



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministre de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Cheikh Larbi Tebessi-Tebessa

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de biologie appliquée

Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de

Master

Filière : Sciences biologiques

Option : Toxicologie

Thème :

**Valorisation de la partie aérienne de l'espèce
Lotus corniculatus L. : Étude toxicologique et
pharmacologique**

Présenté par :

Aya GASSAR

Aida NEMOUCHI

Devant le jury composé de :

Président : Pr. Chafika REZKALLAH

Université Larbi Tebessi-Tebessa

Promotrice : Dr. Nadia DJERMANE

Université Larbi Tebessi-Tebessa

Examineur : Dr. Ammar BENLAKHAL

Université Larbi Tebessi-Tebessa

Année universitaire : 2025 / 2026

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements :

Avant tout, louange à *Dieu* qui nous a guidées sur le droit chemin tout au long du travail et

Nous avons inspiré les bons pas et les justes reflexes.

Sans sa miséricorde, ce travail n'aura pas abouti.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements et ma profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué, directement ou indirectement, à la réalisation de ce mémoire.

J adresse mes vifs remerciements à ma directrice de recherche, l'enseignante

Dr. Nadia Djermane,

Pour sa disponibilité constante, ses précieux conseils, son soutien indéfectible ainsi que son encadrement et son suivi tout au long de l'élaboration de ce travail.

Je tiens également à remercier chaleureusement l'ensemble des membres du personnel du laboratoire pour leur accueil, leurs orientations pertinentes et leur accompagnement lors de la partie pratique de ce travail, dont le soutien a été d'une grande importance dans sa réalisation.

Je remercie également les membres du jury, le *Dr. Ammar Benlakhal* et le *Pr. Chafika Rezkallah* d'avoir accepté d'évaluer et de discuter ce travail, ainsi que pour leurs remarques pertinentes qui ont contribué à l'enrichir.

J adresse enfin mes remerciements à l'ensemble des enseignants et du personnel du département de biologie appliquée pour leur soutien et leur accompagnement tout au long de mon parcours universitaire.

Enfin, j'exprime ma profonde reconnaissance à toute personne ayant contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail, et je prie Dieu de leur accorder la meilleure récompense.

Dédicace

Ce parcours difficile m'a appris la patience et la persévérance. Aujourd'hui, j'atteins enfin ce succès tant attendu, grâce à la guidance et au soutien d'Allah Tout-Puissant.

À mon cher père « *Mosbah* »,

mon soutien, ma fierté et ma source de force, qui m'a appris que la réussite est le fruit du travail et que le savoir est le bien le plus précieux.

À ma chère mère « *Kouka* »,

à celle pour qui Allah a placé le paradis sous ses pieds, à celle dont les prières m'ont accompagnée à chaque étape de ma vie, et qui a toujours été pour moi une source d'amour, de tendresse et de soutien.

À mes chers frères : *Saïf*, *Aïmen* et *Zakaria*,

mon soutien lorsque le monde vacille et ma sécurité dans la vie, qui ont été présents à mes côtés depuis mon enfance.

À mes chères sœurs : *Khawla*, *Ritaj*, *Soudjoud* et *Iman*,

mes compagnes de route et de précieux souvenirs, dont l'amour a été un véritable soutien tout au long de ma vie.

À mon cher neveu et amour du cœur et de l'âme, *Amir*,

fils de ma sœur, ainsi qu'à toute ma famille, je vous remercie pour chaque moment d'amour et de soutien.

À mes chères amies, chacune par son nom et sa place dans mon cœur, mes compagnes de route et mes plus belles rencontres de la vie, qui ont partagé avec moi les moments de fatigue avant la réussite.

À mon encadrante, Madame *Djermane Nadia*, j'exprime mes sincères remerciements et ma profonde gratitude pour ses conseils précieux et son accompagnement scientifique.

À tous ceux qui ont cru en moi, m'ont encouragée et m'ont adressé une prière ou une parole bienveillante, j'adresse ma profonde reconnaissance.

Pour conclure, je demande à Allah de me faire profiter du savoir qu'Il m'a enseigné, de m'enseigner ce qui m'est utile, de m'accorder davantage de science et de guidance, et de bénir mon avenir ainsi que mon parcours.

Aya

Dédicace

À tous ceux qui m'ont soutenue et accompagnée,

Ce travail de recherche n'aurait pu voir le jour sans l'aide précieuse de personnes qui ont grandement contribué à sa réalisation.

À travers ces quelques lignes, je tiens à leur exprimer ma profonde gratitude et mes sincères remerciements.

Mes sincères remerciements à mon encadreuse,

Madame *Djermane Nadia*, pour ses précieux conseils, son aide constante et sa compréhension, qui ont largement contribué à l'aboutissement de ce travail.

À mes chers parents,

Merci pour votre soutien indéfectible tout au long de mes années d'études, pour tous les sacrifices consentis, ainsi que pour votre amour et vos encouragements. Je vous aime profondément.

À mes frères, sœurs et membres de ma famille,

Merci pour votre soutien et votre présence constante. Votre accompagnement a été d'une grande importance tout au long de mon parcours.

À mes collègues de travail,

Je vous remercie pour votre esprit de collaboration, votre soutien et vos encouragements tout au long de la réalisation de ce travail. Votre aide a été précieuse pour surmonter les différentes difficultés et mener à bien cette recherche.

À mes chères amies *Aya, Zahra, Douaa, Ghada et Sirine*,

Merci pour votre soutien, votre présence et votre amitié. Je n'oublierai jamais votre accompagnement à chaque étape de ce parcours.

À vous tous, j'adresse ma plus profonde reconnaissance et toute ma gratitude.

Aida

الملخص

اللوتس القرني هو نبات عشبي معمر ينتمي إلى فصيلة البقوليات، ويُعرف بغناه بالمستقلبات الثانوية، خاصة الفلافونويدات والمركبات الفينولية، والتي تُنسب إليها عدة أنشطة بيولوجية.

تم تخصيص هذا العمل لتقييم سمية هذا النبات ودراسة تأثيره الواقٍ للكبد ضد السمية الكبدية المُستحثة بأسيئات الرصاص لدى الجرذان. تم إجراء الدراسة السمية لمدة 21 يومًا باستخدام أربع جرعات مختلفة من المستخلص المائي-الميثانولي للنبات. بالإضافة إلى ذلك، تم تقييم النشاط الوقائي للكبد عبر نموذج تجريبي للتسمم بالرصاص شمل مجموعة شاهدة، مجموعة مُسممة، ومجموعة عولجت بشكل متزامن بأسيئات الرصاص مع المستخلص المائي-الميثانولي لـ *اللوتس القرني* اعتمد تقييم التأثيرات البيولوجية على متابعة عدة معايير دموية وكيميائية حيوية. كما تم دراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص المائي-الميثانولي، في حين تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلصات مختلفة تم الحصول عليها باستخدام مذيبات ذات قطبية متباينة.

أظهرت النتائج أن المستخلص المائي-الميثانولي لـ *اللوتس القرني* لا يُظهر أي علامات سمية عند الجرعات المُعطاة. في المقابل، أدى التعرض للرصاص إلى حدوث تغيرات في عدة مؤشرات بيولوجية، مما يدل على اضطراب في الوظائف الكبدية والتمثيل الغذائي. وقد ساهم إعطاء المستخلص النباتي في التخفيف من هذه الاضطرابات وتحسين المؤشرات المتأثرة بشكل ملحوظ، مما يبرز تأثيره الوقائي ضد الأضرار الناتجة عن الرصاص.

كما أظهرت الاختبارات البيولوجية نشاطًا مضادًا للبكتيريا متغيرًا حسب نوع المستخلص، حيث سجل المستخلص الأسيتوني أفضل فعالية ضد السلالات البكتيرية المختبرة. إضافة إلى ذلك، أظهر المستخلص المائي-الميثانولي نشاطًا مضادًا للأكسدة معتبرًا من خلال اختبارات 2,2-ثنائي فينيل-1-بيكريل هيدرازيل، اختبار حمض 2,2-أزينو-بيس (3-إيثيل بنزثيازولين-6-سلفونيك)، اختبار القدرة الاختزالية للحديد الثلاثي و اختبار القدرة الاختزالية للنحاس، مما يعكس قدرته على تثبيط الجذور الحرة وإظهار قدرة اختزالية مهمة.

وبشكل عام، تؤكد نتائج هذه الدراسة الإمكانات البيولوجية لنبات *اللوتس القرني* وتبرز أهميته كمصدر طبيعي للمركبات النشطة حيويًا التي قد تساهم في الوقاية من الأضرار المرتبطة بالإجهاد التأكسدي والتسمم بالرصاص والعدوى البكتيرية.

الكلمات المفتاحية: *اللوتس القرني*، سمية تحت حادة، سمية كبدية، أسيئات الرصاص، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للبكتيريا، مركبات فينولية.

Abstract

Lotus corniculatus L. is a perennial herbaceous plant belonging to the Fabaceae family, known for its richness in secondary metabolites, particularly flavonoids and phenolic compounds, which are associated with various biological activities.

The present study was devoted to the evaluation of the toxicity of this species and to the investigation of its hepatoprotective effect against lead acetate-induced hepatotoxicity in rats (*Rattus norvegicus*). The toxicological study was conducted over a period of 21 days using four different doses of the hydromethanolic extract of the plant. In addition, the hepatoprotective activity was assessed using an experimental model of lead intoxication, including a control group, a lead-treated group, and a group receiving both lead acetate and the hydromethanolic extract of *Lotus corniculatus*.

The biological effects were evaluated through the monitoring of several hematological and biochemical parameters. The antioxidant activity of the hydromethanolic extract was also investigated, while the antibacterial activity was assessed for different extracts obtained using solvents of varying polarities.

The results showed that the hydromethanolic extract of *Lotus corniculatus* did not induce any signs of toxicity at the administered doses. In contrast, lead exposure caused significant alterations in several biological parameters, reflecting hepatic and metabolic dysfunction. Treatment with the plant extract attenuated these disturbances and significantly improved the affected parameters, highlighting its protective effect against lead-induced damage.

The biological assays also revealed variable antibacterial activity depending on the type of extract, with the acetonic extract exhibiting the highest efficacy against the tested bacterial strains. Furthermore, the hydromethanolic extract demonstrated considerable antioxidant activity in DPPH, ABTS, FRAP, and CUPRAC assays, reflecting its ability to scavenge free radicals and exert a strong reducing power.

Overall, the findings of this study highlight the biological potential of *Lotus corniculatus* and emphasize its value as a natural source of bioactive compounds that may contribute to the prevention of oxidative stress-related damage, lead-induced toxicity, and bacterial infections.

Keywords: *Lotus corniculatus* L., subacute toxicity, hepatotoxicity, lead acetate, antioxidant activity, antibacterial activity, phenolic compounds.

Résumé

Lotus corniculatus L. est une plante herbacée vivace appartenant à la famille des Fabaceae, reconnue pour sa richesse en métabolites secondaires, notamment les flavonoïdes et les composés phénoliques, auxquels sont attribuées diverses activités biologiques.

Le présent travail a été consacré à l'évaluation de la toxicité de cette espèce ainsi qu'à l'étude de son effet hépatoprotecteur contre une hépatotoxicité induite par l'acétate de plomb chez le rat (*Rattus norvegicus*). L'étude toxicologique a été menée pendant 21 jours à l'aide de quatre doses différentes de l'extrait hydrométhanolique de la plante. Par ailleurs, l'activité hépatoprotectrice a été évaluée à travers un modèle expérimental d'intoxication au plomb comprenant un groupe témoin, un groupe intoxiqué et un groupe traité simultanément par l'acétate de plomb et l'extrait hydrométhanolique de *Lotus corniculatus*.

L'évaluation des effets biologiques a reposé sur le suivi de plusieurs paramètres hématologiques et biochimiques. L'activité antioxydante de l'extrait hydrométhanolique a également été étudiée, tandis que l'activité antibactérienne a été évaluée pour différents extraits obtenus à l'aide de solvants de polarités variées.

Les résultats obtenus ont montré que l'extrait hydrométhanolique de *Lotus corniculatus* ne présente aucun signe de toxicité aux doses administrées. En revanche, l'exposition au plomb a entraîné des modifications de plusieurs paramètres biologiques, témoignant d'une altération des fonctions hépatiques et métaboliques. L'administration de l'extrait végétal a permis d'atténuer ces perturbations et d'améliorer significativement les paramètres affectés, mettant ainsi en évidence son effet protecteur vis-à-vis des dommages induits par le plomb.

Les essais biologiques ont également révélé une activité antibactérienne variable selon la nature de l'extrait, l'extrait acétonique ayant présenté la meilleure efficacité contre les souches bactériennes testées. De plus, l'extrait hydrométhanolique a montré une activité antioxydante appréciable à travers les tests DPPH, ABTS, FRAP et CUPRAC, traduisant sa capacité à neutraliser les radicaux libres et à exercer un important pouvoir réducteur.

Dans l'ensemble, les résultats de cette étude soulignent le potentiel biologique de *Lotus corniculatus* et mettent en évidence son intérêt comme source naturelle de composés bioactifs susceptibles de contribuer à la prévention des dommages liés au stress oxydatif, à l'intoxication par le plomb et aux infections bactériennes.

Mots-clés : *Lotus corniculatus* L., toxicité subaiguë, hépatotoxicité, acétate de plomb, activité antioxydante, activité antibactérienne, composés phénoliques.

SOMMAIRE

Remerciement.

Dédicace.

الملخص

Abstract.

Résumé.

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux.

Introduction générale.....

Synthese bibliographique

CHAPITRE I :

La famille des Fabacées et la plante étudiée

I.1. La famille des Fabacées	5
I.1.1. Généralités et distribution	5
I.1.2. Caractères botaniques	5
I.1.3. Classification systématique de la famille	6
I.1.4. Utilisation et domaines d'application des plantes de la famille	7
I.1.5. Toxicité	8
I.2. Le Genre <i>Lotus</i>	9
I.2.1. Généralités et distribution	9
I.2.2. Classification systématique	10
I.2.3. Utilisations et domaines d'application du genre <i>Lotus</i>	10
I.2.4. Toxicité	11
I.3. L'espèce <i>Lotus corniculatus</i>	12
I.3.1. Etymologie et description botanique	12
I.3.2. Position systématique	13
I.3.3. Habitat et Répartition géographique	13
I.3.4. Importance de l'espèce <i>L. corniculatus</i> L.	14

CHAPITRE II :

Les substances bioactives et les activités pharmacotoxicologies étudiées

II.1. Les substances bioactives	16
II.1.1. Les métabolites primaires	16
II.1.2. Les métabolites secondaires	17

II.2. Les activités pharmacotoxicologies étudiées	26
II.2.1. Activité antioxydant.....	26
II.2.2. Activité hépatoprotectrice.....	29
II.2.3. Activité antimicrobienne.....	33
II.2.4. Activités pharmacologiques rapportées chez l'espèce <i>Lotus corniculatus</i> L.	34

Partie expérimentale

Matériel et méthode

III-1-Matériel	39
III-1-1-Matériel biologique	39
III-1-1-1-Matériel végétal.....	39
III-1-1-2-Matériel animal	40
III-1-1-3-Matériel microbiologique.....	40
III-1-2-Matériel de laboratoire et consommables.....	41
III-1-3-Produits chimiques et réactifs.....	41
III-2-Méthodes	41
III-2-1- Préparation des extraits.....	41
III-2-2-Calcul du rendement d'extraction.....	43
III-2-3-Méthode d'évaluation de l'activité antioxydante	43
III-2-3-1-Test DPPH (piégeage du radical libre DPPH•)	44
III-2-3-2-Test ABTS (Activité anti- radicalaire cationique)	44
III-2-3-3- Test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)	45
III-2-3-3- Test CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity).....	45
III-2-4-Méthode d'évaluation de la toxicité	47
III-2-4-1-Protocole d'administration par gavage oral	47
III-2-4-2- Évaluation des signes cliniques et comportementaux après gavage oral	47
III-2-4-3-Mesure de poids	47
III-2-4-4- Sacrifice et prélèvement sanguin	48
III-2-4-5-Analyses biochimiques et hématologiques	48
III-2-4-6-Analyses statistiques.....	48
III-2-5-Méthode d'évaluation de l'activité hépatoprotectrice	49
III-2-5-1- Protocole d'administration par gavage oral	49
III-2-5-2- Sacrifice et Analyses biologiques	49
III-2-5-3-Analyse statistique	49
III-2-6-Méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne.....	50
III-2-6-1-Analyse statistique	51

Résultats et discussion

V-Résultats et discussion.....	53
IV-1-Rendement d'extraction (%).....	53
IV-2-Résultat d'activité antioxydant	54
IV-2-1-Test DPPH.....	54
IV-2-2-Test ABTS.....	57
IV-2-3- Test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)	59
IV-2-4-Test CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity)	61
IV-3-Resultat de l'étude toxicologique	63
IV-3-1-Observation clinique des animaux expérimentaux.....	63
IV-3-2-Mesure de poids	64
IV-3-3-Analyses biologiques.....	65
IV-4- Résultat de l'activité hépato protectrice.....	68
IV-4-1- Observations cliniques	68
IV-4-2-Analyses biologiques.....	69
IV-5-Résultat d'activité antibactérienne.....	73
IV-5-1-Résultat de l'activité antibactérienne des témoins positif et négatif	73
IV-5-2- Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux	75
IV-5-3- Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait hydrométhanoliques	76
IV-5-4- Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait chloroformique.....	78
IV-5-5- Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait acétonique	79
IV-5-6- Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait n-hexanique.....	81
Conclusion générale	84
Références bibliographiques	87

LISTE DES ABREVIATION

Abréviation	Mots
%	Pourcentage
ABA	Acide abscissique
ABTS	Acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
Ach	Acétylcholine
AND	Acide désoxyribonucléique
ALT (TGP)	Alanine aminotransférase
ANOVA	Analyse de la variance
APAP	N-acétyl-p-aminophénol (Paracétamol)
ARN	Acide ribonucléique
AST (TGO)	Aspartate aminotransférase
AU	Acide urique
CAT	Catalase
CCM	Chromatographie sur couche mince
Cd	Cadmium
Chol	Cholestérol
Cl⁻	Ion chlorure
CoA	Coenzyme A
Cr	Créatinine
CRP	Protéine C-réactive
CUPRAC	Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity
CYP450	Cytochrome P450
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
EDTA	Acide éthylène diamine tétraacétique
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
g	Gramme
G6PD	Glucose-6-phosphate déshydrogénase
Glu	Glycémie
GN	Gélose nutritive

GPx	Glutathion peroxydase
GR	Glutathione réductase
GSH	Glutathione réduit
GSSG	Glutathione oxydé
GST	Glutathione S-transférase
Hb	Hémoglobine
HCM (TCMH)	Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine
Hct	Hématocrite
Hg	Mercure
HOCl	Acide hypochloreux
H₂O	Eau distillée
Kg	Kilogramme
Meb	Masse d'extrait brut
MH	Milieu Mueller-Hinton
ml	Millilitre
ml	Millilitre
mM	Millimolaire
Mm	Millimètre
Mms	Masse de matière sèche
MPO	Myéloperoxydase
NA	Non actif
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NOS	Nitric oxide synthase
NS	Non significatif
OH•	Radical hydroxyle
O₂	Dioxygène
Pb	Plomb
pH	Potentiel hydrogène
PLT	Plaquettes sanguines
RNS	Espèces réactives de l'azote
ROS	Espèces réactives de l'oxygène

S	Significatif
SOD	Superoxyde dismutase
TG	Triglycérides
TGO (AST)	Transaminase glutamo-oxaloacétique
TGP (ALT)	Transaminase glutamo-pyruvique
UV-B	Ultraviolet de type B
VGM	Volume globulaire moyen
°C	Degré Celsius
ml	Microlitre

LISTES DES FIGURES

Titre de figure	Page
Figure 1 : Carte de répartition géographique mondiale des Fabaceae	5
Figure 2 : Carte de répartition géographique du genre Lotus	10
Figure 3 : Principales parties morphologiques de <i>L.corniculatus</i> L.	12
Figure 4 : Répartition géographique de l'espèce <i>L.corniculatus</i> L.	14
Figure 5 : Les principales classes de métabolites secondaires	18
Figure 6 : Exemples des acides phénoliques	20
Figure 7 : Structure de base des flavonoïdes	21
Figure 8 : Exemples des alcaloïdes . (la caféine)	24
Figure 9 : Balance radicaux libres /antioxydants	27
Figure 10 : Anatomie du foie	30
Figure 11 : Représentation photographique de l'espèce <i>Lotus corniculatus</i> L	39
Figure 12 : Localisation géographique de l'espèce <i>Lotus corniculatus</i> L.	39
Figure 13 : Rat albinos de souche Wistar (<i>Rattus norvegicus</i>)	40
Figure 14 : Schéma du protocole d'extraction (Broyage et macération)	42
Figure 15 : Schéma du protocole d'extraction (Filtration et évaporation)	43
Figure 16 : Principe du test de piégeage du radical DPPH	44
Figure 17 : Principe du test ABTS de capacité antioxydante	45
Figure 18 : Principe du pouvoir réducteur FRAP	46
Figure 19 : Principe du test CUPRAC (cuivre réducteur)	46
Figure 20 : gavage gastrique des rats	47
Figure 21 : Mode de sacrifice des rats et prelevement sanguin	48
Figure 22 : Etapes de la méthode de diffusion sur gélose pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de <i>Lotus corniculatus</i> L.	51
Figure 23 : Rendement d'extraction des différents extraits.	53
Figure 24 : Courbe d'étalonnage de Trolox (Test DPPH)	55
Figure 25 : Courbe d'étalonnage de Trolox (Test ABTS)	57
Figure 26 : Courbe d'étalonnage de FeSO ₄ (Test FRAP)	59
Figure 27 : Courbe d'étalonnage de Trolox (Test CUPRAC)	61

Figure 28 : Évolution du poids corporel (g) des rats témoins et traités durant la période d'acclimatation et la période expérimentale .	65
Figure 29 : Variations moyennes du taux d'HB et HCT chez les rats témoin et traités	66
Figure 30 : Variations moyennes du taux de PLC chez les rats témoins et traités	66
Figure 31 : Variations moyennes du taux de TGO et de TGP chez les rats témoins et traités	68
Figure 32 : Variation des taux de GB, HB, CCMH et VGM chez les rats témoins et traités	69
Figure 33 : Évolution du nombre des plaquettes (PLT) dans les différents groupes	69
Figure 34 : Variations moyennes du taux de TGO et de TGP chez les rats témoins et traités par gavage	70
Figure 35 : Représentation graphique (Interval Plot) de la variation de TGP et TGP ($p < 0.05$).	71
Figure 36 : Variation des taux de CR, CHOL, GLU, AU et TG chez les rats témoins et traités	71
Figure 37 : Effet des ATB et de DMSO sur la croissance des bactéries testées	73
Figure 38 : Effet de l'EH20 sur la croissance des bactéries testées	75
Figure 39 : Effet de l'EH20/MeOH sur la croissance des bactéries testées	77
Figure 40 : Effet de l'ECHL sur la croissance des bactéries testées	78
Figure 41 : Effet de l'EACT sur la croissance des bactéries testées	80
Figure 42 : Effet de l'En-HEX sur la croissance des bactéries testées	82

LISTE DES TABLEAUX

Titre de tableau	Page
Tableau 1 : Position systématique des Fabaceae selon différents systèmes de classification	6
Tableau 2 : Utilisations de quelques plantes médicinales de la famille des Fabaceae,	7
Tableau 3 : Toxicité de quelques espèces de la famille des Fabaceae	9
Tableau 4 : Classification systématique du genre Lotus	10
Tableau 5 : Utilisations des espèces du genre Lotus	11
Tableau 6 : Classification systématique de l'espèce <i>L.corniculatus</i> L.	13
Tableau 7 : Principaux métabolites primaires identifiés chez <i>Lotus corniculatus</i> L.	17
Tableau 8 : Les différentes sous-catégories de flavonoïdes	22
Tableau 9 : Principaux métabolites secondaires de <i>Lotus corniculatus</i> L.	24
Tableau 10 : Les flavonoïdes identifiés dans l'espèce <i>Lotus corniculatus</i> L.	25
Tableau 11 : Saponines identifiées chez <i>Lotus corniculatus</i> L.	25
Tableau 12 : Tanins identifiés chez <i>Lotus corniculatus</i> L.	25
Tableau 13 : Huiles essentielles identifiées chez <i>Lotus corniculatus</i> L.	26
Tableau 14 : Les bactéries étudiées et les maladies associées	33
Tableau 15 : Activités pharmacologiques rapportées chez l'espèce <i>Lotus corniculatus</i> L.	34
Tableau 16 : Identification et classification des souches bactériennes utilisées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne	40
Tableau 17 : Taux d'extraction (%) des différents extraits de <i>L. corniculatus</i> L.	53
Tableau 18 : Activité antioxydante du standard Trolox et de l'extrait hydrométhanolique de <i>Lotus.corniculatus</i> (Test DPPH)	55
Tableau 19 : Activité antioxydante du standard Trolox et de l'EMeOH de <i>Lotus corniculatus</i> (Test ABTS)	57
Tableau 20 : Activité antioxydant du standard FeSO4 et d'EH20/MeOH de <i>L.corniculatus</i> (Test FRAP)	60
Tableau 21 : Activité antioxydant du standard Trolox et d'extrait hydromethanolique de <i>Lotus corniculatus</i> (Test CUPRAC)	62

Tableau 22 : Signes cliniques observés après administration de l'EH20/MeOH de <i>lotus corniculatus</i> à différentes doses.	64
Tableau 23 : Poids corporel des rats avant et après traitement par l'EH20/MeOH de Lotus corniculatus	65
Tableau 24 : Effet de l'EH20/MeOH de <i>Lotus corniculatus</i> sur les analyses hématologiques chez les rats	66
Tableau 25 : Effet des doses croissantes de l'H20/MeOH de <i>L.corniculatus</i> L. sur le taux d'Hb avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %	66
Tableau 26 : Effet de l'extrait de <i>Lotus corniculatus</i> sur les analyses biochimiques chez les rats	67
Tableau 27 : Paramètres hématologiques chez les différents groupes expérimentaux	69
Tableau 28 : Paramètres biochimiques sériques des différents groupes expérimentaux	70
Tableau 29 : Comparaison des moyennes de TGO et TGP par le test de Tukey et un niveau de confiance de 95 %	70
Tableau 30 : Résultats des témoins positif et négatif sur les souches bactériennes testées	73
Tableau 31 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) de l'EH20 enregistré avec les bactéries testées.	75
Tableau 32 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) de l'EH20/MeOH enregistré avec les bactéries testées.	76
Tableau 33 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) de l'ECHL enregistré avec les bactéries testées.	78
Tableau 34 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) de l'ACT enregistré avec les bactéries testées.	79
Tableau 35 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) de l'n-HEX enregistré avec les bactéries testées.	81

Introduction générale

Introduction générale

Les plantes médicinales représentent une source importante de composés bioactifs aux propriétés thérapeutiques variées. Les progrès réalisés en chimie, pharmacologie et toxicologie ont favorisé le développement des recherches sur les substances naturelles, permettant l'identification de nombreuses molécules végétales actives ainsi qu'une meilleure compréhension de leur efficacité et de leur innocuité. Toutefois, leur utilisation nécessite des études scientifiques rigoureuses afin d'évaluer leurs activités biologiques et leurs éventuels effets toxiques **(Latif & Nawaz, 2025)**.

Parmi les activités biologiques les plus étudiées figure l'activité antioxydante, en raison de son rôle dans la neutralisation des radicaux libres et dans la limitation des dommages liés au stress oxydatif. Ce dernier correspond à un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène et les systèmes de défense antioxydants de l'organisme, pouvant entraîner diverses altérations cellulaires et tissulaires impliquées dans plusieurs pathologies **(Halliwell & Gutteridge, 2015 ; Lobo et al., 2010)**.

Dans ce contexte, *Lotus corniculatus* L., espèce herbacée vivace appartenant à la famille des Fabaceae **(Quézel & Santa, 1963)**, suscite un intérêt croissant en raison de sa richesse en composés phénoliques, flavonoïdes et autres métabolites secondaires connus pour leurs différentes activités biologiques. Plusieurs études ont rapporté les propriétés antioxydantes et pharmacologiques de cette espèce, ce qui en fait un candidat potentiel pour des investigations biologiques et toxicologiques approfondies **(Ginovyan et al., 2017 ; Zoghلامي et al., 2020)**.

Le présent travail a pour objectif de valoriser les parties aériennes de *Lotus corniculatus* L. à travers l'étude de certaines de ses propriétés biologiques ainsi que l'évaluation de son innocuité. Cette étude porte principalement sur l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de différents extraits végétaux, ainsi que sur l'étude de leur toxicité et de leur éventuel effet protecteur à travers le suivi de plusieurs paramètres biologiques, biochimiques et hématologiques chez le rat.

Ce mémoire est structuré en quatre chapitres. Le premier chapitre présente des généralités sur la plante étudiée, sa répartition géographique ainsi que certains aspects liés à sa toxicité. Le deuxième chapitre est consacré aux métabolites primaires et secondaires ainsi qu'aux effets pharmacologiques et toxicologiques des extraits végétaux. Le troisième chapitre décrit le matériel et les méthodes expérimentales utilisés au cours de cette étude. Enfin, le quatrième chapitre regroupe les résultats obtenus ainsi que leur discussion à la lumière des données bibliographiques disponibles.

INTRODUCTION

Ce travail s'achève par une conclusion générale résumant les principaux résultats obtenus ainsi que les perspectives envisagées.

Synthèse bibliographique

CHAPITRE I :

La famille des Fabacées et la plante étudiée

I.1. La famille des Fabacées

I.1.1. Généralités et distribution

La famille des Fabaceae, communément appelée légumineuses, constitue l'un des groupes botaniques les plus vastes et les plus diversifiés. Elle comprend des plantes herbacées, arbustives et arborées, largement réparties à travers le monde. Ces espèces se rencontrent aussi bien à l'état sauvage que cultivé, notamment en Afrique, en Asie, en Europe et en Amérique du Sud (MEZRAG, 2019).

Depuis plusieurs millénaires, les légumineuses occupent une place importante dans l'alimentation humaine en raison de leur richesse en protéines et de leur valeur nutritionnelle élevée. Comme l'a souligné Gaston Bonnier (1905), cette famille regroupe un grand nombre d'espèces utiles à l'homme, tant sur le plan alimentaire qu'industriel et médicinal.

D'un point de vue taxonomique, les Fabaceae comptent environ 19 400 espèces réparties en 720 à 750 genres, ce qui en fait l'une des plus importantes familles de plantes à fleurs (The Legume Phylogeny and Classification). Par ailleurs, les formes ligneuses sont généralement plus fréquentes dans les régions à climat chaud, tandis que les formes herbacées dominent dans les zones tempérées (MEZRAG, 2019).

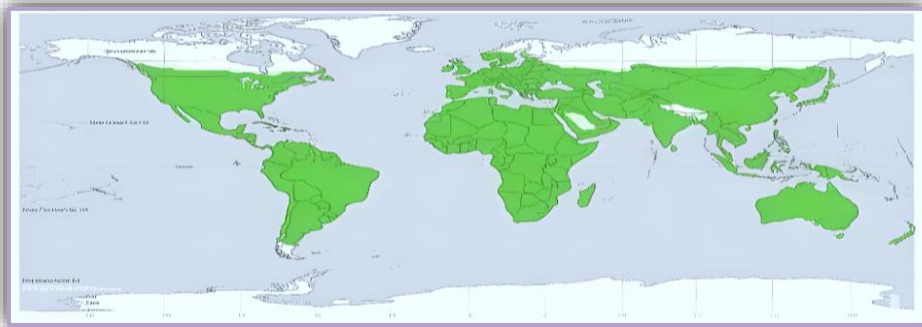


Figure 01 : Carte de répartition géographique mondiale des Fabaceae

I.1.2. Caractères botaniques

Les espèces appartenant à la famille des Fabaceae présentent un ensemble de caractères morphologiques communs qui permettent de les regrouper au sein d'une même unité taxonomique. Toutefois, cette famille se distingue également par une grande diversité de formes florales, résultant de différents processus évolutifs ayant eu lieu de manière progressive ou simultanée.

Sur le plan floral, ces transformations se traduisent notamment par une réduction du nombre d'étamines ainsi que par l'apparition de fleurs zygomorphes, caractérisées par une symétrie bilatérale. Par ailleurs, les feuilles montrent elles aussi une certaine variabilité

morphologique, traduisant une évolution structurale au sein de la famille (WOJCIECHOWSKI in MORAL, 2011).

I.1.3. Classification systématique de la famille

La famille des Fabaceae est reconnue comme un groupe monophylétique, ce qui est appuyé par l'existence de plusieurs caractères morphologiques communs à l'ensemble de ses espèces.

