les souris traitées (1,64 g/L chez les souris d'extrait MEF et 1,51 g/L chez les souris d'extrait MEC). Par rapport au taux des triglycérides des souris témoins est 1,23 g/L. Ainsi, nous avons remarqué une diminution de taux de cholestérol chez les souris traitées (0,40 g/L chez les souris d'extrait MEF et 0,61 g/L chez les souris d'extrait MEC). Par contre les souris contrôles son taux de cholestérol est 1,15 g/L.

De plus, d'après nos résultats, il semble qu'il s'agit une diminution significative dans le taux d'HDL des souris traitées (0,58 mmol/L chez les souris traitées par le MEF et 0,82 mmol/L chez les souris traitées par le MEC). Par rapport au taux des HDL des souris témoins est 1,37 mmol/L.

Tableau 13. Effet des extraits MEF et MEC sur les paramètres lipidiques des souris dans le test de la toxicité aiguë.

Paramètre	Unité	Contrôles	MEF (2000 mg/kg)	MEC (2000 mg/kg)
Triglycérides	g/L	1,23	1,64	1,51
Cholestérol	g/L	1,15	0,40	0,61
HDL	mmol/L	1,37	0,58	0,82

d) Effet des extraits MEF et MEC sur la glycémie

La glycémie, c'est la teneur en sucre ou taux de glucose dans le sang. Ce sucre a une importance pour le bon fonctionnement de l'organisme, puisque les cellules du corps humain en ont besoin pour produire de l'énergie par l'effet de transformation du glucose en glycogène.

Le **tableau 14** affiche le taux de la glycémie (appelée aussi "taux de sucre" ou "taux de glucose" dans le sang) des souris après le traitement par les extraits des cônes et des aiguilles d'*Abies numidica*. D'après les résultats on note une augmentation significative de la glycémie

(5,24 mg/dL chez les souris traitées par le MEF et 1,38 mg/dL chez les souris traitées par le MEC). Par rapport au taux de glycémie des souris témoins est à 0,39 mg/dL.

Tableau 14. Effet des extraits MEF et MEC sur la glycémie des souris traitées (2000mg/kg).

Paramètre	Unité	Contrôles	MEF (2000 mg/kg)	MEC (2000 mg/kg)
Glycémie	mg/dL	0,39	5,24	1,38

1.2.4. Effet des extraits MEF et MEC sur les organes

a) Observation macroscopique

L'œil nu est une expression qui désigne la perception visuelle humaine sans aide technique. À partir de ça, nous avons observé un gonflement des poumons et aussi des troubles digestifs (un gonflement et une rougeur d'intestins grêle) chez les souris traitées (**figure 25, 26**). Par contre n'existe pas des symptômes dans les organes témoins.



Figure 25. Gonflement des poumons (photo originale).

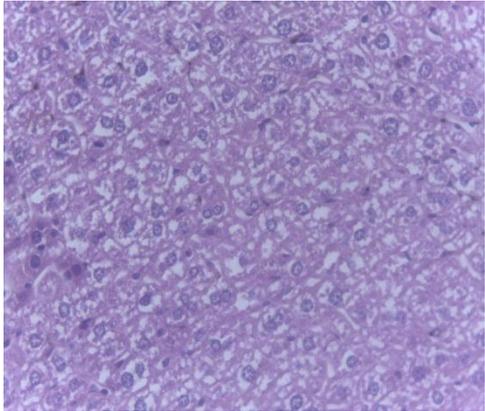
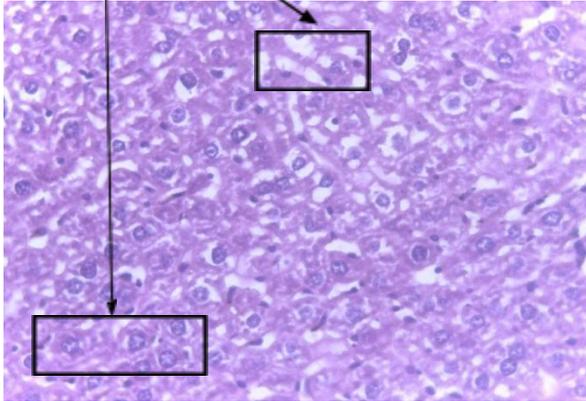


Figure 26. Gonflement et rougeur d'intestins grêles (photo originale).

b) Étude histologique des organes

Les résultats obtenus à partir des coupes histologiques d'organes après traitement avec les extraits MEF et MEC et de souris témoins sont présentés dans les tableaux 15 et 16 suivants:

Tableau 15. Coupes histologiques des organes après un traitement par MEC et le témoin (GX400).

Organes	Souris temoins	Souris Traitées	Observations
Foie			<p>a) Congestion vasculaire</p> <p>b) Nécrose Centro-lobulaire</p>