Elle est classiquement subdivisée en quatre grands groupes : les Caesalpinioideae, les Mimosoideae, les Bauhinioidae et les Faboideae (également appelées Papilionoideae). Parmi ces sous-groupes, les Faboideae se distinguent par leur très large distribution à l'échelle mondiale, tandis que les Mimosoideae et les Caesalpinioideae sont principalement présentes dans les régions tropicales.

Dans la majorité des systèmes de classification, ces groupes sont considérés comme des sous-familles. Toutefois, certaines approches taxonomiques proposent de les élever au rang de familles distinctes, en raison de leurs différences morphologiques et phylogénétiques (JUDD et al., 2002 ; SPICHTER et al., 2004).

La position systématique de la famille des Fabaceae a connu d'importantes évolutions au fil du temps, en fonction des différents systèmes de classification proposés. Le tableau suivant présente une synthèse comparative des classifications établies par Adolf Engler (1887–1915), Arthur Cronquist (1988), Robert F. Thorne (1992), ainsi que par le système Angiosperm Phylogeny Group III (2009), en s'appuyant également sur les travaux de WOJCIECHOWSKI et al. (2004).

Tableau 01 : Position systématique des Fabaceae selon différents systèmes de classification

Rang taxonomique	Engler (1887–1915)	Cronquist (1988)	Thorne (1992)	APG III (2009)
Règne	Plantae	Plantae	Plantae	Plantae
Embranchement	Embryophyta	Magnoliophyta	Spermatophyta	Spermatophyta
Sous-embranchement	Angiospermae	—	Angiospermae	Angiospermae
Classe	Dicotyledonae	Magnoliopsida	Magnoliidae	Eudicotyledonae
Sous-classe	Archichlamydeae	Rosidae	Rutanae	Rosidae
Ordre	Rosales	Fabales	Rutales	Fabales (Eurosoid I / Fabidées)
Sous-ordre	Leguminosineae	—	Fabineae	—
Famille	Leguminosae	Fabaceae (= Papilionaceae, Mimosaceae, Caesalpinaceae)	Fabaceae	Fabaceae (= Leguminosae)
Sous-familles	Faboideae, Mimosoideae, Caesalpinioideae	—	Faboideae, Mimosoideae, Caesalpinioideae, Swartzioideae	Faboideae, Mimosoideae, Caesalpinioideae

I.1.4.Utilisation et domaines d'application des plantes de la famille

La famille des Fabaceae, et plus particulièrement la sous-famille des Faboideae, représente un groupe végétal d'une grande importance économique, se situant parmi les familles les plus significatives après les Poaceae. Elle regroupe un grand nombre d'espèces exploitées dans divers secteurs, notamment l'alimentation humaine, l'élevage, l'ornementation et la pharmacologie, même si certaines espèces peuvent présenter une certaine toxicité (HEYWOOD, 1996 ; BRUNETON, 1999 ; JUDD et al., 2002 ; SPICHIGER et al., 2004).

Les légumineuses à graines, issues de diverses espèces herbacées, constituent une ressource alimentaire essentielle pour l'homme comme pour les animaux. Parmi les cultures les plus répandues à l'échelle mondiale figurent l'arachide (*Arachis hypogaea*), le pois chiche (*Cicer arietinum*), la lentille (*Lens culinaris*), les haricots (*Phaseolus* spp.), le pois (*Pisum sativum*) ainsi que le soja (*Glycine max*). Ces espèces sont largement cultivées en raison de leur richesse en protéines et en éléments minéraux.

Par ailleurs, plusieurs Fabaceae sont valorisées pour leur intérêt ornemental, grâce à la diversité et à l'esthétique de leurs fleurs. D'autres espèces sont exploitées dans le domaine industriel, notamment pour l'extraction de colorants naturels issus de genres tels que *Genista* et *Indigofera*.

Enfin, cette famille présente également un intérêt important en pharmacologie. Elle constitue une source de composés bioactifs utilisés dans la fabrication de médicaments. À titre d'exemple, la lécithine extraite du soja participe à la structure des membranes cellulaires, en particulier celles des cellules nerveuses. D'autres substances issues des Fabaceae sont utilisées dans le traitement de certaines pathologies cardiovasculaires, pour améliorer la circulation sanguine ou encore comme agents antidotes. Certaines molécules font également l'objet de recherches pour leur potentiel thérapeutique dans les maladies neurodégénératives, notamment la maladie d'Alzheimer (MEZRAG, 2019).

Tableau 02 : Utilisations de quelques plantes médicinales de la famille des Fabaceae,

Plante médicinale	Partie utilisée	Principes actifs	Utilisations	Mode d'utilisation	Références
<i>Glycyrrhiza glabra</i> (Réglisse)	Racine	Glycyrrhizine, flavonoïdes	Anti-inflammatoire, antitussif, anti-ulcéreux	Décoction, infusion, extrait	BRUNETON (1999), HEYWOOD (1996)
<i>Trigonella foenum-graecum</i> (Fenugrec)	Graines	Saponines, alcaloïdes, fibres	Hypoglycémiant, galactogène, digestif	Infusion, poudre, alimentation	JUDD et al. (2002), MEZRAG (2019)
<i>Senna alexandrina</i>	Feuilles, gousses	Sennosides (A et B)	Laxatif stimulant	Infusion, extrait sec	SPICHIGER et al. (2004)

<i>Glycine max</i> (Soja)	Graines	Isoflavones, lécithine, protéines	Protection cardiovasculaire, hormonal, nutritionnel	Huile, alimentation, extrait	BRUNETON (1999), MEZRAG (2019)
<i>Arachis hypogaea</i> (Arachide)	Graines	Lipides, protéines, acides gras insaturés	Énergétique, nutrition humaine et animale	Consommation directe, huile	HEYWOOD (1996), MEZRAG (2019)
<i>Indigofera tinctoria</i>	Feuilles	Indican (précurseur de l'indigo)	Colorant naturel, usage traditionnel antiseptique	Macération, extraction	BRUNETON (1999)
<i>Acacia Senegal</i>	Gomme, écorce	Polysaccharides (gomme arabique)	Anti-diarrhéique, stabilisant industriel	Poudre, solution	JUDD et al. (2002)
<i>Cicer arietinum</i> (Pois chiche)	Graines	Protéines, fibres, minéraux	Nutrition, contrôle glycémique	Consommation cuite	MEZRAG (2019)

I.1.5. Toxicité

Certaines espèces appartenant à la famille des Fabaceae peuvent présenter des effets toxiques chez l'être humain et l'animal, liés à la présence de métabolites secondaires ou à des contaminations externes (**LOPEZ et al., 1998**).

Parmi ces effets, on observe notamment des atteintes hépatiques et cardio-pulmonaires dues aux alcaloïdes pyrrolizidiniques présents chez certaines espèces du genre *Crotalaria*. Ces intoxications peuvent survenir lors de l'ingestion de produits contaminés ou d'une utilisation médicinale inappropriée. De même, certaines espèces du genre *Lathyrus* contiennent des acides aminés non protéiques responsables du lathyrisme, une maladie neurologique caractérisée par une paralysie progressive.

Par ailleurs, la contamination des graines par des champignons du genre *Aspergillus* peut conduire à la formation d'aflatoxines, substances fortement toxiques et reconnues pour leur pouvoir cancérigène. D'autres Fabaceae sont également impliquées dans des réactions allergiques, notamment l'arachide (*Arachis hypogaea*), fréquemment responsable d'allergies alimentaires.

En outre, la consommation de fèves (*Vicia faba*) peut provoquer le favisme chez les individus présentant un déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD). Enfin, la glycyrrhizine contenue dans la réglisse (*Glycyrrhiza glabra*) peut perturber l'équilibre hydro-électrolytique de l'organisme, entraînant une rétention sodée, une hypokaliémie et un risque accru d'hypertension artérielle ainsi que de complications cardiovasculaires (**AZZOUNE et MEBREK, 2019**).

Le tableau ci-dessous résume les principales toxicités associées à certaines espèces de Fabaceae.

Tableau 03 : Toxicité de quelques espèces de la famille des Fabaceae

Espèce	Partie responsable	Composés toxiques	Effets toxiques	Type d'intoxication / maladie	Références
<i>Crotalaria spp.</i>	Graines, parties aériennes	Alcaloïdes pyrrolizidiniques	Atteintes hépatiques et cardio-pulmonaires	Hépatotoxicité chronique	LOPEZ et al. (1998)
<i>Lathyrus sativus</i>	Graines	β-ODAP (acide aminé neurotoxique)	Paralyse progressive des membres inférieurs	Lathyrisme (neurologique)	AZZOUNE et MEBREK (2019)
<i>Arachis hypogaea</i> (Arachide)	Graines	Protéines allergènes (Ara h 1, Ara h 2...)	Réactions allergiques sévères	Allergie alimentaire / choc anaphylactique	BRUNETON (1999)
<i>Vicia faba</i> (Fève)	Graines	Vicine, convicine	Hémolyse chez sujets sensibles	Favisme (déficit G6PD)	HEYWOOD (1996)
<i>Glycyrrhiza glabra</i> (Régliasse)	Racine	Glycyrrhizine	Hypertension, hypokaliémie, rétention d'eau	Troubles cardiovasculaires et hydro-électrolytiques	BRUNETON (1999), AZZOUNE et MEBREK (2019)
<i>Aspergillus-contaminated seeds</i>	Graines stockées	Aflatoxines	Hépatotoxicité, cancérogénicité	Intoxication alimentaire chronique	LOPEZ et al. (1998)

I.2. Le Genre *Lotus*

I.2.1. Généralités et distribution

Le genre *Lotus*, qui comprend environ 120 à 130 espèces, constitue le plus important genre de la tribu des Loteae (ALLAN et al., 2004).

La distribution du genre *Lotus* est majoritairement méditerranéenne et s'étend aux régions tempérées de l'hémisphère Nord, avec un centre de diversité dans le bassin méditerranéen (Gaafar et al., 2024 ; POWO, Kew Science).

Ce genre regroupe des espèces annuelles ainsi que des plantes vivaces, caractérisées par un système racinaire pivotant fortement ramifié. En Algérie, il est représenté par environ quinze espèces, parmi lesquelles *Lotus conimbricensis* Brot., *L. glinoides* Del., *L. edulis* L., *L. ornithopodioides* L., *L. roudairei* Bonnet, *L. jolyi* Batt., *L. creticus* L., *L. palustris* Willd., *L. corniculatus* L., *L. parviflorus* Desf., *L. hispidus* Desf., *L. pusillus* Medik. et *L. angustissimus* L. (QUEZEL et SANTA, 1963).

Sur le plan morphologique, les espèces du genre *Lotus* présentent un calice généralement à cinq dents presque identiques ou parfois bilabié, avec un ovaire multiovulé et une gousse linéaire, déhiscence et dépourvue d'ailes sur les sutures. Les feuilles sont composées

de trois folioles et munies de stipules, tandis que les fleurs affichent des teintes variées allant du jaune au blanchâtre ou doré (MEZRAG, 2019).

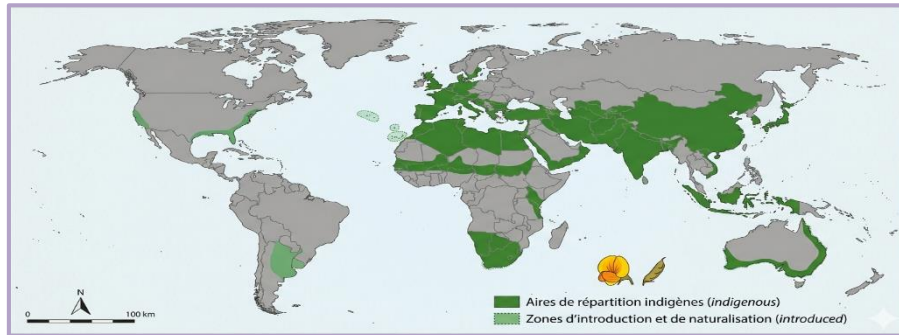


Figure 02 : Carte de répartition géographique du genre *Lotus* POWO (2026).

I.2.2. Classification systématique

Le genre *Lotus* appartient à la famille des Fabaceae et s'inscrit dans la lignée des plantes à fleurs (angiospermes). Sa position taxonomique est la suivante :

Tableau 04 : Classification systématique du genre *Lotus* ALLAN, G. J. et al. (2004)

Rang taxonomique	Classification
Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta (plantes vasculaires)
Embranchement	Magnoliophyta (Angiospermes)
Classe	Magnoliopsida (Dicotylédones)
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae (Leguminosae)
Tribu	Loteae
Genre	<i>Lotus</i> L.

I.2.3. Utilisations et domaines d'application du genre *Lotus*

Le genre *Lotus* occupe une place importante dans les écosystèmes méditerranéens et tempérés, en raison de la diversité de ses espèces et de leurs multiples usages. Plusieurs espèces sont particulièrement valorisées pour leur intérêt fourrager, contribuant de manière significative à l'alimentation du bétail grâce à leur bonne valeur nutritive et à leur adaptation aux conditions environnementales souvent contraignantes (ALLAN et al., 2004 ; MEZRAG, 2019).

Sur le plan écologique, les espèces du genre *Lotus* participent activement à l'amélioration de la fertilité des sols. Cette capacité est liée à leur symbiose avec des bactéries fixatrices d'azote, favorisant ainsi l'enrichissement du sol et la durabilité des systèmes agricoles (QUEZEL et SANTA, 1963 ; ALLAN et al., 2004).

Par ailleurs, certaines espèces présentent un intérêt pastoral et environnemental notable, notamment dans la stabilisation des sols et la limitation de l'érosion. Leur présence

contribue ainsi à la préservation des écosystèmes naturels et au maintien de l'équilibre des milieux ouverts (MEZRAG, 2019).

Enfin, les espèces du genre *Lotus* sont également utilisées en médecine traditionnelle et dans les savoirs ethnobotaniques locaux. Cependant, ces usages reposent encore principalement sur des connaissances empiriques, et les études pharmacologiques modernes restent limitées pour confirmer de manière scientifique l'ensemble des propriétés thérapeutiques qui leur sont attribuées (MEZRAG, 2019 ; ALLAN et al., 2004).

Tableau 05 : Utilisations des espèces du genre *Lotus*

Espèce	Domaine d'utilisation	Partie utilisée	Utilisations principales	Propriétés / intérêt	Références
<i>Lotus corniculatus</i>	Fourrager / medicinal	Parties aériennes	Alimentation du bétail, usage traditionnel en phytothérapie	Valeur nutritive élevée, antispasmodique, anti-inflammatoire léger	ALLAN et al. (2004), MEZRAG (2019)
<i>Lotus Criticus</i>	Écologique / medicinal	Feuilles, tiges	Stabilisation des sols, usage externe traditionnel	Fixation des sols sableux, cicatrisant, anti-inflammatoire	QUEZEL et SANTA (1963), ALLAN et al. (2004)
<i>Lotus Edulis</i>	Fourrager / medicinal	Parties aériennes	Consommation par le bétail, usage traditionnel local	Digestif, apaisant, source de biomasse	QUEZEL et SANTA (1963), MEZRAG (2019)
<i>Lotus glinoides</i>	Fourrager / medicinal	Parties aériennes	Pâturage naturel, usage ethnobotanique	Effets digestifs et calmants supposés	MEZRAG (2019)
<i>Lotus parviflorus</i>	Écologique	Parties aériennes	Couverture végétale, protection des sols	Lutte contre l'érosion	MEZRAG (2019)
<i>Lotus angustissimus</i>	Écologique / pastoral	Parties aériennes	Pâturage en milieux arides	Adaptation aux sols pauvres, contribution à la fertilité	ALLAN et al. (2004), QUEZEL et SANTA (1963)

I.2.4.Toxicité

La toxicité de certaines espèces du genre *Lotus* a été signalée chez les animaux d'élevage. En particulier, *Lotus jolyi* Batt. et *Lotus arabicus* L. (connue sous le nom de vesce d'Égypte) présentent des effets nocifs chez des espèces telles que les chevaux, les moutons, les chèvres et les dromadaires. Au Maroc, plusieurs cas d'intoxication du bétail liés à la consommation de *Lotus jolyi* ont été rapportés. Les symptômes observés chez les animaux atteints incluent notamment des météorismes, une perte d'appétit ainsi qu'une diminution de la mobilité (Bellakhdar, 1997).

I.3. L'espèce *Lotus corniculatus***I.3.1. Etymologie et description botanique**

Le terme « lotier » dérive du mot *lotos*, utilisé par les Anciens Grecs pour désigner diverses plantes, dont le lotier corniculé. L'épithète spécifique « *corniculatus* » provient du latin *cornu*, signifiant corne, en référence à la forme des gousses qui évoquent de petites cornes (**Mezrag, 2019**).

Cette espèce est également connue sous plusieurs appellations vernaculaires telles que pied-de-poule, pois joli, sabot de la mariée, sabot du petit Jésus, trèfle cornu, cornette, fourchette ou encore pantoufle.

Lotus corniculatus L. est une plante herbacée pérenne appartenant à la famille des Fabaceae. Elle est largement utilisée comme plante fourragère et entre fréquemment dans la composition des mélanges de semences destinés aux prairies associant graminées et légumineuses (**Quézel et Santa, 1963**).

Sur le plan morphologique, il s'agit d'une plante de faible hauteur, à port souvent étalé voire légèrement rampant. Ses feuilles sont composées de trois folioles ovales, accompagnées à la base de stipules similaires. La tige, pleine, constitue un caractère distinctif permettant de la différencier du lotier des marais (*Lotus pedunculatus* Cav.), dont la tige est creuse. Les fleurs, de couleur jaune à jaune orangé, sont regroupées en petites inflorescences en tête (**Mezrag, 2019**).

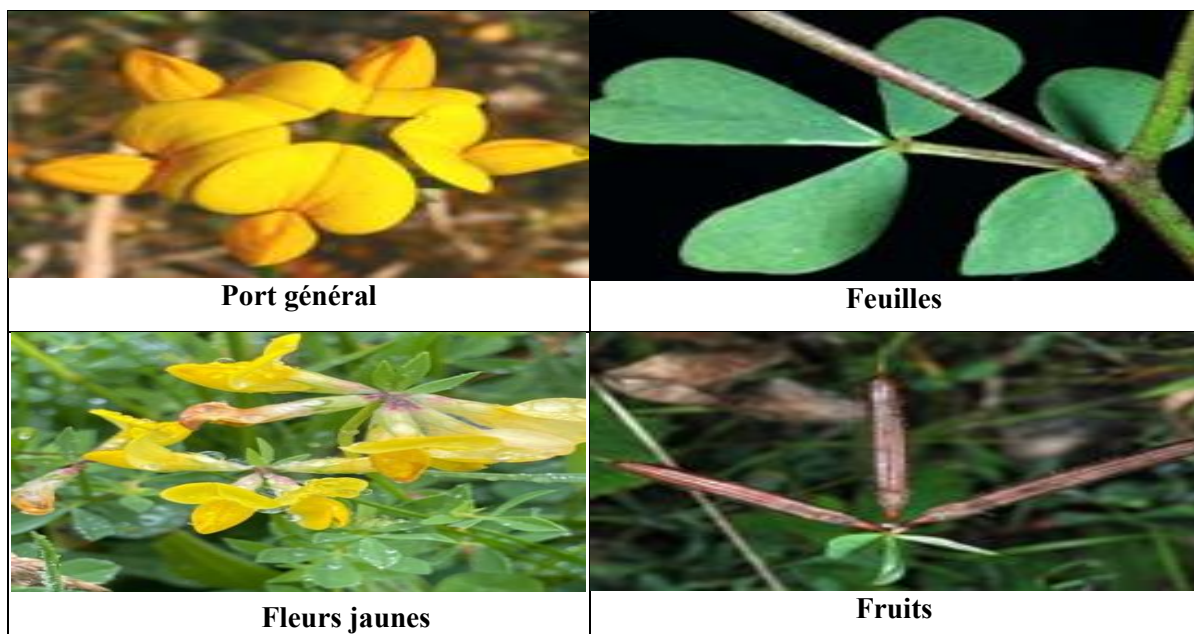


Figure 03: Principales parties morphologiques de *L.corniculatus* L. (**BOTASCOPIA, S.D**)

I.3.2. Position systématique

Lotus corniculatus L. est une espèce végétale appartenant au règne des Plantae. Elle fait partie des Angiospermes, groupe des plantes à fleurs, et se rattache à la classe des Eudicotylédones. D'un point de vue taxonomique, cette espèce est classée dans l'ordre des Fabales et la famille des Fabaceae, qui regroupe un grand nombre de plantes présentant un intérêt agronomique. Le genre *Lotus*, auquel elle appartient, comprend des espèces herbacées largement distribuées, parmi lesquelles *Lotus corniculatus* occupe une place importante (Quézel et Santa, 1963).

Tableau 06 : Classification systématique de l'espèce *L.corniculatus* L.

Niveau taxonomique	Classification
Règne	Plantae
Division	Angiospermes
Classe	Eudicotylédones
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae
Genre	<i>Lotus</i>
Espèce	<i>Lotus corniculatus</i> L.

L'espèce *Lotus corniculatus* L. présente une variabilité intraspécifique importante, se traduisant par l'existence de plusieurs sous-espèces. Parmi les principales sous-espèces décrites, on peut citer : *L.corniculatus* subsp. *alpinus* ; *L.corniculatus* subsp. *corniculatus* L. ; *L.corniculatus* subsp. *delortii* ; *L.corniculatus* subsp. *Preslii* ; *L.corniculatus* subsp. *Valdepilosus* ; *L.corniculatus* subsp. *Carpetanus* , et *L.corniculatus* subsp. *Glacialis*. Ces sous-espèces se distinguent principalement par des variations morphologiques et écologiques, reflétant leur adaptation à différents milieux (Tela Botanica, s.d.).

I.3.3. Habitat et Répartition géographique

Lotus corniculatus L. est une espèce originaire de l'Eurasie méridionale, mais elle présente une large distribution à l'échelle mondiale, témoignant d'un caractère cosmopolite. En Amérique du Nord, cette plante s'est naturalisée après s'être échappée des cultures et colonise désormais divers milieux ouverts (Azzoune et Mebrek, 2019).

Sur le plan écologique, il s'agit d'une espèce hygrophile et neutrocalcicole, qui se développe préférentiellement dans des milieux bien éclairés et sur des sols à pH neutre, généralement pauvres en éléments nutritifs (Botascopia, s.d.).

Elle est fréquemment observée sur des sols alluvionnaires ou argileux, et caractérise des habitats tels que les pelouses basophiles médioeuropéennes occidentales, les milieux mésohydriques, les vases exondées, ainsi que les friches herbacées et les jachères soumises à

un engorgement hivernal. Elle peut également coloniser des milieux anthropisés comme les ballastières (Azzoune et Mebrek, 2019).



Figure 04 : Répartition géographique de l'espèce *L. corniculatus* L.

I.3.4.Importance de l'espèce *L. corniculatus* L.

Lotus corniculatus L. présente un intérêt particulier sur les plans agronomique et écologique. Cette espèce est largement utilisée dans les systèmes de prairies temporaires et permanentes, où elle améliore la qualité du fourrage grâce à sa teneur élevée en protéines et à sa bonne appétence pour le bétail. En tant que légumineuse, elle participe également à la fixation de l'azote atmosphérique, contribuant ainsi à l'enrichissement naturel des sols et à la réduction des apports en engrais azotés (Quézel et Santa, 1963 ; Azzoune et Mebrek, 2019).

Sur le plan écologique, *L. corniculatus* joue un rôle important dans le maintien de la stabilité des écosystèmes prairiaux et dans le soutien de la biodiversité végétale. Sa bonne capacité d'adaptation à différents types de sols et de conditions environnementales lui permet de s'installer dans divers habitats, y compris des milieux marginaux ou perturbés.

Sur le plan médical, *Lotus corniculatus* L. a suscité l'intérêt de plusieurs études en raison de sa composition chimique et de ses propriétés biologiques potentielles. Certaines recherches lui attribuent des effets bénéfiques liés à la présence de composés bioactifs, notamment des flavonoïdes et d'autres métabolites secondaires, qui pourraient contribuer à des activités antioxydantes et anti-inflammatoires. Toutefois, malgré cet intérêt, son utilisation en phytothérapie reste limitée et nécessite davantage d'investigations pour confirmer ses effets et évaluer son innocuité (Bellakhdar, 1997 ; Azzoune et Mebrek, 2019).

CHAPITRE II :

Les substances bioactives et les activités pharmacotoxicologies étudiées

II.1. Les substances bioactives

Les plantes synthétisent une grande diversité de molécules, issues à la fois de leur métabolisme interne et de leurs interactions avec l'environnement. Ces composés assurent des fonctions essentielles au sein de l'organisme végétal, notamment dans les processus de croissance, de développement et de défense. Certains d'entre eux présentent également un intérêt particulier en raison de leurs applications potentielles dans le domaine thérapeutique.

D'un point de vue général, ces substances sont classées en deux grandes catégories : les métabolites primaires, indispensables au fonctionnement vital de la plante, et les métabolites secondaires, également appelés métabolites spécialisés ou produits naturels, impliqués principalement dans les mécanismes d'adaptation et d'interaction avec le milieu (Taiz et al., 2015).

II.1.1. Les métabolites primaires**II.1.1.1. Définition**

Les métabolites primaires correspondent à des composés organiques essentiels au développement, à la croissance et au bon fonctionnement des organismes vivants, en particulier chez les plantes. Ils interviennent directement dans les grandes voies métaboliques, telles que la photosynthèse, la respiration et la biosynthèse des constituants cellulaires.

Parmi ces métabolites, on distingue principalement les glucides, les lipides, les protéines ainsi que les acides nucléiques. Ces substances sont produites de façon universelle par les cellules végétales et se retrouvent généralement en quantités importantes, contrairement aux métabolites secondaires. Leur implication directe dans les fonctions vitales souligne leur rôle central dans le métabolisme fondamental des plantes (Taiz et al., 2015 ; Raven et al., 2013).

II.1.1.2. Les métabolites primaires de l'espèce *L. corniculatus* L.

Plusieurs travaux scientifiques se sont intéressés à l'étude des métabolites primaires chez *Lotus corniculatus* L., mettant en évidence leur importance dans le métabolisme et le développement de la plante. Ces recherches indiquent que cette espèce renferme différents composés essentiels, tels que les glucides, les protéines, les acides aminés et les acides organiques, impliqués dans les fonctions physiologiques fondamentales.

Les études menées sur le genre *Lotus* ont permis de mettre en évidence une grande diversité de métabolites primaires, notamment des sucres solubles et des composés azotés, soulignant leur rôle dans la croissance et la nutrition des plantes (Taiz et al., 2015).

Par ailleurs, il a été démontré que les concentrations de ces métabolites chez *L. corniculatus* varient en fonction des conditions environnementales, en particulier sous l'effet

CHAPITRE II : Les substances bioactives et les activités pharmacotoxicologies étudiées

de stress abiotiques, ce qui traduit leur implication dans les mécanismes d'adaptation (**Raven et al., 2013**).

En outre, des études portant sur les graines de cette espèce ont révélé la présence de polysaccharides de réserve, confirmant le rôle essentiel des glucides dans le stockage de l'énergie et le développement des plantules (**Bewley et al., 2013**).

Dans l'ensemble, ces travaux montrent que les métabolites primaires de *Lotus corniculatus* L. sont indispensables à son fonctionnement biologique et contribuent également à son adaptation aux conditions environnementales.

Le tableau suivant présente les principaux types de métabolites primaires que l'on retrouve chez cette espèce :

Tableau 07 : Principaux métabolites primaires identifiés chez *Lotus corniculatus* L.

Métabolites primaires	Exemples	Références
Glucides	Glucose, saccharose, amidon	Taiz et al., 2015
Protéines	Protéines enzymatiques, protéines de réserve	Raven et al., 2013
Acides aminés	Glutamine, asparagine, acide glutamique	Bewley et al., 2013
Lipides	Acides gras, phospholipids	Taiz et al., 2015
Acides organiques	Acide malique, acide citrique	Raven et al., 2013

II.1.2. Les métabolites secondaires

II.1.2.1. Définition, fonction et classification

Les métabolites secondaires des plantes sont des molécules de petite taille présentant une grande diversité de structures chimiques ainsi que des activités biologiques variées (**Teoh, 2016**). Bien qu'ils ne soient pas directement impliqués dans les fonctions vitales de croissance et de développement, ces composés jouent un rôle important dans l'adaptation des plantes à leur environnement et dans leur compétitivité écologique. Ils interviennent dans plusieurs processus physiologiques, notamment la floraison, la formation des fruits, l'abscission, la croissance pérenne ainsi que les mécanismes de signalisation associés au vieillissement des tissus.

Par ailleurs, ces substances peuvent exercer différentes fonctions écologiques, agissant notamment comme agents antimicrobiens ou comme molécules attractives ou répulsives selon les besoins de la plante (**Tiwari et Rana, 2015**). À ce jour, plus de 50 000 métabolites secondaires ont été identifiés chez les plantes, et un grand nombre de plantes médicinales ainsi que de médicaments modernes doivent leurs propriétés à ces composés naturels.

L'intérêt pour les métabolites secondaires végétaux est particulièrement important en biologie végétale et en biotechnologie. De nombreuses études *in vitro* et *in vivo* ont été menées

CHAPITRE II : Les substances bioactives et les activités pharmacotoxicologies étudiées

afin d'isoler, d'identifier et de caractériser de nouvelles molécules bioactives issues de différentes espèces végétales, tout en évaluant leurs activités biologiques ainsi que leur éventuelle toxicité (Tiwari et Rana, 2015 ; Elshafie, Camele et Mohamed, 2023).

Sur le plan chimique, les métabolites secondaires sont généralement classés en trois grandes familles principales : les terpènes, les composés phénoliques et les composés azotés, chacune regroupant des molécules aux propriétés et aux fonctions biologiques spécifiques (Elshafie et al., 2023).

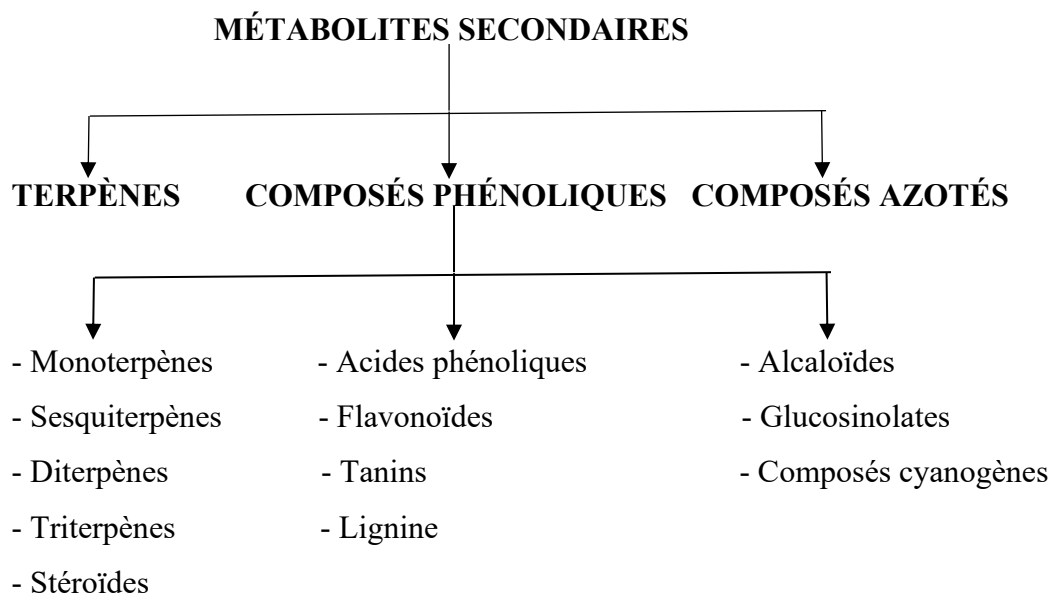


Figure 05 : Les principales classes de métabolites secondaires

II.1.2.1.1. Les terpènes**a) Définition**

Les terpénoïdes sont des métabolites secondaires végétaux impliqués dans la défense et l'adaptation des plantes aux conditions environnementales. Ils constituent une famille très diversifiée de composés dérivés d'unités d'isoprène (C5) et sont classés selon le nombre de ces unités (Teoh, 2016).

b) Classification

Les terpénoïdes sont classés selon le nombre d'unités d'isoprène constituant leur structure. Cette classification met en évidence la diversité structurale et fonctionnelle des terpénoïdes ainsi que leur importance biologique chez les plantes.

Monoterpènes (C10) : composés impliqués principalement dans la défense des plantes contre les agents pathogènes et les insectes. Ils sont fréquemment présents dans les huiles essentielles et les résines végétales (Ahmed et al., 2017).

CHAPITRE II : Les substances bioactives et les activités pharmacotoxicologies étudiées

Sesquiterpènes (C15) : participent aux mécanismes de défense des plantes grâce à leurs propriétés antimicrobiennes et répulsives vis-à-vis des herbivores. Certains, comme l'acide abscissique, interviennent également dans la réponse aux stress environnementaux (**Ahmed et al., 2017**).