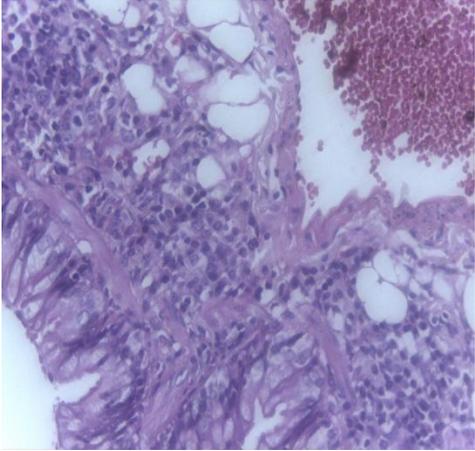
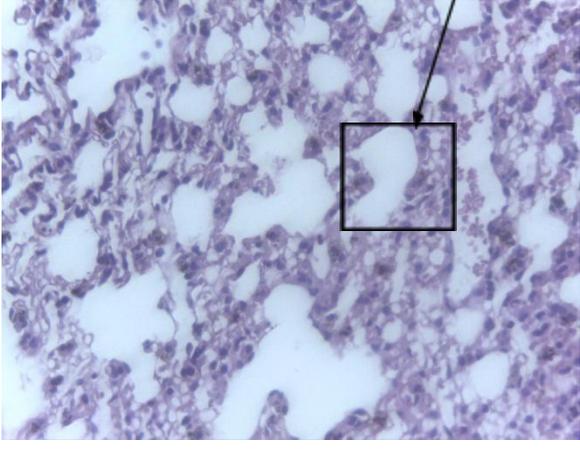
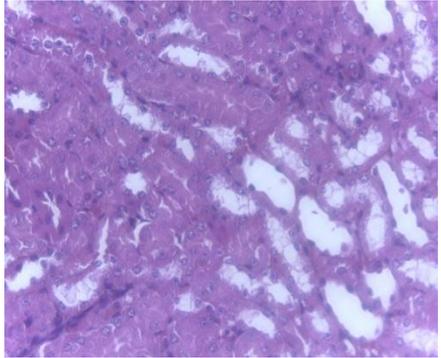
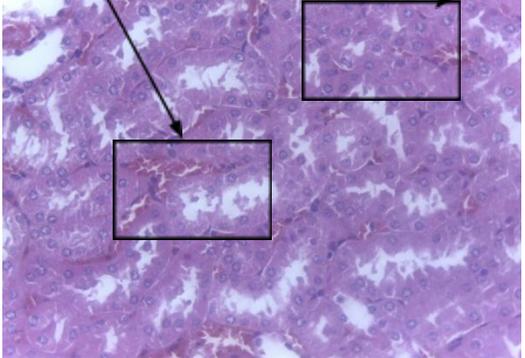
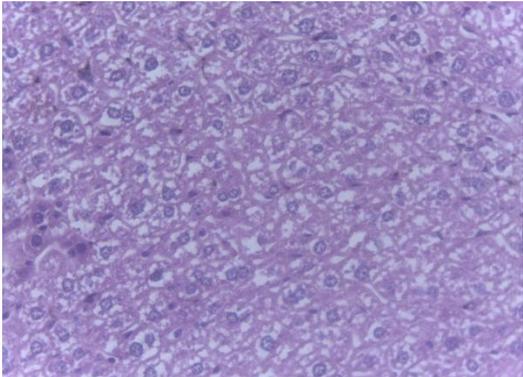
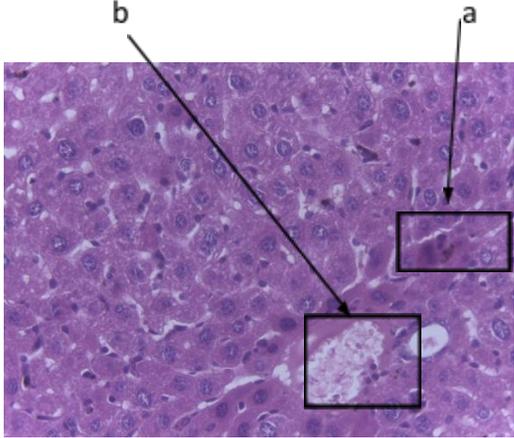
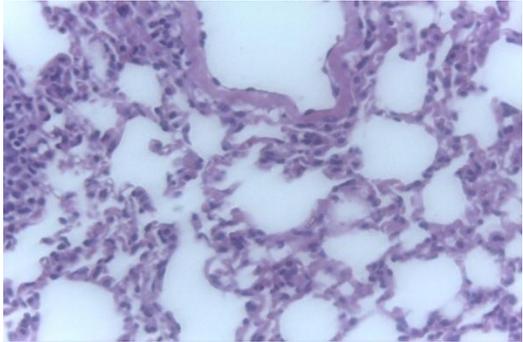
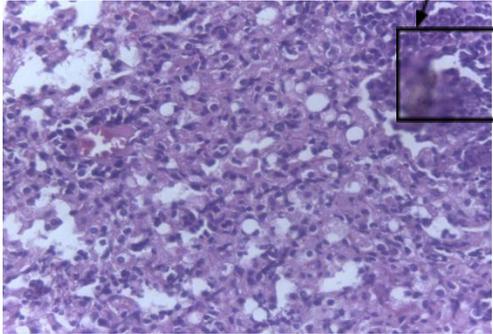
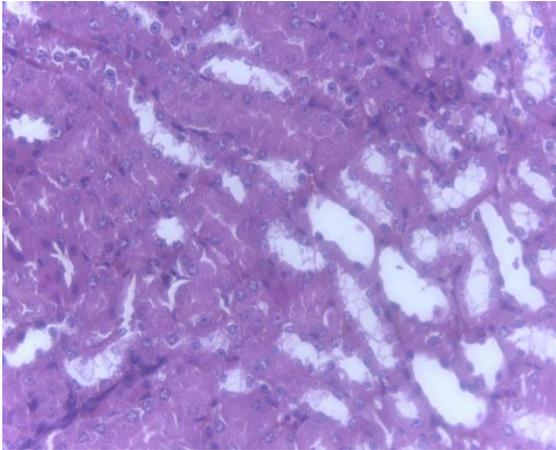
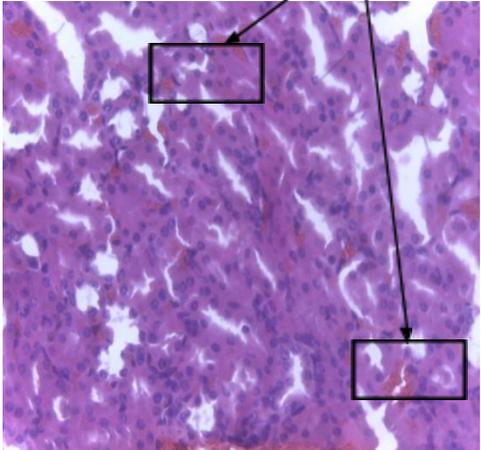
<p>Poumons</p>		 <p style="text-align: center;">a b</p>	<ul style="list-style-type: none"> · Congestion Vasculaire
<p>Reins</p>			<ul style="list-style-type: none"> a) Infiltration des cellules inflammatoires b) Dégénérescence cellulaire

Tableau 16. Coupes histologiques des organes des souris après un traitement par MEF et le témoin (GX400).

Organes	Souris témoins	Souris traitées (MEF)	Observations
Foie			<p>a) Infiltration des cellules inflammatoires</p> <p>b) Foyer polynucléaire</p>

<p>Poumons</p>			<p>a) Amas polynucléaire</p>
<p>Reins</p>			<p>a) Infiltration des cellules inflammatoires</p>

2. Discussion

Les vertus thérapeutiques des plantes médicinales sont connues depuis l'Antiquité, cependant, l'intérêt pour l'étude scientifique de leur puissance n'a été développé que ces dernières années. Les plantes médicinales sont un réservoir varié et diversifié des molécules bioactives qui ont un intérêt biologique et thérapeutique très intéressant.

Afin d'évaluer les activités biologiques des plantes, une méthode d'extraction doit être impliquée d'où le rendement d'extraction des métabolites secondaires à partir des différentes parties des plantes est affecté par plusieurs facteurs. Nous proposons que la variation du rendement d'extraction peut être le résultat de différents facteurs impliqués tels que les facteurs génétiques, l'environnement, partie de plante utilisée, les méthodes et le temps d'extraction **(Figueredo et al., 2008 ; Tlili Ait-Kaki et al., 2013)**.

La toxicologie étudie les effets nocifs des substances chimiques sur les organismes vivants. Elle fait appel à une multitude de connaissances scientifiques et s'intéresse à plusieurs secteurs de l'activité humaine : l'agriculture, l'alimentation, l'industrie pharmaceutique, l'environnement, etc. **(Gilles, 2004)**.

La toxicité orale aiguë se manifeste rapidement, voire immédiatement, après une prise unique ou à court terme après plusieurs prises rapprochées. C'est l'étude qualitative et quantitative des phénomènes toxiques qu'il est possible de rencontrer après administration unique de la ou des substances actives contenues dans le médicament **(Ruckebusch, 1981)**.

Le terme toxicité orale aiguë est plus souvent utilisé en liaison avec les déterminations de la létalité et de la DL50. La DL50 est définie comme la dose déterminée statistiquement qui, lorsqu'elle est administrée dans un test de toxicité aiguë, est susceptible de causer la mort de 50% des animaux traités sur une période donnée **(Oliver, 1986)**.

L'étude de la toxicité aiguë permet de représenter une dose susceptible de tuer des souris en tant que de besoin, la moitié des animaux testés dans la même espèce animale (DL50) et pendant une durée générale est courte, fixée à au moins sept jours et au plus, quatorze jours ainsi que la dose maximale non toxique (DME), c'est-à-dire la dose la plus élevée pour laquelle aucun

effet toxique n'a été observé par rapport au groupe témoin. La toxicité aiguë est la première étape qui doit être testée sur un produit, si on connaît peu d'information sur sa toxicité. La détermination de la DL50 en plus de l'enregistrement du comportement général des animaux constituent l'un des paramètres critiques pour l'évaluation des premiers signes de toxicité (**Lima et al., 2016**).

La présente étude illustre que la gestion orale de 2000 mg/kg des extraits de *A. numidica* a montré un effet significatif sur le poids corporel et sur la consommation alimentaire et la DL50 est supérieur à 2000 mg/kg.