Diterpènes (C20) : regroupent plusieurs molécules importantes, notamment le phytol et les gibbérellines, impliqués dans la photosynthèse, la croissance et le développement des plantes. Certains diterpènes possèdent également des propriétés pharmacologiques remarquables (**Ahmed et al., 2017**).

Triterpènes (C30) : dérivés du squalène, ils comprennent des composés biologiquement actifs tels que les saponines et les stérols, reconnus pour leurs diverses propriétés thérapeutiques (**Teoh, 2016**).

Stéroïdes : composés apparentés aux triterpènes, jouant un rôle essentiel dans la structure et la stabilité des membranes cellulaires. Certains présentent également un intérêt pharmaceutique important (**Teoh, 2016**).

II.1.2.1.2. Les composés phénoliques**a) Définition et origine**

Les composés phénoliques, ou polyphénols, constituent une vaste famille de métabolites secondaires d'origine végétale. Ils se définissent comme des molécules organiques caractérisées par la présence d'un ou plusieurs noyaux aromatiques portant des groupements hydroxyles. Cette classe de composés est particulièrement abondante chez les plantes supérieures et se distingue par une grande diversité structurale, avec plus de 8 000 molécules identifiées à ce jour (**Cheynier, 2012 ; Rasouli et al., 2017**).

Ces substances sont largement répandues dans le règne végétal et se retrouvent dans de nombreux aliments d'origine végétale, tels que les fruits, les légumes et divers produits transformés. Elles présentent un intérêt important en raison de leurs propriétés nutraceutiques ainsi que de leurs applications potentielles dans les domaines industriel et thérapeutique (**Singla et al., 2019**). Bien que leur poids moléculaire puisse varier, certains polyphénols possèdent des caractéristiques leur permettant d'interagir avec les membranes cellulaires et de manifester diverses activités biologiques (**Rasouli et al., 2017**).

b) Classification

Sur le plan structural, les composés phénoliques sont classés selon leur organisation chimique et leur degré de complexité. On distingue principalement deux grandes catégories : les formes monomériques et les formes polymériques.

CHAPITRE II : Les substances bioactives et les activités pharmacotoxicologies étudiées

Les formes monomériques regroupent les flavonoïdes ainsi que les acides phénoliques (non flavonoïdes). Les formes polymériques comprennent quant à elles les tanins hydrolysables et condensés. D'autres sous-classes existent également, notamment les stilbènes, les lignanes, les xanthones et les anthraquinones, qui présentent chacune des caractéristiques structurales et fonctionnelles spécifiques (Cheynier, 2012 ; Rasouli et al., 2017 ; Singla et al., 2019).

b-1) Les acides phénoliques

Les acides phénoliques constituent une classe importante de métabolites secondaires d'origine végétale, appartenant aux composés phénoliques. Ils se caractérisent par une structure chimique comprenant un noyau aromatique associé à un ou plusieurs groupements hydroxyles ainsi qu'une fonction carboxylique (-COOH), ce qui leur confère des propriétés chimiques et biologiques particulières (Shahidi et Yeo, 2018).

Sur le plan structural, ces composés sont généralement classés en deux grandes catégories principales : les acides hydroxybenzoïques, de type C₆-C₁ dérivés de l'acide benzoïque, et les acides hydroxycinnamiques, de type C₆-C₃ dérivés de l'acide cinnamique. Une troisième sous-classe, moins représentée, regroupe les acides hydroxyphénylacétiques (Teixeira et al., 2013).

Les acides phénoliques jouent un rôle important dans la physiologie des plantes, notamment dans les mécanismes de défense contre le stress oxydatif. Ils participent également à la protection contre divers stress biotiques et abiotiques et présentent de nombreuses activités biologiques, telles que des effets antioxydants, antimicrobiens et anti-inflammatoires (BiaŁecka-Florjańczyk et al., 2018).

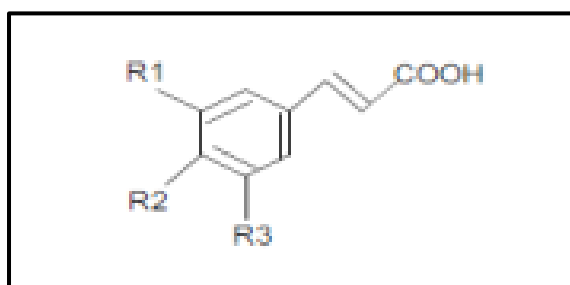


Figure 06 : Exemples des acides phénoliques (Cheynier, 2006)

b-2) Les flavonoides

Les flavonoïdes constituent une classe majeure de composés phénoliques appartenant aux métabolites secondaires d'origine végétale, caractérisés par une structure polyphénolique largement distribuée dans le règne végétal (Otukwude et al., 2025). Ils sont présents dans de nombreuses parties des plantes, notamment les fruits, les légumes, les graines, l'écorce, les

CHAPITRE II : Les substances bioactives et les activités pharmacotoxicologies étudiées

racines, les tiges et les fleurs, ainsi que dans certaines boissons comme le thé (**Panche et al., 2016**).

Sur le plan structural, les flavonoïdes possèdent un squelette de base en C6–C3–C6, constitué de deux noyaux benzéniques (A et B) reliés par un hétérocycle central (C), généralement de type pyranique (**Harborne, 2013**). Cette structure peut subir différentes modifications selon le degré d'oxydation du cycle C ainsi que la nature des substituants présents sur les cycles A et B. Les flavonoïdes existent sous diverses formes, notamment les aglycones et leurs dérivés glycosylés ou méthylés, ce qui contribue à leur grande diversité chimique.

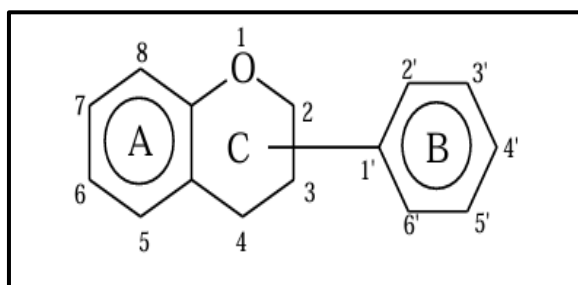


Figure 07 : Structure de base des flavonoïdes (**BENAYACHE, 2013**)

Les flavonoïdes sont classés en plusieurs sous-groupes en fonction de la position du noyau B et du degré d'oxydation du cycle central. On distingue ainsi les flavones, flavonols, flavanones, flavan-3-ols, anthocyanidines ainsi que les isoflavonoïdes. Parmi les composés représentatifs figurent la quercétine, le kaempférol, la naringénine, la catéchine ou encore la cyanidine (**Rasouli et al., 2017 ; Singla et al., 2019**). Par ailleurs, des sous-classes plus spécifiques existent, telles que les prénylflavonoïdes, les flavonolignanes, les chalcones ou les proanthocyanidines, illustrant l'extrême diversité de cette famille.

Sur le plan biologique, les flavonoïdes sont reconnus pour leurs multiples activités pharmacologiques. Ils présentent des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antivirales, antitumorales, antidiabétiques et neuroprotectrices, ce qui leur confère un intérêt majeur en recherche biomédicale et pharmaceutique (**Otukwude et al., 2025**). Leur consommation est également associée à des effets bénéfiques sur la santé humaine, notamment une réduction du risque de maladies cardiovasculaires, des troubles métaboliques et une amélioration globale de la longévité (**Safe et al., 2021**).

Enfin, certaines études ont mis en évidence une double efficacité biologique des flavonoïdes, notamment leur activité antioxydante *in vitro* par piégeage des radicaux libres, ainsi que leur action *in vivo*, notamment par l'inhibition de processus inflammatoires hépatiques. Cette activité s'accompagne d'une diminution des marqueurs enzymatiques de la

CHAPITRE II : Les substances bioactives et les activités pharmacotoxicologies étudiées

cytolyse hépatique tels que l'ALT et l'AST, soulignant leur potentiel thérapeutique en toxicologie et en biochimie (Baali et al., 2020).

Tableau 08: Les différentes sous-catégories de flavonoïdes

Classe de flavonoïdes	Exemples représentatifs	Caractéristiques structurales	Activités biologiques principales	Références
Flavones	Apigénine, Lutéoline	Double liaison C2=C3, peu hydroxylés	Antioxydant, anti-inflammatoire	Harborne, 2013 ; Panche et al., 2016
Flavonols	Quercétine, Kaempférol	Groupement OH en C3	Antioxydant, cardioprotecteur	Rasouli et al., 2017 ; Panche et al., 2016
Flavanones	Naringénine, Hespérétine	Absence de double liaison C2-C3	Anti-inflammatoire, antimicrobien	Singla et al., 2019
Flavan-3-ols	Catéchine, Épicatéchine	Sans groupement carbonyle en C4	Antioxydant, protection cardiovasculaire	Panche et al., 2016 ; Safe et al., 2021
Anthocyanidines	Cyanidine, Delphinidine	Pigments hydrosolubles colorés	Pigmentation, antioxydant puissant	Harborne, 2013 ; Rasouli et al., 2017
Isoflavonoïdes	Génistéine, Daidzéine	Cycle B en position C3	Phytoestrogènes, anticancéreux	Singla et al., 2019
Chalcones	Chalcone	Structure ouverte (précurseurs)	Anti-inflammatoire, antimicrobien	Panche et al., 2016 ; Tiwari et Rana, 2015

b-3) les Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques appartenant aux métabolites secondaires des plantes, largement distribués dans les écosystèmes terrestres et aquatiques. Ils sont présents chez de nombreuses espèces végétales, notamment les angiospermes, les gymnospermes ainsi que diverses plantes herbacées. Leur appellation provient de leur utilisation traditionnelle dans le tannage du cuir, où leurs propriétés astringentes permettent la transformation des peaux animales en cuir (Diouf et al., 2004).

Sur le plan biologique, les tanins jouent un rôle essentiel dans la défense des plantes. Ils contribuent à la protection contre différents agents pathogènes, tels que les bactéries et les champignons, ainsi que contre les insectes herbivores. Ils participent également à la résistance des plantes face à plusieurs stress environnementaux, notamment la sécheresse. Grâce à leurs nombreuses activités biologiques, ils présentent un intérêt important dans plusieurs domaines, en particulier l'agroalimentaire, la pharmacie et la formulation de compléments nutritionnels (Fraga-Corral et al., 2021).

D'un point de vue chimique, les tanins sont des composés phénoliques astringents, généralement solubles dans l'eau. Ils sont classés en deux grandes catégories selon leur

CHAPITRE II : Les substances bioactives et les activités pharmacotoxicologies étudiées

structure et leur origine biosynthétique : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Pizzi, 2021).

Les tanins hydrolysables regroupent principalement les gallotanins et les ellagitannins, dérivés respectivement de l'acide gallique et de l'acide hexahydroxydiphénique. Ils sont facilement hydrolysables sous l'action d'acides, de bases, d'enzymes ou encore de l'eau chaude, et sont souvent extraits à partir de différentes parties végétales, notamment les racines et les écorces (Silva et al., 2000 ; Conrad et al., 2001).

Les tanins condensés, également appelés proanthocyanidines, sont des polymères issus de flavan-3-ols ou de flavan-3,4-diols. Ils résultent de processus de polymérisation oxydative et présentent une masse moléculaire élevée. Leur structure repose principalement sur des liaisons C4–C8 ou C4–C6 (type B), et parfois sur des liaisons additionnelles C2–O–C7 (type A), ce qui explique leur grande diversité structurale (Wollgast & Anklam, 2000 ; Dykes & Rooney, 2006).

Sur le plan biologique, les tanins, comme l'ensemble des polyphénols, possèdent plusieurs activités importantes. Ils agissent notamment comme antioxydants, piègeurs de radicaux libres, chélateurs de métaux et inhibiteurs enzymatiques, en particulier de l'acétylcholinestérase. Ils participent également à la protection cardiovasculaire et présentent des propriétés antimicrobiennes et antivirales, ce qui leur confère un intérêt majeur en recherche biomédicale et pharmaceutique (Mondal et Kundu, 2024).

b-4) Les lignines

La lignine est un ensemble de composés organiques complexes présent dans de nombreux tissus végétaux. Elle joue un rôle fondamental chez les plantes, notamment en contribuant à la formation et à la rigidité des parois cellulaires, ce qui assure la solidité des tissus végétaux et des arbres (Popa et al., 2008). Ce polymère hétérogène est synthétisé à partir de quelques précurseurs phénoliques qui s'assemblent et se réticulent pour former une structure tridimensionnelle complexe (Singla et al., 2019).

II.1.2.1.3. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés organiques d'origine naturelle renfermant principalement du carbone, de l'hydrogène, de l'oxygène et au moins un atome d'azote. Cet atome, généralement présent sous forme d'amines primaires, secondaires ou tertiaires, confère à ces molécules un caractère basique. Cette propriété facilite leur extraction et leur isolement, notamment sous forme de sels hydrosolubles obtenus en présence d'acides minéraux.

Les alcaloïdes présentent un intérêt particulier en raison de leur forte activité biologique. Ils constituent, depuis longtemps, les principes actifs de nombreux médicaments, mais peuvent

CHAPITRE II : Les substances bioactives et les activités pharmacotoxicologies étudiées

également être responsables d'effets toxiques ou psychotropes. D'un point de vue physico-chimique, ces composés se distinguent par une faible solubilité dans l'eau à l'état libre, une bonne solubilité dans les solvants organiques tels que l'alcool ou l'éther, et une solubilité accrue en milieu aqueux après transformation en sels sous l'action d'acides (Lamari et Meriem, 2016).

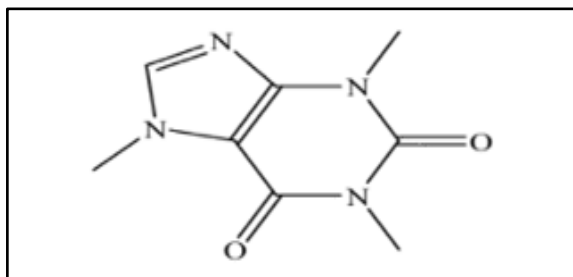


Figure 08 : Exemples des alcaloïdes . (la caféine) (Léger et al., 1977).

II.1.2.3. Les métabolites secondaires de l'espèce *Lotus corniculatus* L.

Selon plusieurs études phytochimiques, *Lotus corniculatus* L. a fait l'objet d'investigations approfondies visant à caractériser sa composition en métabolites secondaires. Ces travaux ont permis d'identifier différentes classes de composés bioactifs, notamment les flavonoïdes, les tanins, les saponines ainsi que certains constituants volatils tels que les huiles essentielles (Azzoune et Mebrek, 2019 ; Harborne, 2013).

Les flavonoïdes représentent l'une des classes les plus abondantes chez cette espèce et sont associés à diverses activités biologiques, notamment antioxydantes et anti-inflammatoires. Les tanins, en particulier les tanins condensés, jouent un rôle important dans la défense de la plante et influencent également sa valeur nutritionnelle. Les saponines, quant à elles, sont connues pour leurs propriétés tensioactives et leurs effets biologiques variés. Enfin, les huiles essentielles, bien que présentes en plus faible quantité, participent aux interactions écologiques de la plante (Rasouli et al., 2017 ; Singla et al., 2019).

Tableau 09 : Principaux métabolites secondaires de *Lotus corniculatus* L.

Classe de composés	Références
Flavonoïdes	Harborne, 2013 ; Rasouli et al., 2017
Tanins	Azzoune et Mebrek, 2019
Saponines	Singla et al., 2019
Huiles essentielles	Rasouli et al., 2017

CHAPITRE II : Les substances bioactives et les activités pharmacotoxicologies étudiées

Les flavonoïdes identifiés chez *Lotus corniculatus* L. appartiennent à plusieurs classes structurales, reflétant la diversité biochimique de cette espèce. Leur répartition varie selon les parties de la plante et les conditions environnementales, ce qui peut influencer leurs activités biologiques.

Tableau 10 : Les flavonoïdes identifiés dans l'espèce *Lotus corniculatus* L.

Espèce	Classe de flavonoïdes	Flavonoïde identifié	Partie étudiée	Références
<i>L. corniculatus</i>	Flavonols	Quercétine, Kaempférol	Feuilles, parties aériennes	Harborne, 2013 ; Azzoune et Mebrek, 2019
	Flavones	Lutéoline, Apigénine	Feuilles	Rasouli et al., 2017
	Flavan-3-ols	Catéchine, Épicatéchine	Graines, parties aériennes	Singla et al., 2019
	Isoflavonoïdes	Génistéine, Daidzéine	Racines, parties aériennes	Panche et al., 2016
	Anthocyanidines	Cyanidine	Fleurs	Harborne, 2013

Les saponines identifiées chez *Lotus corniculatus* L. sont majoritairement de nature triterpénique. Leur présence varie selon les parties de la plante et les conditions environnementales, et elles contribuent aux propriétés biologiques et écologiques de l'espèce.

Tableau 11 : Saponines identifiées chez *Lotus corniculatus* L.

Espèce	Type de saponine	Composé identifié	Partie étudiée	Références
<i>L. corniculatus</i>	Saponines triterpéniques	Saponines dérivées de l'acide oléanolique	Parties aériennes	Harborne, 2013 ; Singla et al., 2019
	Saponines triterpéniques	Saponines glycosylées	Feuilles	Rasouli et al., 2017
	Saponines triterpéniques	Saponines non spécifiques (mélange)	Graines	Azzoune et Mebrek, 2019

Les tanins chez *Lotus corniculatus* L., sont majoritairement représentés par les tanins condensés (proanthocyanidines), qui jouent un rôle important à la fois dans la défense de la plante et dans sa valeur nutritionnelle, notamment chez les ruminants.

Tableau 12 : Tanins identifiés chez *Lotus corniculatus* L.

Espèce	Classe de tanins	Composés identifiés	Partie étudiée	Références
<i>L. corniculatus</i>	Tanins condensés (proanthocyanidines)	Procyanidines (catéchine, épicatechine)	Feuilles, Parties	Azzoune et Mebrek, 2019 ;

CHAPITRE II : Les substances bioactives et les activités pharmacotoxiciologies étudiées

			aériennes	Waghorn, 2008
	Tanins condensés	Prodelphinidines	Feuilles	Waghorn, 2008
	Tanins hydrolysables	Gallotanins, ellagitanins (traces)	Racines, Ecorce	Pizzi, 2021
	Tanins condensés	Mélange de proanthocyanidines	Parties aériennes	Fraga-Corral et al., 2021

Les huiles essentielles de *Lotus corniculatus* L. sont généralement présentes en faibles quantités et se composent principalement de terpènes et de composés volatils. Elles jouent un rôle important dans les interactions écologiques de la plante, notamment dans l'attraction des pollinisateurs et la défense contre certains agents pathogènes.

Tableau 13 : Huiles essentielles identifiées chez *Lotus corniculatus* L.

Espèce	Classe de composés volatils	Composés identifiés	Partie étudiée	Références
<i>L.corniculatus</i>	Monoterpènes	Limonène, α -pinène	Parties aériennes	Rasouli et al., 2017
	Sesquiterpènes	β -caryophyllène	Feuilles	Singla et al., 2019
	Alcools terpéniques	Linalol	Fleurs	Panche et al., 2016
	Aldéhydes / cétones	Composés volatils divers	Parties aériennes	Harborne, 2013

II.2.Les activités pharmacotoxiciologies étudiées

Les différentes parties de *Lotus corniculatus* sont largement utilisées en médecine traditionnelle à travers le monde. Des études pharmacologiques récentes ont confirmé ses multiples activités biologiques, notamment antioxydantes, anti-inflammatoires, hépatoprotectrices et antimicrobiennes (Salman et al., 2015 ; Baali et al., 2020 ; Yang et al., 2025).

II.2.1.Activité antioxydant

L. corniculatus présente une activité antioxydante importante grâce à sa capacité à piéger les radicaux libres, inhiber la dénaturation des protéines et réduire les marqueurs inflammatoires tels que la CRP et la MPO (Baali et al., 2020 ; Abdel-Alim et al., 2023).

II.2.1.1.Définition

L'activité antioxydante peut être définie comme l'aptitude d'une molécule à entraver ou à ralentir les processus d'oxydation. Cette propriété, particulièrement présente chez les composés phénoliques et certaines vitamines (C et E), repose sur leur capacité à neutraliser les

CHAPITRE II : Les substances bioactives et les activités pharmacotoxicologies étudiées

espèces radicalaires, notamment les radicaux hydroxyles (OH) et superoxydes (O₂), protégeant ainsi les structures cellulaires. (Rice-Evans et al., 1995 ; Bartosz, 2003).

II.2.1.2. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif résulte d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et de métabolites réactifs, appelés oxydants ou espèces réactives de l'oxygène (ROS), et leur élimination par les mécanismes de protection dénommés antioxydants. Ce déséquilibre s'établit au profit des agents pro-oxydants, provoquant ainsi des dommages au niveau des cellules et des tissus. Les macromolécules biologiques, telles que l'ADN, les lipides membranaires et les protéines, constituent les cibles privilégiées de ces réactions d'oxydation. Cette rupture d'équilibre est due soit à une production excessive d'espèces radicalaires, soit à un affaiblissement des systèmes de défense antiradicalaires de l'organisme (Migdal et Serres, 2011).



Figure 09: Balance radicaux libres /antioxydants (Shimizu ; 2004)

II.2.1.2.1. Les radicaux libres**a) Définition**

Les radicaux libres sont des molécules ou atomes instables possédant un électron non apparié, ce qui leur confère une forte réactivité. Ils sont principalement générés au cours du métabolisme cellulaire, mais peuvent également provenir de facteurs externes tels que les rayonnements ultraviolets et certains agents chimiques. En quantité excessive, ils peuvent endommager les lipides, les protéines et l'ADN, favorisant ainsi le développement de diverses pathologies et le vieillissement cellulaire. Cependant, à faibles concentrations, ils participent à certains processus physiologiques, leurs effets étant régulés par les systèmes antioxydants de l'organisme (Irkin, 2025).

b) Origine des radicaux libres

Les radicaux libres proviennent de sources endogènes et exogènes. Les sources endogènes sont principalement liées aux processus métaboliques normaux de l'organisme, notamment la respiration mitochondriale, les réactions enzymatiques et les phénomènes

CHAPITRE II : Les substances bioactives et les activités pharmacotoxicologies étudiées

inflammatoires. Leur production peut également être amplifiée lors de situations de stress physiologique ou psychologique (**İrkin, 2025**).

Les sources exogènes regroupent quant à elles différents facteurs environnementaux tels que la pollution, les rayonnements ultraviolets, certains produits chimiques, les pesticides et les métaux lourds. Une alimentation pauvre en antioxydants peut aussi favoriser leur accumulation et contribuer à l'installation du stress oxydatif (**Rao et al., 2011**).

c) Types des radicaux libres

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO ou ROS) regroupent à la fois des espèces radicalaires et non radicalaires dérivées de l'oxygène. Elles se caractérisent par une forte réactivité chimique et jouent un rôle central dans les processus de stress oxydatif. Certaines d'entre elles sont de véritables radicaux libres, tandis que d'autres, bien que non radicalaires, peuvent agir comme précurseurs et générer des radicaux secondaires (**Halliwell & Whiteman, 2004 ; Yoshikawa et al., 2000**).

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) regroupent des formes radicalaires et non radicalaires dérivées de l'oxygène, produites au cours du métabolisme cellulaire. Parmi les principales ROS radicalaires figurent l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), considéré comme le premier radical formé lors de la respiration mitochondriale, le radical hydroxyle ($OH^{\bullet}$), reconnu pour sa très forte réactivité, ainsi que le monoxyde d'azote ($NO^{\bullet}$), impliqué dans la signalisation cellulaire mais pouvant devenir toxique en situation de stress oxydatif (**Harman, 2000 ; Halliwell et Gutteridge, 2015**).

Les ROS non radicalaires comprennent principalement l'oxygène singulet ($^1O_2$) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Bien que moins réactives que les formes radicalaires, ces espèces peuvent participer à des réactions conduisant à la formation de composés hautement oxydants, responsables de dommages aux lipides, aux protéines et à l'ADN (**Jadot, 1994 ; Karp, 2010**).

II.2.1.2.2. Les antioxydants

a) Définition

Les antioxydants sont des molécules suffisamment stables pour donner un électron aux radicaux libres et les neutraliser, réduisant ainsi leur capacité à endommager les cellules. Ils agissent principalement en inhibant les réactions d'oxydation et en interrompant les réactions en chaîne induites par les radicaux libres. (**Lobo et al., 2010**)

b) Types des antioxydants

Les antioxydants peuvent être classés en deux grandes catégories selon leur origine : endogènes et exogènes. (**Lobo et al., 2010**).

CHAPITRE II : Les substances bioactives et les activités pharmacotoxicologies étudiées

b-1) Les antioxydants endogènes

Les antioxydants endogènes sont des systèmes de défense naturellement produits par l'organisme pour limiter les effets du stress oxydatif. Ils se répartissent en deux catégories : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques (Lobo et al., 2010).

Les principaux antioxydants enzymatiques sont la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx), qui assurent la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène. Le système du glutathion (GST et GR) participe également à la détoxification cellulaire et au maintien de l'équilibre redox (Lobo et al., 2010).

Les antioxydants non enzymatiques comprennent principalement le glutathion réduit (GSH), considéré comme le principal antioxydant intracellulaire, ainsi que la vitamine C, la vitamine E, l'acide urique et la mélatonine, qui contribuent à la protection des cellules contre les dommages oxydatifs (Lobo et al., 2010 ; Lu, 2013).

b-2) Les antioxydants exogènes

Les antioxydants exogènes sont des composés apportés principalement par l'alimentation et contribuent à la protection de l'organisme contre le stress oxydatif. Ils comprennent essentiellement la vitamine C, la vitamine E, les caroténoïdes et les polyphénols (Hamid et al., 2010).

La vitamine C et la vitamine E agissent respectivement dans les milieux aqueux et lipidiques pour neutraliser les radicaux libres et prévenir les dommages oxydatifs. Les caroténoïdes possèdent également une activité antioxydante importante, notamment par leur capacité à neutraliser l'oxygène singulet et diverses espèces réactives. Quant aux polyphénols, en particulier les flavonoïdes, ils contribuent à la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation et participent à la prévention de nombreuses maladies associées au stress oxydatif (Nibir et al., 2017).

II.2.2. Activité hépatoprotectrice

II.2.2.1. Définition

L'activité hépatoprotectrice correspond à la capacité des substances naturelles ou médicamenteuses, notamment celles issues des plantes médicinales, à protéger le foie contre les dommages causés par des agents toxiques, grâce à plusieurs mécanismes incluant l'activité antioxydante, l'effet anti-inflammatoire ainsi que la stabilisation des membranes des cellules hépatiques. (Gonfa et al., 2024).

II.2.2.2. Généralités sur le foie et les lésions hépatiques

a) Anatomie du foie

Le foie est la plus grande glande de l'organisme et l'un des principaux organes de l'appareil digestif. Situé dans l'hypocondre droit, sous le diaphragme, il pèse en moyenne entre 1,4 et 1,6 kg. Il est entouré par une capsule fibreuse appelée capsule de Glisson et se compose de deux lobes principaux, droits et gauches, ainsi que de deux lobes accessoires, caudé et carré. La vésicule biliaire, attachée à sa face inférieure, assure le stockage et la concentration de la bile (Decock, 2018)

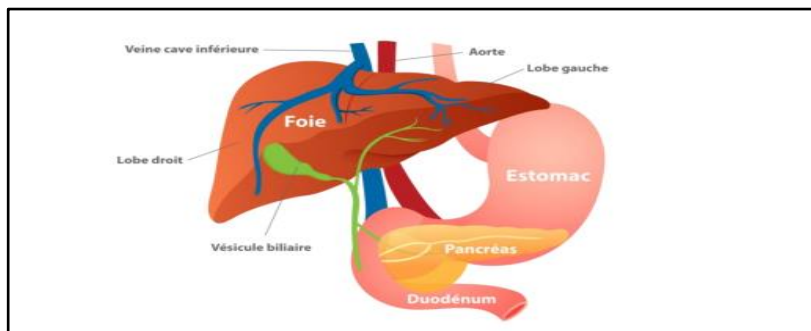


Figure 10 : Anatomie du foie (Decock, 2018).

b) Histologie du foie

Le foie est constitué d'unités structurales appelées lobules hépatiques, au sein desquels les hépatocytes sont organisés en travées autour d'une veine centrolobulaire. À la périphérie de chaque lobule se trouvent les espaces portes renfermant la triade portale, composée d'une branche de la veine porte, d'une artère hépatique et d'un canal biliaire. Le sang circule des espaces portes vers la veine centrolobulaire, tandis que la bile suit un trajet inverse vers les canaux biliaires. Les hépatocytes assurent à la fois des fonctions métaboliques et la production de la bile (Tamini, 1990).

II.2.2.3. Mécanismes des atteintes hépatiques

Les atteintes hépatiques regroupent plusieurs types de lésions pouvant altérer la structure et la fonction du foie.

La nécrose est une forme de mort cellulaire résultant d'agressions physiques, chimiques ou de déséquilibres cellulaires. Au niveau du foie, elle correspond à la destruction des hépatocytes et peut toucher différentes zones du lobule hépatique. Il s'agit généralement d'une lésion aiguë entraînant une altération importante du tissu hépatique (Frank, 1992).

La stéatose hépatique correspond à une accumulation excessive de lipides, principalement des triglycérides, dans les hépatocytes. Elle est fréquemment associée à

CHAPITRE II : Les substances bioactives et les activités pharmacotoxicologies étudiées

l'obésité et au diabète, et peut entraîner une altération progressive des fonctions hépatiques en cas de persistance (**Marchesini et al., 2003 ; Sung et Kim, 2011**).

La fibrose hépatique correspond à une accumulation excessive de matrice extracellulaire dans le foie, survenant généralement dans le cadre de maladies chroniques d'origine variée. Elle peut évoluer progressivement vers la cirrhose, stade avancé et irréversible des atteintes hépatiques, associé à une forte morbidité et mortalité (**Rosenbaum et al., 1994**).

II.2.2.4. Hépatotoxicité

L'hépatotoxicité est définie comme la capacité d'une substance, notamment les médicaments, à induire des lésions au niveau du foie. Ces atteintes peuvent se manifester sous forme d'inflammation hépatique (hépatite) ou de nécrose des cellules hépatiques dans les cas les plus sévères. Elle peut également évoluer vers une stéatose hépatique, caractérisée par une accumulation anormale de lipides dans le foie (**Therrien, 2009**).

II.2.2.5. Les agents hépatotoxiques

a) Définition

Les agents hépatotoxiques sont des substances chimiques, médicamenteuses ou naturelles, capables de causer des lésions au foie.

b) Types des agents hépatotoxiques

b-1) Métaux lourds

Les métaux lourds sont des polluants environnementaux persistants caractérisés par une forte densité et une toxicité élevée. Non biodégradables, ils s'accumulent dans les organismes vivants et peuvent se biomagnifier dans les chaînes alimentaires. Parmi les plus toxiques figurent le plomb, le mercure, l'arsenic et le cadmium. Leur exposition, même à faibles doses, peut provoquer des atteintes multisystémiques, notamment au niveau du système nerveux, des reins, du foie et des poumons, et est également associée à certains cancers (**Jarup, 2003 ; Jaishankar et al., 2014**).

b-2) Médicaments hépatotoxiques

Certains médicaments peuvent induire des atteintes hépatiques dont la nature varie selon la substance et la dose, allant de formes aiguës à chroniques ou cholestatiques (**CBIP, 2005**). Parmi eux, le paracétamol est largement utilisé et généralement sûr aux doses thérapeutiques. Cependant, un surdosage peut provoquer une hépatotoxicité sévère et constitue l'une des principales causes d'insuffisance hépatique aiguë (**Larson et al., 2005**).

b-3) Plantes à activité hépatotoxique

Certaines plantes peuvent présenter une toxicité hépatique en raison de leurs composés chimiques, notamment les alcaloïdes pyrrolizidiniques, ou d'autres substances actives

CHAPITRE II : Les substances bioactives et les activités pharmacotoxicologies étudiées

potentiellement toxiques. Leur consommation peut entraîner des atteintes hépatiques parfois sévères, voire mortelles. Plusieurs espèces sont concernées, telles que *Crotalaria*, *Senecio*, *Heliotropium*, *Symphytum officinale*, ainsi que d'autres plantes médicinales ou aromatiques comme *Atractylis gummifera*, *Teucrium chamaedrys* ou encore *Chelidonium majus* (Bensakhria, 2018 ; Larrey, 2005).