Pour compléter cette étude, les paramètres hépatiques (ALAT et ASAT), les paramètres lipidiques (triglycérides, HDL et cholestérol), et les paramètres rénaux (créatinine et urée) ont été évalués. Les résultats montrent une augmentation significative des concentrations des enzymes hépatiques, notamment ASAT et ALAT. Les extraits ont également affecté la concentration de la créatinine. L'endommagement des cellules hépatiques accroît la perméabilité des membranes cellulaires, cela se traduit par une libération élevée des aminotransférases dans le sérum (**Saleem et al., 2016**). Le taux des transaminases est augmenté lors d'une cholestase ou d'une atteinte osseuse. La cholestase peut être intra-hépatique (stéatose, cirrhose) ou bien extra-hépatique (lithiase ou bien obstruction biliaire), cela signifie une destruction au niveau des reins (**Ogbonnia et al., 2010**). Nos résultats sont en accord avec ceux qui ont été rapporté par **Benouchene et al., 2022**. Cette étude a été faite pour tester l'effet toxique des extraits d'acétate d'éthyle et *n*-butanol extraits des aiguilles d'*A. numidica* de Lannoy. Ces anomalies dans les organes pourraient être due à la présence des molécules toxiques dans les extraits d'*A. numidica* qui ont été administrés aux souris.



Conclusion générale et perspectives

Au terme de cette recherche, il convient de rappeler de façon synthétique les principales conclusions auxquelles nous avons abouti. Il existe à ce jour de nombreux ouvrages décrivant la toxicité des plantes (espèces cibles, doses toxiques, traitements). En revanche, aucun outil ne permet actuellement de déterminer ces végétaux de manière simple et efficace.

Les plantes synthétisent, parmi d'autres stratégies de défense, une large gamme de toxines issues du métabolisme secondaire. Ces composés chimiques pouvant conférer à la plante des propriétés toxiques à fortes doses. L'évaluation de la toxicité générale aiguë de l'extrait est nécessaire pour situer les limites de tolérance de la plante et éviter les effets indésirables, au même temps pour rechercher de nouvelles molécules bénéfiques pour le traitement, Ce travail vise à contribuer à évaluer la toxicité de l'espèce *Abies numidica* de Lannoy ex Carrière de la famille des Pinaceae.

L'objectif de notre travail était d'évaluer la toxicité des extraits hydro-méthanoliques des aiguilles (MEF) et des cônes (MEC) de *A. numidica in vivo*. Le test de toxicité aiguë a été réalisé sur des souris à une dose de 2000 mg/kg d'extrait de MEF et le MEC n'a causé aucune mortalité. En revanche, une modification de la prise de poids des souris a été observée. Les extraits de MEF et de MEC affectent les paramètres biochimiques et rénaux en augmentant les niveaux d'ALAT, d'ASAT et de créatinine, entraînant des lésions hépatiques et rénales. Les extraits aussi affectent la glycémie en augmentant le taux de glucose dans le sang, une hyperglycémie peut survenir en cas de maladies infectieuses ou hépatiques ou de syndromes inflammatoires. Cela explique l'observation d'une congestion vasculaire, nécrose Centro-lobulaire au niveau de foie et des poumons, infiltration des cellules inflammatoires, dégénérescence cellulaire au niveau des reins pour les souris traitées par le MEC. Et l'observation d'une Infiltration des cellules inflammatoires, foyer polynucléaire au niveau de foie et des reins, amas polynucléaire au niveau des poumons pour les souris traitées par le MEF.

De cette étude, il ressort que les extraits d'*Abies numidica* de Lannoy ex Carrière sont des produits intéressants riches en molécules bioactives utilisables en pharmacie et dans l'industrie. Aussi, les effets toxiques nécessitent des autres études pour déterminer la molécule qui est responsable à cette toxicité. Cela fait une limite de tolérance et augmente la chance d'un futur médicinale pour cette espèce.

Cette étude ouvre des perspectives expérimentales qui permettent d'aller vers une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires impliqués dans effets biologiques observés. La présente étude nous a permis de dégager les perspectives suivantes :

- Identification des molécules actives responsables de ces effets et essayer de l'isoler.
- Identification et caractérisation de la molécule par les méthodes d'analyse (RMN, Spectrophotomètre de masse).
- Réalisation d'autres tests biologiques : antidiabétique, anticancéreuse et anti-inflammatoire.

Enfin, il serait intéressant de poursuivre cette étude plus longtemps et avec un effectif plus important et avec différentes concentrations d'extraits pour obtenir des résultats plus précis sur les effets de l'association de ces composés à l'extrait des cônes et des aiguilles d'*A. numidica*, et afin de pouvoir cerner tout effet indésirable et de mieux identifier les sites d'action des substances actives.

_ A _

- Abed El Aziz, M. M., Ashour, A. S., and Gomha Melad, A. S. 2019.** A review on saponins from medicinal plants: chemistry, isolation, and determination. *Journal of Nanomedicine Research*, 7(4), 282–288.
- Aderemi, F.A. 2004.** Effects of replacement of wheat bran with cassava root sieviate supplemented or unsupplemented with enzyme on the haematology and serum biochemistry of pullet chicks. *Tropical Journal of Animal Science*, 7, 147-153.
- ARAB, K., & DEMMOUCHE, L. (2020).** Séchage et infusion de quelques matrices végétales: étude de cas de l'orange Sanguine *Citrus sinensis* L. Osbeck.
- Arraki, K. (2014).** Les stilbénoides chez les Cypéracées: isolation, identification et étude de leurs activités biologiques: identification et dosage des stilbènes dans des vins Tunisiens (Doctoral dissertation, Université de Bordeaux).

_ B _

- Bano, B., Kanwal, Khan, K. M., Lodhi, A., Salar, U., Begum, F., Ali, M., Taha, M., and Perveen, S. 2018.** Synthesis, in vitro urease inhibitory activity, and molecular docking studies of thiourea and urea derivatives. *Bioorganic Chemistry*, 80, 129–144.
- Barbey A., 1934.** Une relique de la sapinière méditerranéenne : Les monts Babors. Librairie Agricole de la maison rustique. Paris. (1-11).
- Belhaj Mostafa, M., Abedini, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Gangloff, S.C., Kabouche, A., and Kabouche, Z., 2016.** Abietane diterpenes from the cones of *Abies numidica* de lannoy ex carrier (Pinaceae) and in vitro evaluation of their antimicrobial properties. *Natural Product Research* .1478-6419.
- Benabdelkader, T. (2012).** Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas* sensu lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique (Doctoral dissertation, Université Jean Monnet-Saint-Etienne; Ecole normale supérieure de Kouba (Alger)).

-
- Benouchenne, D., Bellil, I., Akkal, S., Bensouici, C., and Khelifi, D. 2020.** LC-MS/MS analysis, antioxidant and antibacterial activities of Algerian fir (*Abies numidica* de LANNON ex CARRIERE) ethyl acetate fraction extracted from needles. *Journal of KingSaud University - Science*, 32(8), 3321–3327.
- Benouchenne, D., Bellil, I., Akkal, S., and Khelifi, D. 2021.** Investigation of Phytochemical and Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activities from *Abies* Extract. *Basic and Applied Sciences - Scientific Journal of King Faisal University*, 22(2), 1–7.
- Benouchenne, D., Bellil, I., & Khelifi, D. (2021).** Le sapin d'Algérie (*Abies numidica* de Lannoy ex Carrière): étude phytochimique des métabolites secondaires et évaluation in vitro, in vivo et in silico des activités biologiques de ses composés (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1).
- Benouchenne, D., Bellil, I., Bensouici, C., AbdullahYilmaz, M., Akkal, S., Kesinkaya, H. B., & Khelifi, D. (2022).** GC-MS Chemical Profile, Antioxidant Ability, Antibacterial Effect, A-Glucosidase, A-Amylase and Acetylcholinesterase Inhibitory Activity of Algerian Fir Essential Oil. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 15(2).
- Benouchenne, Djamil, Ines Bellil, Sana Hazar Tachour, Salah Akkal, Hanène Djeghim, Fethi Farouk Kebaili, Gema Nieto, et Douadi Khelifi. 2022.** « Tyrosinase Inhibitory Ability and In Vitro, In Vivo Acute Oral and In Silico Toxicity Evaluation of Extracts Obtained from Algerian Fir (*Abies numidica* de Lannoy Ex CARRIERE) Needles ». *Plants* 11 (18): 2389. <https://doi.org/10.3390/plants11182389>.
- Bneder, (2008).** Bureau national des études de développement rural, Inventaire forestier national. In : FAO, Évaluation des ressources forestières mondiales 2015, Rapport national Algérie, 80 p.
- Bohlmann, J. and Keeling, C. I. (2008).** Terpenoid biomaterials. *Plant J.* 54, 656-669.
- Bonner, F. T. 2008.** The Woody Plant Seed Manual. U.S. Department of Agriculture,

Forest Service.

Bor, Tarik, Sulaiman O. Aljaloud, Rabin Gyawali, et Salam A. Ibrahim. 2016. « Antimicrobials from Herbs, Spices, and Plants ». In Fruits, Vegetables, and Herbs, 55178. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802972-5.00026-3>.

Boudjada, A., Touil, A., Bendif, H., Bensouici, CH., Rhouati, S., 2018. Phytochemical constituents, phenolic contents, and antioxidant activity of *Crataegus azarolus* extracts. *Asian Journal of Pharmacy and Clinical Research*, 11(4), 133-137.

Bouhadjera, K. (2005). Contribution a l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana* R.Br. Et *Aristida pungens* L. Thèse de doctorat .Université Abou Bekr Belkaid .Algérie. p 143.

Bribi, N. 2018. Pharmacological activity of aporphinoid alkaloids. A review. *Fitoterapia*, 60(5), 387–412.

Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales (No. 581.634 B7).

Bruneton, J., 1999. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. Techniques et Documentation. Lavoisier. Paris. 1120p.

Bruneton, J., (2009). Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4e éd., Tec & Doc - Éditions médicales internationales, Paris, pp 937- 954.

Bruno David, Hugo Dugast, Hélène Soubelet, Jean-François Silvain, Agnès, Hallosserie, Julie de Bouville., 2019. Quel avenir pour les plantes et leur utilisation pour notre santé.

– C –

Chenni,M.(2010). Contribution a l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante medicinale : *Bryonia dioica* Jacq. Université d'Oran Es-Sénia.

Cheers, G. & Burnie, G. 2005. Botanica : encyclopédie de botanique & d'horticulture:

plus de 10000 plantes du monde entier. Editions Place des victoires. Paris.

Christianson, D. W. (2007). Roots of biosynthetic diversity. *Science* 316, 60-61.

Conrad J; Vogler B.; Klaiber I.; Roos G., Walter U.; Kraus W.,1998. Two triterpene esters from *Terminalia macroptera* bark. *Phytochemistry* 48: 647 - 650.

Crozier, A., Clifford, M.N., & Ashihara, H. 2006. *Plant Secondary Metabolites Occurrence, Structure and Role in the Human Diet.* Blackwell Publishing Ltd. Oxford, UK. 384p.

Curtin. M E.1983. Harvesting profitable products from plant tissue culture. *Biotechnol.*,1,649-657

_ D _

Dahmani-Megrerouche, M. (2015). *Ecologia mediterranea: Revue internationale d'écologie méditerranéenne = International Journal of Mediterranean Ecology*, pages. 111-117, Vol. 44 , N°. 2.

D'Amelia, V., Aversano, R., Chiaiese, P., and Carputo, D. 2018. The antioxidant properties of plant flavonoids: their exploitation by molecular plant breeding. *Phytochemistry Reviews*, 17(3), 611–625.

Delimont, N. M., Haub, M. D., and Lindshield, B. L. 2017. The impact of tannin consumption on iron bioavailability and status: A narrative review. *Current Developments in Nutrition*, 1(2), 1–12.

Diana I. S. P. Resende, Fernando Durães, Miguel Maia, Emília Sousa and Madalena M. M. Pinto : Recent advances in the synthesis of xanthenes and azaxanthenes. *Org. Chem. Front.*,2020,7, 3027 Lien : <https://pubs.rsc.org/en/content/articlepdf/2020/qq/d0qq00659a>.

Dörken, V. M., and Nimsch, H. 2018. A monograph of leaf characters in the genus *Abies* (Abietoideae, Pinaceae).

_ E _

- El Gharras, H. (2009).** Polyphenols: food sources, properties and applications - a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(12), 2512–2518.
- El-seedi, H. R., Taher, E. A., Sheikh, B. Y., Anjum, S., Saeed, A., AlAjm, M.F., Moustafa, M.S., Al-Mousawi, S.M., Farag, M.A., Hegazy, M.E.F., Khalifa, S.A.M., and G€oransson, U. 2017.** Hydroxycinnamic Acids : Natural Sources , Biosynthesis , Possible Biological Activities , and Roles in Islamic Medicine. *Studies in Natural Products Chemistry*, Chapter 8, 55, 270.
- Epifano F., Genovese S., Menghini L., Curini M., 2007.** Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry* 68:939 - 953.
- Exarchou, V., Nenadis, N., Tsimidou, M., Gerothanassis, I.P., Troganis, A., & Boskou, D. 2002.** Antioxidant activities and phenolic composition of extracts from Greek oregano, Greek sage and summer savory. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5294-5299.

_ F _

- Farjon, Aljos. 2010.** A Handbook of the World's Conifers (2 Vols.). BRILL.
- Farjon, Aljos, et Denis Filer. 2013.** An Atlas of the World's Conifers: An Analysis of Their Distribution, Biogeography, Diversity and Conservation Status. BRILL.
- Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Pedro G.L., and Scheffer, J. J. C. 2008.** Factors affecting secondary metabolites production in plants : volatile components and essential oils ». *Flavour Fragr. J* 23(April): 213-26.
- Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix J.J., 2005.** Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes* pp 121-216.
- Forkmann G.** Flavonoids as flower pigments: the formation of the natural spectrum and its extension by genetic engineering. *Plant breeding*. 1991;106(1):1-26.
- Frihaoui, Asma, Yasmine Belghit, et Aicha Latreche. 2022.** « Etude de la composition chimique et de l'activité biologique de l'extrait éthanolique de l'Hedera helix L ».

Thesis, Université Larbi Tébessi - Tébessa.
<http://dSPACE.univ-tebessa.dz:8080/xmlui/handle/123456789/http://localhost:8080/xmlui/handle/123456789/4972>.

Fujita T, Sezik E, Tabata M, Yesilada E, Honda G, Takeda Y, Tanaka T, Takaishi Y. 1995. Traditional medicine in Turkey. VII. Folk medicine in middle and west Black Sea regions. *Economic Botany*. 49:406- 422.

_ G _

Geissman, T. A., & Crout, D. H. (1969). Organic chemistry of secondary plant metabolism.

Gernandt, David S., Garth Holman, Christopher Campbell, Matthew Parks, Sarah Mathews, Linda A. Raubeson, Aaron Liston, Ruth A. Stockey, et Gar W. Rothwell. 2016. « Phylogenetics of extant and fossil Pinaceae: methods for increasing topological stability ». *Botany* 94 (9): 863-84.
<https://doi.org/10.1139/cjb-2016-0064>.