II.2.2.6. Les hépatoprotecteurs**a) Définition**

Les hépatoprotecteurs sont des substances ou des agents capables de prévenir ou de réduire les dommages au niveau du foie causés par des agents toxiques, en protégeant les cellules hépatiques. (Dhingra et al., 2011)

b) Types des hépatoprotecteurs

Les hépatoprotecteurs sont généralement classés selon leur origine en trois principales catégories : les hépatoprotecteurs d'origine nutritionnelle, ceux d'origine synthétique et les hépatoprotecteurs d'origine végétale.

b-1) Les hépatoprotecteurs d'origine nutritionnelle

Les hépatoprotecteurs d'origine nutritionnelle correspondent principalement aux nutriments et micronutriments essentiels impliqués dans la protection cellulaire, notamment les vitamines (C, E), les minéraux comme le sélénium, ainsi que certains acides aminés tels que la méthionine et la cystéine. Ces composés contribuent à renforcer les systèmes antioxydants endogènes et à limiter le stress oxydatif hépatique (Poli, 2000 ; Valko et al., 2007).

b-2) Les hépatoprotecteurs d'origine synthétique

Les hépatoprotecteurs d'origine synthétique regroupent des molécules pharmaceutiques développées pour prévenir ou réduire les lésions du foie. Parmi eux, on retrouve des composés comme la silymarine purifiée ou certains dérivés chimiques utilisés dans la prise en charge des hépatites et des intoxications médicamenteuses. Leur action repose souvent sur des mécanismes antioxydants, anti-inflammatoires ou stabilisateurs des membranes cellulaires (Buege & Aust, 1978 ; Loguercio & Festi, 2011).

b-3) Les hépatoprotecteurs d'origine végétale

Les hépatoprotecteurs d'origine végétale sont issus des plantes médicinales et représentent une part importante des approches traditionnelles et modernes de protection hépatique. Des extraits de plantes telles que *Silybum marianum*, *Curcuma longa* ou *Phyllanthus niruri* ont montré des effets bénéfiques grâce à leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antifibrotiques, en lien avec leur richesse en polyphénols et flavonoïdes (Calixto, 2000 ; Stickel & Schuppan, 2007).

CHAPITRE II : Les substances bioactives et les activités pharmacotoxicologies étudiées

II.2.3. Activité antimicrobienne

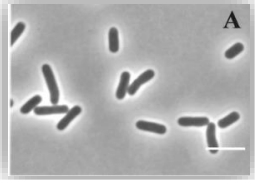
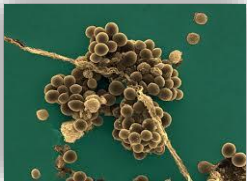
II.2.3.1. Définition

Selon Hossain (2024), l'évaluation de l'activité antibactérienne repose sur la capacité des composés naturels ou synthétiques à inhiber la croissance bactérienne ou à la détruire, à l'aide de différentes méthodes d'analyse in vitro.

II.2.3.2. Les microorganismes étudiés

Les microorganismes constituent un ensemble très diversifié d'organismes microscopiques, comprenant principalement les bactéries, les archées et certains microorganismes eucaryotes. Ils sont présents dans une grande variété d'environnements, y compris des milieux extrêmes, et jouent un rôle essentiel dans les équilibres biologiques et écologiques (Grégoire et al., 2009).

Tableau 14 : Les bactéries étudiées et les maladies associées

Bactérie	Description	Maladies associées	Figure
<i>Escherichia coli</i> (Delarras, 2007).	Bacille Gram négatif faisant partie de la flore intestinale normale. Certaines souches sont pathogènes.	Infections urinaires, gastro-entérites, diarrhées, intoxications alimentaires	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Danielle, 2011)	Bacille Gram négatif opportuniste présent dans l'eau, le sol et les milieux humides	Pneumopathies, infections urinaires, otites externes, infections cutanées et infections nosocomiales.	
<i>Bacillus cereus</i> (R. Teyssou et al, 1998).	Bacille Gram positif ubiquitaire et sporulé.	Intoxications alimentaires, infections de plaies et infections opportunistes.	
<i>Staphylococcus aureus</i> (Bisognano, 2001).	Coque Gram positif présent sur la peau et les muqueuses.	Infections cutanées, intoxications alimentaires, syndrome du choc toxique, endocardite et septicémie.	

II.2.3.3. Les antimicrobiens

C'est un ensemble de substances capables d'inhiber la croissance des microorganismes ou de les détruire (Hossain, 2024), elles sont divisées en deux grandes catégories.

a) Les antibiotiques

CHAPITRE II : Les substances bioactives et les activités pharmacotoxicologies étudiées

Ce sont des substances d'origine biologique produites par des organismes vivants, ou des substances chimiques, ou encore des substances semi-synthétiques, capables d'inhiber ou de détruire de manière spécifique les bactéries sans être toxiques pour l'hôte (Pilly, 1975).

b) Les antimicrobiens d'origine végétale

Selon Chebaibi et al. (2016), les composés d'origine végétale, en particulier les huiles essentielles et les extraits de plantes, possèdent des propriétés antimicrobiennes capables d'inhiber ou de détruire les microorganismes pathogènes.

Ainsi, les antimicrobiens d'origine végétale sont des composés produits par les plantes dans leur système de défense naturel, tels que les polyphénols, les terpénoïdes, les saponines et les alcaloïdes. Ces substances présentent une activité antimicrobienne en perturbant les membranes cellulaires, en inhibant les enzymes ou en bloquant les fonctions vitales des microorganismes (Hossain, 2024).

II.2.4. Activités pharmacologiques rapportées chez l'espèce *Lotus corniculatus* L.

Lotus corniculatus L. est une espèce végétale utilisée depuis longtemps dans certaines pratiques de médecine traditionnelle, en raison de ses propriétés nutritionnelles et de ses usages thérapeutiques potentiels. Plusieurs études scientifiques ont mis en évidence que cette plante présente un large éventail d'activités pharmacologiques, attribuées principalement à sa richesse en métabolites secondaires, notamment les flavonoïdes, les isoflavones, les saponines, les alcaloïdes ainsi que d'autres composés phénoliques (Harborne, 2013 ; Rasouli et al., 2017 ; Singla et al., 2019).

Tableau 15 : Activités pharmacologiques rapportées chez l'espèce *Lotus corniculatus* L.

Activité étudiée	Résultats principaux	Composés impliqués	Références
Activités biologiques globales	Mise en évidence d'une forte teneur en métabolites secondaires, notamment en composés phénoliques	Flavonoïdes, polyphénols	Harborne (2013)
Activité antioxydante et anti-inflammatoire	Activité antioxydante élevée associée à la présence de polyphénols	Flavonoïdes, tanins	Rasouli et al. (2017)
Activités pharmacologiques diverses	Mise en évidence d'effets antimicrobiens et anti-inflammatoires	Flavonoïdes, saponines	Singla et al. (2019)
Activité antimicrobienne	Inhibition significative de la croissance de certains micro-organismes	Tanins, saponines	Fraga-Corral et al. (2021)
Activité cardioprotectrice	Effets bénéfiques potentiels sur le système cardiovasculaire	Flavonoïdes, isoflavonoïdes	Safe et al. (2021)

Analyse toxicologique	Faible teneur en alcaloïdes suggérant une toxicité limitée	Alcaloïdes (faibles quantités)	Lamari et Meriem (2016)
Composition et activités biologiques	Prédominance des composés phénoliques dans la composition chimique	Flavonoïdes, tanins	Azzoune et Mebrek (2019)

Les études disponibles dans la littérature sur *Lotus corniculatus* L. mettent en évidence une variété d'activités pharmacologiques, généralement attribuées à la richesse de cette plante en métabolites secondaires. Toutefois, une analyse approfondie de ces travaux révèle une certaine hétérogénéité, notamment en ce qui concerne les méthodes employées, les types d'extraits analysés et les niveaux de validation scientifique.

Les travaux de **Harborne (2013)** s'inscrivent principalement dans une approche phytochimique et soulignent l'abondance des flavonoïdes et d'autres composés phénoliques. Bien que cette étude ne porte pas spécifiquement sur *Lotus corniculatus*, elle constitue un cadre théorique pertinent pour interpréter les activités biologiques associées à ces composés. Néanmoins, son caractère descriptif ne permet pas d'établir directement des effets pharmacologiques démontrés expérimentalement.

Dans la même optique, **Rasouli et al. (2017)** proposent une synthèse reliant la structure des polyphénols à leurs propriétés biologiques. Ils mettent en avant le rôle important des flavonoïdes et des tanins dans les activités antioxydantes et anti-inflammatoires. Cependant, leurs conclusions reposent sur des données générales concernant les polyphénols, sans se limiter à *Lotus corniculatus*, ce qui en réduit la portée spécifique.

De leur côté, **Singla et al. (2019)** rapportent diverses activités pharmacologiques, notamment antimicrobiennes et anti-inflammatoires. Toutefois, cette contribution repose également sur une revue bibliographique, ce qui implique une dépendance aux études sources et une variabilité potentielle liée aux protocoles expérimentaux utilisés.

À l'inverse, l'étude de **Fraga-Corral et al. (2021)** apporte des données expérimentales plus concrètes, en mettant en évidence une activité antimicrobienne notable, attribuée en particulier aux tanins et aux saponines. Ces résultats renforcent la validité des observations, bien qu'ils restent influencés par les conditions d'extraction et les concentrations testées.

Par ailleurs, **Safe et al. (2021)** se sont intéressés aux effets des flavonoïdes sur la santé cardiovasculaire. Leurs travaux suggèrent un potentiel effet cardioprotecteur, mais ces résultats demeurent généraux et ne concernent pas spécifiquement *Lotus corniculatus*, ce qui souligne l'intérêt de mener des études ciblées sur cette espèce.

CHAPITRE II : Les substances bioactives et les activités pharmacotoxicologies étudiées

Sur le plan toxicologique, **Lamari et Meriem (2016)** indiquent une faible teneur en alcaloïdes dans *Lotus corniculatus*, suggérant un risque toxique limité. Toutefois, cette observation doit être nuancée, car certains composés, notamment les tanins, peuvent entraîner des effets indésirables à doses élevées, en particulier chez les animaux d'élevage.

Enfin, les travaux de **Azzoune et Mebrek (2019)** confirment la prédominance des composés phénoliques dans cette espèce, renforçant l'hypothèse de leur rôle central dans les activités biologiques observées. Cette étude établit ainsi un lien important entre la composition chimique et les propriétés pharmacologiques de la plante.

Partie expérimentale

Matériel et méthode

III-1-Matériel

III-1-1-Matériel biologique

III-1-1-1-Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué de *Lotus corniculatus* L., une plante herbacée vivace appartenant à la famille des Fabaceae. Les parties aériennes de cette espèce ont été récoltées le 13 mai 2025 dans la région de Fkirina, wilaya d'Oum El Bouaghi. Cette zone d'étude s'établit aux coordonnées géographiques moyennes de 35° 39' 50" Nord et 7° 17' 55" Est, à une altitude d'environ 850 mètres (ONS, 2008).

L'identification botanique a été effectuée par le Pr. Rebbas Khalef du laboratoire d'Agro-Biotechnologie et de Nutrition en Zones Arides de l'Université de Tiaret.

Après la récolte, les parties aériennes ont été soigneusement nettoyées afin d'éliminer les impuretés, puis mises à sécher à l'ombre dans un endroit sec et bien aéré pendant plusieurs jours. Une fois le séchage terminé, le matériel végétal a été réduit en poudre fine puis conservé dans des conditions appropriées jusqu'à son utilisation expérimentale.

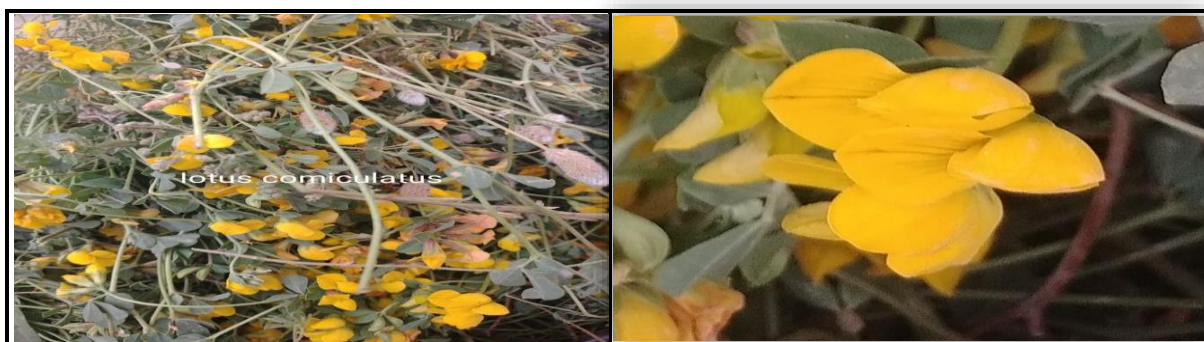


Figure 11: Représentation photographique de l'espèce *Lotus corniculatus* L. (Rebbas K., 2025)

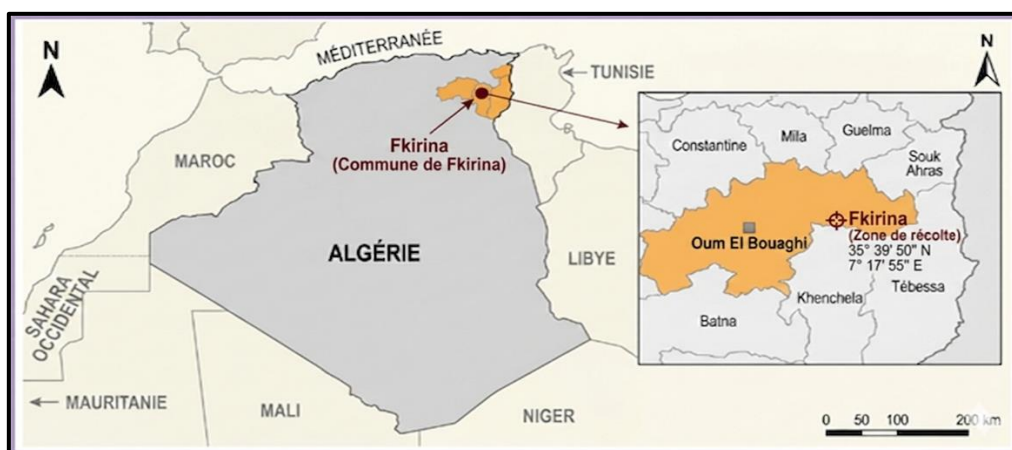


Figure 12: Localisation géographique de l'espèce *Lotus corniculatus* L. (d'après les données de l'Office National des Statistiques (ONS, 2008).

III-1-1-2-Matériel animal

L'étude in vivo a été réalisée sur des rats blancs mâles de souche *Rattus norvegicus*, acquis auprès de l'Institut Pasteur d'Algérie (centre d'élevage d'El-Kouba, Alger). Les animaux utilisés présentaient un poids corporel compris entre 150 et 290 g.

Avant le début de l'expérimentation, les rats ont été maintenus pendant une période d'adaptation de 21 jours dans les conditions de l'animalerie. Les animaux étaient élevés dans des cages en polyéthylène contenant une litière en copeaux de bois, à une température ambiante d'environ 25 °C et sous un cycle naturel lumière/obscurité. Afin d'assurer de bonnes conditions d'hygiène, les cages ont été régulièrement nettoyées et la litière renouvelée tous les deux jours durant toute la période expérimentale.



Figure 13: Rat albinos de souche Wistar (*Rattus norvegicus*)

III-1-1-3-Matériel microbiologique

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude ont été fournies par le laboratoire de microbiologie du Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt) ainsi que par le laboratoire d'analyses médicales privé « ELITE LAB » de Tébessa. Ces souches, comprenant des bactéries à Gram positif et à Gram négatif, sont réparties comme indiqué dans le tableau suivant.

Tableau 16 : Identification et classification des souches bactériennes utilisées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne

Nom de la souche	Gram	Famille
<i>Escherichia coli</i>	Négatif	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	<i>Pseudomonadaceae</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Négatif	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	<i>Staphylococcaceae</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	Positif	<i>Bacillaceae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	Positif	<i>Bacillaceae</i>

III-1-2-Matériel de laboratoire et consommables

Le matériel de laboratoire et les consommables utilisés dans cette étude comprennent la verrerie classique telle que les erlenmeyers, les béchers de différents volumes, les tubes à essai en verre à vis et les boîtes de Petri, ainsi que divers équipements de manipulation et de transfert notamment les entonnoirs, le papier filtre, les micropipettes, les embouts jaunes et bleus, les seringues, les sondes et les écouvillons.

L'étude a également nécessité l'utilisation de plusieurs appareils et équipements de laboratoire, à savoir un agitateur magnétique, un vortex, un évaporateur rotatif, une balance de précision et analytique, un autoclave, une étuve, un lyophilisateur ainsi qu'un bec Bunsen. Enfin, certains consommables spécifiques ont été utilisés, notamment les tubes Eppendorf ainsi que les tubes EDTA et héparine, en plus d'un thermomètre digital de modèle PIC.

III-1-3-Produits chimiques et réactifs

Les produits chimiques et réactifs utilisés dans cette étude comprennent des solvants organiques tels que le méthanol, l'éthanol, le chloroforme, l'acétone et le n-hexane, ainsi que le diméthylsulfoxyde (DMSO) et l'eau distillée. L'acétate de plomb a été utilisé pour l'induction de la toxicité. Les milieux de culture microbiologiques incluent la gélose Mueller-Hinton et la gélose nutritive (GN). Plusieurs réactifs ont été utilisés pour les tests antioxydants, notamment le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH•), l'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) avec le persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$), ainsi qu'un tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4). D'autres réactifs ont été employés pour les dosages biochimiques, tels que le complexe ferrique ($FeCl_3$), le sulfate ferreux ($FeSO_4$), l'acide chlorhydrique (HCl, 40 mM), un tampon acétate (pH 3,6), le chlorure de cuivre (II) ($CuCl_2$), la néocuproïne et un tampon acétate d'ammonium (1 M, pH 7,0). Enfin, le Trolox a été utilisé comme standard de référence pour les analyses antioxydantes.

III-2-Méthodes

III-2-1- Préparation des extraits

III-2-1-1-Broyage et macération

Après séchage complet des parties aériennes, la matière végétale de *Lotus corniculatus* L. a été broyée mécaniquement à l'aide d'un broyeur électrique, afin d'obtenir une poudre fine et homogène. Cette préparation facilite le processus d'extraction en améliorant la pénétration du solvant dans les tissus végétaux et en favorisant la libération des composés métaboliques.

Le macérât (extraction solide-liquide) est une technique d'extraction consistant à mettre en contact la matière végétale pulvérisée avec un solvant à température ambiante. Dans notre

étude, Une masse de 50 g de poudre végétale a été introduite dans un bécher, puis 500 mL de différents solvants (H₂O, Methanol, Chloroforme, acetone et n-hexane) ont été ajoutés afin de recouvrir entièrement l'échantillon. Le récipient a ensuite été recouvert de papier aluminium et placé sur un agitateur magnétique afin d'homogénéiser le mélange et de favoriser la diffusion des composés bioactifs dans le solvant. Après agitation, le mélange a été laissé en contact avec la matière végétale pendant une durée de 72 heures à température ambiante à l'abri de la lumière.

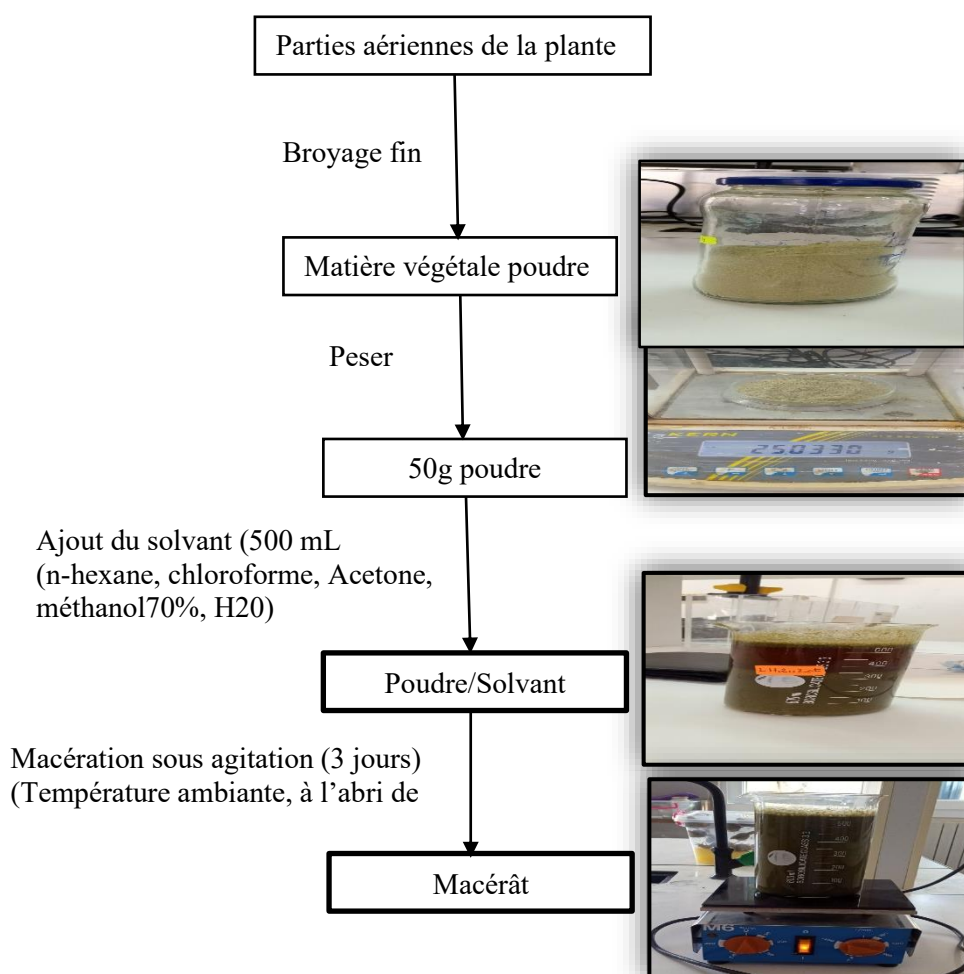


Figure 14: Schéma du protocole d'extraction (Broyage et macération)

III-2-1-2-Filtration et évaporation

Après une période de macération de 72 heures, le mélange a été filtré sur papier Whatman afin de séparer les résidus végétaux et les impuretés du filtrat. Les extraits liquides obtenus ont ensuite été concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif jusqu'à évaporation complète du solvant, à une température variant entre 25 et 50 °C selon la nature du solvant utilisé, afin de préserver les composés sensibles à la chaleur.

Un séchage complémentaire à l'étuve a ensuite été réalisé pour éliminer les traces résiduelles de solvant. À l'issue de cette étape, les extraits ont été obtenus sous forme solide ou

semi-solide, puis récupérés, pesés et conservés dans des flacons en verre opaque dans des conditions appropriées jusqu'à leur utilisation.

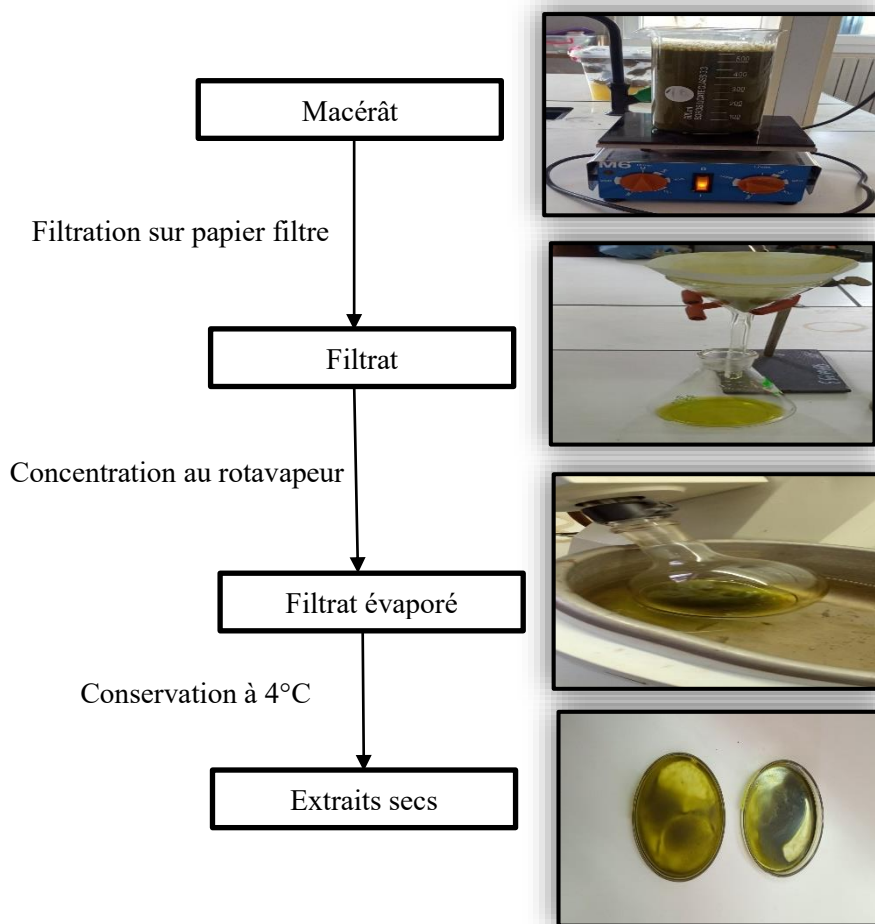


Figure 15: Schéma du protocole d'extraction (Filtration et évaporation)

III-2-2-Calcul du rendement d'extraction

Le rendement en extrait est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu et la masse de matériel végétal broyé initiale (Harborne, 1998), il est calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{PE}{PP} \times 100$$

R : Rendement.

PE : Masse d'extrait brut (g).

PP : Masse la poudre végétale sèche (g).

III-2-3-Méthode d'évaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante peut être évaluée par différentes méthodes complémentaires permettant de mesurer la capacité des extraits végétaux à piéger les radicaux libres ou à réduire les agents oxydants. Parmi les méthodes les plus couramment utilisées figurent les tests DPPH,

ABTS, FRAP et CUPRAC. Dans le cadre de cette étude, l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique à 70 % de *Lotus corniculatus* L. a été déterminée en utilisant les méthodes suivantes :

III-2-3-1-Test DPPH (piégeage du radical libre DPPH•)

L'activité de piégeage du radical du radical DPPH• a été évaluée selon la méthode décrite par **Blois (1958)**. Des solutions de l'extrait à différentes concentrations ainsi que des solutions standards ont été préparées puis ajustées à un volume final de 3 mL avec de l'éthanol. Par la suite, 1 mL de solution de DPPH• (0,26 mM) a été ajouté à chaque tube. Le mélange réactionnel a été homogénéisé au vortex puis incubé à l'obscurité, à température ambiante, pendant 30 minutes. Après incubation, l'absorbance a été mesurée à 517 nm.

Le pourcentage d'inhibition des radicaux libres a été calculé à l'aide de la formule suivante : $\text{Activité (\%)} = [(A \text{ contrôle} - A \text{ échantillon}) / A \text{ contrôle}] \times 100$

Où A contrôle correspond à l'absorbance de la solution de DPPH• seule et A échantillon à celle de l'extrait testé.

La concentration inhibitrice à 50 % (IC₅₀), correspondant à la concentration nécessaire pour inhiber 50 % des radicaux DPPH•, a été déterminée à partir de la courbe de régression et comparée à celle de l'antioxydant de référence (Trolox).

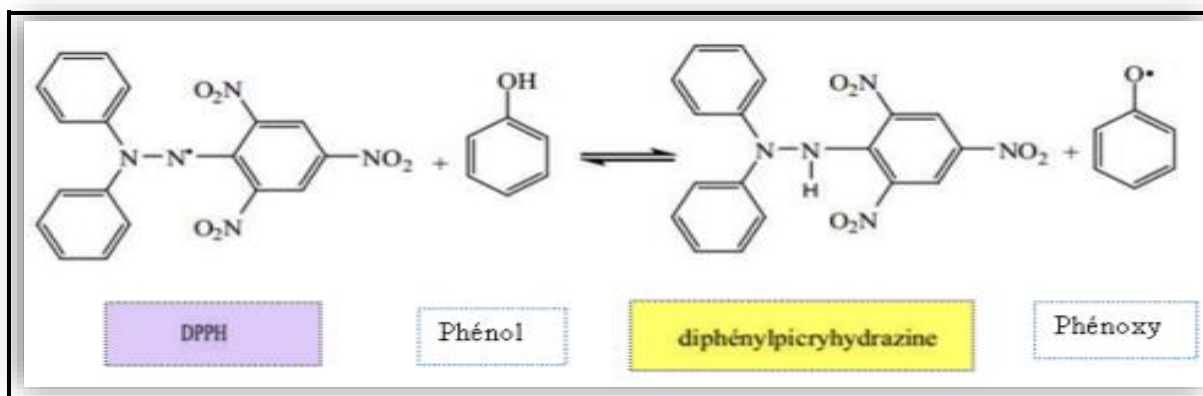


Figure 16: Principe du test de piégeage du radical DPPH(Molyneux, 2004)

III-2-3-2- Test ABTS (activité anti-radicalaire cationique)

L'activité de piégeage du radical cationique ABTS•+ [2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)] a été évaluée selon la méthode décrite par Re. Le radical ABTS•+ a été produit par réaction entre une solution d'ABTS (2,0 mM), préparée dans un tampon phosphate (0,1 M ; pH 7,4), et le persulfate de potassium (K₂S₂O₈) à une concentration de 2,45 mM dans un rapport de 1:2. Le mélange obtenu a été maintenu à l'obscurité à température ambiante pendant 6 heures afin de permettre la formation du radical. Par la suite,

PARTIE EXPERIMENTALE
CHAPITRE : Matériel et méthode

1 mL de la solution ABTS•+/K₂S₂O₈ a été ajouté aux différentes concentrations des échantillons et des solutions standards. Après une incubation de 30 minutes, l'absorbance a été mesurée à 734 nm contre un blanc. Toutes les analyses ont été réalisées en triple.

L'activité antioxydante a été exprimée en pourcentage d'inhibition selon la formule suivante : $\text{Activité (\%)} = [(A \text{ contrôle} - A \text{ échantillon}) / A \text{ contrôle}] \times 100$

où A contrôle correspond à l'absorbance de la solution ABTS•+ et A échantillon à celle des extraits testés.

Les résultats obtenus ont été représentés en fonction des concentrations étudiées, et la concentration inhibitrice à 50 % (IC₅₀) a été déterminée à partir de la courbe dose-réponse.

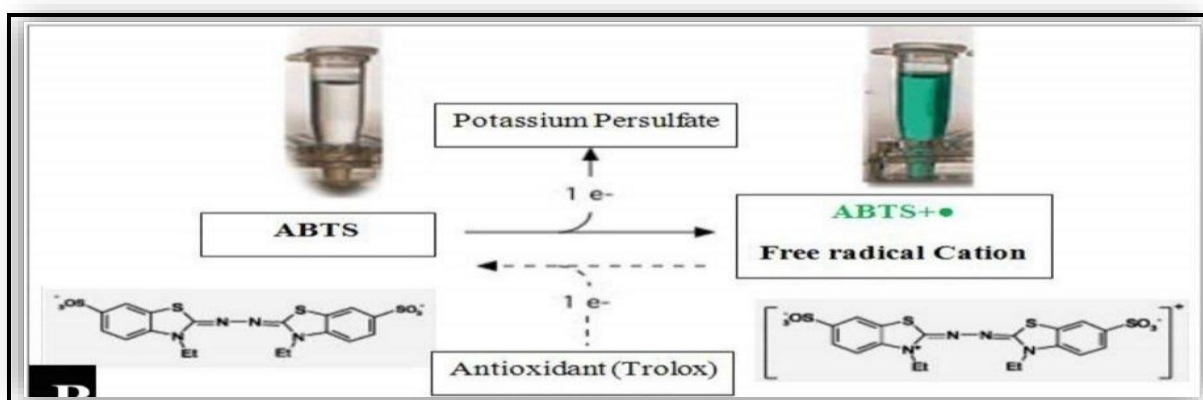


Figure 17: Principe du test ABTS de capacité antioxydante(Siddeeg et al., n.d.)

III-2-3-3- Test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Le pouvoir réducteur du fer (III) a été évalué selon la méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), basée sur la réduction du complexe ferrique [Fe(III)-TPTZ] de couleur orange-brun en complexe ferreux [Fe(II)-TPTZ] de couleur bleu intense en présence de composés antioxydants (Benzie & Strain, 1999). Le réactif FRAP a été préparé en mélangeant une solution de TPTZ (10 mM) dissoute dans HCl 40 mM, une solution de chlorure ferrique (FeCl₃, 20 mM) et un tampon acétate (300 mM ; pH 3,6), puis incubé à 37 °C. Des solutions de sulfate ferreux (FeSO₄) à différentes concentrations ont été utilisées pour l'établissement de la courbe d'étalonnage. Par la suite, 10 µL de chaque extrait à différentes concentrations ainsi que des solutions standards ont été introduits dans les puits, puis 300 µL du réactif FRAP fraîchement préparé ont été ajoutés. Après une incubation de 4 minutes à 37 °C, l'absorbance a été mesurée à 593 nm.

Le pouvoir réducteur des extraits végétaux a été exprimé en millimoles équivalents de sulfate ferreux par gramme d'extrait (mmol FeSO₄/g d'extrait), à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage obtenue avec les standards de FeSO₄.