Ghadbane, M., Bounar, R., Khellaf, R., Medjekal, S., Belhadj, H., Benderradji, L., Smaili, T., and Harzallah, D. 2016. Antioxidant and antimicrobial activities of endemic tree *Abies numidica* growing in babor mountains from Algeria. *Global Journal of Research and Medicinal Plants and Indigenous Medicine*, 5(1), 19-28.

Gilles, G., HUNG, S. T., Reichmann, H., & RAUSCH, W. D. (2004). Oxidative stress to dopaminergic neurons as models of Parkinson's disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1018(1), 533-540.

_ H _

Hachi-illoul, Malika. 2016. « Variabilité morpho-anatomique, diversité génétique, potentiel de régénération et efficacité de la production grainière du sapin de Numidie (*Abies numidica* de Lannoy) en plantation (cas de Serraidi) Annaba ». Thesis, Université Mouloud Mammeri. <https://www.ummtto.dz/dSPACE/handle/ummtto/1506>.

Halevas, E. G., Avgoulas, D. I., Katsipis, G., & Pantazaki, A. A. (2022). Flavonoid-liposomes formulations: Physico-chemical characteristics, biological

activities and therapeutic applications. *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*, 100059.

Hammiche V. et Gueyouche R. (1988). Plantes médicinales et thérapeutiques, 1ère partie : Les plantes médicinales dans la vie moderne et leur situation en Algérie, *Annales de l'INA El Harrach, Alger*, 12 : (1), 419-433.

Hareb, A. (2020). Approche bibliographique concernant le dosage et l'extraction de composés phénoliques du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Hart J.H. (1981). Role of phytoestrogens in decay and disease resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 19: 437-458.

Hassanpour S, MaheriSis N, Eshratkhah B. Plants and secondary metabolites (Tannins): A Review. 2011.

Hassan, Z. M., Manyelo, T. G., Selaledi, L., and Mabelebele, M. (2020). The effects of tannins in monogastric animals with special reference to alternative feed ingredients. *Molecules*, 25(20), 1–17.

Hollman, P. C., Van Trijp, J. M., Buysman, M. N., vd Gaag, M. S., Mengelers, M. J., De Vries, J. H., & Katan, M. B. (1997). Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. *FEBS letters*, 418(1-2), 152-156.

_ J _

Janoussi, B., Romdhane, M., Abderraba, A., Ben Hassine, B., El Gadri, A., and Flavour Fragrance, J., 2005. 20,274.

Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Stevens P.(2002). *Botanique Systématique: une perspective phylogénétique*; Ed 1: DEBOECK; p: 84-336.

Jutiviboonsuk A., Zhang H., Tan T.G., Ma C., Van Hung N., Cuong N.M., Bunyapra-

phatsara N., Soejarto D D., Fong H H S., 2005. Bioactive constituents from roots of *Bursera tonkinensis*. *Phytochemistry* 66: 2745 - 2751.

_ K _

Khanbabaee K, van Ree T. Tannins: classification and definition. *Natural product reports*. 2001;18(6):641-9.

Khan, T.A., & Zafar, F. 2005. Haematological study in response to varying doses of estrogen in broiler chicken. *International Journal of Poultry Science*, 4, 748-751.

Klaas, C. A., Wagner, G., Laufer, S., Sosa, S., Della Loggia, R., Bomme, U., ... & Merfort, I. (2002). Studies on the anti-inflammatory activity of phytopharmaceuticals prepared from *Arnica* flowers. *Planta medica*, 68(05), 385-391.

Krief Sabrina, 2003. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. *Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées*. <https://theses.hal.science/tel-00006170>.

Kueny-Stotz M, (2008). Contribution à la chimie des flavonoïdes : élaboration de squelettes flavylum sophistiqués, nouvelle voie d'accès aux flavan-3-ols et aux proanthocyanidines. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctora en chimie organique, Université Louis Pasteur Strasbourg, France. P54.

Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The scientific world journal*, 2013.

_ L _

Labrani, 2001. Métabolisme Secondaire - Le Métabolisme Secondaire Métabolisme = Réaction Métabolite = - Studocu ». 2001 s. d .
<https://www.studocu.com/row/document/universite-mohammed-premier-oujda/methodes-econometriques/pr-lbrani-metabolisme-secondaire/47185882>.

LeBlanc, G. A. 2010. Acute toxicity. In: A Textbook of Modern Toxicology. John Wiley & Sons. Hoboken, New Jersey. pp. 125-136.

Lima, L. (2016). **Pauvres jeunes.** Enquête au cœur de la politique sociale de jeunesse. Champ social éditions.

Linares, J.C. 2011. Biogeography and evolution of *Abies* (Pinaceae) in the Mediterranean Basin: the roles of long-term climatic change and glacial refugia. *Journal of Biogeography*. 38, 619–630.

_ M _

Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.

Maire, R. 1952. Flore de l'Afrique du Nord. Tome 1, Lechevallier ed. Paris, 366 <http://medcontent.metapress.com/index/A65RM03P4874243N.pdf>.

Malešev, D., and Kunti, V., 2007. Investigation of metal–flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal–flavonoid complexing reactions. *Journal of Serbian*.

Manach C., Scalbert A., Morand C., Jiménez L., 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition* 79:727 - 747.

Marjorie Eyang Esseng, 2007. Étude de la phytochimie et des activités antibactériennes et antifongiques de cinq plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel des dermatoses au Mali . Thèse de doctorat en Pharmacie présentée et soutenue publiquement le 27 février 2007 devant la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS) de Bamako, Mali

Massimo, A., Carmela, F., Roberta, D.B., Raffaella, G., Claudio, G., and Roberta, M., 2007. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali dell'Istituto superiore di sanità*. 43: 348-361.

Maya Belhadj Mostefa, Amin Abedini, Laurence Voutquenne-Nazabadioko, Sophie C Gangloff, Ahmed Kabouche, Zahia Kabouche, 2017. Diterpènes d'abiétane des cônes d' *Abies numidica* de Lannoy ex Carrière (Pinaceae) et évaluation in vitro de leurs propriétés antimicrobiennes, *Recherche sur les produits naturels* 31 (5), 568-571.

McGarvey, D. J., & Croteau, R. (1995). Terpenoid metabolism. *The plant cell*, 7(7), 1015.

Mérillon J.M., Fauconneau B., Waffo Teguo P., Barrier L., Vercauteren J. et Huguet F. (1997). Antioxidant Activity of the Stilbene Astringin, Newly Extracted from *Vitis vinifera* Cell Cultures. *Clinical Chemistry*, 43(6): 1092-1093.

Mouloud, Ghadbane, Bounar Rabah, Khellaf Rebbas, Medjekal Samir, Belhadj Hani, Benderradji Laid, Smaili Tahar, et Harzallah Daoud. 2016. « ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF ENDEMIC TREE ABIES NUMIDICA GROWING IN BABOR MOUNTAINS FROM ALGERIA » 5 (1).

Muanda, F. N. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Université Paul Verlaine-Metz, 238.

_ N _

Nacoulma ,O.,Ouedrago, Y.,Guissou, I., and Guede, G., 2001.Evaluation in vivo et in vitro de la Toxicité des extraits aqueux d'écorces de tige et de racine de *Mitragyna inermis* (Willd).O.(Rubiaceae) ;Faculté des sciences et technique, Université de Ouagadougou.

Naili, Oumaima. 2018. « Effet des extraits de abies numidica de lannoy sur la croissance et sur la microflore caecale et fécale des poussins de chair ». Thesis. <http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/1633>.