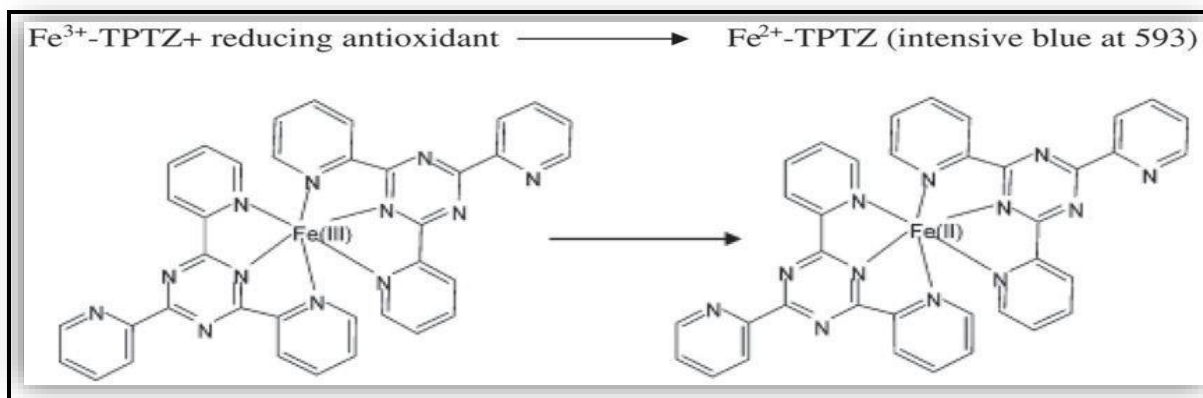


Figure 18: Principe du pouvoir réducteur FRAP (Benzie & Strain, 1996)

III-2-3-4-Test CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity)

L'activité antioxydante par réduction du cuivre (II) a été évaluée selon la méthode CUPRAC, qui repose sur la capacité des composés antioxydants à réduire le complexe Cu^{2+} -néocuproïne de couleur bleue en un complexe jaune-orangé (Ribeiro et al., 2011). Pour cette analyse, une solution de néocuproïne (2,9-diméthyl-1,10-phénanthroline) à 7,5 mM a été préparée dans l'éthanol, tandis qu'une solution de chlorure de cuivre (II) à 10 mM a été dissoute dans l'eau distillée. Un tampon acétate d'ammonium (1 M ; pH 7,0) a également été utilisé. Des solutions de Trolox à différentes concentrations ont servi de standard de référence. Dans chaque puits, 50 μL de solution de cuivre (II), 50 μL de néocuproïne et 50 μL de tampon acétate d'ammonium ont été introduits puis incubés à 37 °C pendant 15 minutes. Ensuite, 100 μL des extraits végétaux ou des solutions standards ont été ajoutés. Les mélanges ont été maintenus à l'obscurité à 37 °C, permettant la formation d'un complexe coloré orangé. À la fin de l'incubation, l'absorbance a été mesurée à 450 nm en utilisant une solution témoin dépourvue d'échantillon comme blanc.

Les résultats ont été exprimés en millimoles équivalents Trolox par gramme d'extrait (mmol TE/g d'extrait), à partir de la courbe d'étalonnage obtenue avec les différentes concentrations de Trolox.

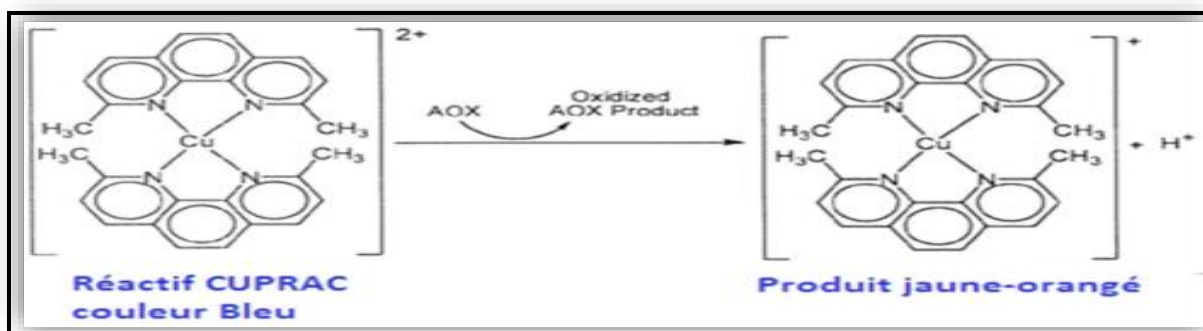


Figure 19: Principe du test CUPRAC (cuivre réducteur) (özyürek et al., 2011).

III-2-4-Méthode d'évaluation de la toxicité

III-2-4-1-Protocole d'administration par gavage oral

L'évaluation de la toxicité subaiguë par voie orale de l'extrait hydro-méthanolique de *Lotus corniculatus* L. a été réalisée chez le rat, en s'appuyant sur des protocoles décrits dans la littérature, notamment ceux de **Dossou-Yovo et al. (2021)** avec quelques adaptations expérimentales.

Les animaux ont été répartis en quatre groupes homogènes, comprenant chacun trois rats. Chaque groupe a reçu des doses croissantes de l'extrait (100, 200, 300 et 400 mg/kg). L'administration a été effectuée par voie orale (gavage) de manière quotidienne pendant 21 jours, afin d'évaluer l'effet dose-dépendant de l'extrait et de mettre en évidence d'éventuels signes cliniques de toxicité.



Figure 20: gavage gastrique des rats

III-2-4-2- Évaluation des signes cliniques et comportementaux après gavage oral

Après la procédure de gavage oral, les rats ont été suivis afin d'évaluer les modifications comportementales, notamment l'agressivité et la nervosité, ainsi que les troubles digestifs tels que la diarrhée, les vomissements et la diminution de l'appétit (**Baali et al., 2024**).

Des changements physiques ont également été observés, tels que la fourrure terne, l'horripilation, les rougeurs ou la cyanose (**Baali et al., 2024**), en plus de l'évaluation de l'état général des animaux, notamment la posture de repos, la démarche anormale et la diminution de la mobilité (**OCDE, 2022**).

III-2-4-3-Mesure de poids

Le poids des rats a été mesuré quotidiennement et de manière régulière à l'aide d'une balance électronique, et ce durant la période d'acclimatation ainsi que pendant la période de traitement. Ces mesures ont permis de suivre les variations pondérales, pouvant être liées aux

facteurs environnementaux (facteurs externes) ou à l'effet des substances administrées (extrait de la plante).

III-2-4-4- Sacrifice et prélèvement sanguin

Au 22^e jour de l'expérimentation, les rats ont été sacrifiés et des prélèvements sanguins ont été réalisés. Le sang a été recueilli dans des tubes contenant des anticoagulants (EDTA et héparine) afin d'empêcher la coagulation. Les échantillons, correctement étiquetés, ont été immédiatement placés dans une glacière isotherme afin de maintenir la chaîne du froid, puis transportés vers le laboratoire d'analyses médicales de Tébessa pour la réalisation des analyses biochimiques et hématologiques.



Figure 21: Mode de sacrifice des rats et prélèvement sanguin

III-2-4-5-Analyses biochimiques et hématologiques

Les analyses réalisées au niveau du laboratoire ont porté sur les paramètres hématologiques et biochimiques des différents groupes expérimentaux. Les paramètres hématologiques évalués ont permis de déterminer les principaux éléments de la numération formule sanguine, notamment l'hémoglobine (HB), l'hématocrite (HCT) et la numération plaquettaire (PLT). Par ailleurs, les analyses biochimiques ont concerné principalement le dosage des enzymes hépatiques TGO et TGP.

III-2-4-6-Analyses statistique

L'analyse statistique des données a été réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Excel. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne $\pm$ écart-type (Mean $\pm$ SD) dans les tableaux et les graphs.

La comparaison entre les différents groupes a été effectuée par une analyse de la variance (ANOVA à un facteur), afin de déterminer l'existence de différences significatives entre les groupes étudiés.

III-2-5-Méthode d'évaluation de l'activité hépatoprotectrice

III-2-5-1- Protocole d'administration par gavage oral

L'activité hépatoprotectrice de *Lotus corniculatus* L. a été évaluée chez le rat à l'aide d'un modèle expérimental d'hépatotoxicité induite par l'acétate de plomb, en se basant sur les travaux de **Ali et al. (2019)**. Cette étude vise à mettre en évidence le potentiel protecteur de la plante vis-à-vis des lésions hépatiques provoquées par ce toxique.

Les animaux ont été répartis en trois lots expérimentaux, comprenant chacun cinq rats (n = 5) :

- **Lot témoin (T)** : les rats ont reçu uniquement de l'eau distillée par gavage oral et ont servi de groupe de référence.
- **Lot intoxiqué (Pb)** : les rats ont été traités par l'acétate de plomb à la dose de 50 mg/kg/jour afin d'induire une hépatotoxicité.
- **Lot traité (Pb + extrait)** : les rats ont reçu simultanément l'acétate de plomb et l'extrait de *L. corniculatus* à la dose de 100 mg/kg/jour afin d'évaluer l'effet hépatoprotecteur de la plante.

Les traitements ont été administrés par gavage oral pendant 30 jours consécutifs. Durant toute la période expérimentale, les animaux ont été suivis afin d'observer d'éventuelles modifications comportementales et physiques.

III-2-5-2- Sacrifice et Analyses biologiques

Au 31^e jour de l'expérimentation, les rats ont été sacrifiés et des prélèvements sanguins ont été effectués. Le sang a été recueilli dans des tubes contenant des anticoagulants (EDTA et héparine) afin d'éviter la coagulation.

Les analyses biochimiques ont porté principalement sur les transaminases hépatiques (AST/TGO et ALT/TGP), ainsi que sur d'autres paramètres métaboliques tels que la créatinine, l'acide urique, la glycémie, les triglycérides et le cholestérol total.

Par ailleurs, les analyses hématologiques ont permis d'évaluer les principaux paramètres de la numération formule sanguine, incluant le nombre d'érythrocytes, le taux d'hémoglobine, l'hématocrite, les indices érythrocytaires (VGM, TCMH, CCMH), ainsi que la numération plaquettaire (PLT).

III-2-5-3-Analyse statistique

L'analyse statistique des données a été réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Excel. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne $\pm$ écart-type (Mean $\pm$ SD) dans les tableaux et les graphs.

La comparaison entre les différents groupes a été effectuée par une analyse de la variance (ANOVA à un facteur) dans l'ensemble des expérimentations réalisées. Lorsque des différences significatives étaient observées, le test de Tukey a été utilisé afin d'effectuer les comparaisons multiples entre les groupes.

Une valeur de $p < 0,05$ a été considérée comme statistiquement significative.

III-2-6-Méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits de *Lotus corniculatus* L. a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose en milieu Mueller-Hinton (MH), choisie pour sa simplicité, sa reproductibilité et sa fiabilité (Balouiri et al., 2016).

Les souches bactériennes ont été réactivées sur gélose nutritive pendant 18 heures à 37 °C afin d'obtenir des colonies isolées, puis une suspension bactérienne a été préparée dans une solution saline stérile et ajustée à une turbidité correspondant au standard 0,5 de McFarland ($\approx 1,5 \times 10^8$ UFC/mL).

Le milieu Mueller-Hinton stérile a été coulé dans des boîtes de Pétri et laissé à solidifier, puis ensemencé de manière homogène à l'aide d'un écouvillon stérile imbibé de la suspension bactérienne, en réalisant des stries croisées et en faisant pivoter la boîte afin d'assurer une répartition uniforme de l'inoculum.

Des disques stériles d'antibiotiques vierges de 6 mm de diamètre ont ensuite été déposés à la surface de la gélose, puis 20 μ L d'extrait dissous dans du DMSO à différentes concentrations (8 mg/mL, 4 mg/mL, 2 mg/mL, 1 mg/mL, 0,5 mg/mL et 0,25 mg/mL) ont été appliqués sur chaque disque. Les boîtes ont été laissées à température ambiante pendant 15 minutes afin de permettre la diffusion des substances. Chaque condition a été réalisée en triplicat, avec des disques contenant uniquement du DMSO comme témoins négatifs et des disques de gentamicine, péniciline, cefalixine et fosfomicine comme témoins positifs.

Enfin, les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures. Les zones d'inhibition ont ensuite été mesurées en millimètres. La présence d'une zone claire autour des disques indique une inhibition de la croissance bactérienne et traduit l'activité antibactérienne des extraits testés.

PARTIE EXPERIMENTALE
CHAPITRE : Matériel et méthode

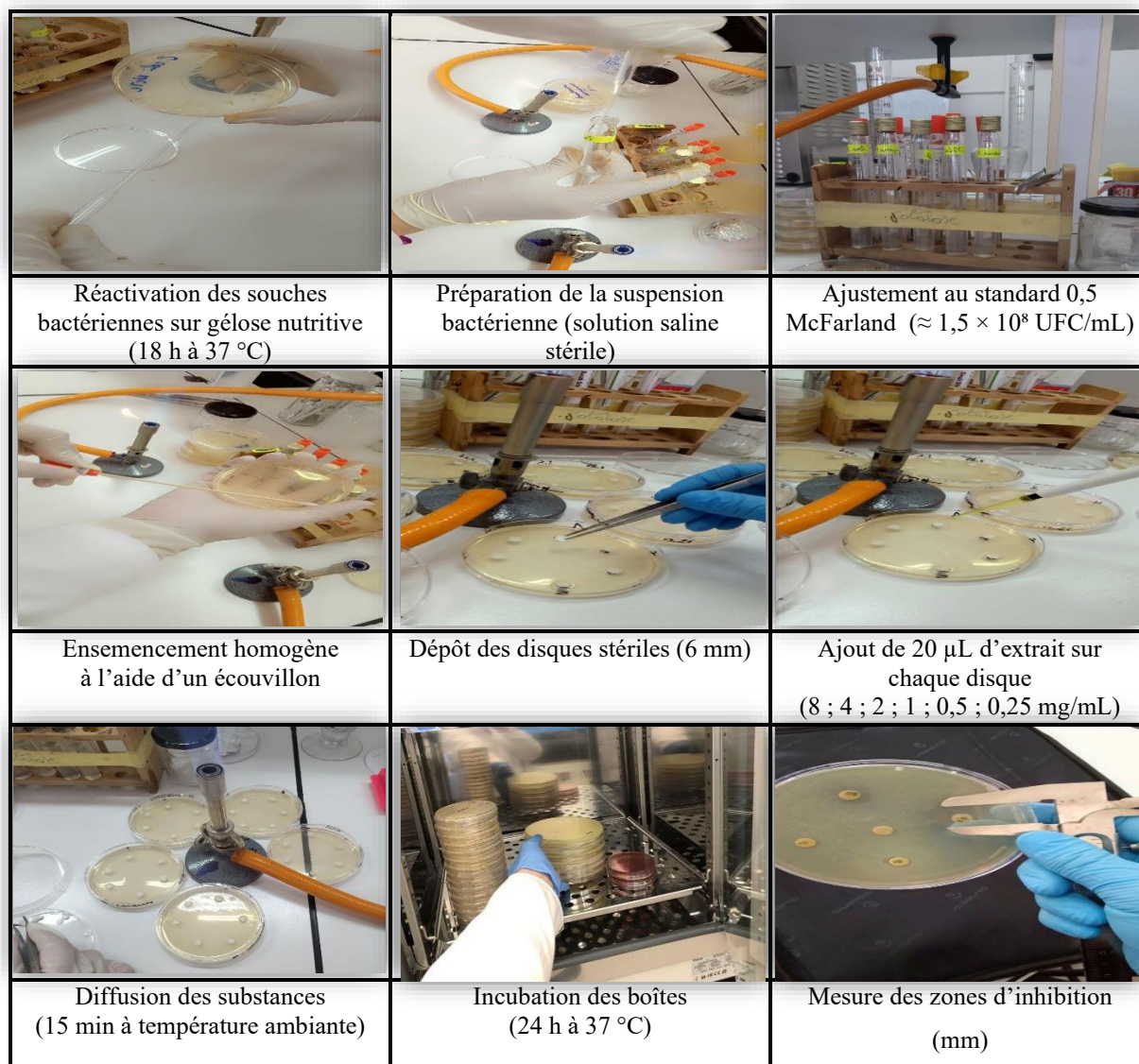


Figure 22: Etapes de la méthode de diffusion sur gélose pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de *Lotus corniculatus* L.

III-2-6-1-Analyse statistique

Les données de l'activité antibactérienne ont été traitées à l'aide du logiciel Microsoft Excel. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± écart-type (Mean ± SD) et présentés sous forme de tableaux

Résultats et discussion

V-Résultats et discussion

IV-1-Rendement d'extraction (%)

Le rendement d'extraction a été déterminé afin d'évaluer l'efficacité du procédé utilisé pour l'obtention des composés bioactifs. La poudre issue de la partie aérienne de *Lotus corniculatus* L. a été soumise à une macération simple à l'aide de solvants de polarités différentes. Les rendements des différents extraits bruts obtenus (aqueux, hydrométhanolique, acétonique, chloroformique et n-hexanique) sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 17 : Taux d'extraction (%) des différents extraits de *L. corniculatus* L.

Type d'extrait	EH20	EH20/MeOH	ECHL	EACT	En-HEX
Taux d'extraction (%)	10,94	4,10	1,19	2,45	1,07

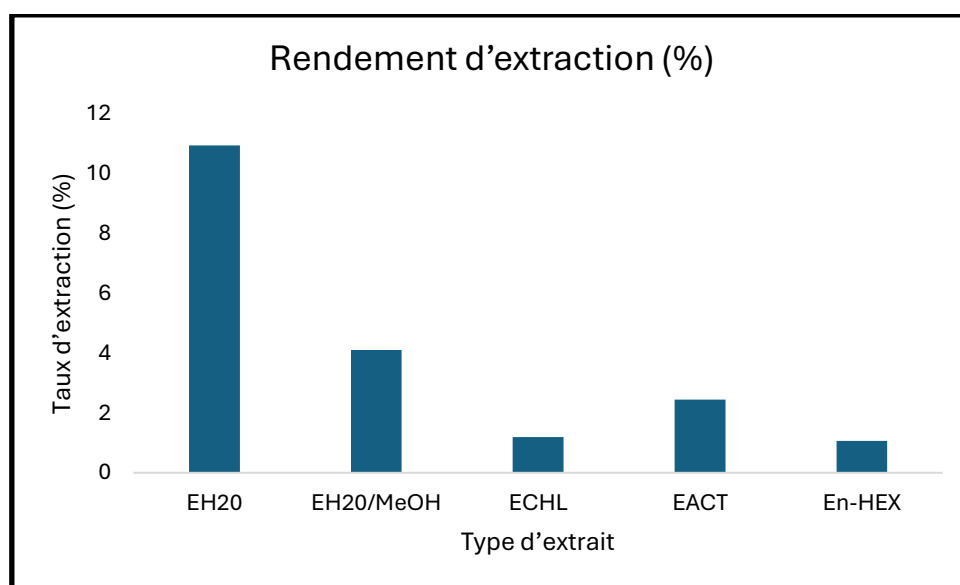


Figure 23: Rendement d'extraction des différents extraits.

La figure 23 représente les rendements d'extraction obtenus avec les différents solvants utilisés. Les résultats montrent une variation importante selon le solvant employé. Le rendement le plus élevé a été enregistré pour l'extrait aqueux (EH₂O) avec une valeur d'environ 11 %, suivi de l'extrait hydro-méthanolique (EH₂O/MeOH) avec un rendement d'environ 4,1 %. En revanche, les solvants peu polaires ou apolaires ont présenté des rendements plus faibles, atteignant environ 2,5 % pour l'extrait acétonique (EACT), tandis que les extraits au chloroforme (ECHL) et à l'hexane (n-HEX) ont montré des rendements très faibles, proches de 1%.

Cette différence peut être expliquée principalement par la polarité des solvants et leur capacité à solubiliser les différents métabolites présents dans la plante. L'eau et les mélanges hydro-alcooliques possèdent une forte capacité à extraire les composés polaires tels que les

composés phénoliques, les flavonoïdes, les glycosides et les sucres, ce qui se traduit par une augmentation du rendement d'extraction. En revanche, les solvants moins polaires, tels que l'hexane et le chloroforme, sont davantage adaptés à l'extraction des composés lipophiles, ce qui explique leurs faibles rendements dans le cas d'une plante riche en composés polaires.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Fumić et al.**, qui ont montré que le rendement d'extraction dépend fortement de la nature du solvant utilisé. Ces auteurs ont rapporté que l'eau et les mélanges hydro-alcooliques permettaient d'obtenir des rendements supérieurs à ceux obtenus avec les solvants organiques purs.

De même, **Azmir et al. (2013)** ont souligné que l'efficacité de l'extraction est étroitement liée aux propriétés physicochimiques du solvant, notamment sa polarité, les solvants aqueux ou hydro-alcooliques étant généralement les plus performants.

Par ailleurs, **Dai et Mumper (2010)** ont confirmé que l'utilisation de solvants aqueux favorise l'extraction des composés phénoliques par rapport aux solvants non aqueux, ce qui pourrait expliquer le rendement élevé obtenu avec l'extrait aqueux dans notre étude.

IV-2-Résultat d'activité antioxydant

L'activité antioxydante de l'extrait hydrométhanolique de la partie aérienne de *Lotus corniculatus* L. a été évaluée à l'aide de quatre méthodes complémentaires : le test DPPH, le test ABTS, le test FRAP et le test CUPRAC. Le Trolox et le FeSO₄ ont été utilisés comme composés de référence afin de comparer et d'interpréter les résultats obtenus.

IV-2-1-Test DPPH

L'évaluation du potentiel antioxydant de l'extrait hydrométhanolique (70 %) de la partie aérienne de *Lotus corniculatus* a été réalisée par le test du piégeage du radical libre DPPH. Ce test repose sur la capacité des composés phénoliques de la plante à céder un atome d'hydrogène ou un électron au radical stable DPPH, entraînant sa décoloration du violet au jaune.

L'activité antioxydante a été évaluée à partir de la détermination de l'IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50 %), qui correspond à la concentration d'extrait nécessaire pour réduire de moitié la quantité initiale du radical DPPH. Cette valeur est obtenue à partir de la courbe dose-réponse, en représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration, puis en appliquant une régression linéaire.

De manière générale, plus la valeur de l'IC₅₀ est faible, plus l'activité antioxydante est élevée. Cela signifie qu'une faible concentration d'extrait suffit pour piéger une grande quantité de radicaux libres, ce qui traduit une meilleure efficacité antioxydante (**Diomande et al., 2018**).

PARTIE EXPERIMENTALE
CHAPITRE : Résultats et discussion

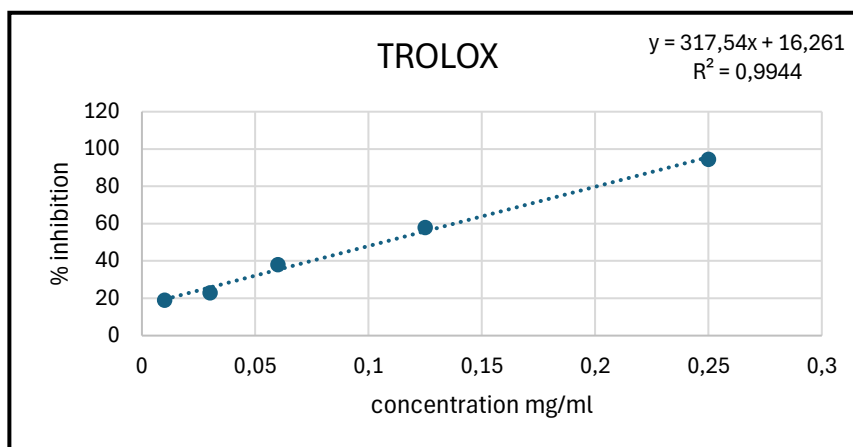


Figure 24: Courbe d'étalonnage de Trolox (Test DPPH)

Tableau 18 : Activité antioxydante du standard Trolox et de l'extrait hydrométhanolique de *Lotus.corniculatus* (Test DPPH)

Concentration (mg/mL)	Absorbances (Triplicata)			Absorbance Moyenne	Inhibition (%)
Trolox					
0,010	0,633	0,610	0,565	0,564	18,897
0,030	0,586	0,572	0,566	0,536	22,926
0,060	0,495	0,481	0,433	0,431	38,034
0,125	0,356	0,326	0,313	0,293	57,889
0,250	0,083	0,075	0,076	0,039	94,388
IC ₅₀	0,106 mg/MI				
Extrait de Methanol 70					
0,05	0,628	0,646	0,638	0,598	9,435
0,10	0,622	0,638	0,623	0,589	10,898
0,25	0,602	0,657	0,623	0,588	10,949
0,50	0,604	0,635	0,620	0,581	12,109
1,00	0,613	0,610	0,610	0,567	14,228
IC ₅₀	9,017 mg/MI				

Les résultats obtenus dans le tableau ci-dessus montrent que l'extrait hydrométhanolique (70 %) de la partie aérienne de *Lotus corniculatus* présente une activité antioxydante évoluant de manière dose-dépendante. En effet, le pourcentage d'inhibition augmente progressivement avec la concentration, passant de 9,44 % à 0,05 mg/mL à 14,23 % à 1,00 mg/mL. Toutefois, cette augmentation reste modérée comparativement à celle observée pour le Trolox, utilisé comme standard de référence, qui atteint une inhibition élevée de 94,39 % dès 0,25 mg/mL, confirmant ainsi son fort pouvoir antioxydant.

Le potentiel antioxydant est également évalué à travers la valeur de l'IC₅₀. Dans notre étude, l'extrait hydrométhanolique présente une IC₅₀ de 9,017 mg/mL, nettement supérieure à celle du Trolox (0,106 mg/mL), traduisant une activité antioxydante relativement faible. Cette différence s'explique principalement par la nature des échantillons : le Trolox est une molécule

pure, hautement réactive vis-à-vis des radicaux libres, tandis que l'extrait végétal constitue un mélange complexe de métabolites secondaires, dans lequel les composés actifs (notamment les flavonoïdes et les tanins) sont présents à des concentrations relativement faibles.

L'activité modérée observée peut néanmoins être corrélée à la présence de composés phénoliques dans *Lotus corniculatus*, largement décrits pour leurs propriétés antioxydantes. Le choix du solvant hydrométhanolique (70 %) est pertinent, car il permet l'extraction de composés polaires et moyennement polaires, souvent impliqués dans la neutralisation des radicaux libres. Cependant, l'efficacité de l'extraction dépend fortement des conditions expérimentales, ce qui peut influencer la teneur finale en molécules bioactives.

La comparaison avec la littérature met en évidence une variabilité importante de l'activité antioxydante au sein du genre *Lotus*. Par exemple, les travaux de **Tundis et al. (2012)** sur *Lotus corniculatus* ont montré des activités antioxydantes plus élevées pour certains extraits, notamment méthanoliques, attribuées à leur richesse en flavonoïdes tels que la quercétine et le kaempférol. Les différences observées avec nos résultats pourraient être liées à plusieurs facteurs, notamment le stade phénologique de la plante, les conditions environnementales ou encore la partie végétale utilisée, les fleurs étant généralement plus riches en composés antioxydants que les tiges.

Par ailleurs, d'autres espèces du genre présentent également des variations notables. Chez *Lotus edulis*, des valeurs d'IC₅₀ comprises entre 1 et 5 mg/mL ont été rapportées (**Ginovyan et al., 2017**), indiquant une activité antioxydante plus élevée que celle observée dans notre étude. De même, chez *Lotus japonicus*, une corrélation significative entre la teneur en polyphénols totaux et l'activité antioxydante a été mise en évidence (**Suzuki et al., 2008**), notamment en raison de la présence de tanins condensés dans les parties aériennes.

Les écarts observés entre nos résultats et ceux de la littérature peuvent être attribués à plusieurs facteurs : l'origine géographique de la plante (influençant la biosynthèse des métabolites secondaires) ; le ratio solvant/eau utilisé lors de l'extraction (conditionne la solubilisation des composés phénoliques) ; et la partie de la plante étudiée, (certaines étant plus riches en molécules bioactives que d'autres).

En conclusion, l'extrait hydrométhanolique de *Lotus corniculatus* présente une activité antioxydante réelle mais modérée, en accord avec les données disponibles pour le genre *Lotus*. Bien que cette activité reste inférieure à celle des standards de référence, ces résultats confirment l'intérêt pharmacologique de cette espèce. Des études complémentaires, notamment le fractionnement de l'extrait et l'identification des composés actifs, permettraient d'optimiser et de mieux valoriser son potentiel antioxydant.

IV-2-2-Test ABTS

Le test ABTS est basé sur la capacité des antioxydants à réduire le cation radicalaire ABTS⁺, qui présente une coloration bleu-vert. En présence de composés antioxydants, ce radical est neutralisé par transfert d'électron ou d'atome d'hydrogène, ce qui entraîne une diminution de l'intensité de la couleur. Cette méthode est particulièrement intéressante, car elle permet d'évaluer l'activité antioxydante de composés aussi bien hydrophiles que lipophiles présents dans les extraits.

Comme pour le test DPPH, l'activité antioxydante est exprimée à travers la valeur de l'IC₅₀, qui correspond à la concentration nécessaire pour inhiber 50 % des radicaux ABTS⁺. Plus cette valeur est faible, plus l'activité antioxydante est élevée, ce qui reflète une meilleure capacité de l'extrait à piéger les radicaux libres.

Le test ABTS constitue ainsi une méthode complémentaire au test DPPH, permettant une évaluation plus globale du potentiel antioxydant des extraits végétaux (Re et al., 1999).

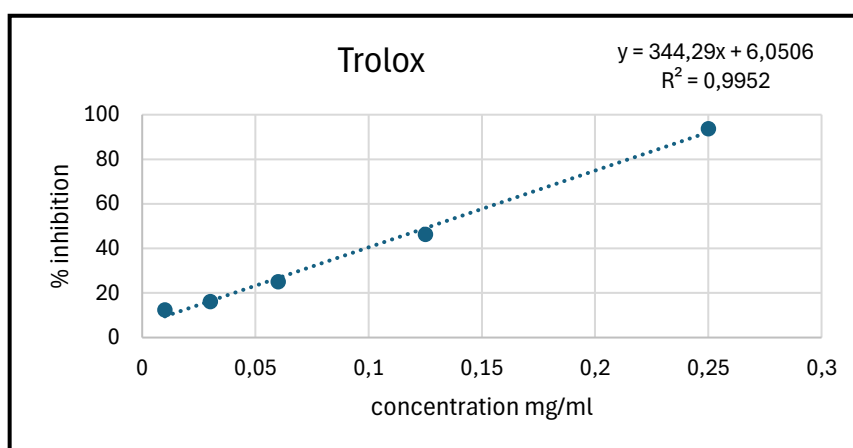


Figure 25: Courbe d'étalonnage de Trolox (Test ABTS)

Tableau 19 : Activité antioxydante du standard Trolox et de l'EMeOH de *Lotus corniculatus* (Test ABTS)

Concentration (mg/mL)	Absorbances (Triplicata)			Absorbance Moyenne	Inhibition (%)
Trolox					
0,010	0,700	0,702	0,699	0,7003	12,42
0,030	0,681	0,675	0,656	0,6707	16,13
0,060	0,668	0,560	0,569	0,5990	25,09
0,125	0,635	0,312	0,340	0,4290	46,35
0,250	0,048	0,050	0,051	0,0497	93,79
IC ₅₀	0,128 mg/ml				
Extrait de Methanol 70					
0,05	0,574	0,584	0,630	0,605 ± 0,023	11,34 ± 2,91
0,10	0,574	0,615	0,611	0,600 ± 0,023	12,02 ± 2,82
0,25	0,596	0,593	0,611	0,600 ± 0,010	12,02 ± 1,20
0,50	0,566	0,566	0,583	0,572 ± 0,010	16,18 ± 1,23

PARTIE EXPERIMENTALE
CHAPITRE : Résultats et discussion

1,00	0,528	0,512	0,494	0,511 ± 0,017	25,02 ± 2,13
IC₅₀	2,770 mg/MI				

Les résultats obtenus pour l'extrait hydrométhanolique de la partie aérienne de *Lotus corniculatus* mettent en évidence une activité antioxydante dose-dépendante. Le pourcentage d'inhibition du radical ABTS⁺ augmente progressivement, passant de 11,34 % à 0,05 mg/mL à 25,02 % à la concentration de 1,00 mg/mL. La valeur de l'IC₅₀ déterminée pour cet extrait est de 2,770 mg/mL. En comparaison, le standard Trolox présente une activité nettement plus élevée (IC₅₀ = 0,128 mg/mL). Bien que l'extrait brut soit environ 20 fois moins actif que ce composé de référence, cette valeur reste tout à fait compétitive pour un extrait non fractionné, suggérant une présence significative de métabolites secondaires capables de neutraliser les radicaux libres.

L'activité mesurée par le test ABTS apparaît plus importante que celle obtenue par le test DPPH (IC₅₀ = 9,01 mg/mL). Comme chez *Lotus edulis*, notre échantillon présente une plus grande affinité pour le radical ABTS, une observation également rapportée par **Ginovyan et ses collaborateurs en 2017**. Selon **Dalila et al. (2014)**, cette différence s'explique par le fait que certains composés phénoliques réagissent plus efficacement avec le radical ABTS⁺ qu'avec le DPPH, notamment en raison de contraintes stériques plus faibles facilitant le transfert d'électrons.

La mise en perspective de nos résultats avec d'autres espèces du genre *Lotus* souligne une variabilité interspécifique notable. Des études menées sur *Lotus monanthos* et *Lotus creticus* ont révélé des capacités de piégeage parfois plus intenses, avec des IC₅₀ pouvant descendre sous la barre de 1 mg/mL pour des fractions purifiées (**Sayah et al., 2017**). Cette disparité peut être influencée par des facteurs environnementaux ou des variations génétiques propres à chaque espèce. De plus, l'activité modérée de notre extrait par rapport à certaines études sur *Lotus japonicus* peut s'expliquer par le ratio feuilles/tiges de notre échantillon ; la littérature indique en effet que les tissus foliaires et floraux concentrent davantage de métabolites antioxydants que les tiges (**Suzuki et al., 2008**).

L'efficacité de l'extraction au méthanol à 70 % rejoint les conclusions de **Tundis et al. (2012)**, démontrant que les solvants hydro-alcooliques maximisent l'extraction des molécules actives chez les espèces du genre *Lotus*, notamment en solubilisant les proanthocyanidines et les flavonoïdes glycosylés. Ces derniers, particulièrement les dérivés de la quercétine et du kaempférol, sont reconnus pour leur grande capacité à stabiliser les radicaux libres (**Reynaud et Lussignol, 2005**).

En conclusion, l'extrait de *L. corniculatus* présente une activité antioxydante réelle qui valide l'intérêt de cette plante comme source de composés naturels d'intérêt. Bien que cette activité reste inférieure à celle du Trolox pur, la cohérence des résultats obtenus ouvre des perspectives intéressantes. Des travaux complémentaires de fractionnement pourraient permettre d'isoler les molécules les plus actives et d'améliorer ainsi le potentiel antioxydant global de cette ressource végétale.

IV-2-3- Test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) repose sur la capacité d'un extrait à réduire le complexe ferrique incolore (Fe^{3+} -TPTZ) en un complexe ferreux de couleur bleu intense (Fe^{2+} -TPTZ) en milieu acide. Contrairement aux tests DPPH et ABTS, qui évaluent la capacité de piégeage des radicaux libres, le FRAP mesure directement le pouvoir réducteur de l'échantillon via un mécanisme de transfert d'électrons (Benzie et Strain, 1996).

Cette méthode permet ainsi d'évaluer la capacité antioxydante totale d'un extrait en termes de pouvoir donneur d'électrons. Les résultats sont exprimés en équivalents FeSO_4 . Le FeSO_4 étant utilisé comme composé de référence.

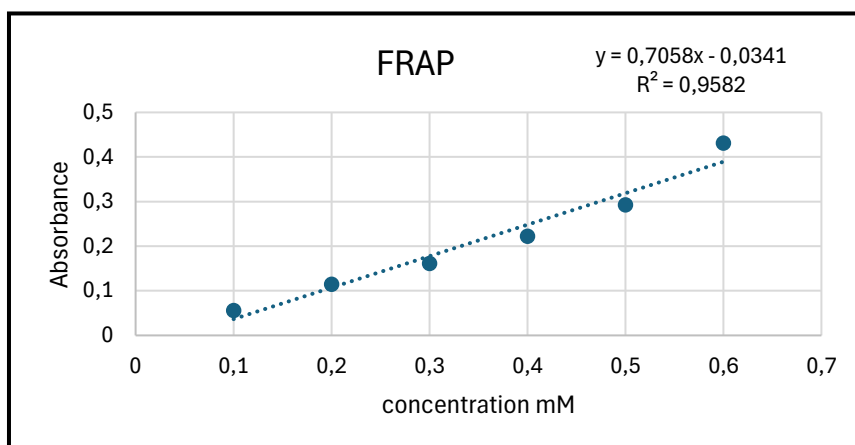


Figure 26: Courbe d'étalonnage de FeSO_4 (Test FRAP)

PARTIE EXPERIMENTALE
CHAPITRE : Résultats et discussion

Tableau 20 : Activité antioxydant du standard FeSO₄ et d'EH20/MeOH de *L.corniculatus* (Test FRAP)

Concentration	Absorbances (Triplicata)			Absorbance Moyenne	Équivalent mmol FeSO4/L
Standard FeSO4					
0,1	0,059	0,055	0,054	0,056 ± 0,0026	0,128
0,2	0,121	0,117	0,106	0,115 ± 0,0078	0,211
0,3	0,153	0,161	0,169	0,161 ± 0,0080	0,276
0,4	0,247	0,231	0,189	0,222 ± 0,0300	0,363
0,5	0,278	0,276	0,324	0,293 ± 0,0271	0,463
0,6	0,428	0,434	0,431	0,431 ± 0,0030	0,659
EMeOH 70%					
0,05	0,022	0,025	0,021	0,023 ± 0,002	0,081
0,10	0,024	0,023	0,025	0,024 ± 0,001	0,082
0,25	0,026	0,032	0,025	0,028 ± 0,004	0,088
0,50	0,031	0,033	0,029	0,031 ± 0,002	0,092
1,00	0,038	0,042	0,040	0,040 ± 0,002	0,105

Les résultats obtenus avec le standard FeSO₄ mettent en évidence une augmentation progressive de l'absorbance avec l'accroissement de la concentration. En effet, les valeurs enregistrées passent de $0,056 \pm 0,0026$ à $0,431 \pm 0,0030$ pour des concentrations variant de 0,1 à 0,6 mM. Cette évolution traduit une augmentation du pouvoir réducteur en fonction de la concentration et confirme la bonne linéarité de la courbe d'étalonnage utilisée pour l'expression des résultats en équivalents FeSO₄.

L'extrait hydrométhanolique (70 %) des parties aériennes de *Lotus corniculatus* présente également une augmentation de l'absorbance avec l'accroissement de la concentration, bien que cette augmentation demeure moins importante que celle observée pour le standard. Les valeurs moyennes d'absorbance passent de **0,023 à 0,040** lorsque la concentration de l'extrait varie de **0,05 à 1 mg/mL**, ce qui correspond à des équivalents compris entre **0,081 et 0,105 mmol FeSO₄/L**. Cette différence peut s'expliquer par le fait que le standard est un composé pur, alors que l'extrait végétal est constitué d'un mélange complexe de métabolites dont les composés bioactifs sont présents à des teneurs relativement faibles. Néanmoins, l'augmentation progressive de l'absorbance met en évidence la présence de molécules capables de réduire les ions ferriques, traduisant ainsi un pouvoir réducteur et une activité antioxydante de l'extrait.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés pour d'autres espèces du genre *Lotus*. **Tundis et al. (2012)** ont montré que l'activité réductrice est généralement liée à la teneur en composés phénoliques. De même, **Ginovyan et al. (2017)** ont souligné que l'utilisation de

solvants hydro-alcooliques, comme le méthanol à 70 %, permet une extraction efficace de ces composés chez les Fabacées.

L'activité observée peut être attribuée à la présence de flavonoïdes, notamment des dérivés de la quercétine et du kaempférol, connus pour leur capacité à transférer des électrons (**Reynaud et Lussignol, 2005**). Toutefois, l'intensité de cette activité reste modérée. Cela peut s'expliquer par plusieurs facteurs, comme la partie de la plante utilisée ou son stade de développement. Par exemple, certaines études indiquent que les feuilles et les fleurs sont généralement plus riches en composés antioxydants que les tiges (**Suzuki et al., 2008**).

Les valeurs obtenues sont globalement cohérentes entre les répétitions, ce qui confirme la fiabilité des mesures, même si l'intensité de la réponse reste faible aux concentrations les plus basses. Comparée aux tests DPPH et ABTS, l'activité mesurée par FRAP apparaît moins marquée, mais elle apporte des informations complémentaires sur le mécanisme d'action de l'extrait, notamment sa capacité à réduire les ions métalliques impliqués dans le stress oxydatif.

En conclusion, l'extrait hydrométhanolique de *Lotus corniculatus* présente une activité réductrice réelle et dépendante de la concentration. Bien que cette activité soit inférieure à celle du standard, elle confirme le potentiel de cette plante comme source de composés antioxydants. Des analyses complémentaires, notamment le fractionnement de l'extrait, permettraient probablement d'isoler les composés les plus actifs et d'améliorer les performances observées.

IV-2-4-Test CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity)

Le test CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity) repose sur la réduction des ions cuivre (II) en cuivre (I) par les composés antioxydants présents dans l'échantillon, en présence du complexe néocuproïne. Cette méthode est particulièrement adaptée à l'étude des extraits végétaux, car elle permet de réagir avec une large variété de composés phénoliques tout en étant moins sensible à certaines interférences que d'autres tests basés sur les réactions d'oxydoréduction. Les résultats sont généralement exprimés en équivalents Trolox. Le Trolox étant utilisé comme composé de référence.

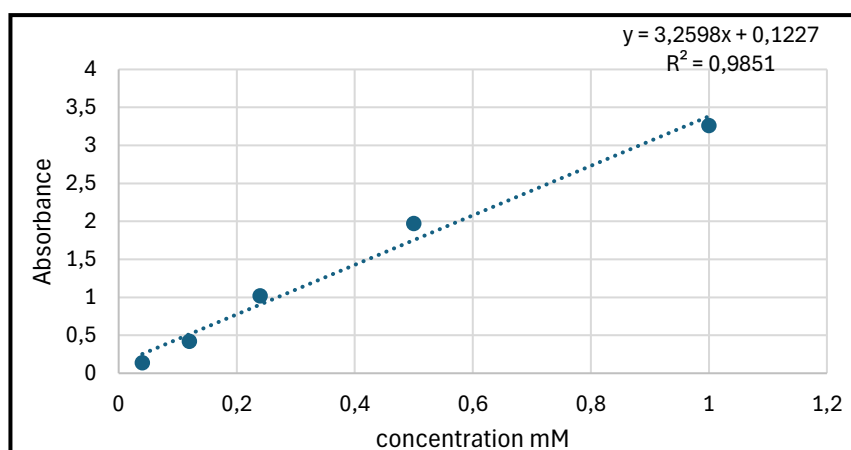


Figure 27: Courbe d'étalonnage de Trolox (Test CUPRAC)

Tableau 21 : Activité antioxydant du standard Trolox et d'extrait hydrométhanolique de *Lotus corniculatus* (Test CUPRAC)

Concentration	Absorbances (Triplicata)			Absorbance Moyenne	Équivalent mmol Tolorox/L
Standard Tolorox					
0,04	0,150	0,135	0,127	0,137 ± 0,012	0,045
0,12	0,415	0,420	0,423	0,419 ± 0,004	0,091
0,24	1,004	1,035	1,014	1,018 ± 0,016	0,275
0,50	1,881	1,999	2,031	1,970 ± 0,079	0,567
1,00	3,181	3,216	3,391	3,263 ± 0,112	0,963
EMeOH 70%					
0,05	0,058	0,064	0,061	0,061 ± 0,003	-
0,10	0,085	0,079	0,082	0,082 ± 0,003	-
0,25	0,143	0,128	0,105	0,125 ± 0,019	0,0081
0,50	0,215	0,208	0,222	0,215 ± 0,007	0,028
1,00	0,410	0,395	0,402	0,402 ± 0,008	0,086

Les résultats du test CUPRAC montrent que l'absorbance du standard Trolox augmente progressivement avec la concentration. Les valeurs moyennes passent de $0,137 \pm 0,012$ à $3,263 \pm 0,112$ pour des concentrations comprises entre 0,04 et 1,00 mM, traduisant une augmentation importante de la capacité réductrice du standard vis-à-vis des ions cuivreux. Cette évolution confirme la validité de la courbe d'étalonnage utilisée pour l'expression des résultats en équivalents Trolox.

Concernant l'extrait hydrométhanolique (70 %) des parties aériennes de *Lotus corniculatus*, une augmentation progressive de l'absorbance est également observée avec l'accroissement de la concentration. Les valeurs moyennes enregistrées passent de $0,061 \pm 0,003$ à $0,402 \pm 0,008$ lorsque la concentration varie de 0,05 à 1 mg/mL. Les équivalents Trolox augmentent parallèlement, atteignant 0,086 mmol Trolox/L à la concentration de 1 mg/mL. Cette évolution met en évidence une relation dose-dépendante entre la concentration de l'extrait et son pouvoir réducteur.

Bien que l'activité observée soit inférieure à celle du Trolox, utilisé comme antioxydant de référence, l'extrait présente néanmoins une capacité notable à réduire les ions Cu^{2+} en Cu^{+} . Cette différence peut être attribuée à la nature complexe de l'extrait végétal, dont les composés antioxydants sont présents en quantités variables et interagissent au sein d'une matrice riche en métabolites secondaires. L'activité observée pourrait être liée à la présence de composés phénoliques, de flavonoïdes et d'autres substances réductrices capables de transférer des électrons aux ions métalliques.

Nos résultats s'inscrivent dans la lignée des travaux menés sur le genre *Lotus*. Selon **Tundis et al. (2012)**, le pouvoir réducteur cuivrique chez les espèces méditerranéennes de *Lotus* est étroitement corrélé à la concentration en acides phénoliques et en flavonoïdes. La capacité réductrice de notre extrait peut être attribuée à sa richesse en dérivés de la quercétine et du kaempférol, molécules dont les groupements hydroxyles sont particulièrement réactifs dans le système CUPRAC (**Reynaud et Lussignol, 2005**).

Comme cela a été observé chez d'autres espèces du genre *Lotus*, notamment *Lotus japonicus*, l'activité antioxydante dépend fortement du solvant utilisé lors de l'extraction. L'utilisation du méthanol à 70 % a permis d'extraire efficacement les composés de polarité intermédiaire, favorisant ainsi la récupération des flavonoïdes glycosylés, reconnus pour leur contribution majeure au pouvoir réducteur global (**Ginovyan et al., 2017**). L'écart observé avec certaines études antérieures pourrait s'expliquer par le ratio feuilles/tiges de notre échantillon, les tissus foliaires étant généralement plus riches en principes actifs que les tiges (**Suzuki et al., 2008**).

En conclusion, l'extrait de *L. corniculatus* manifeste un pouvoir réducteur de cuivre réel et constant. Ces résultats complètent les observations faites lors des tests DPPH et ABTS, soulignant la polyvalence des mécanismes antioxydants de cette plante. Bien que l'activité reste modérée par rapport au standard pur, ces données justifient l'intérêt de l'espèce comme source d'antioxydants naturels et ouvrent la voie à des études de fractionnement pour identifier les molécules les plus actives.

IV-3-Resultat de l'étude toxicologique

L'évaluation de la toxicité de l'extrait hydrométhanolique de *Lotus corniculatus* a été réalisée afin d'évaluer sa sécurité d'utilisation *in vivo*. Pour cette étude, les animaux ont été répartis en cinq groupes expérimentaux et traités pendant une période de 21 jours avec différentes doses de l'extrait comprises entre 100 et 400 mg/kg. Un groupe témoin a été maintenu dans les mêmes conditions et a reçu uniquement de l'eau distillée.

IV-3-1-Observation clinique des animaux expérimentaux

Le suivi comportemental des animaux représente un élément important dans l'évaluation de la toxicité et permet de détecter précocement d'éventuels effets indésirables (**Lima et al., 2016**). Dans le cadre de cette étude, les rats ont été observés quotidiennement pendant une période de 21 jours afin d'apprécier leur état général et de mettre en évidence toute modification clinique ou comportementale inhabituelle.

Après administration de l'extrait de *Lotus corniculatus* à différentes doses, une surveillance clinique régulière a été réalisée chez l'ensemble des animaux expérimentaux. Les principales observations enregistrées au cours de l'expérimentation sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau22 : Signes cliniques observés après administration de l'EH2O/MeOH de *lotus corniculatus* à différentes doses.

Dose (Mg/ kg)	Sexe	Mort D/T	Signes cliniques
100mg	Mâle	0/3	Apparence physique : normale.
200mg		0/3	Pelage : lisse, toilettage normal.
300mg		0/3	Posture : normale.
400mg		0/3	Yeux : rouge normale. Salivation : normale. Urine et fèces : normales.

Au cours de la période expérimentale, aucune manifestation clinique ou comportementale anormale n'a été observée chez les animaux traités. Les rats n'ont présenté ni signes de léthargie, ni troubles digestifs, ni modifications de l'activité motrice. De même, aucun cas de convulsions, d'agressivité, de vomissements, de somnolence, de paralysie ou de perte d'équilibre n'a été enregistré.

Par ailleurs, aucune mortalité n'a été notée dans les différents groupes ayant reçu l'extrait, quelle que soit la dose administrée. Ces observations traduisent une bonne tolérance de l'extrait de *Lotus corniculatus* et suggèrent une absence de toxicité apparente dans les conditions de cette étude. L'absence de décès au cours de l'expérimentation laisse également supposer que la dose létale médiane (DL50) de l'extrait est supérieure à 400 mg/kg. Globalement, les rats traités ont conservé un état clinique normal durant toute la période de suivi.

IV-3-2-Mesure de poids

Le poids corporel est l'un des paramètres couramment utilisés dans les évaluations toxicologiques (Ansah et al., 2016). Son suivi au cours du traitement constitue un indicateur important de la tolérance des animaux, toute variation pouvant refléter un déséquilibre physiologique induit par la substance testée (Teo et al., 2002).

Durant la période la période d'acclimatation et la période expérimentale, allant du 1^{er} au 30^e jour, l'évolution du poids corporel des rats a été suivie dans les différents groupes expérimentaux. Les variations enregistrées sont présentées dans le tableau et la figure ci-dessous.

Tableau 23 : Poids corporel des rats avant et après traitement par l'EH2O/MeOH de *Lotus corniculatus*

PARTIE EXPERIMENTALE
CHAPITRE : Résultats et discussion

		Dose 100mg	Dose 200mg	Dose 300mg	Dose 400mg	Témoin
Avant traitement	J1	238.33±5.51	237.67±14.57	238.67±19.43	226.00±15.72	195±14.73
	J7	234.67±0.58	214.67±16.29	238.67±24.70	222.67±15.04	190.33±13.58
Après traitement	J15	227±2.65	203.33±20.11	228.67±23.25	222.33±18.23	210.33±13.65
	J21	249±8,19	224±23,52	253,67±25,58	242,67±17,62	229,67±23,03
	J30	252.33±7.02	226.33±22.59	257.67±22.81	245.67±21.78	241.33±36.50

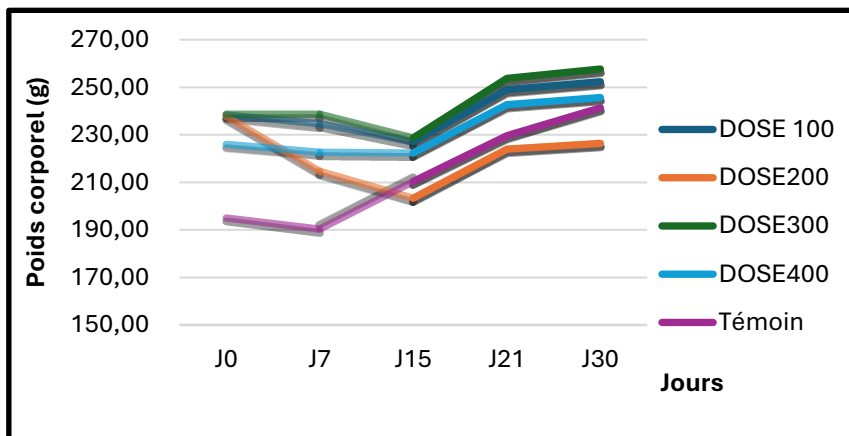


Figure 28: Évolution du poids corporel (g) des rats témoins et traités durant la période d'acclimatation et la période expérimentale .

D'après les résultats obtenus, les poids initiaux des rats étaient comparables entre l'ensemble des groupes avant le début du traitement, ce qui témoigne de leur homogénéité durant la phase d'acclimatation. Une légère diminution transitoire du poids a été observée chez le groupe recevant la dose de 200 mg/kg, sans toutefois révéler un effet pathologique particulier. Cette variation peut être attribuée aux conditions d'acclimatation et aux fluctuations physiologiques normales.

Au cours de la période de traitement, une augmentation progressive du poids corporel a été enregistrée dans tous les groupes, y compris le groupe témoin et les groupes traités. Aucune différence statistiquement significative n'a été mise en évidence entre les différents lots tout au long de l'expérimentation, suggérant que l'extrait n'a pas exercé d'effet notable sur la croissance des animaux dans les conditions de l'étude.

Par ailleurs, la consommation alimentaire étant similaire entre les groupes, les variations observées du poids corporel semblent refléter un processus de croissance physiologique normal chez les rats durant la période expérimentale.

IV-3-3-Analyses biologiques

Les résultats obtenus par l'analyse statistique (ANOVA suivie du test de Tukey) montrent l'absence de différences significatives entre les groupes traités et le groupe témoin pour la majorité des paramètres étudiés. Ces observations indiquent que l'administration de

PARTIE EXPERIMENTALE
CHAPITRE : Résultats et discussion

l'extrait n'a entraîné aucune perturbation biologique notable dans les conditions expérimentales adoptées.

IV-3-3-1-Analyses hématologiques

Les paramètres hématologiques représentent des indicateurs essentiels de l'état de santé chez l'homme et l'animal. Ils sont largement utilisés en pratique clinique pour mettre en évidence d'éventuelles modifications d'ordre physiologique, pathologique ou nutritionnel. Toute altération de ces paramètres peut également traduire un effet toxique ou pharmacologique chez les animaux expérimentaux (Ansah et al., 2016).

Dans la présente étude, les taux d'hémoglobine (Hb), d'hématocrite (HCT) ainsi que la numération plaquettaire (PLT) ont été déterminés chez les rats ayant reçu différentes doses de l'extrait EH20/MeOH de *Lotus corniculatus* L. Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux et les figure ci-dessous.

Tableau 24 : Effet de l'EH20/MeOH de *Lotus corniculatus* sur les analyses hématologiques chez les rat

Paramètres	Traitement					P-value
	Témoin	D=100	D=200	D=300	D=400	
HB(g/dl)	13,53 ± 0,40	15,43±0,86	14,57±1,18	16±0,35	15,03±0,50	S
HCT(%)	44,97±0,81	49,13±3,92	46,47±4,15	49,37±4,09	49,03±0,60	NS
PLT(10 ³ /UI)	999,67±13,05	993,00±11,27	1022,33±67,35	982,67±55,95	1023,33±20,11	NS

Tableau 25 : Effet des doses croissantes de l'H20/MeOH de *L.corniculatus* L. sur le taux d'Hb avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %

Facteur	N	Moyenne HB	Groupement	
D=300	3	15,367	A	
D=400	3	15,033	A	B
D=100	3	14,633	A	B
D=200	3	14,567	A	B
Témoin	3	13,533		B

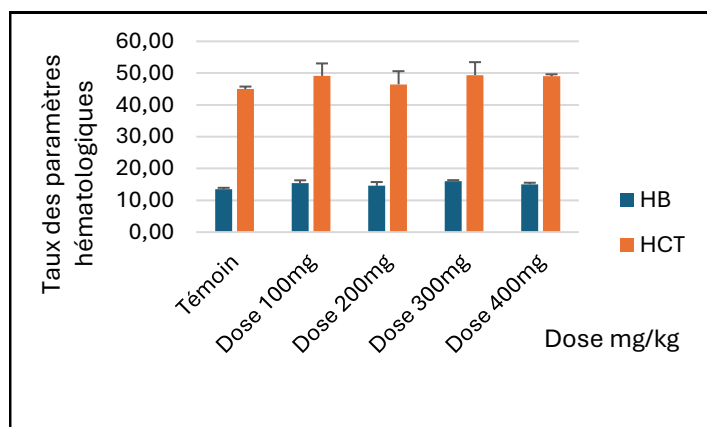


Figure 29: Variations moyennes du taux de HB et HCT chez les rats témoins et traités

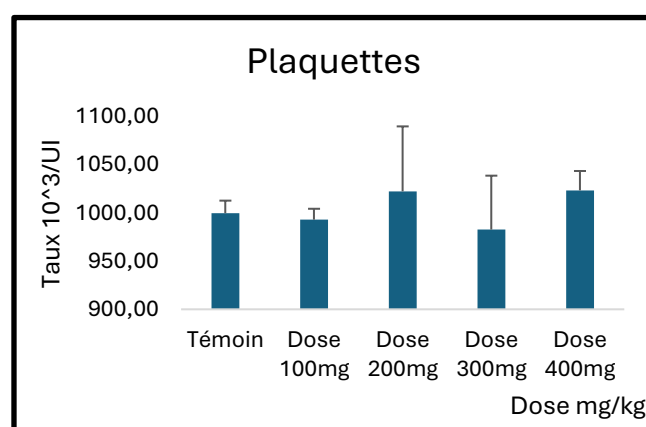


Figure 30: Variations moyennes du taux de PLC chez les rats témoins et traités

PARTIE EXPERIMENTALE
CHAPITRE : Résultats et discussion

Pour les paramètres hématologiques HCT et PLT, les résultats de l'ANOVA ainsi que les graphiques montrent l'absence de différences significatives entre les groupes traités et le groupe témoin. Cela suggère que l'extrait n'a pas affecté la production des cellules sanguines ni la fonction plaquettaire, ce qui reflète l'absence d'effets secondaires hématologiques et la stabilité des valeurs par rapport au témoin.

Une légère variation a toutefois été observée pour l'hémoglobine (Hb), où la dose D=300 mg/kg présente un groupement statistique (A) par rapport au témoin (B), tandis que les autres doses (100, 200 et 400 mg/kg) présentent un chevauchement (AB). Bien que statistiquement notable, cette variation reste dans les limites physiologiques normales chez le rat et ne traduit pas un effet toxique. De plus, aucune altération concomitante des autres paramètres hématologiques n'a été observée, ce qui suggère une bonne adaptation physiologique de l'organisme à ces doses.

Dans l'ensemble, ces variations restent limitées et non sévères, indiquant que l'extrait de *Lotus corniculatus* n'a pas induit d'effet toxique notable sur les plaquettes sanguines ni sur la fonction de coagulation chez les animaux traités. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Ansah et al. (2016)**, qui ont montré l'absence de perturbations hématologiques significatives après traitement.

IV-3-3-2-Analyses biochimiques

L'analyse des paramètres biochimiques constitue une étape importante dans l'évaluation de la toxicité des extraits végétaux, puisqu'elle permet d'apprécier l'état fonctionnel de certains organes, notamment le foie (**Giannini et al., 2005 ; Ozer et al., 2008**).

Dans le cadre de cette étude, les activités sériques des transaminases TGO et TGP ont été mesurées chez les rats ayant reçu différentes doses de l'extrait EH20/MeOH de *Lotus corniculatus* L., afin d'évaluer son éventuelle influence sur la fonction hépatique. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau et la figure ci-dessous.

Tableau 26 : Effet de l'extrait de *Lotus corniculatus* sur les analyses biochimiques chez les rats

Paramètres	Traitement					P-value
	Témoin	D=100	D=200	D=300	D=400	
TGO U/L	130,47±16,83	132,19±31,51	144,79±49,62	145,97±33,68	170,28±51,82	NS
TGP U/L	50,25±3,23	50,8±7,86	52,95±2,71	50,42±8,57	56,18±9,90	NS

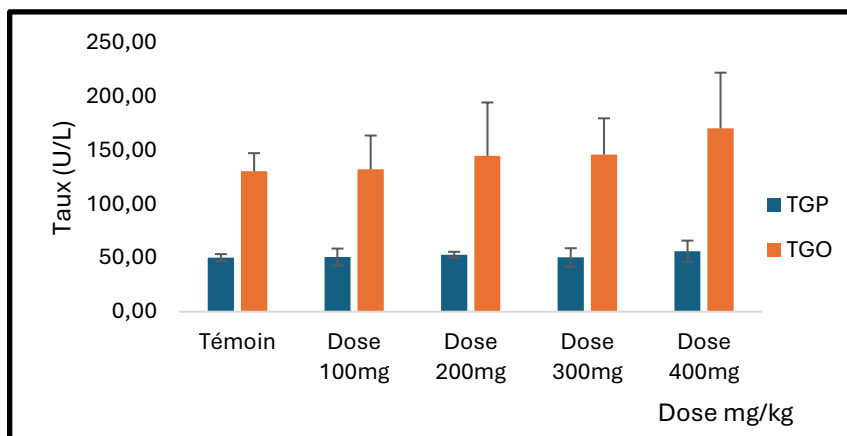


Figure 31: Variations moyennes du taux de TGO et de TGP chez les rats témoins et traités

D'après les résultats obtenus, les paramètres hépatiques TGO (AST) et TGP (ALT) n'ont montré aucune différence significative entre les groupes traités et le groupe témoin. Cette stabilité des transaminases suggère que l'extrait de *Lotus corniculatus* n'a provoqué ni altération des cellules hépatiques ni libération enzymatique dans la circulation sanguine, traduisant ainsi l'absence d'effet hépatotoxique.

Par ailleurs, l'analyse statistique réalisée par ANOVA confirme l'absence d'effets toxiques significatifs de l'extrait sur les paramètres biochimiques et hématologiques évalués aux doses administrées. Ces résultats mettent en évidence une bonne tolérance biologique de l'extrait dans les conditions expérimentales de cette étude.

IV-4- Résultat de l'activité hépato protectrice

Dans le cadre de l'évaluation du potentiel protecteur des extraits végétaux contre la toxicité induite, la présente étude a été réalisée afin d'analyser l'effet de l'extrait hydrométhanolique de l'espèce *Lotus corniculatus* L. sur la toxicité induite par l'acétate de plomb chez les rats.

IV-4-1- Observations cliniques

L'observation clinique constitue l'un des outils les plus importants pour détecter les signes précoces de toxicité (Lima et al., 2016).

Dans cette étude, les signes cliniques (tels que la somnolence et les vertiges) ainsi que la mortalité ont été suivis dans tous les groupes de manière continue durant la première heure suivant l'administration orale. De plus, la surveillance a été prolongée tout au long de la période expérimentale de 28 jours afin de détecter d'éventuels effets retardés.

Les animaux exposés à l'acétate de plomb ont présenté une détérioration progressive de l'état général, caractérisée par une diminution de l'activité locomotrice, une somnolence et une

réduction de l'appétit par rapport au groupe témoin. Ces signes sont compatibles avec les effets toxiques connus du plomb, notamment sur le système nerveux et les fonctions métaboliques.

En revanche, les rats ayant reçu simultanément l'acétate de plomb et l'extrait végétal ont maintenu un état clinique globalement normal tout au long de l'expérience, suggérant un effet protecteur potentiel de l'extrait contre les dommages induits par le plomb.

IV-4-2-Analyses biologiques

IV-4-2- 1-Analyses hématologiques

L'analyse des paramètres hématologiques permet d'apprécier les effets de l'acétate de plomb ainsi que l'effet protecteur du traitement combiné (acétate de plomb + EH20/MeOH de *Lotus corniculatus* L.) chez les rats. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau et la figure ci-dessous.

Tableau 27: Paramètres hématologiques chez les différents groupes expérimentaux

Paramètres	Unité	Traitement		
		Témoin	Acétate de plomb +EH20/MeOH	Acétate de plomb
GB	10 ³ /UI	7,94 ±1,26	8,28 ±1,06	8,96 ±2,66
HB	g/dl	13,25 ±0,54	12,80 ±0,25	12,93 ±0,87
PLT	10 ³ /UI	934,75±98,49	995±62,34	993,5±122,92
CCMH	g/dl	29,93 ±0,38	29,65 ±0,59	29,85 ±0,88
VGM	Fl	50,28 ±1,04	50,23 ±0,56	50,125 ±0,95

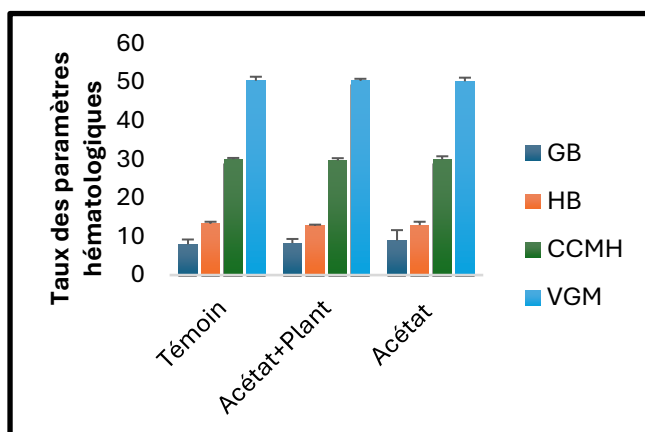


Figure 32: Variation des taux de GB, HB, CCMH et VGM chez les rats témoins et traités

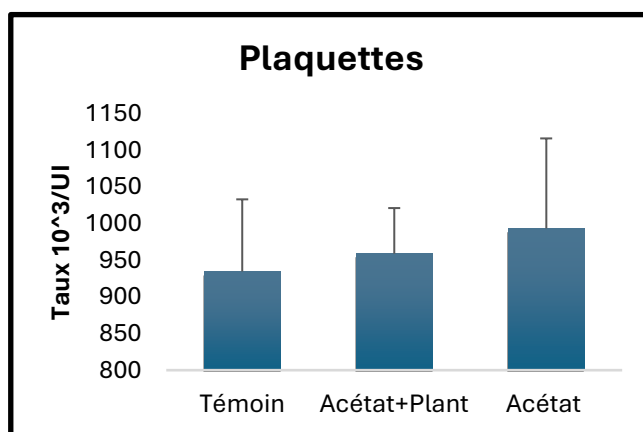


Figure 33: Évolution du nombre des plaquettes (PLT) dans les différents groupes

D'après les résultats obtenus, les paramètres hématologiques évalués (GR, HB, VGM, CCMH et PLT) n'ont présenté aucune différence statistiquement significative entre les différents groupes ($P > 0,05$). Les valeurs enregistrées sont demeurées dans les limites physiologiques normales, ce qui indique que l'administration de l'acétate de plomb aux doses utilisées n'a pas entraîné d'altération notable de l'hématopoïèse ni de perturbation de la production des érythrocytes et des plaquettes sanguines.