Nijveldt, R.J., Nood, E.V., Hoorn, D., Boelens, P., Norren, K., and Leeuwen, P., 2001. Flavonoids, a review of probable mechanisms of action and potential application. American Society for Clinical Nutrition. 74: 418-425.

Nsemi, François Muanda. 2010. « Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques ». Phdthesis, Université Paul Verlaine - Metz. <https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01752680>.

_ O _

O'Connell, J.E., Fox, and P.F., 2001. Signification and applications of phénolic compounds in the production and quality of milk dairy products. International Dairy Journal. 11(3) : 103-120.

Ogbonnia S. O., Mbaka G. O., Anyika E. N., Osegbo O. M., and Igbokwe N. H. 2010. Evaluation of acute toxicity in mice and subchronic toxicity of hydro-ethanolic extract of *Chromolaena odorata* (L.) King and Robinson (Fam. Asteraceae) in rats. Agriculture and Biology Journal of North America, 1(5): 859-865.

Othman, L., Sleiman, A., and Abdel-massih, R. M. 2019. Antimicrobial Activity of Polyphenols and Alkaloids in Middle Eastern Plants. *Cailiao Kexue yu Gongyi*/Material Science and Technology, 16(6), 741-744. 10(May).

_ P _

Palma-Tenango, M., Soto-Hernández, M. and Aguirre-Hernández, E. 2017. Flavonoid in Agriculture. *Intech*, 32, 189–201.

<https://www.intechopen.com/books/advancedbiometric-technologies/liveness-detection-in-biometrics>.

Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5.

_ Q _

Quezel, P., and Santa S. 1964. Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. C.N.R.S. Paris. 1170 p.

Quezel, P. et Santa S. (1962-1963). Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. C.N.R.S. Paris. 1170 p.

_ R _

Ramdani, M., Lograda, T., Chalard, P., Figueredo, G. 2014. Chemical and Antimicrobial Properties of Essential oils of *Abies numidica*, endemic species of Algeria. *International Journal of Phytopharmacology*, 5(6), 432-440.

Reichl, F.X. 2004. Guide pratique de toxicologie. DeBoeck & Larcier. Bruxelles. pp. 4-16.

Richard, T., Temsamani, H., Delaunay, J. C., Krisa, S., and Mérillon, J. M. 2014. Stilbènes : de la chimie à la neuroprotection. *Cahiers de Nutrition et de Dietétique*, 49(4), 173–180. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2014.03.001>.

Robb, E. L., and Stuart, J. A. 2014. The stilbenes resveratrol, pterostilbene and piceid affect growth and stress resistance in mammalian cells via a mechanism requiring estrogen receptor beta and the induction of Mn-superoxide dismutase. *Phytochemistry*, 98, 164–173. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.11.019>.

- Ruckebusch, Y., Bueno, L., & Toutain, P. L. (1981).** Sur la pharmacologie du propylène glycol en tant qu'excipient. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 134(2), 255-258.
- Russo, D. (2018).** Flavonoids and the Structure-Antioxidant Activity Relationship. *Journal of Pharmacognosy & Natural Products*, 04(01), 30–31.
- Rusznayk, S. T., & Szent-Györgyi, A. (1936).** Vitamin P: flavonols as vitamins. *Nature*, 138(3479), 27-27.

_ S _

- Saad, B., Aaizeh, H., Abu-Hijleh, G., & Said, O. 2006.** Safety of traditional Arab herbal medicine. *Evidence-Based Complement and Alternative Medicine*, 3, 433-439.
- Saleem, U., Amin, S., Ahmad, B., Azeem, H., Anwar, F., Mary, S. 2017.** Acute oral toxicity evaluation of aqueous ethanolic extract of *Saccharum munja* Roxb. roots in albino mice as per OECD 425 TG. *Toxicology reports*, 4(2017), 580-585.
- Sainvitu, P., Nott, K., Richard, G., Blecker, C., Jérôme, C., Wathelet, J. P., ... & Deleu, M. (2012).** Structure, properties and obtention routes of flaxseed lignan secoisolariciresinol, a review. *BASE*.
- Sakagami H., Hashimoto K., Suzuki F., Ogiwara T., Satoh K., Ito H., Hatano T., Takashi Y., Fujisawa S., 2005.** Molecular requirements of lignin–carbohydrate complexes for expression of unique biological activities. *Phytochemistry* 66: 2108 - 2120.
- Sánchez-robles, J. M., Balao, F., Terrab, A., García-castaño, J. L., Ortiz, M. A., Vela, E., and Talavera, S. 2014.** Phylogeography of SW Mediterranean firs: Different European origins for the North African *Abies* species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 79, 42–53.

- Santos-Buelga, C., and Scalbert, A., 2000.** Proanthocyanidins and tannin-like compounds nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of Food Science*. 80 :1094-1117.
- Sarni-Manchado, P. et Cheynier, V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec & Doc, Paris, p. 2-10.
- Shukla, S., Mehta, A., Bajpai, V.K., & Shukla, S. 2009.** In vitro antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bert. *Food and chemical toxicology*, 47, 2338–2343.
- Sirerol, J. A., Rodríguez, M. L., Mena, S., Asensi, M. A., Estrela, J. M., and Ortega, A. L. (2016).** Role of natural stilbenes in the prevention of cancer. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/3128951>.
- Smeriglio A, Barreca D, Bellocco E, Trombetta D, 2017.** Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: occurrence, dietary intake and pharmacological effects. *British journal of pharmacology*.174(11):1244-62.
- Sova, M., and Saso, L. 2020.** Natural sources, pharmacokinetics, biological activities and health benefits of hydroxycinnamic acids and their metabolites. *Nutrients*, 12(8), 1–30. <https://doi.org/10.3390/nu12082190>.
- Stalikas C. D., 2007.** Extraction, separation and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science* 30:3268-3295.
- Stöckigt J., Sheludko Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H., Stöckigt D., 2002.** High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic- electrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Journal of chromatography A* 967: 85-113.

Tabuti J.R.S., Lye K.A., Dhillon S.S. (2003). Traditional herbal drugs of Bulamogi Uganda : plants, use and administration, *Journal of Ethnopharmacology*, 88: 19-44.

TEHARI Amina et TRAD KHODJA Esma Anissa. 2019. « Le sapin d'Algérie (*Abies numidica*): Etude phytochimique et évaluation de quelques activités biologiques de la famille des tanins in vitro et in vivo », 106.

Tlili-Ait Kaki , T., Bennadja, et A. Chefrou. 2013. « Revalorisation d'une essence endémique: le sapin de Numidie (*Abies numidica*) ». *Flora Mediterranea* 23 (décembre). <https://doi.org/10.7320/FIMedit23.123>.

Trevoux, R., Arnal-Schnebelen, B., & Schnebelen, J. 2000. Interactions médicamenteuses Interactions entre les plantes médicinales et la médication traditionnelle. *Actualités reproduction humaine*, 8, 28-32.

_ V _

Vacek, Jan, Borivoj Klejdus, Lea Lojková, et Vlastimil Kubán. 2008. « Current Trends in Isolation, Separation, Determination and Identification of Isoflavones: A Review ». *Journal of Separation Science* 31 (11): 2054-67. <https://doi.org/10.1002/jssc.200700569>.

Vela, E. & Benhouhou, S. (2007). Evaluation d'un nouveau point chaud de biodiversité végétale dans le bassin méditerranéen (Afrique du Nord). – *C. R. Biologies* 330: 589-605.

VINCKEN, J.-P., HENG, L. DE GROOT, A., GRUPPEN, H. (2007). Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 68:275–297.

Vooková, B., & Kormuťák, A. (2001). Effect of sucrose concentration, charcoal, and indole-3-butyric acid on germination of *Abies numidica* somatic embryos. *Biologia Plantarum*, 44, 181-184. <https://doi.org/10.1023/A:1010278704613>.