IV-4-2- 2-Analyses biochimiques

L'analyse des paramètres biochimiques permet d'évaluer les effets toxiques de l'acétate de plomb ainsi que l'effet protecteur du traitement combiné (acétate de plomb + EH20/MeOH de *Lotus corniculatus* L.) chez les rats. Les résultats obtenus montrent des variations de plusieurs paramètres liés aux fonctions hépatique, rénale et métabolique, mettant en évidence l'impact du plomb ainsi que l'amélioration observée après traitement, comme le montrent les tableaux et les figures ci-dessous.

Tableau 28 : Paramètres biochimiques sériques des différents groupes expérimentaux

Paramètres	Unité	Traitement		
		Témoin	Acétate de plomb+EH20/MeOH	Acétate de plomb
TGO	U/L	125,29±17,21	123,04±21,29	259,33±15,29
TGP	U/L	57,09±13,93	54,91±10,62	116,5±31,72
CR	Mg/l	4,27±0,60	4,31±0,87	4,10±0,52
CHOL	g/L	0,92±0,05	0,96±0,03	1,04±0,16
GLU	g/L	0,98±0,15	1,01±0,07	0,98±0,07
AU	mg/L	6,77±0,75	6,92±1,18	5,99±0,56
TG	g/L	0,78±0,15	0,65±0,33	0,81±0,08

Tableau 29 : Comparaison des moyennes de TGO et TGP par le test de Tukey et un niveau de confiance de 95 %

Parametres	N	TGO	TGP	Groupement	
Acétate	4	259,33	116,5	A	
Témoin	4	125,29	57,09		B
Acétate de plomb + EH20/MeOH	4	123,0	54,91		B

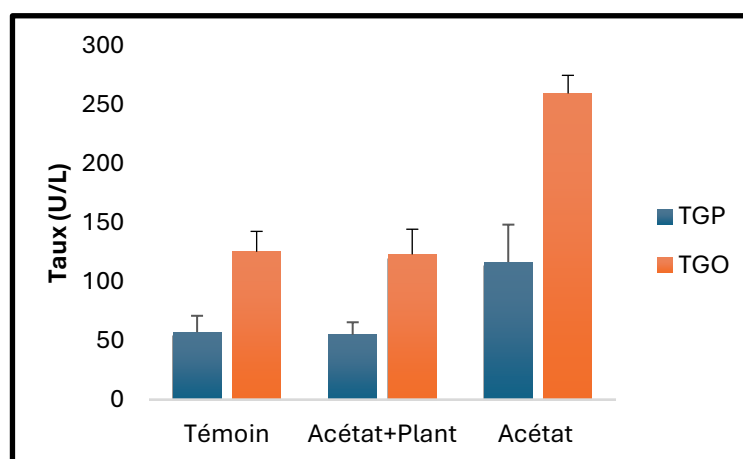


Figure 34: Variations moyennes du taux de TGO et de TGP chez les rats témoins et traités par gavage

PARTIE EXPERIMENTALE
CHAPITRE : Résultats et discussion

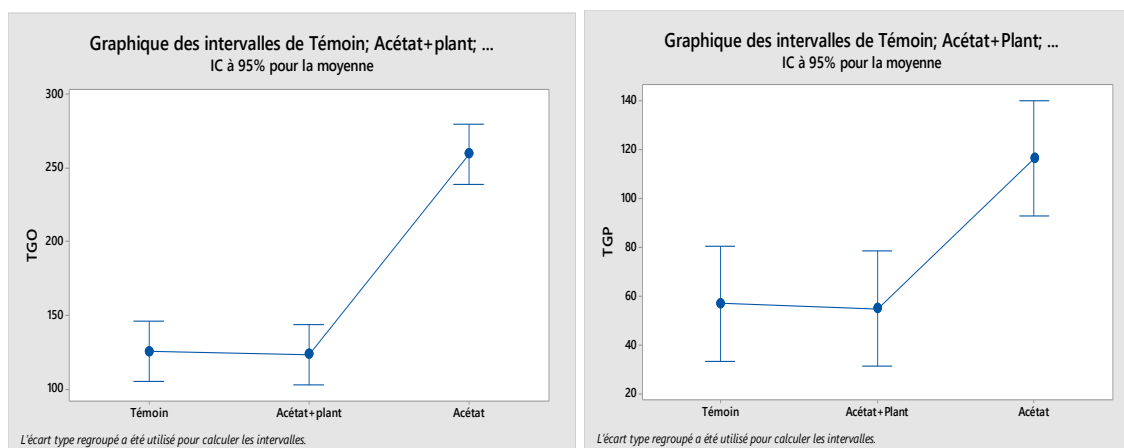


Figure 35: Représentation graphique (Interval Plot) de la variation de TGP et TGP ($p < 0.05$).

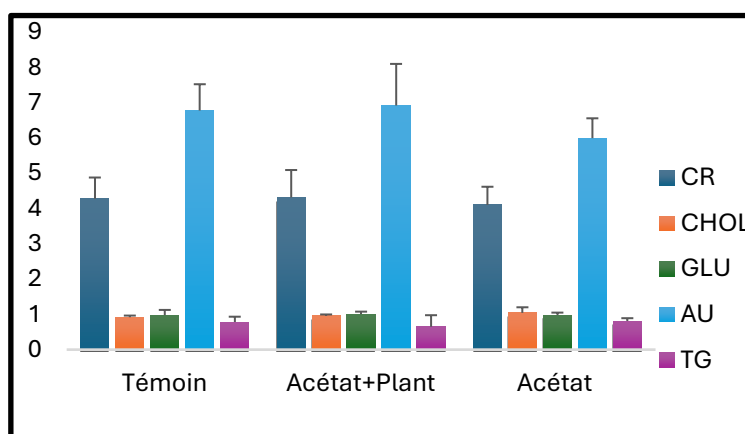


Figure 36: Variation des taux de CR, CHOL, GLU, AU et TG chez les rats témoins et traités

Le foie est considéré comme l'un des principaux organes cibles de la toxicité du plomb en raison de son rôle essentiel dans le métabolisme et la détoxification des substances xénobiotiques, ainsi que de sa capacité à accumuler les métaux lourds après exposition. Les enzymes hépatiques AST (TGO) et ALT (TGP) sont ainsi largement utilisées comme biomarqueurs de l'atteinte hépatique induite par le plomb (**Haouas et al., 2014**).

Les résultats obtenus ont révélé des différences hautement significatives entre les groupes concernant l'activité des enzymes AST et ALT ($P < 0,001$). Le groupe traité par l'acétate de plomb a présenté une augmentation marquée de l'activité de l'AST ($259,33 \pm 15,29$ UI/L) par rapport au groupe témoin ($125,29 \pm 17,21$ UI/L). Une élévation similaire a été observée pour l'ALT, dont la valeur a atteint $116,50 \pm 31,72$ UI/L contre $57,09 \pm 13,93$ UI/L chez les animaux témoins.

Cette augmentation peut être attribuée aux lésions hépatocellulaires provoquées par l'effet toxique du plomb. En effet, l'exposition au plomb induit un stress oxydatif important par

la génération excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), entraînant une peroxydation lipidique des membranes cellulaires, une augmentation de leur perméabilité et, par conséquent, une libération des enzymes intracellulaires dans la circulation sanguine. Par ailleurs, le plomb perturbe les systèmes antioxydants endogènes, ce qui accentue les dommages tissulaires hépatiques.

Nos résultats concordent avec ceux rapportés par **Haouas et al. (2014)**, qui ont mis en évidence une augmentation significative des activités de l'AST et de l'ALT chez des rats exposés à l'acétate de plomb pendant 28 jours, attribuée à des phénomènes de dégénérescence et de nécrose hépatocellulaire. Des observations similaires ont également été rapportées par **Abdel-Kader et al. (2011)** confirmant que l'exposition au plomb provoque des altérations fonctionnelles du foie se traduisant par une élévation des transaminases sériques.

À l'inverse, le prétraitement par l'extrait de *Lotus corniculatus* a entraîné une diminution significative des activités de l'AST et de l'ALT. Les valeurs observées ($123,04 \pm 21,29$ UI/L pour l'AST et $54,91 \pm 10,62$ UI/L pour l'ALT) étaient très proches de celles du groupe témoin.

De plus, le test de Tukey n'a révélé aucune différence significative entre le groupe traité par l'extrait végétal et le groupe témoin, témoignant ainsi d'un effet hépatoprotecteur marqué de la plante contre les dommages induits par le plomb.

Cet effet protecteur pourrait être expliqué par la richesse de *Lotus corniculatus* en composés phénoliques, flavonoïdes et saponines, reconnus pour leurs puissantes propriétés antioxydantes. Ces molécules sont capables de neutraliser les radicaux libres, de réduire le stress oxydatif, de stabiliser les membranes cellulaires et de préserver l'intégrité des hépatocytes. Elles contribuent également au renforcement des défenses antioxydantes endogènes et à la limitation de la peroxydation lipidique.

Ces résultats sont en accord avec ceux de **Baali et al. (2019)**, qui ont évalué les activités antioxydantes, anti-inflammatoires et hépatoprotectrices de *Lotus corniculatus*. Les auteurs ont montré que l'extrait de cette plante atténuait les lésions hépatiques induites par le paracétamol chez le rat et améliorait significativement les paramètres biochimiques hépatiques. Cet effet a été attribué à sa teneur élevée en composés phénoliques et flavonoïdes dotés d'une forte activité antioxydante.

De même, aucune variation significative n'a été enregistrée pour la majorité des paramètres biochimiques étudiés, notamment la créatinine (CR), le glucose (GLU), le cholestérol total (CHOL), les triglycérides (TG) et l'albumine (ALB). Ces observations indiquent que, dans les conditions expérimentales de cette étude, la toxicité induite par le plomb

était principalement localisée au niveau hépatique sans provoquer d'altérations majeures des fonctions rénales ni du métabolisme glucidique et lipidique. Cette stabilité pourrait être liée à la durée relativement limitée de l'exposition ainsi qu'aux mécanismes compensateurs mis en œuvre par l'organisme pour maintenir l'homéostasie.

Dans l'ensemble, les résultats obtenus démontrent que l'acétate de plomb induit une hépatotoxicité significative caractérisée par une augmentation des activités des enzymes AST et ALT.

En revanche, l'administration de l'extrait de *Lotus corniculatus* exerce un effet hépatoprotecteur remarquable en atténuant les dommages oxydatifs et en préservant l'intégrité fonctionnelle des hépatocytes. Ces résultats mettent en évidence le potentiel thérapeutique de cette plante comme source naturelle de composés bioactifs capables de protéger le foie contre les effets toxiques des métaux lourds.

IV-5-Résultat d'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits des parties aériennes de *Lotus corniculatus* L. a été évaluée sur neuf souches bactériennes par la méthode de diffusion sur milieu solide. L'activité des extraits a été déterminée à partir des diamètres des zones d'inhibition observées autour des disques, selon les critères décrits par **De Billerbeck (2007)**. Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux et figures suivants.

IV-5-1-Résultat de l'activité antibactérienne des témoins positif et négatif

L'évaluation des témoins positifs et négatifs a été réalisée afin de vérifier la fiabilité des essais antibactériens. Les antibiotiques utilisés comme témoins positifs (gentamicine, pénicilline, céfalexine et fosfomycine) ont permis de confirmer la sensibilité des souches bactériennes, tandis que le DMSO, utilisé comme témoin négatif, a servi à vérifier l'absence d'effet antibactérien du solvant. Les résultats obtenus sont présentés ci-dessous.

Tableau 30 : Résultats des témoins positif et négatif sur les souches bactériennes testées

Les souches testées	Diamètre de la zone d'inhibition en mm				
	Gentamycine	Pénicilline	Cefalixine	Fosfomicine	DMSO
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	17,5 ± 0,5	6,00±0,00	6,00±0,00	6,00±0,00	6,00±0,00
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	17,66 ± 0,28	33,83±0,76	25,5 ± 0,5	6,00±0,00	6,00±0,00
<i>B.subtilis</i> ATCC 9372	17,83 ± 0,28	31,33±0,57	16,5 ± 0,5	6,00±0,00	6,00±0,00
<i>B. cereus</i> ATCC 10876	19,83 ± 0,28	11,83±0,76	17,5 ± 0,5	29,16 ± 1,04	6,00±0,00
<i>E.coli</i> ATCC 25922	17,5 ± 0,5	6,00±0,00	13,5 ± 0,5	6,00±0,00	6,00±0,00
<i>E.coli</i> clinique	20 ± 0	6,00±0,00	11 ± 0	20 ± 0	6,00±0,00
<i>P.aeruginosa</i> clinique	12,83 ± 0,76	6,00±0,00	6,00±0,00	6,00±0,00	6,00±0,00
<i>S. aureus</i> clinique	16,16 ± 0,28	6,00±0,00	6,00±0,00	27,16 ± 0,76	6,00±0,00
<i>K.pneumoniae</i> clinique	19,83± 0,28	6,00±0,00	6,00±0,00	15,33 ± 0,28	6,00±0,00

PARTIE EXPERIMENTALE
CHAPITRE : Résultats et discussion

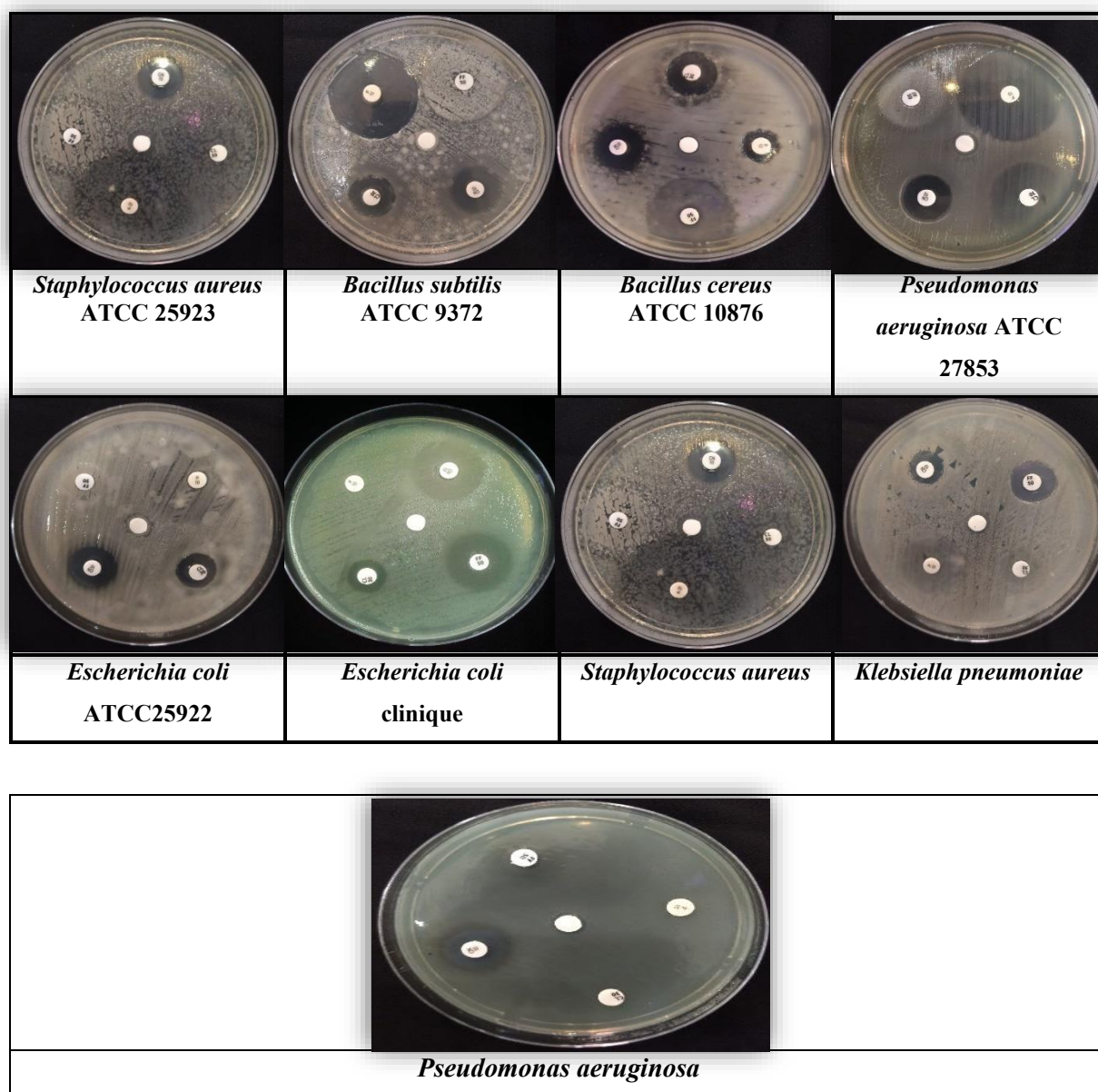


Figure 37: Effet des ATB et de DMSO sur la croissance des bactéries testées

Les résultats des antibiotiques de référence ont montré une activité antibactérienne variable selon les souches testées, la Gentamicine présentant l'activité la plus élevée par rapport aux autres antibiotiques. La Fosfomycine a également montré une bonne efficacité, notamment contre *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*. En revanche, le DMSO n'a présenté aucune activité antibactérienne (6 mm), ce qui confirme que l'effet inhibiteur observé est dû aux antibiotiques eux-mêmes et non au solvant.

De manière générale, ces résultats mettent en évidence une variation de la sensibilité bactérienne en fonction du type d'antibiotique utilisé, avec une tendance des bactéries Gram positives à être plus sensibles que les bactéries Gram négatives dans certains cas.

PARTIE EXPERIMENTALE
CHAPITRE : Résultats et discussion

IV-5-2- Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *Lotus corniculatus* L. a été évaluée sur des souches bactériennes de référence (ATCC) ainsi que sur des isolats cliniques. Les résultats obtenus sont présentés ci-dessous.

Tableau 31 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) de l'EH20 enregistré avec les bactéries testées.

Les souches bactériennes	Diamètres de la zone d'inhibition en mm					
	Concentrations de l'extrait aqueux					
	8mg/ml	4mg/ml	2mg/ml	1mg/ml	0,5mg/ml	0,25mg/ml
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>B.subtilis</i> ATCC 9372	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>B. cereus</i> ATCC 10876	11,66±0,57	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>E.coli</i> ATCC 25922	8±1	7,33±0,57	7±0	6,66±0,57	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>E.coli</i> clinique	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>S. aureus</i> clinique	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>K.pneumonea</i> clinique	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>P. aeruginosa</i> clinique	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA

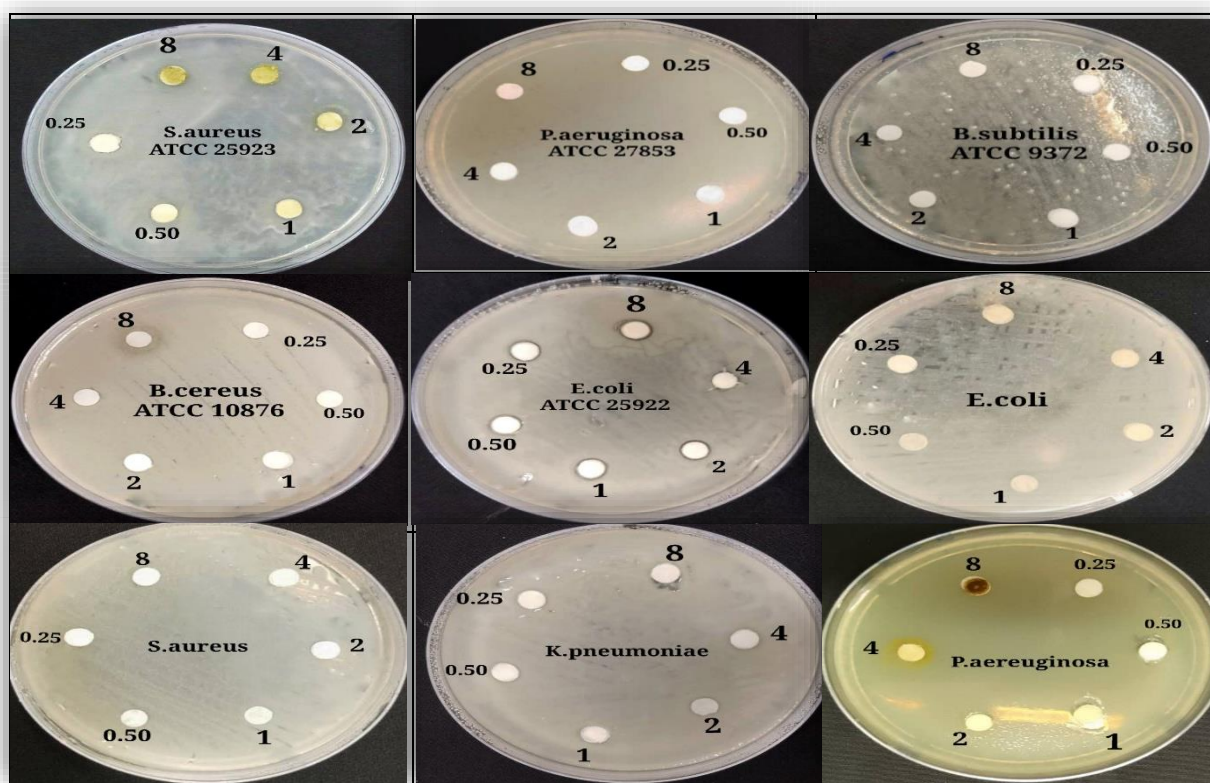


Figure 38: Effet de l'EH20 sur la croissance des bactéries testées

L'extrait aqueux a montré une activité antibactérienne relativement faible, avec des zones d'inhibition d'environ 6 mm observées sur la majorité des souches bactériennes testées.

Cette faible efficacité peut s'expliquer par le fait que l'eau, malgré sa forte polarité, reste limitée dans l'extraction de certains métabolites secondaires peu polaires ou de polarité intermédiaire, tels que les terpènes et certains flavonoïdes complexes, souvent responsables de l'activité antibactérienne.

Ces résultats sont en accord avec les travaux antérieurs, notamment ceux de **Ashraf et al. (2011)**, qui ont rapporté que les extraits aqueux d'*Origanum vulgare* présentent une activité antibactérienne faible par rapport aux extraits organiques tels que le méthanol et le chloroforme, avec un effet limité sur certaines souches bactériennes, tandis que la majorité des souches restaient résistantes.

De même, **Mizielinska et al. (2017)** ont montré, à travers l'étude des extraits de *Eucomis*, que les extraits aqueux présentent une activité faible voire nulle contre plusieurs bactéries, en particulier les bactéries Gram négatives, en raison de la difficulté d'extraction des composés bioactifs par l'eau.

IV-5-3- Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait hydrométhanoliques

L'activité antibactérienne de l'extrait hydrométhanolique de *Lotus corniculatus* L. a été évaluée sur des souches bactériennes de référence (ATCC) ainsi que sur des isolats cliniques. Les résultats obtenus sont présentés ci-dessous.

Tableau 32 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) de l'EH20/MeOH enregistré avec les bactéries testées.

Les souches bactériennes	Diamètres de la zone d'inhibition en mm					
	Concentrations de l'extrait méthanolique					
	8 mg/ml	4 mg/ml	2 mg/ml	1 mg/ml	0,5 mg/ml	0,25 mg/ml
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	9,33 ±0,57	8,00 ±0,00	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>B.subtilis</i> ATCC 9372	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>B. cereus</i> ATCC 10876	12 ±0,00	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>E.coli</i> ATCC 25922	12 ±0,00	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>E.coli</i> clinique	8,33 ±0,57	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>S. aureus</i> clinique	14 ±3,60	10 ±1,00	8 ±0,00	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>K.pneumoniae</i> clinique	9,33 ±0,57	8,66 ±0,57	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>P. aeruginosa</i> clinique	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA

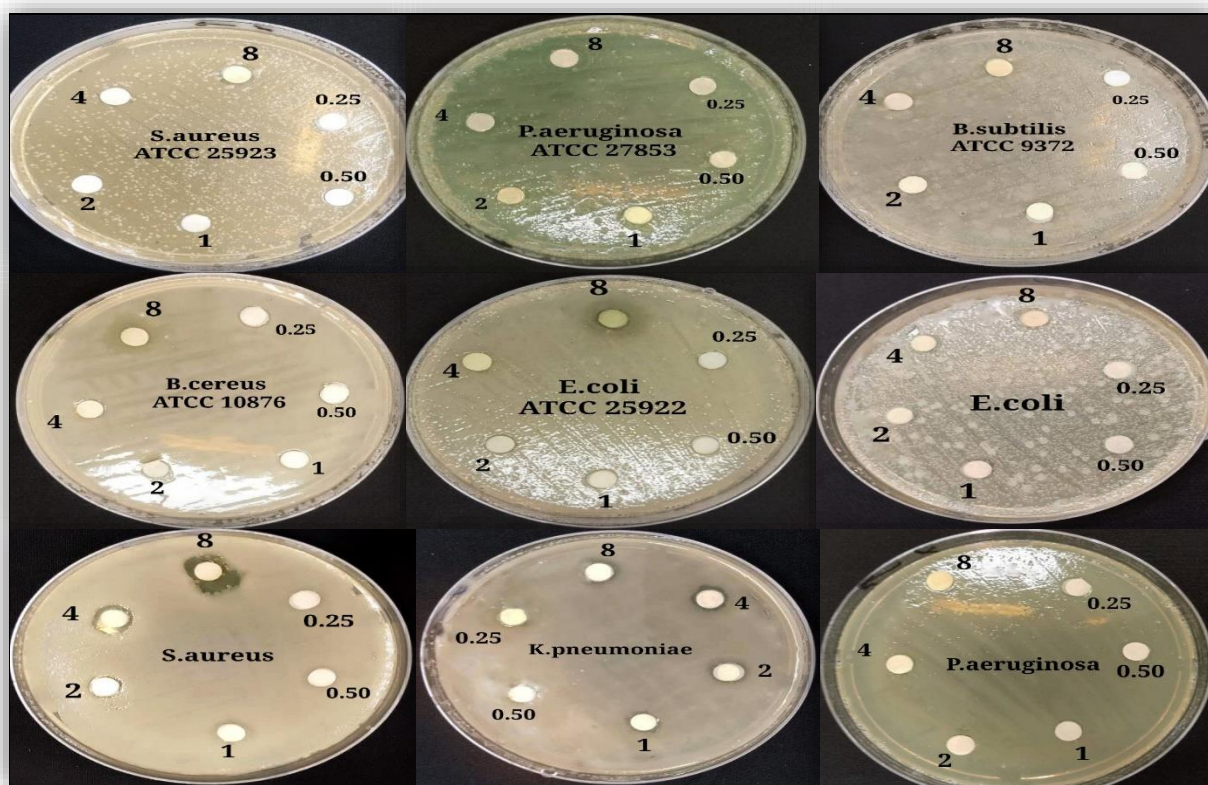


Figure 39: Effet de l'EH20/MeOH sur la croissance des bactéries testées

Les résultats obtenus avec l'extrait hydrométhanolique ont révélé une activité antibactérienne allant de modérée à importante, dont l'efficacité augmentait avec la concentration utilisée, traduisant ainsi un effet dose-dépendant. Cet extrait s'est montré particulièrement actif contre les bactéries Gram positives, notamment *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ATCC et *Bacillus subtilis* ATCC. En revanche, certaines bactéries Gram négatives, telles que *Escherichia coli*, ont présenté une sensibilité modérée, tandis que *Klebsiella* et *Pseudomonas aeruginosa* se sont révélées moins sensibles ou résistantes.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Ashraf et al. (2011)** dans leur étude sur *Origanum vulgare*, où l'extrait hydrométhanolique a montré une activité notable contre *Staphylococcus aureus* ainsi que contre plusieurs autres souches bactériennes. Les auteurs ont également observé une sensibilité plus marquée des bactéries Gram positives par rapport aux bactéries Gram négatives, ce qui concorde avec nos observations.

Cette activité pourrait être liée à la capacité du méthanol à extraire de nombreux composés bioactifs, notamment les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins, reconnus pour leurs propriétés antimicrobiennes. Dans l'ensemble, ces résultats confirment l'intérêt de l'extrait

hydrométhanolique comme source potentielle de composés naturels à activité antibactérienne, en particulier contre les bactéries Gram positives

IV-5-4- Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait chloroformique

L'activité antibactérienne de l'extrait chloroformique de *Lotus corniculatus* L. a été évaluée sur des souches bactériennes de référence (ATCC) ainsi que sur des isolats cliniques. Les résultats obtenus sont présentés ci-dessous.

Tableau 33 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) de l'ECHL enregistré avec les bactéries testées.

Les souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition en mm					
	Concentrations de l'extrait Chloroformique					
	8 mg/ml	4 mg/ml	2 mg/ml	1 mg/ml	0,5 mg/ml	0,25 mg/ml
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	(6mm) NA	(6mm) NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	9,33 ± 0,57	8,33 ± 0,57	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>B.subtilis</i> ATCC 9372	9,33 ± 0,57	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>B. cereus</i> ATCC 10876	10,66 ± 0,57	9,33 ± 0,5	8 ± 0	7,33 ± 0,57	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>E.coli</i> ATCC 25922	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>E.coli</i> clinique	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>S. aureus</i> clinique	8,66 ± 0,57	8 ± 0	6,33± 0,57	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>K.pneumonea</i> clinique	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>P. aeruginosa</i> clinique	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA

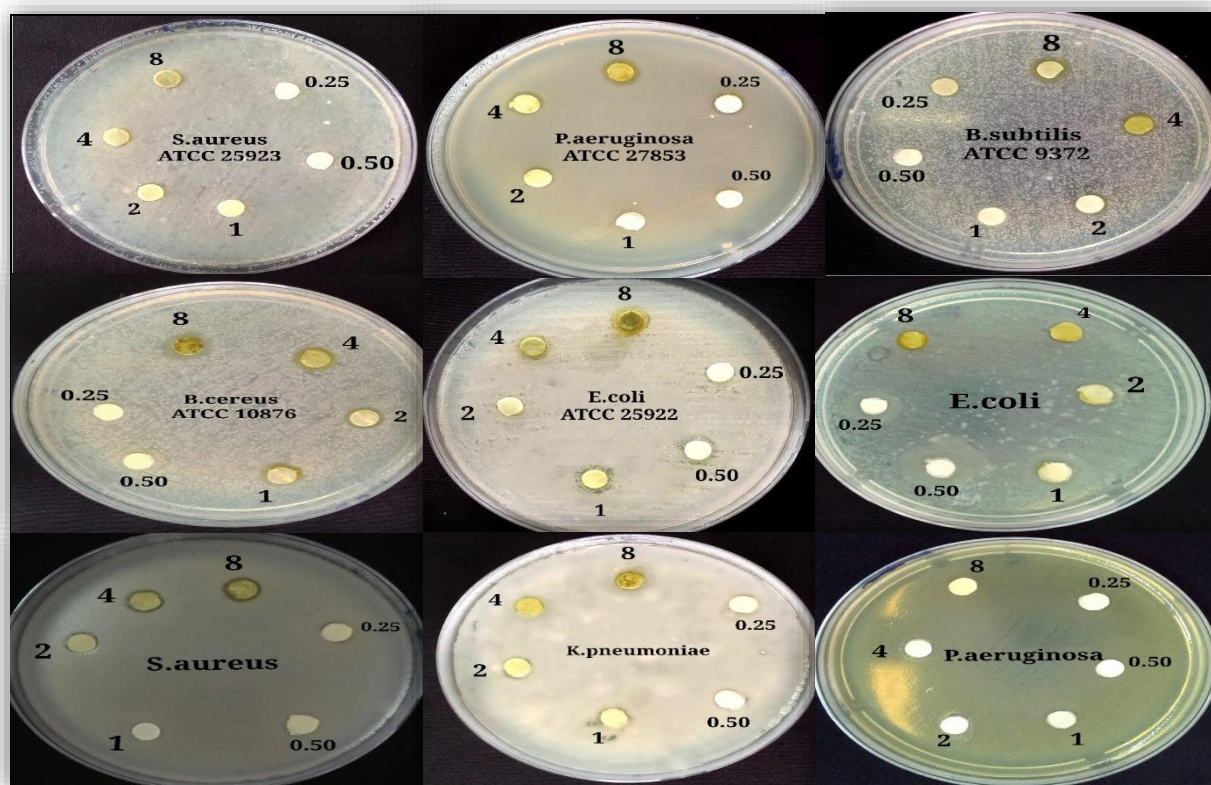


Figure 40: Effet de l'ECHL sur la croissance des bactéries testées

L'extrait chloroformique a montré une activité antibactérienne modérée, ce qui peut être attribué à sa polarité intermédiaire, permettant l'extraction de composés bioactifs d'efficacité moindre par rapport aux solvants plus polaires tels que le méthanol et l'acétone.

Ces résultats sont en accord avec l'étude de **Karunathilaka et al. (2016)**, qui a rapporté que l'extrait chloroformique d'*Acronychia pedunculata* présente une activité antibactérienne variable selon la partie de la plante et la souche bactérienne testée.

L'activité était particulièrement marquée contre les bactéries Gram positives, notamment *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*, avec des zones d'inhibition notables observées dans certaines parties de la plante telles que les fleurs, les graines et les feuilles.

Par ailleurs, les résultats ont montré que l'extrait chloroformique des fleurs était parmi les plus actifs contre *S. aureus*, tandis qu'aucune activité n'a été observée contre les bactéries Gram négatives telles que *Escherichia coli*.

IV-5-5- Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait acétonique

L'activité antibactérienne de l'extrait acétonique de *Lotus corniculatus* L. a été évaluée sur des souches bactériennes de référence (ATCC) ainsi que sur des isolats cliniques. Les résultats obtenus sont présentés ci-dessous.

Tableau 34 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) de l'ACT enregistré avec les bactéries testées.

Les souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition en mm					
	Concentrations de l'extrait Acétonique					
	8 mg/ml	4 mg/ml	2 mg/ml	1 mg/ml	0,5 mg/ml	0,25 mg/ml
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	16,5 ± 1,5	14,53 ± 0,80	11,5 ± 0,5	10,5 ± 0,5	7,5 ± 0,5	(6mm)NA
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	15 ± 0	9,2 ± 0,34	8,3 ± 0,26	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>B.subtilis</i> ATCC 9372	10,26 ± 0,46	9,26± 0,46	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>B. cereus</i> ATCC 10876	11,43 ± 0,51	9,8 ± 1,05	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>E.coli</i> ATCC 25922	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>E.coli</i> clinique	8,83 ± 0,76	6,83± 0,37	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>S. aureus</i> clinique	10,83± 1,04	9,33± 0,57	8,63 ± 0,55	6,83 ± 0,28	6,16± 0,28	(6mm)NA
<i>K.pneumonea</i> clinique	14,66 ± 1,52	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>P. aeruginosa</i> clinique	8,83 ± 0,28	8,83± 0,32	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA

PARTIE EXPERIMENTALE
CHAPITRE : Résultats et discussion

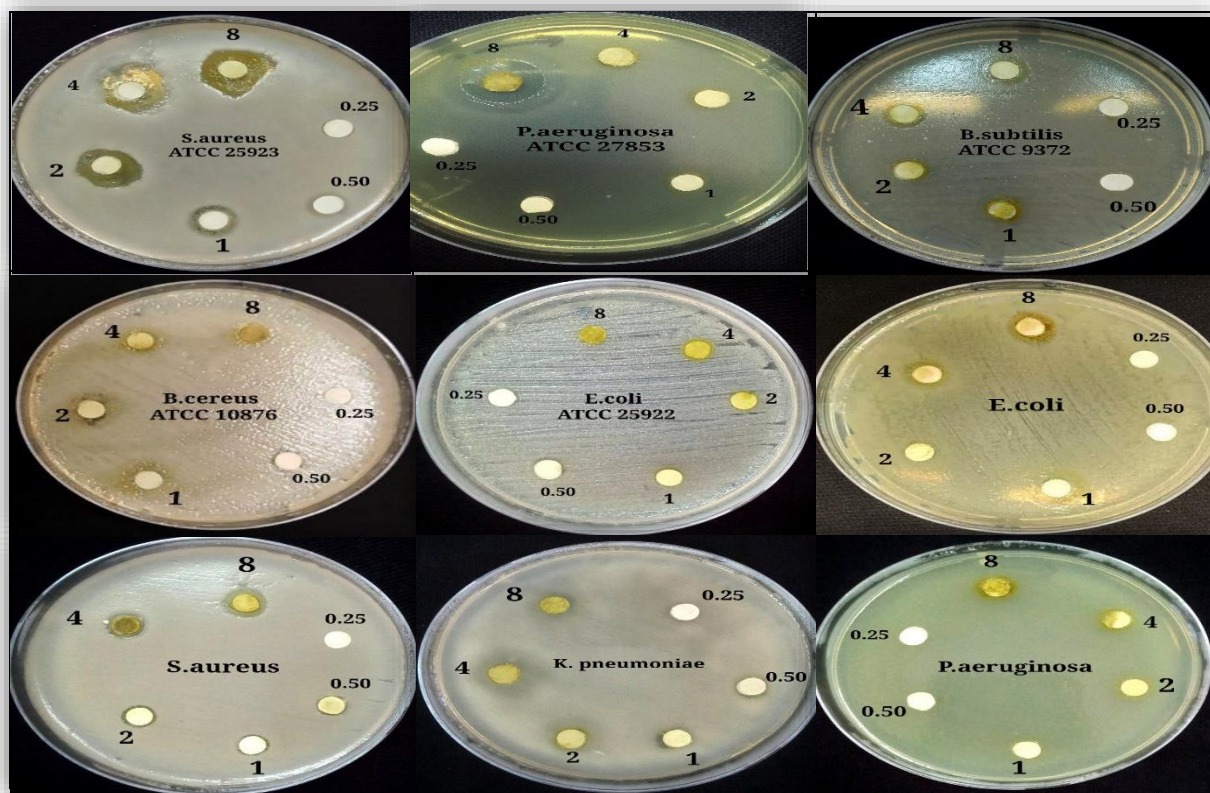


Figure 41: Effet de l'EACT sur la croissance des bactéries testées

Les résultats de notre étude ont montré que l'extrait acétonique présente une activité antibactérienne importante, avec des zones d'inhibition atteignant environ 15–16 mm contre *Staphylococcus aureus*, ainsi qu'une activité notable contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella* ATCC., en plus d'autres souches telles que *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus*. Il a également été observé que cette activité reste maintenue même à des concentrations moyennes et faibles, ce qui indique que les composés extraits sont efficaces et capables d'inhiber la croissance bactérienne aussi bien chez les bactéries Gram positives que Gram négatives.

Cet effet peut être attribué à la capacité de l'acétone à extraire des composés bioactifs tels que les phénols, les flavonoïdes et les terpènes, lesquels peuvent interagir avec la paroi cellulaire et la membrane bactérienne, entraînant une altération de leur intégrité et une inhibition de la croissance microbienne.

De manière générale, ces résultats sont en accord avec les travaux antérieurs qui ont montré que les bactéries Gram positives sont généralement plus sensibles aux extraits végétaux que les bactéries Gram négatives, en raison des différences structurelles de leur paroi cellulaire (Mizielinska et al., 2017).

Cependant, nos résultats indiquent également une activité relativement plus étendue comparée à certaines études antérieures, avec un effet observé sur des bactéries Gram négatives

telles que *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella* ATCC., ce qui pourrait s'expliquer par la nature de la plante étudiée ou les conditions d'extraction utilisées, contribuant ainsi à une meilleure efficacité biologique.

IV-5-6- Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait n-hexanique

L'activité antibactérienne de l'extrait n-hexanique de *Lotus corniculatus* L. a été évaluée sur des souches bactériennes de référence (ATCC) ainsi que sur des isolats cliniques. Les résultats obtenus sont présentés ci-dessous.

Tableau 35 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) de l'n-HEX enregistré avec les bactéries testées.

Les souches bactériennes	Diamètres de la zone d'inhibition en mm					
	Concentrations de l'extrait n-hexanique					
	8 mg/ml	4 mg/ml	2 mg/ml	1 mg/ml	0,5 mg/ml	0,25 mg/ml
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	11 ± 0	8,66±0,57	8±0	6mm (NA)	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>B.subtilis</i> ATCC 9372	10,66±0,57	10,33±0,57	9,66±0,57	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>B. cereus</i> ATCC 10876	11,66±1,15	10,66±0,57	9±0	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>E.coli</i> ATCC 25922	12,33±0,57	11,33±0,57	9,33±0,57	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>E.coli</i> clinique	9,83± 0,28	8,33± 0,57	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>S. aureus</i> clinique	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>K.pneumoniae</i> clinique	8,33±0,57	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA
<i>P. aeruginosa</i> clinique	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA	(6mm)NA

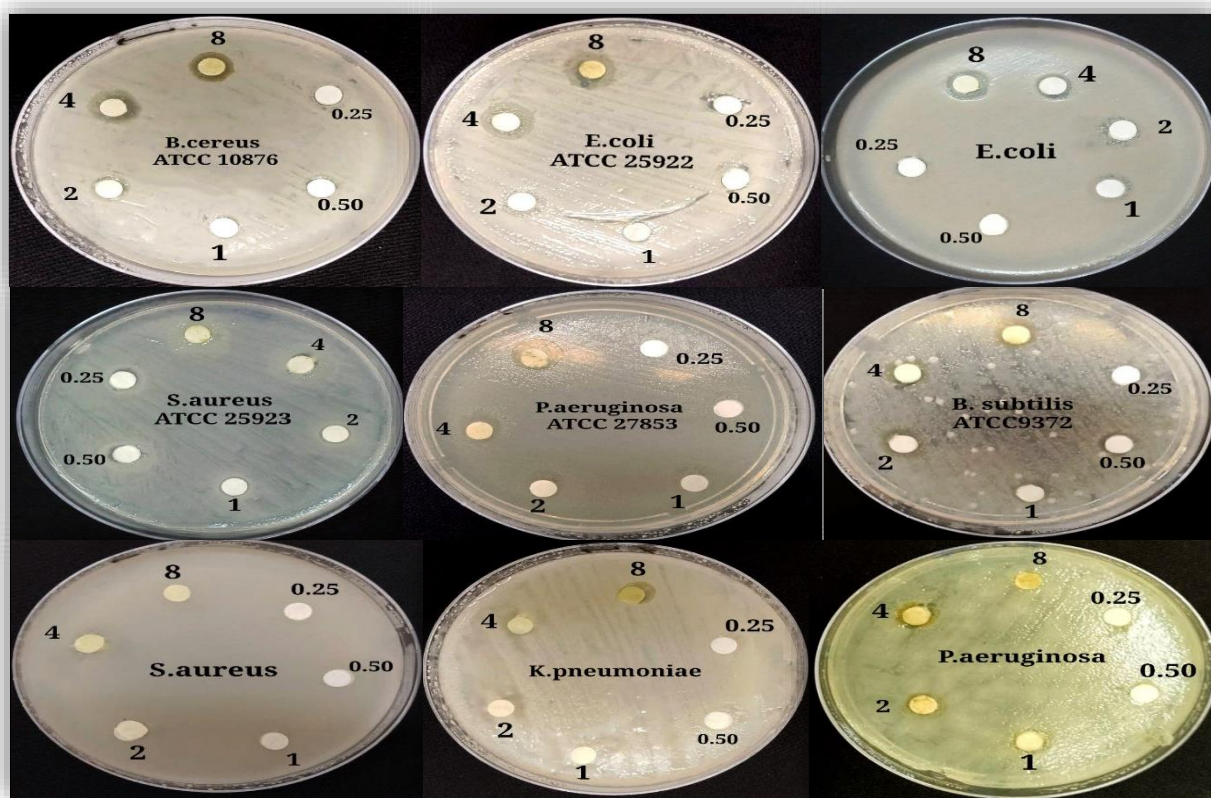


Figure 42: Effet de l'En-HEX sur la croissance des bactéries testées

Nos résultats montrent que l'extrait hexanique a présenté une activité antibactérienne modérée à intéressante, avec les plus grands diamètres d'inhibition observés contre les souches de référence *Escherichia coli* ATCC 25923 et *Bacillus cereus* ATCC 10876 (11–12 mm) aux concentrations les plus élevées. Une activité moyenne a également été observée contre *Pseudomonas aeruginosa* 27853 et *Bacillus subtilis* ATCC 9372, tandis que les souches cliniques se sont révélées moins sensibles. Par ailleurs, l'activité antibactérienne diminuait progressivement avec la réduction de la concentration, ce qui met en évidence un effet dépendant de la dose.

Cette activité pourrait être attribuée à la capacité de l'hexane à extraire des composés apolaires tels que les terpènes, les huiles essentielles et certains composés phénoliques peu polaires, reconnus pour leurs propriétés antimicrobiennes et leur capacité à perturber l'intégrité des membranes cellulaires bactériennes.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Abraham et al.**, qui ont montré que l'extrait hexanique de *Nigella sativa* exerçait une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, avec une augmentation de l'efficacité inhibitrice à mesure que la concentration augmentait. Les auteurs ont attribué cette activité à la présence de composés bioactifs tels que les phénols, les tanins et les saponines.

De la même manière, notre extrait hexanique a montré une activité notable, notamment contre *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Bacillus cereus* ATCC 9372, ce qui confirme le potentiel des extraits hexaniques comme source de composés naturels à activité antibactérienne.

Les résultats de cette étude mettent en évidence une variation notable de l'activité antibactérienne entre les différents extraits de *Lotus corniculatus*, principalement influencée par la nature du solvant d'extraction et la concentration utilisée. De manière générale, les plus fortes zones d'inhibition ont été observées à la concentration la plus élevée (8 mg/mL), ce qui confirme l'existence d'un effet dose-dépendant.

Dans l'ensemble, les extraits organiques, notamment acétonique et méthanolique, ont présenté une activité antibactérienne plus importante que l'extrait aqueux. Une activité significative a été observée contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* ATCC 10876, ainsi qu'une activité variable contre certaines bactéries Gram négatives. En revanche, les autres extraits ont montré une efficacité globalement plus faible.

Cette différence d'activité peut être expliquée par la capacité des solvants organiques à extraire un large éventail de composés bioactifs tels que les composés phénoliques, les flavonoïdes et les terpènes, connus pour leur rôle dans la perturbation de la perméabilité des membranes bactériennes.

Par ailleurs, les bactéries Gram positives se sont révélées plus sensibles que les bactéries Gram négatives, ce qui s'explique par la structure de leur paroi cellulaire : l'absence de membrane externe chez les Gram⁺ facilite la pénétration des composés actifs, tandis que la membrane externe riche en lipopolysaccharides chez les Gram⁻ constitue une barrière de protection.

Enfin, bien que les antibiotiques de référence présentent une activité nettement supérieure, ces résultats suggèrent que les extraits végétaux, en particulier les extraits organiques, possèdent un potentiel prometteur pouvant être exploité comme source de composés antibactériens naturels.

Conclusion générale

Conclusion générale

Les plantes médicinales constituent une source importante de composés bioactifs naturels et suscitent un intérêt croissant dans les domaines pharmaceutique et médical en raison de leur richesse en métabolites secondaires dotés de nombreuses propriétés biologiques. Dans ce contexte, *Lotus corniculatus* L. apparaît comme une espèce prometteuse présentant un potentiel thérapeutique intéressant.

La présente étude avait pour objectif d'évaluer la toxicité ainsi que l'effet protecteur de *Lotus corniculatus* chez le rat, tout en étudiant ses activités antioxydante et antibactérienne.

Les résultats obtenus ont mis en évidence une activité antioxydante *in vitro* notable à travers les quatre tests réalisés (DPPH, ABTS, FRAP et CUPRAC), traduisant la capacité des extraits à neutraliser les radicaux libres. Par ailleurs, l'étude de toxicité subaiguë n'a révélé aucun effet indésirable significatif aux doses testées (100 à 400 mg/kg), ce qui a été confirmé par les analyses biochimiques et hématologiques.

Concernant le modèle d'intoxication au plomb, les résultats ont montré une atteinte hépatique importante chez les rats intoxiqués, caractérisée notamment par une augmentation des transaminases TGO et TGP. L'administration des extraits de *Lotus corniculatus* a permis une amélioration notable de ces paramètres, suggérant un effet hépatoprotecteur et une réduction des dommages induits par le plomb.

Sur le plan antibactérien, la plante a présenté une activité variable vis-à-vis des souches bactériennes testées, incluant des souches de référence (ATCC) et des isolats cliniques.

L'extrait acétonique s'est révélé le plus actif parmi les extraits étudiés, notamment contre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 16,5 mm. Les bactéries Gram positif ont montré une sensibilité plus importante que les bactéries Gram négatif, probablement en raison des différences structurales de leurs parois cellulaires. De même, l'extrait méthanolique a présenté une activité sur *Staphylococcus aureus* clinique 14 mm.. Cette activité pourrait être liée à la présence de composés phénoliques et terpéniques reconnus pour leurs propriétés antimicrobiennes.

Dans l'ensemble, cette étude met en évidence le potentiel de *Lotus corniculatus* comme source naturelle de molécules bioactives pouvant présenter un intérêt thérapeutique et

pharmaceutique, notamment dans le contexte de la résistance croissante aux antibiotiques. Toutefois, ces résultats demeurent préliminaires et nécessitent des investigations complémentaires afin d'isoler et d'identifier les composés responsables de ces activités biologiques, de mieux comprendre leurs mécanismes d'action et d'évaluer leur efficacité ainsi que leur innocuité dans des études plus approfondies, en vue d'une éventuelle valorisation pharmacologique.

Références bibliographiques

A

- Abdel-Alim, M. E., Serag, M. S., Moussa, H. R., Elgendy, M. A., Mohesien, M. T., & Salim, N. S.** (2023). *Phytochemical screening and antioxidant potential of Lotus corniculatus and Amaranthus viridis*. *Egyptian Journal of Botany*, 63(2), 665–681.
- Ahmed, E., Arshad, M., Khan, M. Z., Amjad, M. S., Sadaf, H. M., Riaz, I., Sabir, S., Ahmad, N., & Sabaoon.** (2017). *Secondary metabolites and their multidimensional prospective in plant life*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(2), 205–214.
- Allan, G. J., Francisco-Ortega, J., Santos-Guerra, A., Boerner, E., & Zimmer, E. A.** (2004). Molecular phylogenetic evidence for the geographic origin and classification of Canary Island Lotus (Fabaceae: Loteae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 32(1), 123–138.
- Al-Mamun, M., Yamaki, K., Masumizu, T., Nakai, Y., & Saito, K.** (2007). Superoxide anion radical scavenging activities of herbs and pastures in Northern Japan determined using electron spin resonance spectrometry. *International Journal of Biological Sciences*, 3(6), 349–355. <https://doi.org/10.7150/ijbs.3.349>
- Ansah, C., Adinortey, M. B., Asiedu-Larbi, J., Aboagye, B., Asante, D. B., & Nyarko, A. K.** (2016). In vivo assessment of the toxic potential of *Dissotis rotundifolia* whole plant extract in Sprague–Dawley rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(5), 418–424.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M.** (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Azzoune, F., & Mebrek, Y.** (2019). *Screening phytochimique et dosage des polyphénols totaux des extraits de l'espèce Lotus corniculatus (Fabaceae)* [Mémoire de fin d'études, Université Blida 1].

B

- Baali, N., Mezrag, A., Bouheroum, M., Benayache, F., Benayache, S., & Souad, A.** (2020). Anti-inflammatory and antioxidant effects of *Lotus corniculatus* on paracetamol-induced hepatitis in rats. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry*, 19(2), 128–139.
- Baillie, J. K., Bates, M. G. D., Thompson, A. A. R., Waring, W. S., Partridge, R. W., Schnopp, M. F., Simpson, A., Gulliver-Sloan, F., Maxwell, S. R. J., & Webb, D. J.** (2007). Endogenous urate production augments plasma antioxidant capacity in healthy lowland subjects exposed to high altitude. *Chest*, 131(5), 1473–1478. <https://doi.org/10.1378/chest.06-2235>
- Bartosz, G.** (2003). Non-enzymatic antioxidant capacity of human plasma. *Advances in Clinical Chemistry*, 37, 219–292.
- Bellakhdar, J.** (1997). *La pharmacopée marocaine traditionnelle*. Ibis Press.
- Benayache, F.** (2013). *Étude phytochimique et biologique de l'espèce Thymus numidicus Poirlet* [Thèse de doctorat, Université Constantine 1].
- Bensakhria, A.** (2018). *Les plantes toxiques*. John Moores University Liverpool.
- Benzie, I. F., & Strain, J. J.** (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>

Bialecka-Florjańczyk, E., Fabiszewska, A., & Zieniuk, B. (2018). Phenolic acids derivatives: Biotechnological methods of synthesis and bioactivity. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 3(2).

Botascopia. (s.d.). *Fiche Lotus corniculatus.*
https://botascopia.inria.fr/pdfs/Fiche_Lotus%20corniculatus_Botascopia.pdf

Bouhadjrak. (2011). *Étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge* [Mémoire de magister, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou].

Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (3e éd.). Technique et Documentation.

C

Chakroun, R. (2016). *Effets de l'exposition simultanée à l'arsenic et à trois métaux lourds toxiques.* *Bulletin de veille scientifique*, 28.

Chebaibi, A., Marouf, Z., Rhazi-Filali, F., Fahim, M., & Ed-Dra, A. (2016). Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. *Phytothérapie*, 14, 355–362.

Christine Gersch, Pali, S. P., Kim, K. M., Angerhofer, A., Johnson, R. J., & Henderson, G. N. (2008). Inactivation of nitric oxide by uric acid. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, 27(8), 967–978. <https://doi.org/10.1080/15257770802257952>

Christophe, M. (2020). *Les métaux lourds ou éléments traces métalliques.* Connectés Notre Planète.

D

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313–7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>

Decock, C. (2018). *Le foie et la phytothérapie* [Thèse de doctorat, Université de Lille].

Dhingra, D., Joshi, P., Gupta, R., & Srivastava, S. (2011). Hepatoprotective activity of medicinal plants: A review. *International Research Journal of Pharmacy*, 2(5), 67–72.

Dietrich, M. (1998). *Les métaux lourds et leurs effets sur la santé.* École Polytechnique de Zurich.

E

Elshafie, H. S., Camele, I., & Mohamed, A. A. (2023). A comprehensive review on the biological, agricultural and pharmaceutical properties of secondary metabolites based-plant origin. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3266.

F

Frank, C. L. (1992). *Toxicologie.* Masson.

Fraga-Corral, M., et al. (2021). By-products of agri-food industry as tannin-rich sources. *Foods*, 10(1), 137.

G

Gadés, A. M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Gore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *L'Actualité Chimique*, novembre–décembre, 91–96.

Giannini, E. G., Testa, R., & Savarino, V. (2005). Liver enzyme alteration: A guide for clinicians. *CMAJ*, 172(3), 367–379.

Ginovyan, M., Petrosyan, M., & Trchounian, A. (2017). Antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants from Armenian flora. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17, 50.

Gonfa, Y. H., Bachheti, A., Semwal, P., et al. (2024). Hepatoprotective activity of medicinal plants, their phytochemistry, and safety concerns: A systematic review. *Zeitschrift für Naturforschung C*.

Grégoire, P., Fardeau, M. L., Guasco, S., Bouanane, A., Michotey, V., Bonin, P., Dubourg, K., Cambar, J., & Ollivier, B. (2009). *Les micro-organismes de l'extrême*. Press Thermalisme et Climatologie, 146, 49–61.

H

Haouas, Z., et al. (2014). Hepatotoxic effects of lead acetate in rats. *Journal of Cytology & Histology*, 5(5).

Hamid, A., Aiyelaagbe, O. O., Usman, L. A., Ameen, O. M., & Lawal, A. (2010). Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 4(8), 142–151.

Harborne, J. B., & Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55(6), 481–504.

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free radicals in biology and medicine* (5th ed.). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001>

Halliwell, B., & Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: How should you do it and what do the results mean? *British Journal of Pharmacology*, 142, 231–255.

Harman, D. (2000). Aging: Overview. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 928, 1–21.

Hossain, T. J. (2024). *Methods for screening and evaluation of antimicrobial activity: A review of protocols, advantages, and limitations*.

Heywood, V. H. (1996). *Flowering plants of the world* (3rd ed.). Oxford University Press.

I

İrkin, L. C. (2025). *Oxidative stress and free radicals: The silent threat to human health*. IKSAD Publishing House. <https://doi.org/10.5281/zenodo.15576011>

J

Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B. B., & Beeregowda, K. N. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology*, 7(2), 60–72. <https://doi.org/10.2478/intox-2014-0009>

Järup, L. (2003). Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin*, 68(1), 167–182. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldg032>

Jadot, G. (1994). *Antioxydants et vieillissement*. John Libbey Eurotext.

Johnson, R. J., Segal, M. S., Srinivas, T., Ejaz, A., Mu, W., Roncal, C., Sánchez-Lozada, L. G., & Gersch, M. (2009). Essential hypertension, progressive renal disease, and uric acid: A pathogenic link. *Journal of the American Society of Nephrology*, 20(5), 1043–1050.

Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., & Stevens, P. (2002). *Botanique systématique : Une perspective phylogénétique*. De Boeck Université.

Julien, F., Lac, G., & Filaire, E. (2006). Oxidative stress: Relationship with exercise and training. *Sports Medicine*, 36(4), 327–358.

K

Karp, G. (2010). *Biologie cellulaire et moléculaire : Concepts and experiments*. De Boeck Supérieur.

Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments anti-oxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20, 165–177.

Kryscio, R. J., Abner, E. L., Caban-Holt, A., Lovell, M., Goodman, P., Darke, A. K., Yee, M., Crowley, J., & Schmitt, F. A. (2017). Association of antioxidant supplements use and dementia in the prevention of Alzheimer's disease by vitamin E and selenium trial (PREADViSE). *JAMA Neurology*, 74, 567–573.

L

Lamari, N., & Meriem, A. (2016). *Screening phytochimique et activité anti-inflammatoire de Ziziphus lotus*.

Larrey, D. (2005). *Service d'hépto-gastro-entérologie et transplantation*. Hôpital Saint Eloi.

Larson, A. M., Polson, J., & Fontana, R. J. (2005). Acetaminophen-induced acute liver failure: Results of a US multicenter prospective study. *Hepatology*, 42, 1364–1372.

Latif, R., & Nawaz, T. (2025). *Medicinal plants and human health: A comprehensive review of bioactive compounds, therapeutic effects, and applications*.

Léger, J. M., Alberola, S., & Carpy, A. (1977). Structure cristalline du complexe 1:1 sulfacétamide–caféine.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118–126.

Lopez, L. M., Martin-Cordero, C., Iglesias-Guerra, F., & González, M. J. A. (1998). An isoflavone glucoside from *Retama sphaerocarpa* Boissier. *Phytochemistry*, 48(2), 401–402.

Lu, S. C. (2013). Glutathione synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1830(5), 3143–3153.

M

Mezrag, A. (2019). *L'étude phytochimique et biologique des métabolites secondaires de deux espèces de la famille des Fabaceae : Ononis angustissima Lam. var et Lotus corniculatus* [Thèse de doctorat, Université Frères Mentouri Constantine 1].

Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine/Sciences*, 27(4), 405–412.

Momzikoff, A., Santus, R., & Giraud, M. (1982). L'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) dans les eaux de mer. Dans *Indices biochimiques et milieux marins* (pp. 87–96).

Moncada, S., Palmer, R. M. J., & Higgs, E. A. (1991). Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological Reviews*, 43(2), 109–142.

Morale, S. (2011). *Étude phytochimique et évaluation biologique de Derris ferruginea Benth (Fabaceae)* [Thèse de doctorat, Université d'Angers].

N

Nibir, Y. M., Sumit, A. F., Akhand, A. A., Ahsan, N., & Hossain, M. S. (2017). Comparative assessment of total polyphenols, antioxidant and antimicrobial activity of different tea varieties of Bangladesh. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7, 352–357.

O

Otukwude, F. O., et al. (2025). *Chemistry of flavonoids and their therapeutic effects: A review*.

Ozer, J., Ratner, M., Shaw, M., Bailey, W., & Schomaker, S. (2008). The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology*, 245(3), 194–205.

Özyürek, M., Güçlü, K., Tutem, E., Bektasoglu, B., Ercag, E., Celik, S. E., Karaman, S., & Apak, R. (2011). A comprehensive review of CUPRAC methodology. *Analytical Methods*, 3, 2439–2453.

P

Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47.

Pilly, E. (1975). *Maladies infectieuses* (4e éd.). Crouan et Roques.

Pizzi, A. (2021). Tannins medical/pharmacological applications. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 22, 100481.

Pompella, A., Visvikis, A., Paolicchi, A., De Tata, V., & Casini, A. F. (2003). The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. *Biochemical Pharmacology*, 66, 1499–1503.
[https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(03\)00504-5](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(03)00504-5)

Q

Quezel, P., & Santa, S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales* (Vols. 1–2). CNRS.

R

Rao, P. S., Kalva, S., Yerramilli, A., & Mamidi, S. (2011). Free radicals and tissue damage: Role of antioxidants. *Free Radicals and Antioxidants*, 1(4), 2–7.

Rice-Evans, C. A., et al. (1995). Relative antioxidant activities of flavonoids. *Free Radical Research*, 22(4), 375–383.

Rosenbaum, J., Mallat, A., & Mavier, P. (1994). La fibrose hépatique, une cytopathie. *Médecine/Sciences*, 10(12), 1245–1252.

S

Safe, S., et al. (2021). Flavonoids: Structure–function and mechanisms of action. *Toxicology Research*, 37(2), 147–162.

Salman, S. M., et al. (2015). Preliminary phytochemical and antimicrobial activities of *Lotus corniculatus*.

Shimizu, H., Kiyohara, Y., Kato, I., Kitazono, T., Tanizaki, Y., Kubo, M., & Iida, M. (2004). Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population: The Hisayama study. *Stroke*, 35(9), 2072–2077.

Siddeeg, A., AlKehayez, N. M., Abu-Hiamed, H. A., Al-Sanea, E. A., & Al-Farga, A. M. (s.d.). Mode of action and determination of antioxidant activity in dietary sources: An overview. *Saudi Journal of Biological Sciences*.

Sorg, O. (2004). Oxidative stress: A theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies*, 327, 649–662. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2004.05.007>

Spichiger, R. E., Savolainen, V., Figeat, M., & Jeanmonod, D. (2004). *Botanique systématique des plantes à fleurs : Une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérées et tropicales* (3e éd.). Presses Polytechniques et Universitaires Romandes.

Stief, T. W. (2000). The blood fibrinolysis deep-sea analogy: A hypothesis on the cell signals oxygen. *Thrombosis Research*, 99, 1–22.

T

Tamini, L. D. (1990). *Étude de l'effet hépatoprotecteur du Cocculus pendulus Diels (Menispermaceae)* [Thèse de doctorat vétérinaire, Université Cheikh Anta Diop].

Tela Botanica. (s.d.). *Lotus corniculatus L.* – Synthèse. <https://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-126479-synthese>

Teoh, E. S. (2016). Secondary metabolites of plants. In *Medicinal Orchids of Asia* (pp. 123–145). Springer.

Therrien, R. (2009). *Unité hospitalière de recherche et d'enseignement VIH/Sida*. Tibotec, Centre hospitalier de l'Université de Montréal.

Tiwari, R., & Rana, C. S. (2015). Plant secondary metabolites: A review. *International Journal of Engineering Research and General Science*, 3(5), 661–670.

V

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Biocell*, 39, 44–84.

Vasconcelos, S. M. L., Goulart, M. O. F., Moura, J. B. F., Manfredini, V., Benfato, M., & Kubota, L. T. (2007). Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: Principais métodos analíticos para sua determinação. *Química Nova*, 30(5), 1323–1338.

W

Wojciechowski, M. F., Lavin, M., & Sanderson, M. J. (2004). Phylogeny of legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid matK gene resolves many well-supported subclades within the family. *American Journal of Botany*, 91(11), 1846–1862.

Y

Yang, C., et al. (2025). Catalytic mechanism of pterocarpan reductase in *Lotus corniculatus*.

Yoshikawa, T., Yamamoto, Y., Naito, Y., & Toyokuni, S. (2000). *Free radical in chemistry, biology and medicine*. Oica International.

Z

Zoghlami, N. N., et al. (2020). Phytochemical profile and biological activities of *Lotus* species: A review. *Journal of Herbal Medicine*, 22, 100345.