_ W _

Wangensteen, H., Alamgir, M., Rajia, S., Samuelsen, A. B., & Malterud, K. E. (2005). Rotenoids and isoflavones from *Sarcolobus globosus*. *Planta medica*, 71(08), 754-758.

White R.L., Burgess D.S., Manduru M., and Bosso J.A., 1996. Comparison of three different in vitro methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard, and E test. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 40, 1914–1918.

Williams, R.J. Mayer, 2004. Anthocyanins and other flavonoids. P.539-573.

Wittstock, U., & Gershenzon, J. (2002). Constitutive plant toxins and their role in defense against herbivores and pathogens. *Current opinion in plant biology*, 5(4), 300-307.

Wollgast, J., & Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, 33(6), 423-447.

_ X _

Xiang, Xiaoguo, Ming Cao, et Zhekun Zhou. 2007. « Fossil History and Modern Distribution of the Genus *Abies* (Pinaceae) ». *Frontiers of Forestry in China* 2 (4): 355-65. <https://doi.org/10.1007/s11461-007-0058-4>.

Xiang, Qiao-Ping, Ran Wei, Yan-Mei Zhu, Aj Harris, et Xian-Chun Zhang. 2018.
« New Infrageneric Classification of Abies in Light of Molecular Phylogeny and High Diversity in Western North America: New Infrageneric Classification of Abies ». *Journal of Systematics and Evolution* 56 (5): 562-72.
<https://doi.org/10.1111/jse.12458>.

_ Y _

Yang, X.W., Li, S.M., Shen, Y.H., & Zhang, W.D. 2008. Phytochemical and biological studies of Abies species. *Chemistry and Biodiversity*, 5, 56-81.

_ Z _

Zegwagh Ali Amine, Lahlou Younes, Bousliman Yassir., 2013. Enquête sur les aspects toxicologiques de la phytothérapie utilisée par un herboriste à Fes, Maroc. *Pan Afr Med J.* 2013 ; 14 : 125. Mise en ligne le 30 mars 2013. Français. DOI : 10.11604/pamj.2013.14.125.1746 . PMID : 23734270.

Zheling Feng, Xiuqiang Lu, Lishe Gan, Qingwen Zhang and Ligen Lin, 2020.
Xanthonones, A Promising AntiInflammatory Scaffold : Structure, Activity, and DrugLikenessAnalysis. *Molecules* 2020,25,598;doi:10.3390/molecules25030598, www.mdpi.com/journal/molecules.

Annexe 1. Broyeur mécanique (Moulinex)



Annexe 2. Feuilles d'Abies numidica après broyage



Annexe 3. Préparation d'une solution hydro-méthanolique (80% ; v/v)

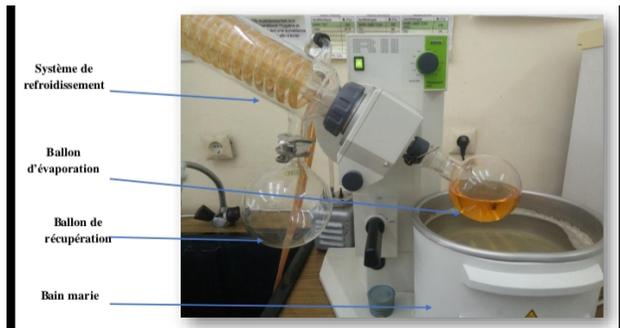
solvant (acétonitrile à 80 % ou méthanol à 80 %) en ajoutant 20 ml d'eau distillée ou déminéralisée à 80 ml d'acétonitrile ou de méthanol.



Annexe 4. Agitateur



Annexe 5. Évaporateur sous pression type rotatif Buchi R-215 à 40 °C



Annexe 6. Les souris d'expérience



Annexe 7. La nourriture des souris (croquettes)



Annexe 8. Organisation des souris

Lots/cages	Lot 1	Lot 2	Lot 3
Extraits	Contrôles	MEC	MEF
Souris et leur poids	S13 (38g)	S4 (24g)	S1 (25g)
	S3 (39g)	S5 (21g)	S2 (28g)
	S8(40g)	S6 (20g)	S12 (27g)

Annexe 9. Préparation des extraits pour l'administration



- 2000 mg d'extrait pour 1kg de poids / 2000 mg d'extrait pour 1000 g de poids.

- 1 ml d'eau physiologique pour 100 g de poids.

	Lot 1	Lot 2	Lot 3
	Contrôles	MEC	MEF
Moyenne	38+39+40/3 =39	24+21+20/3 =21,6	25+28+27/ =26,6

Dose d'extrait pour 1 souri	–	$21,6 \times 2000$ /1000 = 43,2 mg	$26,6 \times 2000$ /1000 = 53,3 mg
La dose nécessaire pour les 3 souris	–	$43,2 \times 3 =$ 130 mg	$53,3 \times 3 =$ 160 mg
La quantité d'eau physiologique pour la dilution	1,5 ml	1,5 ml	1,5ml

Annexe 10. Balance/ pied des souris



Annexe 11. L'eau physiologique 0,9%

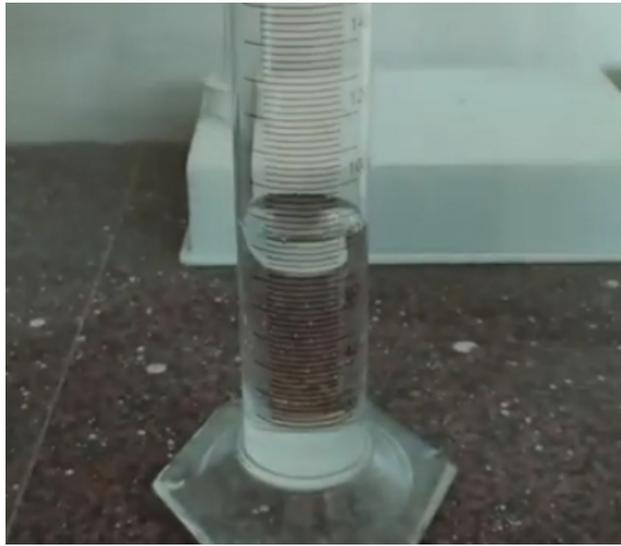


Annexe 12. Prélèvement par ponction cardiaque



Annexe 13. Préparation d'une solution de formol 10%

Mélanger 10 ml de formol en solution à 90 ml d'eau distillée.

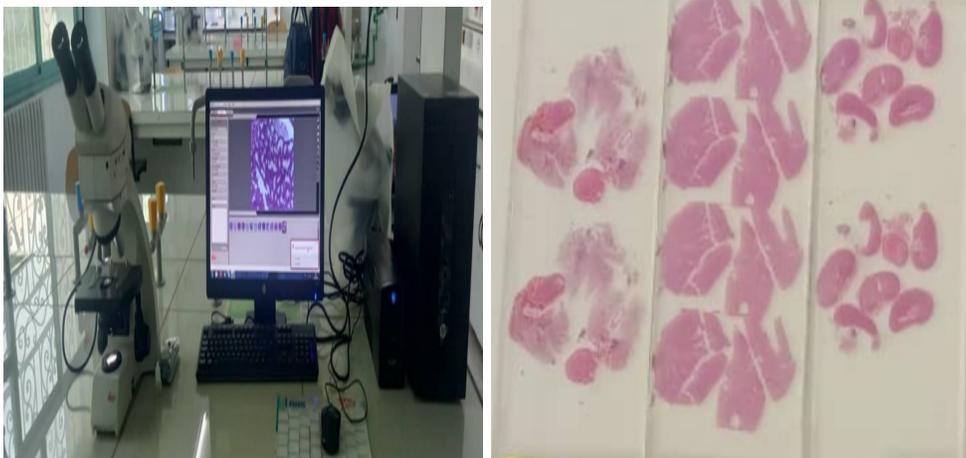




Annexe 14. Confection des blocs (enrobage à la paraffine).



Annexe 15. Les coupes histologiques, la coloration, et l'observation.



Résumé

Dans le cadre de la valorisation des extraits hydro-méthanoliques des aiguilles et des cônes d'*Abies numidica* de Lannoy ex Carrière (Pinaceae), plante endémique souvent utilisée comme remède traditionnel et pour situer la limite de tolérance et éviter leurs effets indésirables, s'inscrit notre étude. Ce travail consiste en l'étude phytochimique en premier lieu a permis de mettre en évidence les principaux métabolites secondaires, notamment les polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes et les tanins). Suivie de l'étude de la toxicité in vivo des extraits hydro-méthanoliques des feuilles et des cônes d'*A. numidica*, les résultats montrent que ces extraits n'étaient pas létaux à une concentration de 2000 mg/kg d'une part, mais d'autre part, il existe des changements de comportement concernant le poids, l'alimentation, et autres signes de toxicité. Ainsi, les paramètres biochimiques confirment la présence de lésions hépatiques, en augmentant les taux de transaminases hépatiques. De plus, les extraits affectent la glycémie, en augmentant le taux de glucose dans le sang (une hyperglycémie) qui explique la présence des maladies infectieuses et hépatiques et des syndromes inflammatoires au niveau des coupes histopathologiques des organes (foie, poumons, reins). La présente étude a permis de confirmer qu'une plante est rarement toxique dans sa totalité. Ainsi, un organe d'une plante peut être toxique alors qu'un autre organe de la même plante est comestible, La toxicité dépend donc également de l'organe végétal respectif.

Mots clés : *Abies numidica* de Lannoy ex Carrière ; métabolites secondaires ; toxicité in vivo ; étude histopathologique.

ملخص

كجزء من تطوير المستخلصات المائية الميثانولية لإبر و مخاريط التنوب الجزائري وهو نبات مستوطن غالبًا ما يستخدم كعلاج تقليدي ولتحديد حدود التسامح وتجنب آثارها غير المرغوب فيها سجلنا يذاكر. يتكون هذا العمل من دراسة كيميائية نباتية في المقام الأول جعلت من الممكن تسليط الضوء على المستقلبات الثانوية الرئيسية ، ولا سيما البوليفينول (الأحماض الفينولية والفلافونويد والعفص). تلاها دراسة السمية في الجسم الحي للمستخلصات المائية الميثانولية لأوراق وأقماع A. numidica ، أظهرت النتائج أن هذه المستخلصات لم تكن قاتلة بتركيز 2000 مجم / كجم من ناحية ، ولكن من ناحية أخرى ، هناك تغيرات سلوكية تتعلق بالوزن والنظام الغذائي وعلامات سمية أخرى. وهكذا ، تؤكد المعلمات البيوكيميائية وجود تلف الكبد ، عن طريق زيادة مستويات الترانساميناسات الكبدية. بالإضافة إلى ذلك ، فإن المستخلصات تؤثر على نسبة السكر في الدم ، وذلك عن طريق زيادة مستوى الجلوكوز في الدم (ارتفاع السكر في الدم) مما يفسر وجود الأمراض المعدية والكبدية والمتلازمات الالتهابية على مستوى الأقسام النسيجية المرضية للأعضاء (الكبد ، الرئتين ، الكلى). أكدت هذه الدراسة أن النبات نادرًا ما يكون سامًا في مجمله. وبالتالي ، يمكن أن يكون أحد أعضاء النبات سامًا بينما يكون عضوًا آخر من نفس النبات صالحًا للأكل وبالتالي تعتمد الرسمية أيضا على العضو النباتي المعني .

الكلمات المفتاحية: التنوب الجزائري؛ المستقلبات الثانوية؛ سمية في الجسم الحي؛ دراسة الأنسجة.

Abstract

As part of the development of hydro-methanolic extracts of the needles and cones of *Abies numidica* de Lannoy ex Carrière (Pinaceae), an endemic plant often used as a traditional remedy and to locate the limit of tolerance and avoid their undesirable effects, registered our study. This work consists of the phytochemical study in the first place has made it possible to highlight the main secondary metabolites, in particular polyphenols (phenolic acids, flavonoids and tannins). Followed by the study of the *in vivo* toxicity of the hydro-methanolic extracts of the leaves and cones of *A. numidica*, the results show that these extracts were not lethal at a concentration of 2000 mg/kg on the one hand, but on the other hand, there are behavioral changes concerning weight, diet, and other signs of toxicity. Thus, the biochemical parameters confirm the presence of liver damage, by increasing the levels of hepatic transaminases. In addition, the extracts affect glycemia, by increasing the level of glucose in the blood (hyperglycemia) which explains the presence of infectious and hepatic diseases and inflammatory syndromes in histopathological sections of organs (liver, lungs, kidneys). This study has confirmed that a plant is rarely toxic in its entirety. Thus, one organ of a plant can be poisonous while another organ of the same plant is edible. The toxicity therefore also depends on the respective plant organ.

Keywords: *Abies numidica* de Lannoy ex Carrière; secondary metabolites; *in vivo* toxicity; histopathological study.

Année universitaire : 2022-2023

Présenté par : DIB Amira

LAIDI Noussayba

Evaluation de la toxicité des extraits hydro-méthanoliques des aiguilles et des cônes de Sapin d'Algérie (*Abies numidica* de Lannoy ex CARRIERE)

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie

Dans le cadre de la valorisation des extraits hydro-méthanoliques des aiguilles et des cônes d'*Abies numidica* de Lannoy ex Carrière (Pinaceae), plante endémique souvent utilisée comme remède traditionnel et pour situer la limite de tolérance et éviter leurs effets indésirables, s'inscrit notre étude. Ce travail consiste en l'étude phytochimique en premier lieu a permis de mettre en évidence les principaux métabolites secondaires, notamment les polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes et les tanins). Suivie de l'étude de la toxicité *in vivo* des extraits hydro-méthanoliques des feuilles et des cônes d'*A. numidica*, les résultats montrent que ces extraits n'étaient pas létaux à une concentration de 2000 mg/kg d'une part, mais d'autre part, il existe des changements de comportement concernant le poids, l'alimentation, et autres signes de toxicité. Ainsi, les paramètres biochimiques confirment la présence de lésions hépatiques, en augmentant les taux de transaminases hépatiques. De plus, les extraits affectent la glycémie, en augmentant le taux de glucose dans le sang (une hyperglycémie) qui explique la présence des maladies infectieuses et hépatiques et des syndromes inflammatoires au niveau des coupes histopathologiques des organes (foie, poumons, reins). La présente étude a permis de confirmer qu'une plante est rarement toxique dans sa totalité. Ainsi, un organe d'une plante peut être toxique alors qu'un autre organe de la même plante est comestible, La toxicité dépend donc également de l'organe végétal respectif.

Mots-clefs : *Abies numidica* de Lannoy ex Carrière ; métabolites secondaires ; toxicité *in vivo* ; étude histopathologique

Laboratoires de recherche :

Laboratoire de GBBV/ Animalerie Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : BELLIL Ines (Pr - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Co-encadreure : BENOUCHENNE Djamila (Dr-Ecole Nationale Supérieure de Biotechnologie)

President : MOSBAH Esmâ (Dr - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1: BEKHOUCHE Khadidja (Dr – Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutiques).