

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Université « Dr. Tahar Moulay » Saïda**

**FACULTE DES SCIENCES**



**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**

***Laboratoire de Bio-Toxicologie Pharmacognosie  
et valorisation des plantes médicinales***

**Mémoire Elaboré en vue de l'obtention du diplôme de Master**

**Spécialité : Biochimie**

**Présentée par**

**Meme : YAHY SARA  
Melle : SEHIBI SOUAD**

**Sur le thème intitulé**

**Evaluation de l'effet thérapeutique de l'extrait aqueux d'*Ammodaucus leucotrichus* chez rats wistar préalablement intoxiquées par l'aluminium . Etude biochimique, hématologique**

**Soutenu le ...25/06/2019.....**

**Devant la commission du jury, composée par :**

**Pr. Kahloula .k**

**Professeur**

**U T. M. de Saïda**

**Président**

**Dr Halla . N**

**Maître assistant -A-**

**U T. M. de Saïda**

**Examineur**

**Dr ADLI .D E H**

**Maître conférences -A-**

**U T. M. de Saïda**

**Encadreur**

*Année Universitaire :2019/2020*

## *Remerciements*

*Avant toute chose, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience. Au thème de ce travail, il nous est agréable de remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.*

*Nous tenons tout d'abord à remercier Pr KAHLLOULA. K qui nous honore en acceptant d'être président de ce jury et qu'il trouve ici l'assurance de notre profonde gratitude.*

*Mr. Halla. N. qui nous fait l'honneur d'examiner ce travail qu'elle trouve ici notre profond respect. Nos remerciements vont particulièrement à notre encadreur ADLI DjaleEddine Houari pour avoir accepté la charge d'être rapporteur de notre mémoire, pour avoir consacré du temps pour la correction de ce travail, pour ces conseils pertinents, qualités humaines.*

*Nous remercions vivement M<sup>elle</sup>. ARABI W et M<sup>eme</sup> fesraoui et Mr BRAHIMI Mostapha , Mr Bakadour et Mr FIDAH. H qui ont aidé au sein de l'animalerie et pour leurs conseils précieux.*

*A nos famille et nos amis qui par leurs prières et leurs encouragements ,on a pu surmonter tous les obstacles.*

*Nous tenons à remercier toute personne qui a participé de près ou de loin à l'exécution de ce modeste travail.*



# ***Dédicaces***

Avec l'aide de Dieu tout puissant, j'ai pu achever ce travail que je  
*dédie*

***A mes parents :*** Avec tout mon amour pour ton soutien et tes encouragements. J'espère rester à la hauteur de tes espoirs. Que Dieu te protège et t'accorde santé et longue vie .

***A Mes Soeurs :*** Asmaa , Nacira et Alai, Wahiba et

***A Mes Frérs :*** Nour eldine ,Boualam ,Larbi et Mohamed , Karim *Je vous remercie Avec toute monaffection. Vous êtes toujours là pour moi*

***A MES Petite enfant :*** walid et khadidja

*A toute la famille et mes amis*

*A mes encadreurs*

## Tables des matières

Remerciement	
Dédicace	
Liste des Figure	
Introduction générale.....	1

### *Partie Bibliographie*

#### ***Chapitre I : Propriété d'Aluminium***

I. Aluminium .....	5
I.1. Description de l'aluminium .....	5
I.2. Propriétés physico-chimique de l'aluminium .....	5
I.3. Sources d'exposition de l'aluminium .....	9
I.3.1. Généralités .....	9
I.3.2. Dans l'alimentation .....	9
I.3.3. Apports par les additifs alimentaires (utilisés dans les aliments industriels) .....	9
I.3.4. L'eau du robinet .....	10
I.3.5. Dans les cosmétiques.....	12
I.3.6. Médicaments.....	12
I.4. Toxicocinetique .....	13
I.4.1. Chez l'animal .....	13
I.4.1.1. Absorption .....	13
I.4.1.2. Distribution .....	13
I.4.1.3. Élimination.....	14
I.4.2. Chez l'homme .....	14
I.4.2.1. Absorption.....	14
I.4.2.2. Distribution .....	14
I.4.2.3.Élimination.....	15
I.4.2.4. Toxicité de l'Aluminium .....	16
I.4.2.5. Génotoxicité de l'Aluminium .....	16
I.4.2.6. Cancérogénicité de l'Aluminium .....	16
I.4.2.7. Données épidémiologiques .....	17
I.5. Mode d'action des effets toxiques de l'aluminium .....	17

I.5.1. Effets neurotoxiques .....	17
I.5.2. Effets immunologiques et allergiques : .....	18
I.5.3.Effets hématologiques .....	19
1.5.4.Effets respiratoires .....	19

## ***Chapitre II : Plante testé : Ammodaucus leucotrichus***

II. <i>Ammodaucus leucotrichus</i> .....	22
II.1. Localisation géographique.....	22
II.2. Place d' <i>Ammodaucus</i> dans la systématique : .....	22
II.2.1. Appellation vernaculaire de la plante .....	23
II.3. Description botanique d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> .....	23
II.4. Utilisation traditionnelle et propriétés pharmaceutiques .....	23

## ***Chapitre III : Les extraits des plantes***

III.1. Définition d'une plante médicinale .....	26
III.2.La Phytothérapie .....	26
III.2.2- Définition des principes actifs .....	26
III-2.3 Méthodes d'Extraction .....	27
III.3. Les huiles essentielles .....	27
III.3.1. Définition .....	29
III.3.2. Répartition .....	29
III.3.3 Proposition thérapeutique a` base d'huiles essentielles : .....	30
III.4. Structure des plantes et localisation des HEs(huilles essentielles ) dans la plante .....	31
III.4.1 Propriétés principales des composés naturels .....	31

## ***Partie Pratique***

### ***Matériels et Méthode***

IV. Matériels biologiques .....	34
IV.1 Matériel végétal.....	34
IV.1.1 L'extraction .....	34
IV.2.1. Macération dans l'eau distille.....	34
IV.2.2. Macération dans méthanol.....	33

IV.3. Préparation des extraits végétaux.....	33
IV.4. Tests phytochimiques (Screening phytochimique ) .....	33
IV.4.1. Les alcaloïdes .....	35
IV.4.2. Les substances polyphénoliques .....	35
IV.4.2.1 Tanins .....	35
IV.4.2.2 Flavonoïdes .....	36
IV.4.2.3 Anthocyanes .....	36
IV.2.3. Quinones .....	36
IV.2.4. Saponines: Indice de mousse .....	36
IV.2.5. Coumarines : Fluorescence UV .....	36
IV.2.6. Stéroïls et triterpènes : La réaction de Liebermann Buchard .....	36
IV.2.7. Composés réducteurs .....	37
IV.5 Piégeage du radical DPPH' .....	37
IV.6 Etude de la cytotoxicité vis-à-vis des érythrocytes .....	38
IV.6.1 Matériel biologique .....	38
IV.6.2 Préparation d'une solution par dissolution d'un composé solide (protocolo standard pour les solutions suivantes : solutions mères des composés à tester, solution de lavage, solution tampon PBS): .....	38
IV.6.2.1. Préparation des solutions mères des composés à tester .....	38
IV.6.2.2. Préparation de la solution de lavage .....	38
IV.6.2.3. Préparation de la solution tampon PBS: .....	39
IV.6.2.4. Etude de la cytotoxicité des conservateurs vis-à-vis des érythrocytes .....	39
IV.6.2.4.1. Préparation de la suspension érythrocytaire .....	39
IV.6.2.4.2 Evaluation de la toxicité des conservateurs vis à vis des globules rouges .....	39
IV.7 Animaux d'expérimentation .....	39
IV.7.1 Répartition des groupes .....	40
IV.7.2 Evaluation du poids corporel et le poids relatif des organes .....	40
IV.8 Dosage biochimique.....	40
IV.8.1 Dosage de la glycémie.....	40
IV.8.2. Exploration de la fonction rénale.....	40
IV.8.2.1. Dosage de l'urémie .....	40

IV.8.2.2 Dosage de la créatinine .....	41
IV.9 Exploration de la fonction hépatique .....	41
IV.9.1. Dosage des transaminases (TGO-TGP).....	41
IV.9.2 . Dosage de la bilirubine .....	41
IV.10 Détermination des paramètres hématologiques .....	41

## ***Chapitre V : Résultats et interprétation***

V. Résultats et interprétation.....	43
V.1. Principaux composés de l'extrait de la plante .....	43
V. 1.1. Résultats de screening phytochimique .....	43
V.1.2 Les rendements en extraits secs .....	45
V.1.3 Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH pour <i>Ammodaucus leucotrichus</i> Extrait brut .....	47
V.3 Effet de l'aluminium sur le poids corporel et les organes .....	47
V.4 Dosage biochimique :.....	48
V.4.1. Dosage de glycémie .....	48
V.4.2. Fonction rénale .....	48
V.5.3 Exploration de la fonction hépatique .....	49
V.4.4. Bilan lipidique .....	49
V.4.5 Effet du plomb sur les Paramètres hématologiques .....	51
Discussion .....	53
Conclusion Générale .....	59
Référence Bibliographie .....	61
Annexe .....	65

## *Liste Des Figures*

<b>Figure 1 :</b> <i>Ammadaucus Leucotrichus</i> sahara occidental littoral .....	5
<b>Figure 2 :</b> <i>Ammadaucus Leucotrichus</i> Méricarps face commissurale.....	6
<b>Figure 3 :</b> Propriétés chimique de l'aluminium.....	15
<b>Figure 4 :</b> Propriétés physique de l'aluminium .....	22
<b>Figure 5 :</b> Absorption quotidienne et distribution de l'aluminium dans l'organisme humain	23
<b>Figure 6 :</b> Distillation traditionnelle des fleurs de rose .....	28
<b>Figure 7 :</b> Système d'extraction des huiles essentielles par entrainement à la vapeur .....	31
<b>Figure 8 :</b> les parties aériennes d' <i>Ammadacus Leucotrichus</i> .....	34
<b>Figure 9 :</b> Broyage de la plante .....	34
<b>Figure 10 :</b> Préparation des extraits méthanoliques et aqueux .....	45
<b>Figure 11 :</b> Evaporation d'extrait à l'aide d'une évaporateur rotatif .....	46
<b>Figure 12 :</b> Sang fraîchement prélevé sur tube héparine .....	46
<b>Figure 13 :</b> Préparation de la suspension erythrocytaire .....	47
<b>Figure 14 :</b> Incubation du suspension érythrocytaire sous agitation continue .....	49
<b>Figure 15 :</b> : Le dosage de la glycémie chez les jeunes rats témoins , intoxiqués par AL , intoxiqués et traités à l'extrait .....	49

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Les principales propriétés physico-chimique de troisselsinorganiques d'aluminium .	8
<b>Tableau 2 :</b> Analyse phytochimique de l'extrait méthanolique d' <i>Ammadaucus Leucotrichus</i> .	9
<b>Tableau 3 :</b> Analyse phytochimique de l'extrait aqueux d' <i>Ammadaucus Leucotrichus</i> .	44
<b>Tableau 4 :</b> Evaluation des paramètres pondéraux des rats témoins , ALCL3 et traité par l'extrait.	45
<b>Tableau 5 :</b> Effet de l'extrait de la plante <i>A .Leucotrichus</i> sur le taux plasmatiques de la créatinine et l'urée chez les rats intoxiqués par AL et les rats témoins .	48
<b>Tableau 6 :</b> Effet de l'extrait de la plante <i>A .Leucotrichus</i> sur l'activité des enzymes hépatiques et la teneur en bilirubine chez des rats intoxiqués par l'AL comparé aux rats témoins .	49
<b>Tableau 7 :</b> Effet de l'extrait de la plante <i>A . Leucotrichus</i> sur les différents paramètre biochimiques chez des rats intoxiques par AL comparés aux rats témoin .	50
<b>Tableau 8 :</b> La détermination des paramètres hématologiques chez les rats témoins , intoxiques aux ALCL3 ,intoxiques et traités de l'extrait	51

## Liste des abréviations

**GR** : globule rouge

**GB** : globule blanc

**GOD** : glucose oxydase

**POD** : phenol aminophenazone de la peroxydase

**ASAT** : Aspartate Amino Transférase

**ALAT** : AlanineAminoTransférase

**HT** : Hématocite

**HB** : Hémoglobine

**HES** : Huilles essentielles

**HPLC** : High-Performance Liquide Chromatography

**PBS** :phosphate buffered saline

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

## Abstract

The objective of this study is to evaluate, on the one hand, the modifications induced by aluminum according to the different experimental approaches: biochemical and hematological in wistar rats on the other hand, the effectiveness of aqueous extract of the fruits of *Ammodaucus leucotrichus* or not the reason of 100mg / kg in distilled water for a period of 8 days. Extraction of *Ammodaucus leucotrichus* by maceration enabled us to obtain an extract with a yield of 63% for the aqueous extract and 37% for extraction by methanol. The antioxidant activity of methanolic extract made in vitro showed a trapping power of the free radical DPPH with an IC 50 of the order of 26.57 mg / ml. Exposure to aluminum at a concentration of 100mg / kg / body weight of rats for 21 days, showed a decrease in body weight compared to controls. On the other hand, the administration of extract allowed to record a revival of the body weight of the rats compared to the intoxicated rats. In addition, the results of the biochemical (urea, creatinine) and hepatic (TGO, TGP, Buliribine, total cholesterol and triglyceride) and haematological biochemical analyzes show a correction of the values following the administration of extract compared with those of the poisoned animals. . These studies illustrated the importance of *Ammodaucus leucotrichus* in traditional medicine and these therapeutic virtues.

Keywords: Aluminum, Rat, *Ammodaucus leucotrichus*, Kidney, Liver

## ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم ، من ناحية ، التعديلات التي يحدثها الألومنيوم وفقاً للطرق التجريبية المختلفة: الكيمياء الحيوية والدم في فئران ويستار من ناحية أخرى ، فعالية المستخلص المائي لثمار *Ammodaucus leucotrichus* سبب  $100 \text{ mg / kg}$  في الماء المقطر لمدة 8 أيام. مكّنا استخراج *Ammodaucus leucotrichus* بواسطة macération من الحصول على مستخلص ذو عائد 63% للمستخلص المائي و 37% لاستخلاص الميثانول. أظهر نشاط مضادات الأكسدة في المستخلص الميثانولي المصنوع في المختبر قدرة اصطياد DPPH جذرية حرة مع IC 50 من 26.57 ملغم / مل. أظهر التعرض للألمنيوم بتركيز  $100 \text{ mg / kg}$  / وزن الجسم للجرذان لمدة 21 يوماً ، انخفاضاً في وزن الجسم مقارنةً بالضوابط. من ناحية أخرى ، سمحت إدارة المستخلص بتسجيل إحياء لوزن الجسم للجرذان مقارنةً بالجرذان المخمورة. بالإضافة إلى ذلك ، تظهر نتائج التحليلات الكيميائية الحيوية (اليوريا ، الكرياتينين) والكبدية ( TGO ، TGP ، Buliribine ، الكوليسترول الكلي والدهون الثلاثية) والتحليل الكيميائية الحيوية الدموية تصحيحاً للقيم التي تتبع إعطاء المستخلص مقارنةً بالحيوانات السامة. . أوضحت هذه الدراسات أهمية *Ammodaucus leucotrichus* في الطب التقليدي وهذه الفضائل العلاجية.

الكلمات المفتاحية: الألومنيوم ، الجرذ ، *leucotrichus Ammodaucus* ، الكلى ، الكبد

## ***Résumé***

L'objectif de cette étude est d'évaluer d'une part, les modifications induites par l'aluminium selon les différentes approches expérimentales : biochimiques et hématologique chez des rats wistar d'autre part, l'efficacité d'extrait aqueux des fruits d'*Ammodaucus leucotrichus* rétablir ou non les raison de 100mg /kg dans l'eau distillée durant une période de 8 jours. L'extraction d'*Ammodaucus leucotrichus* par macération nous a permis d'obtenir un extrait avec un rendement de 63% pour l'extrait aqueux et 37% pour l'extraction par méthanol . L'activité antioxydant d'extrait methanolique confectionnée in vitro a montré un pouvoir de piégeage du radical libre DPPH avec une IC 50 de l'ordre de 26,57mg/ml. L'exposition au aluminium à une concentration de 100mg/kg/poids corporels des rats pendant 21jours , a permis d'observer une baisse du poids corporels comparé à ceux des témoins . Par ailleurs, l'administration d'extrait a permis d'enregistrer un regain du poids corporels des rats comparé aux rats intoxiqués. De plus, les résultats des dosages biochimiques rénaux (urée, créatinine) et hépatique (TGO, TGP, Buliribine, cholestérol totale et triglycéride) et hématologique montrent une correction des valeurs suite à l'administration d'extrait comparativement a avec ceux des animaux intoxiqués. Ces étude a illustrée l'importance d'*Ammodaucus leucotrichus* dans la médecine traditionnelle et ces vertus thérapeutiques.

**Mots clés :** Aluminium, Rat, *Ammodaucus leucotrichus*, Rein, Foie



# *Introduction Générale*



## **Introduction générale**

L'Aluminium (Al) est le troisième métal le plus abondant dans la croûte terrestre au point que certains chercheurs sur la chimie de ce métal décrivent que l'on vit dans l' « âge de l'Aluminium » (**Exley, 2009 ; Kumar et al., 2016**), cependant ce n'est qu'en 1825 que la forme métallique de cet élément a été isolée pour la première fois (**Becaria, 2002**). L'historique du métal (Al) atteste de son utilisation dans les processus de traitement et de purification des eaux et dans les médicaments; par exemple dans l'antiquité Romaine, les sels d'Al ont été utilisés dans la purification des eaux et dans le moyen âge, combiné à du miel, il était préconisé dans le traitement des ulcères (**Crapper et De Boni, 1980**).

L'Aluminium fut durant longtemps utilisé dans les ustensiles de cuisine et autres objets d'intérieurs mais également dans l'industrie des composants électriques, des bus et bateaux et dans l'aéronautique en raison de sa dureté, sa durabilité et sa résistance à la lumière et à la corrosion (**Carson, 2000**). Il est permis d'utiliser des additifs alimentaires contenant de l'aluminium dans les aliments comme colorants, affermissants, stabilisants, régulateurs de pH, antiagglomérants, agents de poudrage, émulsifiants et substances de support, les sels d'Aluminium peuvent être également retrouvés dans certains produits cosmétiques comme les anti transpirants et en pharmacutique comme étant des adjuvants dans les vaccins.

L'Al ne peut induire ses effets qu'une fois dans l'organisme, la bioaccessibilité orale étant la plus importante, elle est représentée par la fraction soluble d'une substance dans le système gastro-intestinal disponible pour absorption (**Ruby et al., 1999**), élimination ou accumulation, cela dit la bioaccessibilité de l'aluminium est attribuée aux propriétés qu'il présente dans cet organisme. La bioaccumulation de ce métal affecte plusieurs organes et tissus tels le que les os par perturbation de la résorption osseuse causant plusieurs maladies (**Bushinsky et al., 1995 ; Becaria, 2002**), ou comme le sang ou il peut provoquer une anémie microcytaire (**Short et al., 1980; Touam et al., 1983**) ou encore sur le système reproducteur impliquant des infertilités chez des personnes ayant été en contact étroit avec le métal mais l'impact majeur de l'Al est celui perçu sur le système nerveux centrale induisant une neurotoxicité qui peut aller d'une encéphalopathie fortement enregistrés chez les personnes dialysés (**Alfrey, 1993**) jusqu'au développement des maladies neurodégénératives telles que la Maladie d'Alzheimer (MA) (**Shaw et Tomljenovic, 2013**).est omniprésent dans notre écosystème et sa toxicité induit des effets délétères chez différents organismes vivants ; par ailleurs, ces dernières décennies, l'utilisation d'extraits de plantes médicinales est devenue un moyen très efficace dans la lutte et la prévention contre les effets toxiques des métaux.

Par ailleurs, la flore Algérienne avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15 % endémiques, reste très peu explorée sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique.

*Ammodaucus leucotrichus* (Nessoufa) de la famille des Apiacées (anciennement Umbellifères) est utilisée en thérapeutique traditionnelle, L'extraction et l'identification des principes actifs présents dans *Ammodaucus leucotrichus* permettraient d'abord une meilleure connaissance biochimique de cette plante et donneraient une base préliminaire pour l'usage thérapeutique éventuel de ces substances.

A la lumière de ces données bibliographiques, notre étude vise la recherche de l'effet de l'extrait de la plante *Ammodaucus leucotrichus* chez des rats intoxiqués par l'aluminium. A ce titre, nous envisageons d'entreprendre une série d'expériences qui porteront sur :

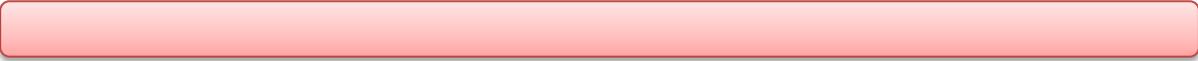
➤ La première série d'expériences porte sur l'extraction, l'évaluation de l'activité antioxydant et la détermination de la composition chimique de l'extrait de la plante par les testes phytochimiques.

➤ La deuxième série, consiste à l'évaluation des effets toxiques de l'aluminium chez les rats wistar selon une approche neurocomportementale ainsi que l'exploration de la fonction rénale et hépatique selon une approche biochimique.

➤ La troisième série d'expériences vise à tester l'effet de l'administration par voie orale de l'extrait de *Ammodaucus leucotrichus* chez les rats intoxiqués par l'aluminium.

*Partie*

*Bibliographique*



**Chapitre I**  
***Propriété Aluminium***



## I. Aluminium

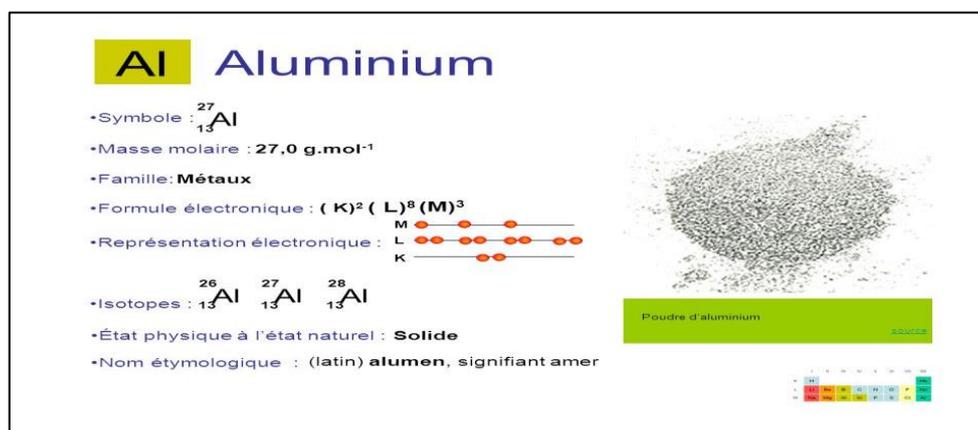
### I.1. Description de l'aluminium

L'aluminium (Al) est un métal blanc, léger, solide, qui a l'éclat de l'argent, de numéro atomique 13 et de masse atomique 26,98154, il figure dans le groupe IIIA (configuration électronique  $1s2s2p63s23p1$ ) du tableau de classification périodique des éléments de Mendeleïev (Breuer, 2000 ; Lanthony, 1960).in (Karbouj ,2008).

### I.2. Propriétés physico-chimique de l'aluminium

Les propriétés physico-chimiques de l'aluminium font de lui un métal mou et pliable. La faible densité de l'aluminium est une propriété tellement importante que c'est elle qui a donné lieu au plus grand nombre d'applications de ce métal (Lanthony, 1960). Est un métal léger (densité 2,7) à température ambiante, soit le tiers environ de celle du fer. Elle diminue encore avec l'élévation de la température passant de 2,41 au point de fusion à 2,29 à 1000°C. Le point d'effusion relativement bas (658,7°C) de l'aluminium est un facteur important qui explique sa grande utilisation en fonderie. Sa conductibilité électrique est élevée, (2/3 de celle du cuivre), il est également un bon conducteur de la chaleur (Lanthony, 1960; Breuer, 2000).in (Karbouj ,2008).

En plus de l'état 0 (Al, métal), l'aluminium présente couramment l'état de valence +III correspondant à la configuration électronique [Ne]. $27Al$  est le seul isotope connu (Lanthony, 1960).Dans la nature l'aluminium existe seulement sous forme de combinaisons très stables avec d'autres composés (en particulier silicates et oxydes). Le métal est très fortement électropositif. L'ion  $Al^{3+}$  est peu polarisable et présente les caractéristiques d'un acide de Lewis « dur ». Il forme en général des liaisons ioniques ou électrostatiques (Yokel, 1994).in (Karbouj ,2008).



Karbouj 2008

Figure 01 : Propriétés chimique de l'aluminium

## Propriétés de l'aluminium

Caractéristiques physiques	
Masse volumique(g/cm <sup>3</sup> )	2.70
Coefficient de dilatation linéique (0 à 100 °C) (10 <sup>-6</sup> /K)	23.6
Module d'élasticité(MPa) (1)	69000
Coefficient de Poisson	0.33
Conductivité thermique (0 à 100 °C) (W/M°C)	État O/H18 : 231
Résistivité électrique à 20 °C (μΩcm)	État O/H18 : 2.8
Capacité thermique massique (0 à 100 °C) (J/kg°C)	945
Limité élastique RP0.2 (MPa)	20
Limite à la rupture Rm (MPa)	60-95
Allongement(%)	25

**Figure 02** : Propriétés physique de l'aluminium

L'Al se trouve sous différentes formes organiques et inorganiques, les sels inorganiques de l'aluminium (à l'exception du silicate) sont généralement solubles à très solubles.

Les sels d'acides organiques de faible poids moléculaire conservent une certaine solubilité, tout comme les sels anioniques (exemple aluminate de potassium et sodium).in **(Tair ,2017)**.

Les hauts poids moléculaires (par exemple les composés organiques) et le pH limitent la solubilité de l'aluminium. Il est généralement insoluble aux pH neutres (6-8), et peut se solubiliser dans des conditions acides (pH<6) ou basiques (pH>8). La présence de complexes ligands favorisent cette solubilité **(Soni et al., 2001)**.

En règle générale, les composés chloro-aluminium sont instables en présence de source d'oxygène telle que l'eau et s'hydrolysent plus ou moins lentement jusqu'à la formation de Al(OH)<sub>3</sub> et ses agrégats aux structures diverses et mal connues, avec une production de chlorure d'hydrogène (HCl). La force motrice thermodynamique de cette réaction est la formation de la liaison Al-O, l'une des plus fortes parmi celles connues. Cette propriété permet, le plus souvent, d'expliquer les différentes réactivités des dérivés aluminiques.in **(Tair, 2017)**.

La réactivité de plusieurs composés chloro-aluminium permet de comprendre leurs potentiels irritants variables

- la forme anhydre  $\text{AlCl}_3$  est un composé très sensible à l'eau avec laquelle il réagit exothermiquement aboutissant à la production de HCl (produit de la réaction entre  $\text{H}_2\text{O}$  et  $\text{AlCl}_3$ ). L'exotherme associée à la production d'HCl rend l' $\text{AlCl}_3$  très corrosif ;
- la forme hexahydrate- $\text{AlCl}_3$  est moins corrosive. En milieu aqueux, ce composé s'ionise en donnant  $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$  et trois ions chlorure. Le cation  $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$  est un acide faible, ce qui le rend corrosif, car en milieu physiologique (pH neutre), il donne une forme stable  $\text{Al}(\text{OH})_3$  en libérant du HCl ;
- les formes chlorohydrates d'aluminium et ses chlorohydrate, dont la formule générale est du type  $\text{Al}_x(\text{OH})_y(\text{Cl})_z$  sont des composés déjà partiellement hydrolysés, ce qui explique leur caractère moins corrosif. De plus, ces formes ont tendance à s'agréger (agrégats polynucléaires) ce qui diminue leur réactivité et l'exothermie de la réaction. Elles finissent cependant, par s'hydrolyser dans l'eau avec production d'HCl.

Les principales propriétés physico-chimiques des trois sels inorganiques d'Aluminium (Chlorure, Nitrate et sulfate) sont reprises dans le **Tableau n°01**

Tableau n°01 :

Propriety	Chlorured'aluminium	Nitrate d'aluminium	Sulfate d'aluminium « Alun »
Formule chimique	$\text{AlCl}_3$	$\text{Al}(\text{NO}_3)_3$	$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$
Masse moléculaire	133,34	213,00	342,14
Couleur	Blanc à l'état pur, habituellement gris ou jaune verdâtre	Incolore	Blanc, lustré
État physique	Blanc, hexagonal, déliquescent ou plaquettes sensibles à l'humidité	Cristaux Orthorhombiques	Cristaux, morceaux, granules ou poudre
Densité (g/mL)	2,48		1,61
Point de fusion(°C)	194 à 527 kPa	732	Se décompose à 770 °C
Point d'ébullition (°C)	182,7 ( $1,00 \times 10^5$ Pa ou 752 mm Hg; température de sublimation)	Se décompose à 135 °C	Pas de point d'ébullition
Solubilité dans l'eau (g/100 mL)	69,86 (15 °C) (réaction explosive au contact de l'eau)	63,7 (25 °C)	36,4 (20 °C)
Solubilité dans d'autres solvants	Soluble dans le benzène, le tétrachlorure de carbone, le chloroforme	Très soluble dans l'alcool; légèrement soluble dans l'acétone; presque insoluble dans l'acétate d'éthyle, la pyridine	Insoluble dans l'éthanol
Ph		Solution aqueuse acide	
Pression de vapeur (Pa)	100 (20 °C)	Non Déterminée	0 (20 °C) Pas de pression de vapeur

### I.3. Sources d'exposition de l'aluminium

#### I.3.1. Généralités

L'aluminium est le troisième élément constitutif de l'écorce terrestre. Il représente près de 8% de la composition de la lithosphère après l'oxygène (42%) et le silicium (28%). Métal très réactif, il ne se rencontre pas à l'état libre dans l'environnement et se combine à d'autres éléments pour former des composés : le plus souvent sous forme d'oxydes tels que dans le minerai de bauxite, mais aussi sous forme d'aluminosilicates comme dans l'argile, les micas ; l'aluminium est alors insoluble dans l'eau. En revanche, en présence de matières organiques dissoutes, l'aluminium complexé aux nitrates, sulfates, chlorures est soluble dans l'eau (AFSSAPS, 2011).

#### I.3.2. Dans l'alimentation

Etant présent dans notre environnement, l'aluminium se retrouve naturellement dans notre alimentation, en très faibles quantités. Pratiquement toutes les denrées alimentaires contiennent naturellement de l'aluminium même si certaines en contiennent plus que d'autres. C'est notamment le cas du pain, du basilic, du cacao, du thé et des légumes, en particulier les épinards. Mais les aliments peuvent contenir des quantités d'aluminium plus importantes en raison de l'ajout d'additifs alimentaires ou de la contamination par les emballages et ustensiles de cuisine contenant ce métal. 6,5 mg d'aluminium après avoir été cuits et conservés pendant toute une nuit dans un récipient en aluminium. Après cuisson, 100 g de rhubarbe et d'abricots peuvent en contenir respectivement 4 mg et 7 mg. Les quantités peuvent aller jusqu'à 7 mg pour 100 g d'aliments acides. (Asef ; 2010)

#### I.3.3. Apports par les additifs alimentaires (utilisés dans les aliments industriels)

L'alimentation industrielle par le biais de ses additifs (colorants, anti-coagulants, raffermissant ou encore levants), rend l'aluminium omniprésent à des doses antiphysiologiques dans la plupart des aliments (Pennington&Schoen, 1995 ; Pennington, 1987 ;Fimreite et al., 1997).

Ainsi, les produits emballés comme :

- desserts et boissons
- fruits confits
- produits laitiers
- lait maternisé industriel préparations à base de blanc d'œuf
- grains et produits céréaliers
- sel blanc de table
- farine

- fromages fondus

contiennent des additifs à base d'aluminium (silicate d'aluminium, agents de blanchiment, émulsifiant) (**Pennington&Schoen, 1995 ; Pennington, 1987 ; Fimreite et al., 1997**).

Ces additifs sont tous homologués par les autorités concernées (**EAA, 2001 ; Graves et al.,1990**). Parmi les plus courants à base d'aluminium figurent des Colorants :

- E173 sels d'aluminium donnant une coloration bleutée à l'eau.

Ou encore des Anti-Coagulants :

- E520, E521, E522, E523: famille des sulfates d'aluminium utilisés dans les blancs d'oeufs des préparations culinaires, fruits et légumes confits.

- E541 (génoiseries),

- E554, E555, E556, E559 : Phosphates et Silicates d'Aluminium utilisés

Dans les denrées séchées en poudre : potage, purée, le sel raffiné et les Fromages industriels, les laits en poudre, ceci bien que connus pour passer La barrière placentaire.

La consommation de ces produits industriels en grande quantité pourrait induire une augmentation du taux d'aluminium dans le sang (**Pennington&Schoen, 1995 ; Pennington,1987 ; Fimreite et al. , 1997 ; Jansson, 2001**).

#### I.3.4. L'eau du robinet

Si l'ingestion d'aliments représente 95% des apports quotidiens d'aluminium, le reste est en partie apporté par l'eau du robinet. En effet, l'aluminium provient du ruissellement des sols mais pas seulement... Lors du traitement des eaux, des agents floculants à base de sels d'aluminium sont ajoutés pour éliminer les particules organiques dans l'eau. (**Asef ;2010**)

Dans certaines régions, les microparticules en suspension peuvent être en quantité très importante. Dans ce cas, elles vont alors modifier la coloration et la turbidité de l'eau lui donnant un goût peu agréable à la consommation (**Scott, 2003**).

Pour pallier à ce phénomène les services des eaux de la plupart des pays utilisent des sels d'aluminium solubles comme agents clarifiants tels que l'alun (sulfate d'aluminium) et le chlorure de polyaluminium (**Scott, 2003**).

Ces composés à base d'aluminium, chargés d'éliminer les microorganismes nocifs de l'eau, la débarrassent également des matières organiques qui y sont naturellement présentes. En effet, la réaction entre les substances chimiques utilisées pour la désinfection et ces matières organiques engendre des cancérrogènes puissants éliminés lors du flocage, coagulation entre les particules et le composé aluminique ajouté (Scott, 2003). Ces sels

d'aluminium, peu coûteux, ont en outre l'avantage de donner à l'eau une coloration légèrement bleutée que les consommateurs prennent pour une marque d'authenticité et de qualité. Le traitement des eaux par ces sels d'aluminium va rendre l'eau plus potable mais en contrepartie va augmenter leur teneur en aluminium soluble, facilement absorbable (**Scott, 2003**).

Ainsi, les sels d'aluminium, mal utilisés, peuvent être la cause de concentrations très élevées d'aluminium résiduel dans l'eau potable (**Jansson, 2001 ; Bérubé et al., 1999**).

Selon les estimations de l'American Waste Water Association (AWWA), l'eau potable (notamment l'eau traitée) fournirait environ 5 % de l'aluminium ingéré par l'être humain (**Harasick, 1995**).

Des mesures ont été prises afin d'éviter, par l'intermédiaire des eaux de boisson, un apport excessif de ce métal à l'homme. Les directives de la communauté économique européenne du 15 juillet 1980 (**Martyn et al., 1989 ; Michel et al., 1991 ; Neri et al., 1991**), relatives à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine, a fixé la concentration maximale admissible en aluminium à 200 µg.L-1. in (**Karbouj, 2008**).

Par ses propriétés chimiques, l'aluminium se lie aux particules organiques en suspension et forme des flocons qui s'agglomèrent et se déposent sous l'effet de la gravité. La grande majorité des sels d'aluminium utilisés se retrouvent dans les boues ou terres de décantation, mais il peut en rester dans l'eau du robinet. Le sulfate d'aluminium  $Al_2(SO_4)_3$  et le chlorure d'aluminium  $AlCl_3$  sont les flocculants les plus répandus parce qu'ils sont efficaces, relativement peu coûteux et que l'on peut se les procurer facilement. Cependant, toutes les communes n'utilisent pas ce type de traitement. Par exemple, la ville de Paris a substitué l'aluminium par du chlorure ferrique. (**Asef, 2010**).

L'apport d'aluminium par l'intermédiaire des eaux de distribution publique a trois origines.

- Présence naturelle dans les eaux de ressources : l'aluminium se trouve sous trois formes: Insoluble, colloïdale et soluble correspondant à des silicoaluminates, des hydroxydes, déformés libres ou complexes minérales ou organiques.
- Traitement des eaux : les réactifs chimiques utilisés pour la coagulation des eaux sont Dessel de fer ou d'aluminium qui, par hydrolyse, conduisent à des formes cationiques plus ou moins chargées électriquement. Pour les sels d'aluminium, ce sont principalement le sulfate d'aluminium et les sels d'aluminium pré polymérisés.
- Traitement de l'eau de certains réseaux d'immeubles dans un procédé de lutte anticorrosion avec un effet secondaire antitartre. Il s'applique aux installations de production et de

distribution en acier galvanisé à circuit bouclé et à circulation continue. Il est très employé pour la production d'eau chaude sanitaire en milieu hospitalier.

La valeur réglementaire de la concentration de l'aluminium dans l'eau est fixée à 0,2 mg/l par la DCE (Directive Cadre Eau) et l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), mais l'eau de certaines communes dépasse parfois cette limite. Pour savoir si les concentrations en aluminium de l'eau de votre robinet respectent les valeurs réglementaires (**Asef, 2010**).

### **I.3.5. Dans les cosmétiques**

Certains sels d'aluminium sont largement utilisés dans les cosmétiques tels que les déodorants, les dentifrices, les rouges à lèvres, les teintures capillaires ou les après-shampoings. Une étude a démontré qu'après l'application de déodorant au niveau des aisselles, 0,012% de l'aluminium pénètre dans la peau. Appliqué sur peau saine, l'aluminium contenu dans les anti-transpirants est retenu en faible quantité au niveau de la couche supérieure de la peau. En revanche, sur peau lésée, ce qui est le cas des personnes qui se rasent régulièrement, la quantité qui pénètre est multipliée par 6 ! Cela représente des quantités importantes, d'autant plus si on en applique quotidiennement. D'ailleurs, dans un rapport d'octobre 2011, l'Ansm (Agence nationale de sécurité du médicament) a recommandé de ne pas utiliser les produits cosmétiques contenant de l'aluminium sur peau lésée (**Asef, 2010**).

### **I.3.6. Médicaments**

L'aluminium entre dans la composition de nombreux médicaments à visée antiacide et dans les solutés de nutrition parentérale. En 2011, une proposition a été mise en avant au niveau européen pour fixer une valeur limite pour l'aluminium. La FDA (Food and Drug Administration) a proposé de limiter dorénavant la concentration en aluminium dans les solutés pour nutrition parentérale à 25 µg/L (**FDA, 2010; AFSSAPS, 2011**).

D'autres expositions potentiellement significatives sont envisageables malgré leur caractère aiguë de par l'administration occasionnelle de solutions intraveineuses comme le gluconate de calcium et le phosphate de potassium qui se sont avérés pouvant contenir jusqu'à 5,1 mg/g d'Al et 17mg/g respectivement (**DeVoto et Yokel, 1994**).

Le vaccin de Diphtérie-pertussis et de Tetanus, administré largement aux enfants et aux adultes, contient un adjuvant en Aluminium (**Klein et al., 2009**).

Les dialysés peuvent être exposés à de grandes quantités d'Aluminium par l'intermédiaire de leur liquide de dialyse, cette exposition a été responsable des épisodes notables de neurotoxicité (**Gault et al., 2005; Bohrer et al., 2009**).

L'aluminium sous forme d'hydroxyde est utilisé comme adsorbant des vaccins et adjuvant de l'immunité dans environ 40 % des vaccins.(C **Gourier-Fréry** et N **Fréry**,2004).

#### **I.4. Toxicocinetique**

Chez l'animal, l'absorption de l'aluminium par voie orale est très faible ; elle est quasiment nulle par voie percutanée et, par inhalation, aucune donnée n'est disponible. Une fois dans l'organisme, l'aluminium se lie à des protéines sanguines et est distribué dans de nombreux organes, principalement les os et les poumons (**Fiches toxicologiques** ,2014).

L'aluminium absorbé est majoritairement éliminé via les urines, alors que l'aluminium non absorbé est éliminé via les fèces. Le même profil toxicocinétique est observé chez l'homme.

##### **I.4.1. Chez l'animal**

###### **I.4.1.1. Absorption**

Au contact d'un environnement acide (estomac), l'aluminium est solubilisé sous forme d'un ion libre Al<sup>3+</sup>, avant d'être précipité sous forme d'hydroxyde d'aluminium insoluble au contact de pH plus élevés (duodénum), forme majoritairement excrétée dans les fèces ; une très faible proportion de l'aluminium ingéré est donc disponible pour l'absorption ( **EFSA**, **2008** ;**COT** ,2013) . Ainsi, chez le rat, à la suite de l'administration d'hydroxyde d'aluminium par voie orale, une biodisponibilité de 0,1 % a été déterminée ( **ATSDR**, **2008**) . À la suite de l'administration répétée de sulfate d'aluminium, les biodisponibilités sont les suivantes : chez les mâles, entre 0,046 et 0,053 %, chez les femelles entre 0,064 et 0,069 % ( **FAO**, 2012). Chez le lapin, elle est de 0,57 % pour le chlorure, 1,16 % pour le nitrate et 0,45 % pour l'hydroxyde (**Yokel RA et McNamara P**,1988) . Par inhalation, aucune donnée chiffrée n'est disponible. Plusieurs études mettent en évidence la rétention pulmonaire de l'aluminium, mais sans augmentation des concentrations en aluminium dans les tissus autres que les poumons.(**ATSDR**, **2008**).

Aucune information quantitative n'est disponible concernant l'absorption percutanée. Toutefois, l'augmentation des taux urinaires en aluminium, mesurés chez des souris exposées quotidiennement par voie percutanée à 0,1 ou 0,4 µg de chlorure d'aluminium pendant 130 jours (soit 0,01 - 0,04 µg Al/j) témoigne de l'absorption de certains composés .( **Anane R et al** ,1995).

###### **I.4.1.2. Distribution**

Chez le rat et le cobaye, l'aluminium (administré de manière répétée, par inhalation, sous forme de chlorhydrate Al Cl(OH)) s'accumule dans les poumons, les glandes surrénales et les ganglions lymphatiques péri-bronchiques.( **ATSDR**, **2008**)

À la suite d'une exposition par voie orale, il est surtout retrouvé dans les os, la rate, le foie et les reins et dans une moindre mesure au niveau du cerveau, des muscles et du cœur. (**Greger JL et Sutherland JE, 1997**).

À la suite d'applications sur la peau de souris de 0,4 µg/j de chlorure d'aluminium pendant 20 jours, des niveaux élevés en aluminium sont mesurés dans le foie, les poumons et les reins (une contamination secondaire orale est toutefois évoquée par les auteurs). Une fois dans l'organisme, l'aluminium est capable de traverser la barrière placentaire et de s'accumuler dans le fœtus (notamment au niveau du cerveau) ; il est aussi détecté dans le lait maternel (**ATSDR, 2008**).

#### **I.4.1.3. Elimination**

Chez des rats recevant une dose unique de 35 mg d'aluminium, sous différentes formes de sels, entre 0,015 et 2,27 % de la dose initiale sont éliminés dans les urines dans les heures suivant l'administration (**ATSDR, 2008**) . Chez le rat, les demi-vies d'élimination varient selon les organes considérés : entre 13 et 1 635 jours pour le cerveau, entre 7 et 520 jours pour l'os pariétal, entre 400 et 430 pour le foie et les reins et entre 16 et 980 jours pour le sang(, Santé Canada, 2010) . L'aluminium non absorbé est retrouvé dans les fèces.

#### **I.4.2. Chez l'homme**

##### **I.4.2.1. Absorption**

L'absorption de l'aluminium présent dans la nourriture et l'eau de boisson est très faible : moins de 1 % est absorbé par le tractus gastro-intestinal(. **ATSDR, 2008 ; , Santé Canada, 2010**) . En effet, son absorption est influencée par la biodisponibilité des différents sels d'aluminium, par le pH intestinal, et par la présence d'agents complexant dans la nourriture (tels que l'acide carboxylique, l'acide citrique ou le silicium). (**Santé Canada, 2010 ; COT, 2013**).

Par inhalation, le taux d'absorption a été estimé à partir de la relation entre son excrétion urinaire et la concentration atmosphérique à laquelle les salariés sont exposés : ce taux serait compris entre 1,5 et 2 % . (**ATSDR, 2008**).

Par voie cutanée, très peu de données sont disponibles. À la suite de l'application de chlorhydrate d'aluminium sur l'avant-bras de deux travailleurs, un taux d'absorption de 0,012 % a été estimé .(**Flarend R, Bin T, Ellore D et al,2001** ) .

##### **I.4.2.2. Distribution**

Chez l'homme, le transport de l'aluminium au niveau sanguin a été tout particulièrement étudié par Day, (**Day, 1994**) en utilisant l'isotope radioactif <sup>26</sup>Al. Vingt-quatre heures après l'injection, 99 % de l'aluminium sanguin se retrouve dans la fraction

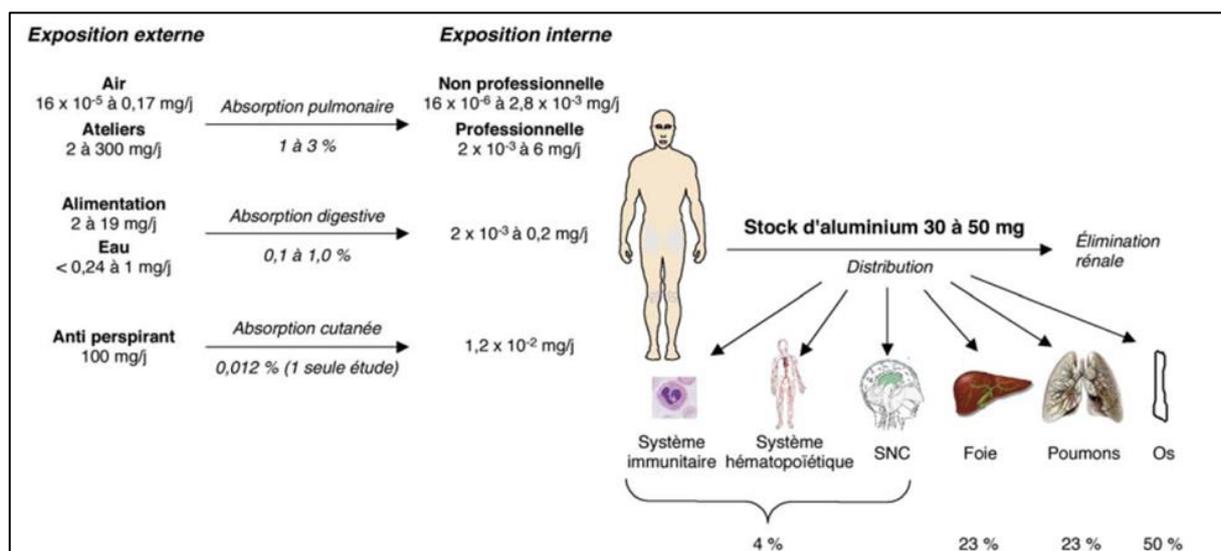
plasmatique ; plus tardivement, la concentration intra-érythrocytaire augmente pour atteindre 14 %. Dans le plasma, l'aluminium est lié de façon préférentielle à la transferrine (80 %), mais également à l'albumine à hauteur de 10 %, la fraction restante étant véhiculée par des protéines de bas poids moléculaire. Le couple Al-transferrine se dépose préférentiellement dans la rate et le foie, riches en récepteurs-transferrine, alors que le couple Al-LMW se dépose dans l'os où les récepteurs-transferrine sont absents. (Gourier-Fréry, Nadine Fréry et al, 2003).

La charge naturelle en aluminium chez le sujet sain varie de 30 à 50 mg (ATSDR 1999), et se répartit essentiellement dans l'os (de l'ordre de 50 %), le poumon (environ 25 %) et le foie (20 à 25 %). Le pourcentage restant se répartit dans les autres organes, notamment le système nerveux central et la rate. Les concentrations dans les tissus et notamment dans le poumon et le cerveau augmentent avec l'âge (ATSDR 1999).

#### I.4.2.3.Élimination

Après ingestion, l'aluminium est éliminé dans les urines et l'aluminium non absorbé dans les fèces. La demi-vie d'élimination dépend de la durée d'exposition mais aussi de la redistribution de l'aluminium à partir des sites de stockage ; elle serait tri phasique avec une demi-vie urinaire d'environ 7 heures, une de quelques semaines et une demi-vie de plusieurs mois voire années selon l'ancienneté de l'exposition et le type d'exposition (Fiches toxicologiques, 2014).

La voie urinaire est la principale voie d'excrétion de l'aluminium absorbé (83 %). L'élimination urinaire chez les individus à fonction rénale normale est comprise entre 3 et 20 µg/L (Kaehny 1977, Valkonen et Aitio 1997, Lauwerys 2001).



**Figure 03** : Absorption quotidienne et distribution de l'aluminium dans l'organisme humain (C Gourier-Fréry et N Fréry , 2004) .

#### I.4.2.4. Toxicité de l'Aluminium

L'aluminium aurait un pouvoir toxique pour l'Homme. Pour certains chercheurs, cette toxicité est relative et s'observerait uniquement chez des sujets particuliers et exposés à de fortes doses d'aluminium. Pour d'autres, ce métal qui est omniprésent dans notre quotidien posséderait une toxicité au long cours, même pour des sujets exposés à des faibles doses d'aluminium. Si l'on suit cette hypothèse, l'aluminium représenterait donc un risque sanitaire pour l'ensemble de population (Sonthonnax, 2014).

#### I.4.2.5. Génotoxicité de l'Aluminium

L'ion  $Al^{3+}$  interagit directement avec l'ADN, les sels qui le libèrent ont pu se révéler clastogènes in vitro et in vivo à forte dose (EFSA, 2008a; 2008b), des études in vitro sur des cellules d'hépatome ascitique de rats ont indiqué que le chlorure d'aluminium pouvait servir de stimulateur à la réticulation de protéines chromosomales (Krewski et al., 2007).

Des études sur des lymphocytes de sang humain ont démontré que le chlorure d'aluminium pouvait induire des réponses positives au niveau de la formation de micronuclei et de l'échange de chromatides soeurs (Krewski et al., 2007).

Plus récemment, Lima et al., (2007) ont étudié les effets génotoxiques du chlorure d'aluminium sur les lymphocytes humains cultivés. Le test des comètes et l'analyse des aberrations chromosomiques ont été utilisés pour évaluer la détérioration de l'ADN et les effets clastogènes du chlorure d'aluminium à différentes phases du cycle cellulaire.

Toutes les concentrations testées (5 à 25  $\mu M$  de chlorure d'aluminium) étaient cytotoxiques, ont causé une baisse de l'index mitotique et une détérioration de l'ADN, et étaient clastogènes pour toutes les phases (Tair, 2016).

#### I.4.2.6. Cancérogénicité de l'Aluminium

En 1987, le Centre International de Recherche contre le Cancer (CIRC) a classé le processus de production d'aluminium comme processus cancérigène certain (groupe 1) pour l'homme, compte tenu des éléments épidémiologiques en faveur d'un risque accru de cancer du poumon et de la vessie chez les travailleurs de l'aluminium. Il était alors signalé qu'un possible agent causal était la fumée de brai. En 1997, l'OMS concluait qu'en l'état actuel des connaissances, on ne pouvait considérer l'aluminium comme un toxique cancérigène (OMS, 1997 ; IPCS, 1997). Les études épidémiologiques récentes n'apportent pas d'argument complémentaire en faveur du rôle propre de l'aluminium dans la survenue de cancers chez les travailleurs exposés. Deux autres études n'ont signalé aucune incidence accrue de tumeurs chez des rats et des souris exposés oralement à des composés d'aluminium (Hackenberg, 1972; Oneda et al., 1994). Aucune incidence accrue de tumeurs n'a été observée chez les rats

à la suite d'une inhalation de fibres d'alumine à des concentrations pouvant atteindre 2,45 mg/m<sup>3</sup> (Krewski et al., 2007). Le Centre international de Recherche sur le Cancer n'a classé aucun composé d'aluminium en fonction de sa cancérogénicité, mais a classé les circonstances d'exposition de la production d'aluminium comme cancérogènes pour les êtres humains (CIRC, 1987).

#### **I.4.2.7. Données épidémiologiques :**

Chez l'Homme, des études épidémiologiques établissant une relation entre l'exposition professionnelle aux poussières d'aluminium et les cancers du poumon et de la vessie ont conduit le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) à classer la production d'aluminium dans le groupe 1 des cancérogènes (cancérogènes pour l'Homme) (CIRC, 1987). Cependant, il est généralement admis qu'en milieu professionnel, d'autres facteurs pourraient participer au processus de cancérogenèse, dont les hydrocarbures aromatiques, les amines aromatiques, les composés nitrés et l'amiante. Ce type d'exposition à des particules d'aluminium, dans ce cadre professionnel spécifique, n'est pas pertinent pour la question examinée dans ce rapport. (Afssaps, 2011).

#### **I.5. Mode d'action des effets toxiques de l'aluminium :**

Le mécanisme de neurotoxicité de l'aluminium fait l'objet de recherche soutenue et de plusieurs études. Cette analyse a pour but de résumer brièvement les domaines de recherche concernant le mode d'action de la toxicité de l'aluminium, pour lequel la plupart des tests ont été réalisés sur des rongeurs de laboratoire ou dans le cadre d'études in vitro, et de présenter les opinions variées sur la pertinence de ces données à la neurodégénérescence humaine, plus particulièrement le développement de la maladie d'Alzheimer. (Tair, 2017)

##### **I.5.1. Effets neurotoxiques**

Le mécanisme de neurotoxicité de l'aluminium fait l'objet de recherche soutenue et de plusieurs études. Cette analyse a pour but de résumer brièvement les domaines de recherche concernant le mode d'action de la toxicité de l'aluminium, pour lequel la plupart des tests ont été réalisés sur des rongeurs de laboratoire ou dans le cadre d'études in vitro, et de présenter les opinions variées sur la pertinence de ces données à la neurodégénérescence humaine, plus particulièrement le développement de la maladie d'Alzheimer (Tair, 2017).

Des études sur des animaux de laboratoire et des êtres humains ont démontré que l'aluminium absorbé se distribue au cerveau, plus particulièrement au cortex cérébral et à l'hippocampe. Par exemple, l'accumulation d'aluminium dans le cerveau de souris, de rats et de singes adultes exposés a été signalée dans 23 études portant sur les effets neurologiques de l'aluminium administré oralement. Des concentrations plus élevées d'aluminium ont été

observées dans le cerveau de chiots exposés durant la gestation par **Sharma et Mishra (2006)**, mais pas par d'autres (**Colomina et al., 2005; Golub et al., 1992b**). D'autres études sur l'exposition prénatale pour lesquelles l'exposition s'est poursuivie durant la période de lactation ont aussi signalé des concentrations plus élevées d'aluminium dans le cerveau (**Wang et al., 2002a; Chen et al, 2002; Golub et al., 1993**). Par contre, **Golub et al. (2000)** ont observé une baisse des concentrations d'aluminium dans le cerveau de souris exposées durant la gestation, la lactation et leur vie entière.

### **I.5.2. Effets immunologiques et allergiques :**

L'étude de l'interrelation entre l'aluminium et le système immunitaire revêt un caractère particulier dans la mesure où 40 % des vaccins en France sont additionnés d'aluminium, utilisé en tant qu'adjuvant afin de renforcer la réponse immunitaire. (**Nicklas W ;1992**).

De nombreuses études animales relatent le caractère modulateur, stimulant ou inhibiteur de l'aluminium sur le système immunitaire. (**Brewer JM et al ;1999, Lauricella AM et al..2001** ).

Peu de données cliniques humaines sont disponibles en ce qui concerne les effets de l'aluminium par voie orale chez les sujets sains. Par contact ou lors de vaccinations ou désensibilisations à l'aide d'extraits antigéniques, l'aluminium peut être à l'origine de cas d'allergie ou d'hypersensibilité se manifestant essentiellement par des symptômes au point de contact : irritations cutanées, indurations, granulome. De nombreux cas ont été décrits avec des vaccins adsorbés sur hydroxyde ou oxyde d'aluminium (vaccins antitétaniques, antidiphtériques, antidiphtérique-antitétaniques et/ou antipoliomyélitiques, anti-hépatite B ou aux solutions de désensibilisation allergénique). (**Barbaud A et al ;1995** ),

La réaction se manifeste rapidement après l'injection par un érythème et une induration puis apparaît plus tardivement un nodule sensible à la palpation. Dans la plupart des cas, ce nodule disparaît spontanément après quelques semaines. Il peut cependant persister plusieurs mois, voire plusieurs années, et nécessiter dans les cas les plus sévères une exérèse chirurgicale. (**Lopez S et al ;1994**) Histologiquement, un aspect d'eczéma peut être retrouvé en surface. Dans le derme 90 C. Gourier-Fréry, N. Fréryet l'hypoderme, on observe une réaction lymphoplasmocytaire majeure associée parfois à des cellules géantes. L'aluminium semble impliqué par un phénomène d'hypersensibilité retardée dans les nodules persistants. (**Gourier-Fréry, N. Fréry ,2004**).

Par ailleurs, le rôle de l'aluminium a été évoqué dans le développement d'une affection de découverte récente, la myofasciite à macrophages (MFM), caractérisée par la présence d'une lésion histologique très particulière due à l'existence d'un infiltrat inflammatoire de l'épi-, du

péri- et de l'endomysiumpérifasciculaire, avec présence de macrophages contenant des inclusions, dans lesquelles on a identifié la présence de sels d'aluminium.(**Gherardi RK et al ;1998**).

Cette lésion particulière mise en évidence au niveau de la région deltoïdienne, précisément celle qui constitue le site d'injection usuel des vaccins, apparaît aujourd'hui comme une cicatrice vaccinale. Des résultats préliminaires montrent qu'une proportion importante des patients chez qui la lésion histologique a été identifiée, présentent des manifestations cliniques à type d'arthromyalgies diffuses invalidantes associées à un syndrome de fatigue chronique. Cependant à ce jour, les données disponibles ne permettent pas de conclure sur l'existence d'une association entre la lésion histologique et une entité clinique spécifique.

L'impact de l'aluminium sur le système immunitaire (production monocyttaire d'IL1, activation du système du complément, augmentation de la réponse IgG1 et IgE spécifique et non spécifique),

pourrait appuyer l'hypothèse de l'induction d'une réaction systémique par la lésion musculaire focale. À ce jour cependant, les recherches entreprises n'ont pas permis de confirmer cette hypothèse physiopathologique. Plus de 200 patients présentant les critères histologiques de myofasciite à macrophages ont été identifiés jusqu'à présent en France. Quelques casisolés ont été décrits dans d'autres pays.( **Gherardi RK ;2003**).

### **1.5.3.Effets hématologiques**

De rares études cliniques et épidémiologiques indiquent la survenue d'une anémie microcytaire hypochrome chez les insuffisants rénaux chroniques présentant une charge importante en aluminium (concentrations sériques au-delà de 100 µg/l).(**Short Al et al ,1980 ;Varma PP et al ,1999** ) ,Cette anémie est réversible à l'arrêt de l'exposition et lors de traitements chélateurs de l'aluminium (déféroxamine).(**Tielemans C et al ,1985 ;ATSDR,1999**),Les expérimentations réalisées chez le rat ont mis en évidence les effets in vivo de l'ingestion d'aluminium sur l'érythropoïèse : ils relèvent à la fois d'une action directe sur les érythrocytes circulants et d'une interférence avec le métabolisme cellulaire du fer au sein des progéniteurs érythroïdes.(**Ganchev T et al,1998 ;IARC ,1987**).

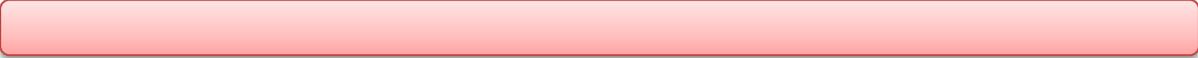
### **1.5.4.Effets respiratoires**

Les observations humaines ont été réalisées en milieu professionnel, l'exposition par voie respiratoire étant alors prépondérante. Le seul effet pour lequel la responsabilité de l'aluminium a été établie est la fibrose ou « aluminose pulmonaire »,rapportée de façon exceptionnelle lors d'expositions massives à de l'aluminium pulvérulent (fabrication de

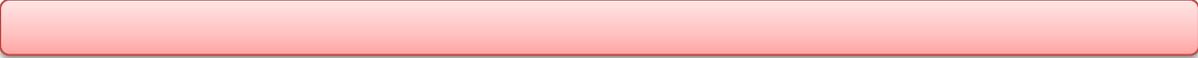
poudres pyrotechnique, usinage, polissage de produits en aluminium) ou sous forme de vapeurs (soudage à l'arc de l'aluminium). Cette fibrose est également observée chez les ouvriers des fours des fonderies de bauxite, où elle fut décrite pour la première fois en 1947 par Shaver. (ATSDR, 1999 ; Dinman BD, 2001), L'aspect histologique est celui d'une fibrose interstitielle diffuse, non spécifique. Le lavage bronchoalvéolaire confirme la présence, en grande quantité, de particules d'aluminium.

L'étude du parenchyme prélevé par biopsie pulmonaire montre un granulome Gigant folliculaire, centré par des particules d'aluminium. (Rosenberg N, 1991).

Une symptomatologie d'asthme et d'hyperréactivité bronchique de type irritatif (connue de longue date sous le nom de « potroomasthma ») est observée dans les fonderies d'aluminium, à l'occasion de l'extraction électrolytique de l'aluminium. Il s'agit cependant d'un secteur où il existe une forte pollution par divers irritants (en particulier l'acide fluorhydrique, divers fluorures et l'anhydride sulfureux) qui pourraient suffire à expliquer la fréquence de la maladie asthmatique. Il n'existe pas de diagnostic étiologique, et notamment de tests immunologiques ou bronchiques spécifiques, l'agent étiologique de cet asthme des fondeurs n'étant pas encore connu (Rosenberg N, 1991).



***Chapitre II***  
***Plante testés :***  
***Ammodaucus leucotrichus***



## **II. Ammodaucus leucotrichus**

Notre sélection se porte sur une plante médicinale *Ammodaucus leucotrichus*. Cette plante est native du Sud Algérien, elle a de multiples utilisations dans la médecine traditionnelle algérienne (Benahmed,2016).

### **II.1. Localisation géographique**

Cette plante comprend deux sous espèces : *Ammodaucus leucotrichus* Cosson & Durieu sub sp. *leucotrichus* pousse en Afrique du Nord principalement au Sahara Algérienne, Niger, Mauritanie, Libye et s'étend jusqu'à l'Afrique tropicale et l'Egypt. (Bramwell et Branwell,2001), tandis que *Ammodaucus leucotrichus* Cosson & Durieu sub sp. *Nanocarpus* E. Beltran pousse dans l'archipel micronésien (Joulain et König, 1998).

### **II.2. Place d'Ammodaucus dans la systématique :**

Classification botanique d'*Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur. dans la systématique (Ozenda, 2004 ; Spichiger et al, 2004 ; Botineau, 2010 ; Dupont et Guignard, 2012)

- Embranchement : Magnoliophyta
- Sous-embranchement : Magnoliophytina
- Classe : Rosopsida
- Sous-classe : Cornidae
- Ordre : Araliales
- Sous-ordre : Aralianae
- Famille : Apiaceae
- Genre : *Ammodaucus*
- Espèce: *leucotrichus*.



**Figure 04 :** *Ammodaucus leucotrichus*, infrutescence Sahara occidental littoral

### II.2.1. Appellation vernaculaire de la plante

Nom français : Cumin chevelu.

Nom anglais : Hairy cumin.

Nom arabe: Kûmun-Sûfi; Akaman.

Nom latin : *Ammodaucusleucotrichus*.

Nom vernaculaire : Nessoufa-Moudrayga.



**Figure 05 :** *Ammodaucus leucotrichus* Méricarpes; face commissurale

<http://www.floramaroccana.fr/ammodaucus-leucotrichus.html>

### II.3. Description botanique d'*Ammodaucus leucotrichus*

Plante glabre, annuelle; tiges dressées, rameuses, finement striées, feuilles très divisées, à lanières étroites, un peu charnues; ombelles à 2-4 rayons, involucre à bractées très velus, portant de longs poils crépus, jaune roux à la base, puis blancs, et longs de 8-10 mm, plante à très forte odeur d'anis. Elle est localisée dans tous le Sahara (**Ozenda, 1958**).in(**Khaldi ,2017**).

### II.4. Utilisation traditionnelle et propriétés pharmaceutiques

Cette espèce est utilisée pour soigner les troubles gastro-intestinales (**Bellakhdar, 1997**).

Au Maroc et en Algérie (en particulier dans le sud algérien : Bechar, Djanet, El Golea), les fruits et les graines, en décoction ou en poudre, sont utilisés dans le traitement de plusieurs maladies : indigestion, anorexie, allergies, les morsures de serpent, les piqûres de scorpion ,infections des blessures, palpitation, refroidissements, troubles de la glande thyroïde, toux, diarrhée, fièvre, vomissement et comme condiment (**Ould el hadj et al, 2003 ; IUCN, 2005 ;Seidemann, 2005 ; Volpato et al, 2012 ; Abu Zarga et al, 2013**). Dans le Tassili, enparticulier la région de Djanet, elles sont utilisées beaucoup plus sous forme de

## ***Chapitre II : Ammodaucus leucotrichus***

---

poudre pour traiter les mêmes symptômes mentionnés ci-dessus, aussi sont mélangées avec du lait ou de miel afin de récupérer l'appétit **IUCN, (2005)** et **Lahsissene et al., (2009)** ont rapporté que les fruits, en infusion, sont très employés dans diverses maladies infantiles de l'appareil digestif nausées, dysenteries et vomissements .Les feuilles sont également utilisées contre les infections des voies respiratoires, dans la région de Djanet, sont employées pour aromatiser le thé, en poudre, sont aussi utilisées comme condiment (**IUCN, 2005**). Au Maroc, les fleurs sont utilisées pour le traitement des maladies cardiaques (**Abu Zarga et al, 2013**).

Plusieurs travaux scientifiques menés dans le domaine de l'ethnopharmacologie, nous confirment que les plantes utilisées en médecine traditionnelle sont souvent des plantes efficaces dans les modèles pharmacologiques et sont quasiment dépourvues de toxicité.

L'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie mettent en relation les savoirs ancestraux des médecins traditionnels et les connaissances scientifiques actuelles. Les informations de terrain recueillies auprès des populations sont le reflet d'une approche culturelle de la maladie qui est fondée sur la symptomatologie .L'usage empirique des différentes préparations traditionnelles est donc extrêmement important pour une sélection efficace des plantes (**Gurib-Fakim, 2006**).



## **Chapitre III**

### ***Les extraits des plantes***



**III.1. Définition d'une plante médicinale**

Une plante médicinale est définie par la pharmacopée française note 1 comme une « drogue végétale au sens se la pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses ». Une « drogue végétale » est une plante ou une partie de plante, utilisées en l'état, soit le plus souvent sous la forme desséchée, soit à l'état frais.(**mohammedi ,2013**)

Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses, elles sont utilisées pour prévenir, soigner ou soulager divers maux (**Farnsworth et al., 1986**).

Environ 35000 espèces des plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains (**Elhaj et al., 2007**).

**III.2.La Phytothérapie :**

La phytothérapie vient du grec et signifie « soigner par les plantes ». Elle repose en partie sur une pratique traditionnelle, fondée sur l'utilisation ancestrale et locale des plantes. Les plantes médicinales renferment de nombreux actifs (plus de 250) qui ont des activités thérapeutiques complémentaires ou synergiques.

Ces actifs ont été étudiés et reproduits chimiquement pour être incorporés de nos jours dans de nombreux médicaments (**benzeggouta ;2015**)

**III.2.2- principes actif**

La plante est le siège d'une intense activité métabolique, processus dynamique subdivisé différemment, par exemple toutes les cellules renferment des glucides, des acides aminés et des lipides, ces molécules qui sont à la base moléculaire des cellules sont dénommées métabolites primaires. Egalement, les plantes synthétisent une foule importante d'autres molécules organiques qui peuvent n'avoir aucun rôle manifeste dans la croissance et le développement (métabolites secondaires), qui sont lié aux conditions de vie de la plante.

Les substances les plus diverses face à de multiples agressions de l'environnement dans laquelle vit, prédateurs, microorganismes pathogènes... (**Kansole, 2009**).

Le métabolisme secondaire, désignant un métabolisme dont la distribution taxonomique serait restreinte et dont la contribution au fonctionnement cellulaire ou au développement des plantes serait insignifiante. Les métabolites secondaires ne sont pas vitaux pour l'organisme mais jouent nécessairement un rôle important. Plusieurs composés phénoliques participent à la filtration des radiations UV, les pigments floraux sont essentiels

aux processus de pollinisation. Il existe plus de 200000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique en l'occurrence, les terpènes et les stéroïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques (**Vermerris, 2006**).

### **III-2.3 Méthodes d'Extraction**

L'extraction veut dire la séparation des parties actives de tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs, traditionnellement l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales. Les produits ainsi obtenus sont relativement impures sous forme de liquides, semi-solides ou poudres exclusivement destinés à un usage oral ou externe. Il s'agit de préparations connues comme les tisanes et les huiles médicinales (**Handa, 2008**).

La tisane, que ce soit infusion, décoction ou macération, est un procédé d'extraction de constituants actifs des plantes médicinales. Le mot tisane vient du grec ptisané qui désignait orge mondé, puis tisane d'orge. L'utilisation de la plante en tisane est retrouvée parmi les méthodes les plus anciennes à côté des fumigations, des inhalations de vapeur, de l'application d'une solution sur le corps. L'eau chaude permet ainsi de récupérer certains constituants actifs hydrosolubles (**Goetz, 2004**). D'autres techniques traditionnelles étaient aussi utilisées pour la récupération des principes liposolubles et aromatiques comme les huiles infusées (**Benzeggouta, 2005**). La présence d'un composé ou d'un autre dépend de sa solubilité dans le solvant utilisé, la température et la durée d'extraction et la fragmentation de la plante (**Goetz, 2004**).

#### **1- Infusion:**

C'est la forme de préparation la plus simple, elle se prépare en versant de l'eau bouillante sur les parties de plantes fraîches ou séchées et les bien tremper afin d'extraire leurs principes médicinales. Elle convient pour l'extraction de parties délicates ou finement hachées des plantes: feuilles, fleurs, graines, écorces et racines, ayant des constituants volatiles thermolabiles comme les huiles essentielles (**Baba-Aïssa, 2000; Kraft et Hobbs, 2004**).

#### **2- Décoction:**

Elle convient pour l'extraction de matières végétales dur ou très dur : bois, écorce, racines, ou des plantes avec des constituants peu solubles (ex : l'acide silicique). Elle consiste à faire bouillir les plantes fraîches ou séchées dans de l'eau pendant 10 à 30 min, pour bien extraire les principes médicinales (**Baba-Aïssa, 2000; Kraft et Hobbs, 2004**).

**3- Macération:**

Elle consiste à mettre une plante ou partie de plante, dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou une huile végétale (macération huileuse), pendant plusieurs heures, voir plusieurs jours, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser. Elle convient pour l'extraction de plantes contenant du mucilage, comme les graines de lin ou les graines du plantain dessables, leur forte concentration en amidon ou pectine peut causer une gélatinisation s'ils se préparent dans de l'eau bouillante. Egalement utilisée pour empêcher l'extraction de constituants indésirables qui se dissolvent dans l'eau chaude (**Kraft et Hobbs, 2004**). Elle concerne aussi les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur par ébullition (**Baba-Aïssa, 2000**).

**4- Distillation:**

C'est une pratique très ancienne utilisant la vapeur d'eau pour récupérer les principes volatiles. Développée par Jabir Ibn Hayyan (Geber 721-815) qui a rajouté l'alambic à l'ancien appareil de distillation pour la réfrigération, mais utilisée par Al Kindi (Alchindius 805-873) et Ibn Sina (Avicenne 980-1037) pour la préparation des parfums. Les eaux distillées ou hydrolats, sont obtenues par distillation de la plante (feuilles, tiges...), alors que les eaux florales sont obtenues de la même manière mais à partir des fleurs (**Shakeel, 1999; Goetz et Busser, 2007**). De nos jours cette technique traditionnelle est encore utilisée à Constantine pour l'extraction de certaines plantes aromatiques (Figure n°6).



**Figure 06:** Distillation traditionnelle des fleurs de roses ( Rosadamascenna)

Pratiquée à ce jour à Constantine

### **III.4.1 Propriétés principales des composés naturels**

Grande diversité de composés chimiques

- Les alcaloïdes : nicotines...
- Les polyphénols : flavonoïdes, dérivés d'acide caféique, stilbènes (resvératrol....)
- Les terpènes et dérivés: eucalyptol, monoterpènes (thymol, carvavrol..), diterpènes (artémisines..), saponines....(**Annabel; 2009**).

# *Partie pratique*



# *Matériels et méthodes*



## IV. Matériels biologiques

### IV.1 Matériel végétal

La plante de notre étude ( *Ammodaucus leucotrichus* ) ; famille des apiacées ; a été récoltée en Aout Wilaya de Bechar-Algérie, Sud-Ouest Algérien (Figure 09).

Au laboratoire, les parties aériennes (feuilles, tiges et graines) ont été récupérées et mises à sécher à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant plusieurs jours, ensuite elles ont été broyées en poudre fine à l'aide d'un moulin à café, la poudre végétale ainsi récupérée a été stockée soigneusement à l'abri de la lumière et à température.(Figure 10).



**Figure 08** : les parties aériennes d'*Ammodaucus leucotrichus* (photo originale)



**Figure 09**: Broyage de la plante (Photo originale)

### IV.2. L'extraction

#### IV.2.1. Macération dans l'eau distille

L'extraction par macération est réalisée sur de 10g de poudre végétale en présence de 100 ml de l'eau distillé à température ambiante pendant 24 heures et sous agitation. Après

filtration, les filtrats récupérés et évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression réduite et à une température de 100°C. Les résidus secs obtenus sont conservés à + 4°C.

#### **IV.2.2. Macération dans méthanol 80%**

L'extraction par macération est réalisée sur de 10g de poudre végétale en présence de 80% de méthanol et 20% de l'eau distillée pendant 24 heures et sous agitation. Après filtration, les filtrats récupérés et évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression réduite et à une température de 60°C. Les résidus secs obtenus sont conservés à + 4°C.

#### **IV.3. Préparation des extraits végétaux**

Après l'extraction par le méthanol et l'eau distillée. Chaque mélange est filtré et les deux extraits sont soumis aux différents tests.

#### **IV.4. Tests phytochimiques (Screening phytochimique )**

Les tests phytochimiques sont des tests qualitatifs qui permettent de caractériser les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques. Nous allons caractériser la présence des métabolites secondaires (saponosides, alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, coumarines, composés réducteurs et autres).

Les résultats ont été évalués comme suit : +++ : Fortement positif ; ++ : Moyennement positif ; + : Faiblement positif ; - : Négatif ; ND : non déterminé.

##### **IV.4.1. Les alcaloïdes**

Les tests sont réalisés par des réactions de précipitation avec les réactifs de Mayer, de Wagner et Dragendorff. 6 mL de chaque extrait sont évaporés à sec, le résidu est repris par 5 mL d'HCl 2N. Dans trois tubes à essai contenant 1mL du filtrat, nous avons ajouté 5 gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube, 5 gouttes du réactif de Wagner dans le second tube et 5 gouttes du réactif de Dragendorff dans le troisième tube, l'apparition d'un précipité blanc, brun et orange, respectivement, révèle la présence d'alcaloïdes. (**Majob, 2003**). (voir Annex)

##### **IV.4.2. Les substances polyphénoliques**

###### **IV.4.2.1 Tanins**

Dans un tube à essai, introduire 5 ml d'extrait à analyser, ajouter 1mL d'eau et et 1 à 2 gouttes de solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> diluée à 1%. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

- L'apparition d'une coloration verte foncée ou bleu-verte indique la présence des tanins.

-L'apparition d'une coloration verte foncée indique la présence des tanins catéchiqes.

-L'apparition de la coloration bleue-verte indique la présence des tanins galliques. (**Trease et Evans, 1987**)

#### **IV.4.2.2 Flavonoïdes :**

A 5 ml d'extrait à tester, ajouter, 1 ml d'alcool iso amylique, quelques copeaux de magnésium et quelques gouttes d'acides chlorhydrique (HCl), l'apparition d'une coloration rose ou rouge indique la présence des flavonoïdes. (**Karumi et al., 2004; cavé ,1993**)

#### **IV.4.2.3 Anthocyanes :**

A 1mL de l'extrait, nous avons ajouté 5 mL d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) à 10% puis de l'hydroxyde d'ammonium (NH<sub>4</sub>OH) à 25%. Si la coloration s'accroît par acidification, puis vire au bleu-violet en milieu basique, cela permet de conclure la présence des anthocyanes.

(**Derbray et al., 1971**)

#### **IV.4.2.4. Quinones :**

Les substances quinoniques sont recherchées par le réactif de Bornstraëgen. 2 mL de chaque extrait est évaporé à sec. Le résidu est trituré dans 5 mL d'acide chlorhydrique 37% au 1/5. Le triturât est versé dans un tube à essai et porté ensuite au bain-marie pendant 30 min. Après refroidissement, il est extrait par 20 mL de chloroforme. L'ammoniaque diluée 2 fois (0,5 mL) est ajouté à la solution chloroformique. Une coloration rouge ou violette confirme la présence de quinones. (**Oloyede, 2005**)

#### **IV.4.2.5. Saponines: Indice de mousse**

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, introduire respectivement 1, 2, 3,...,10ml de la solution à analyser. Ajuster le volume de chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée. Agiter chaque tube dans le sens de la longueur du tube pendant 15 secondes à raison de 2 agitations par seconde. Laisser reposer 15 min et mesurer l'hauteur de la mousse produite dans chaque tube.

L'indice de mousse (I) est calculée par la formule suivante :  $I = 1000 / N$

N est le numéro du tube où la hauteur de mousse est égale à 1 cm.

#### **IV.4.2.6. Coumarines : Fluorescence UV**

5 mL de chaque extrait est évaporé à sec. Le résidu ainsi obtenu est repris dans l'eau chaude. Un volume de cette phase aqueuse est additionné d'une solution d'ammoniaque (NH<sub>4</sub>OH) à 10% et un autre volume est gardé comme témoin. L'apparition de fluorescence après observation sous UV à 366 nm indique la présence de coumarines. (**Bruneton, 1999**)

**IV.4.2.7. Stérols et triterpènes : La réaction de Liebermann Buchard.**

Evaporer à sec 10 ml de la solution à analyser, dissoudre le résidu dans 5 ml d'anhydride acétique puis 5 ml de chloroforme. A l'aide d'une pipette ajouter 1 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré au fond du tube sans agiter. Laisser reposer 30 minutes. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et une coloration violette de la couche surnageant révèlent la présence de stérols et triterpènes. (**Trease et Evans, 1987**)

**IV.4.2.8. Composés réducteurs**

Introduire 2 ml d'extrait dans un tube, ajouter 2 ml de liqueur de Fehling (1ml réactif A et 1ml réactif B) et incubé l'ensemble 8 min dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

**IV.5 Piégeage du radical DPPH<sup>·</sup>**

Le DPPH<sup>·</sup> est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydant en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse. A température ambiante, le radical DPPH<sup>·</sup> présente, en solution alcoolique, une intense coloration violette qui disparaît au contact d'une substance donneuse de protons (figure 21). Cette décoloration met en évidence le pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm (**Masuda et al., 1999**).

Pour la mesure de l'activité, une prise d'essai de 1 ml d'extrait à différentes concentrations est mise en présence de 250 µl d'une solution de DPPH<sup>·</sup> (0.2 mM, préparée dans le méthanol). Le mélange est placé pendant 30 mn à l'obscurité pour réagir et l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un témoin négatif (sans extrait). L'antioxydant de synthèse utilisé est le BHT. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition, calculés suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange, selon la formule :

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (CI50). Une faible valeur de CI50 correspondant à une grande efficacité de l'extrait

**IV.6 Etude de la cytotoxicité vis-à-vis des érythrocytes****IV.6.1 Matériel biologique :**

Le globule rouge humain, (modèle universel de cellules animales), provenant d'un donneur unique sain.(O positif).

**IV.6.2 Préparation d'une solution par dissolution d'un composé solide (protocole standard pour les solutions suivantes : solutions mères des composés à tester, solution de lavage, solution tampon PBS):**

La quantité de matière à dissoudre (m : masse à dissoudre) est calculée par l'équation suivante :  $m = c.M.V$  (avec m en g, M en  $g.mol^{-1}$ , V en L et c en  $mol.L^{-1}$ ).

- a) Peser précisément la masse m en prélevant le solide avec une spatule propre et sèche.
- b) Pour cela, le placer dans une capsule de pesée ou un verre de montre préalablement taré
- c) Introduire le solide dans une fiole jaugée avec un entonnoir à solide. Rincer la capsule de pesée (ou le verre de montre) et l'entonnoir avec de l'eau distillée : verser l'eau de rinçage dans la fiole jaugée.
- d) Remplir la fiole jaugée aux trois quarts avec de l'eau distillée.
- e) Après l'avoir bouchée, agiter pour dissoudre le solide.
- f) Une fois la dissolution terminée, ajouter de l'eau à la pissette.
- g) Terminer à la pipette simple pour ajuster au trait de jauge.
- h) Reboucher la fiole jaugée et la retourner plusieurs fois pour bien homogénéiser la solution (cette étape est pour les solutions qui ne représentent aucun risque).
- i) La solution est prête : elle peut être stockée dans un flacon, étiquetée et utilisée ultérieurement.

**IV.6.3 Préparation des solutions mères des composés à tester :**

On choisit les concentrations mères du travail selon les concentrations utilisées industriellement. Les solutions ont été préparées seulement par l'eau distillée stérile, et dans des conditions stériles pour chaque composé. Chaque solution mère a été conservée dans une température de 4°C, à l'abri de la lumière.

**IV.6.3.1. Préparation de la solution de lavage :**

La solution de lavage consiste à préparer une solution de  $MgCl_2$  à 2mM contenant 150mM de NaCl.

**IV.6.3.2 Préparation de la solution tampon PBS:**

Pour préparer 1 litre de PBS 100mM, il suffit de mélanger une quantité suffisante pour 20mM de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  et une quantité suffisante pour 80mM de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  additionnée par 150mM de NaCl. Compléter à 1000 mL avec de l'eau distillée.

**IV.6.4. Etude de la cytotoxicité des conservateurs vis-à-vis des érythrocytes :****IV.6.4.1. Préparation de la suspension érythrocytaire :**

Du sang fraîchement prélevé sur tube hépariné est centrifugé à 4000 tours/minutes pendant 5 minutes. Après élimination du surnageant, le culot est lavé 2 fois avec la solution de lavage de chlorure de magnésium  $\text{MgCl}_2$  (2mM) contenant 150mM de NaCl, puis suspendu à nouveau dans le tampon phosphate salé de sodium (PBS) 100mM, pH 7,4 contenant aussi 150mM de NaCl

**IV.6.4.2 Evaluation de la toxicité des conservateurs vis à vis des globules rouges :**

Les globules rouges sont suspendus dans du tampon PBS pH 7,4 100mM, à raison de 4000 cellules/ml. La suspension érythrocytaire est incubée à 37°C sous agitation continue pendant 60 minutes, dès l'addition de la solution du composé à des concentrations finales différentes.

Des prélèvements de 500 $\mu\text{l}$  à partir de la solution réactionnelle sont effectués à intervalle régulier, auxquels nous avons ajouté 2ml d'une solution de lavage glacée ( $\text{NaCl}$  150mM,  $\text{MgCl}_2$  2mM).

Après centrifugation à 4000 tours/minutes pendant 5 minutes, nous avons récupéré le surnageant sur lequel on dose l'hémoglobine par la densité optique à une longueur d'onde de 548nm.

**IV.7 Animaux d'expérimentation**

Les expériences sont réalisées sur des rats, albinos, de la souche Wistar, pesant de 111 g  $\pm$  8grammes, hébergé au niveau de l'animalerie du département de biologie (Université de Saida).

Les rats sont groupés dans des cages de Makrolon (L x l x H= 40x25x18 cm) à raison de 2 males et 2 femelle , disposées dans une salle ventilée, à une température de 21°C  $\square$  1°C. Les animaux ont accès ad libitum à la nourriture (croquet pour rongeur) et à un biberon rempli d'eau du robinet

### IV.7.1 Répartition des groupes

**Lot témoin (T):** constitué par 4 rats qui reçoivent uniquement de l'eau distillée par voie orale.

**Lot Al cl<sub>3</sub> :** constitué de 4 rats qui reçoivent 100mg/kg/litre Chlorure d'aluminium dans l'eau distillée par voie orale. (Kumar ;2009)

**Lot Ext:** constitué de 4 rats qui reçoivent l'extrait aqueux d'*Ammodaucus leucotrichus* à raison de 100mg /kg dans l'eau distillée par gavage .(Touaibia ;2016).

**Lot Alcl<sub>3</sub>-EXT :** constitué de 4 rats qui reçoivent le Chlorure d'aluminium dans l'eau distillée par voie orale et l'extrait aqueux d'*ammodaucus leucotrichus* par gavage .

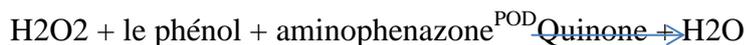
### IV.7.2 Evaluation du poids corporel et le poids relatif des organes

Le suivi des jeunes rats a nécessité une pesée quotidienne du poids corporel durant toute la période d'expérimentation depuis leurs sevrages jusqu'à la fin de l'expérimentation (60 jours) (n=04). Ensuite, on procède au sacrifice des jeunes rats et le poids des organes (foies et reins) est enregistré. Ces organes sont utilisés pour l'étude histologique.

## IV.8 Dosage biochimique

### IV.8.1 Dosage de la glycémie

La méthode utilisée pour le dosage de la glycémie est une méthode colorimétrique (Kit SPINREACT). Le glucose oxydase (GOD) catalyse l'oxydation du glucose sanguin en acide gluconique en formant le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Ce dernier est détecté par le phénol-aminophénazone avec la présence de la peroxydase (POD).



La densité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du glucose dans l'échantillon, calculé par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 505nm.

### IV.8.2. Exploration de la fonction rénale

#### IV.8.2.1. Dosage de l'urémie

L'urée sanguine est hydrolysée enzymatiquement en ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) et dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>). L'ion ammonium forme en réaction avec salicylate et hypochlorite (NaClO), dans la présence du catalyseur Nitroprusside pour former l'indophénol de couleur verte, le Kit utilisé est (Chrono Lab).



L'intensité de la couleur est mesurée par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 580nm.

#### **IV.8.2.2 Dosage de la créatinine**

La méthode utilisée pour le dosage de la créatinine est une méthode colorimétrique (Kit Chronolab). La Créatinine réagit avec le picrate alcalin en produisant une coloration orangé. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de la créatinine dans l'échantillon, la densité optique est mesurée par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 492 nm.

### **IV.9 Exploration de la fonction hépatique**

#### **IV.9.1. Dosage des transaminases (TGO-TGP)**

L'aspartate aminotransférase ASAT (TGP) et l'alanine aminotransférase ALAT (TGO), font partie d'un groupe d'enzymes, les aminotransférases ou transaminases, qui catalysent la transformation réversible des acides  $\alpha$ -cétoniques en acides aminés par transfert de groupes amines.

L. Aspartate +  $\alpha$ -cetoglutarate  $\xrightarrow{\text{TGO}}$  Oxaloacétique + L. glutamate.

Alanine +  $\alpha$ -Cetoglutarate  $\xrightarrow{\text{TGP}}$  Pyruvate + glutamate.

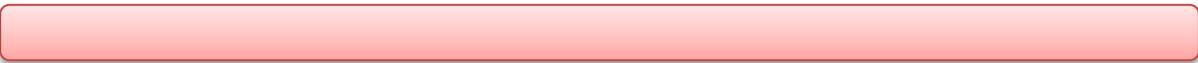
L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration de ces enzymes dans le sang, calculé par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 505nm à l'aide d'un (KitChronolab )

#### **IV.9.2 . Dosage de la bilirubine**

Dans le dosage de la bilirubine totale, bilirubine est couplée avec l'acide sulfanilique diazoté en présence de caféine pour donner un colorant azoïque. L'intensité de la coloration est mesurée à 578 nm, elle est directement proportionnelle à la concentration de l'échantillon(Kit Chronolab).

### **IV.10 Détermination des paramètres hématologiques**

Les paramètres hématologiques à savoir le taux d'hémoglobine (Hb),d'hématocrite (Ht), le nombre de globules rouges, le nombre de globules blancs et les plaquettes sont déterminés à l'aide d'un Coulter de type Sysmex XE-2100.



# **Résultats et interprétations**



**V. Résultats et interprétations****V.1. Principaux composés de l'extrait de la plante****V.1.1. résultats de screening phytochimique**

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plante. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique ou un examen sous la lumière ultraviolette.

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur le matériel végétal broyé de la partie aérienne *Ammodaucus leucotrichus* mentionnés dans le tableau 02 et 03, montrent la présence moyenne des anthocyanes et une présence de chacun des tanins, des flavonoïdes, des coumarines, des alcaloïdes, des stérols et triterpènes, avec une absence total des saponosides et des composes réducteurs dans la partie aérienne.

La présence des tanins dans l'extrait méthanolique et aqueux, est confirmée par une réaction positive avec la solution de chlorure ferrique en donnant une coloration bleue verdâtre ; il s'agit donc des tanins catéchiques.

La mise en évidence des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique et aqueux de notre plante est confirmée par l'apparition d'une couleur rose intense en contact avec la tournure de magnésium.

Le présence des anthocyanes dans l'extrait méthanolique et aqueux de notre plante. Sa présence est confirmée par une réaction positive par addition d'ammoniac en donnant une coloration vire au bleu-violacé.

Le test positif des hétérosides stéroïdiques est confirmé par l'apparition des colorations verte-violette.

La présence des alcaloïdes est confirmée par la précipitation et turbidité après addition des réactif Wagner et Mayer.

Le test positif des composés réducteurs confirmé par la formation d'un précipité rouge brique.

**Tableau 02:** Analyse phytochimique de l'extrait méthanolique d' *Ammodaucus leucotrichus*

Les composés	Soulevants d'extraction	M.S
Alcaloïdes	Extrait (methanol)	+
Quinones	Extrait (methanol)	++
Saponines	Extrait (methanol)	-
coumarines	Extrait (methanol)	Fluors
Sterol et terpenes	Extrait (methanol)	+
Composés réducteurs	Extrait (methanol)	-
Tanins galliques	Extrait (methanol)	++
Anthocyane	Extrait (methanol)	++
Flavonoïdes	Extrait (methanol)	+++

(+) Présence / (-) Absence

**Tableau 03 :** Analyse phytochimique de l'extrait aqueux d' *Ammodaucus leucotrichus*

Les composés	Soulevants d'extraction	M.S
Alcaloïdes	Extrait (Aqueux)	+++
Quinones	Extrait (Aqueux)	+++
Saponines	Extrait (Aqueux)	-
Coumarines	Extrait (Aqueux)	Fluorescence
Sterol et terpenes	Extrait (Aqueux)	+
Composés réducteurs	Extrait (Aqueux)	-
Tanins galliques	Extrait (Aqueux)	+
Anthocyane	Extrait (Aqueux)	+++
Flavonoïdes	Extrait (Aqueux)	++

(+)Présence / (-) Absence

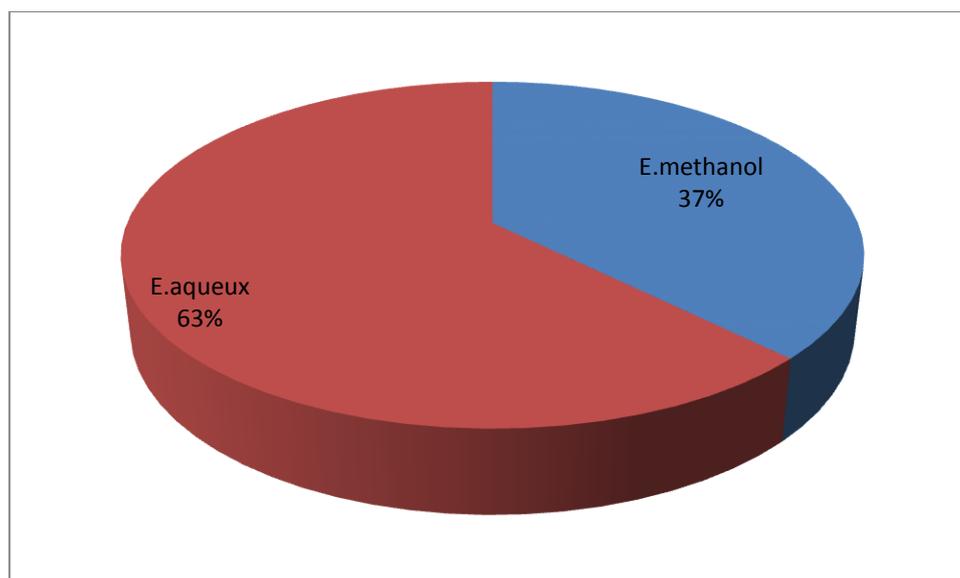
### V.1.2 Les rendements en extraits secs

Les extractions des différents composés dans notre plante nous ont permis de calculer le rendement de chaque extrait notamment l'extraits bruts méthanolique, l'extraits bruts aqueux. Le rendement déterminé par rapport à **10** grammes de matériel végétal sec et broyé pour l'extrait bruts méthanoliques et **10** grammes pour les l'extraits bruts aqueux est exprimé en pourcentage. Les résultats obtenus sont illustrés dans le **tableau 04**.

**Tableau 04.** Les rendements en extraits obtenus

Les Extraits	Les solvants utilisés	Rendements mg/ml	Rendement %
Extrait brut	Méthanol	5.6	37
Extrait brut	Eau	9.35	63

Les résultats obtenus montrent que le plus grand rendement déterminé est raisonnablement celui de l'extrait brut. Ces rendements viennent confirmer les intensités des résultats des tests phytochimiques (**Figure 10**).



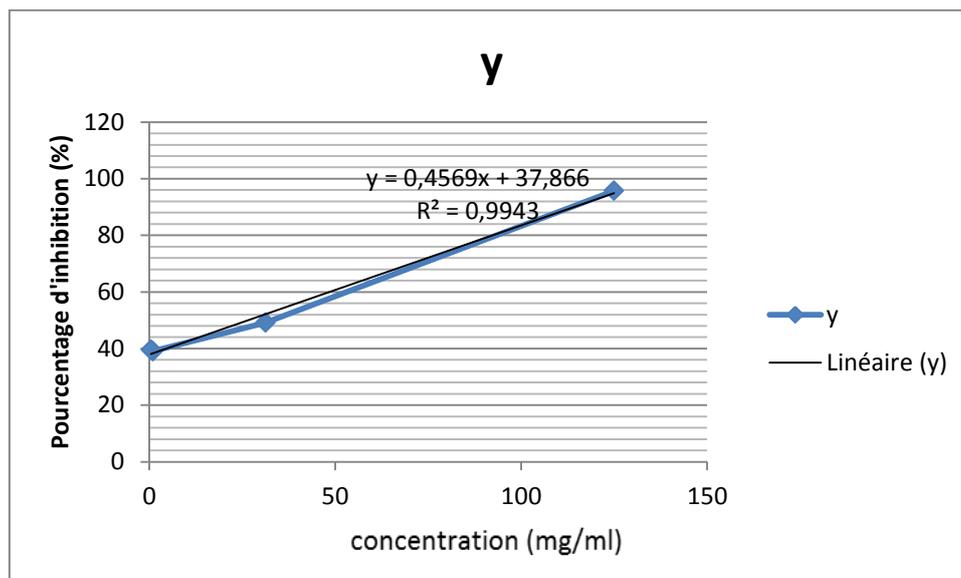
**Figure 10 :** Rendements des extraits obtenus.

### V.2 Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH pour *Ammodaucus leucotrichus* Extrait brut

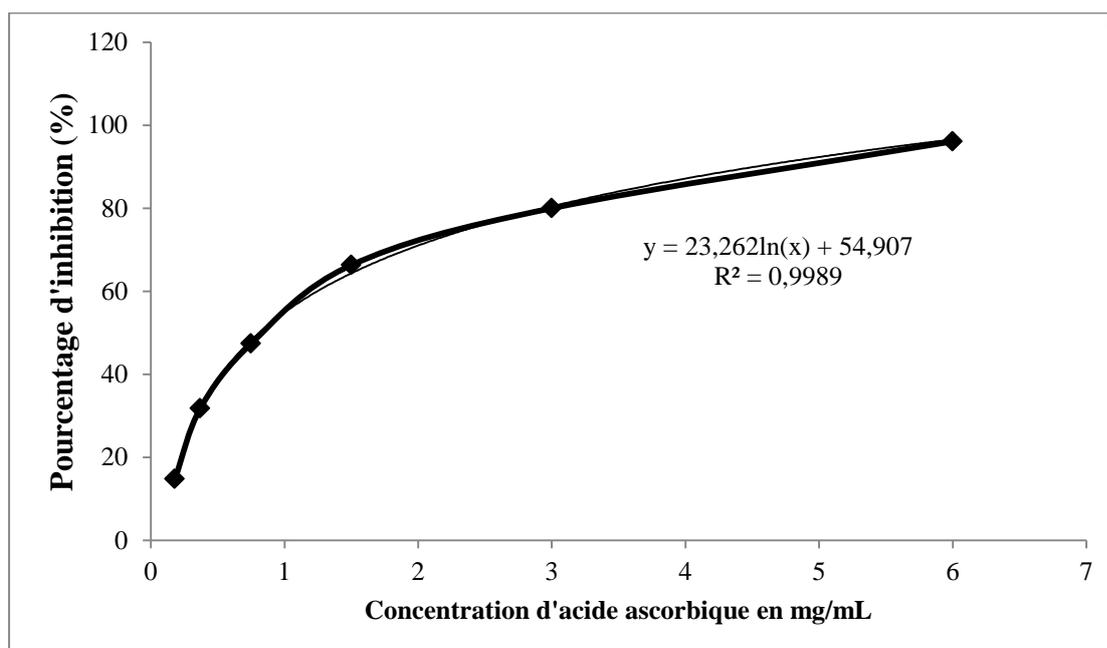
L'activité antioxydant de l'extrait d' *Ammodaucus leucotrichus* vis-à-vis le radical DPPH a été évaluée par spectrophotomètre en suivant sa réduction qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm.

Les différentes densités optiques ont permis de tracer une courbe (Figure 11), ce qui signifie l'existence d'une relation proportionnelle entre le pourcentage de réduction du radical libre et la concentration en extrait dans le milieu réactionnel.

Les résultats relatifs au test de l'activité antioxydant révèlent suite au calcul de l'IC50 (comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration initiale de 50%). Une concentration de 26.57 mg/ml.



**Figure 11 :** Pourcentages de réduction du radical libre DPPH par l'extrait de *Ammodaucus leucotrichus*.



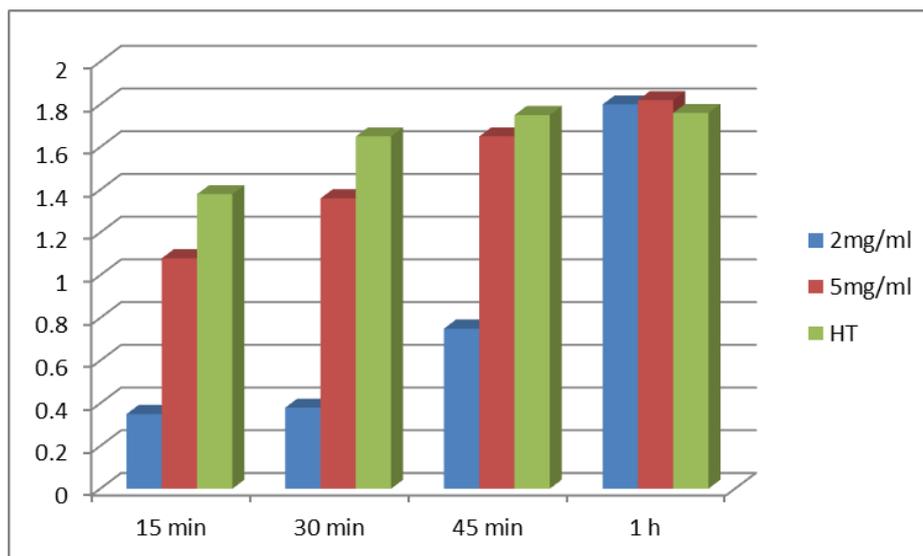
**Figure 12** : concentration de réduction du radical libre DPPH par Acide ascorbique de *Ammodaucus leucotrichus*

- **Pouvoir hémolytique de l'extrait brut méthanolique de *Ammodaucus leucotrichus***

Le pouvoir hémolytique a été évalué en utilisant les globules rouges humains comme modèle universel et Le résultats obtenus sont exprimés en terme de pourcentages d'hémolyse ; fuite d'hémoglobine intracellulaire, en fonction de temps, et les résultats rapporté dans la **figure 13**.

Les résultats obtenus, montrent que les pourcentages d'effet hémolytique d'extrait brut méthanolique de la plante *Ammodaucus leucotrichus* sont directement proportionnels à l'augmentation de concentration d'extraits en fonction du temps (**Figure 13**).

L'hémolyse maximale (1,82 nM) est obtenue à la concentration (5 mg/ml) après 15 min, cette concentration est considérée comme étant la plus toxique vis-à-vis des globules rouges. En revanche, l'hémolyse minimale (1,08 nM) est obtenue à la concentration (2mg/ml) après 60 min.



**Figure 13.** L'effet d'extrait brut méthanolique de *A. leucotrichus* sur la fuite de l'hémoglobine intracellulaire chez les globules rouges humains.

### V.3 Effet de l'aluminium sur le poids corporel et les organes :

Les résultats du poids corporel montrent que les animaux exposés au Al présentent une diminution significative du poids corporel à celle des animaux témoins durant la période d'expérimentation ce qui peut être expliqué par une baisse dans la prise alimentaire (food intake).

Les animaux qui sont exposés à l'aluminium et traités par EXT présentent une augmentation non significative du poids corporel par rapport aux rats intoxiqués non traités (Tableau 05).

Les résultats trouvés chez les animaux intoxiqués révèlent également une baisse significative dans le poids des organes (foie et rein) par rapport aux témoins (Tableau 05). Par contre, les animaux qui ont été traités par l'EXT présentent une augmentation non significative des poids des organes étudiés par rapport aux rats intoxiqués.

**Tableau 05 :** Evaluation des paramètres pondéraux des rats témoins, Al, et traité par l'EXT.

	Organes	AlCl <sub>3</sub>	AlCl <sub>3</sub> .EXT	EXT	Témoin
<b>Poids corporel (g)</b>		110,25±5.10	112.25±8.69	114±3,13	101,25±16,00
<b>Poids relatif</b>	Foie	5.435±0.39	5,56±0,35	6,16±1,09	6,43±0,54

(g)	Rein	G	0,485±0,03	0,5±0,02	0,44±0,09	0,57±0,04
		D	0,5±0,00	0,54±0,02	0,49±0,05	0,42±0,02

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM

#### V.4 Dosage biochimique :

##### V.4.1. Dosage de glycémie :

Les résultats montrent une augmentation significative du taux de la glycémie chez les rats intoxiqués par Al<sub>3</sub> respectivement par rapport aux rats témoins cependant l'administration de EXT a permis d'enregistrer une baisse dans le taux de glucose (Figure 15)



**Figure 14 :** Le dosage de la glycémie chez les jeunes rats témoins, intoxiqués par Al<sub>3</sub>, intoxiqués et traités à l'EXT.

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM ; Al vs T (\*\*:p<0.01); Al-EXT vs Al (\*:p<0.05)

#### V.4.2. Fonction rénale :

L'analyse biochimique des biomarqueurs rénaux à la fin de l'expérimentation à montré une élévation significative de la créatinine et de l'urée chez les rats exposés par l'Al comparés aux rats témoins. Ce qui montre que l'aluminium provoque un dysfonctionnement rénal (Tableaux 06). Après le traitement par EXT, on observe une nette correction des teneurs plasmatiques de la créatinine et l'urée créatinine et l'urée chez les rats Préalablement intoxiqués.

**Tableau 06 :** Effet de l'extrait de la plante *A. leucotrichus* sur le taux plasmatique de la créatinine et l'urée chez les rats intoxiqué par Al et les rats témoins.

	AlCl <sub>3</sub>	AlCl <sub>3</sub> EXT	EXT	Témoin
<b>Créatinine (mg/dl)</b>	5,9 $\pm$ 0,	5,21 $\pm$ 0.17	4,02 $\pm$ 0,8	4,88 $\pm$ 0.81
<b>Urée (g/l)</b>	0,53 $\pm$ 0,24	0,51 $\pm$ 0,03	0,3 $\pm$ 0,02	0,45 $\pm$ 0,17

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM

#### V.4.3 Exploration de la fonction hépatique :

L'analyse des marqueurs de la fonction hépatique , indique qu'au niveau sérique l'activité de l'ALT et AST sont significativement plus élevées chez les rats intoxiqués (Al) vis à vis aux rats témoins .Le traitement par l'extrait de la plante *A.leucotrichus* a permis d'observer une diminution significative dans les activités transaminases (ALT et AST) comparée aux rats intoxiqués par (Al) (Tableau 00). L'exposition par l'aluminium augmente la teneur en bilirubine totale chez les animaux intoxiqués (Al) comparées aux animaux témoins. L'administration l'extrait de plante réduit significativement les teneurs de la bilirubine totale chez aux rats intoxiqués au (Al) et traités par l'extrait de *A.leucotrichus* comparé aux rats intoxiqués (p<0.05) (Tableau 07).

**Tableau 07:**Effet de l'extrait de la plante *A.leucotrichus* sur l'activité des enzymes hépatiques et la teneur en bilirubine chez des rats intoxiqués par l'aluminium comparé aux rats témoins.

	AlCl <sub>3</sub>	AlCl <sub>3</sub> .EXT	EXT	Témoin
ALT (TGP) (UI/l)	52,25±22,15	39,5±1.84	38±1.13	38±1,00
AST (TGO) (UI/l)	193,75±56,23***	127±8.81**	123,5±4.19	132,5±1.5
Bilurbiné totale (mg/dl)	3,52±0,17***	3,12±0.91***	1,78±0.12	1,9±0,05

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM (\*\*\*: p<0.001, \*\*: p<0.01).

#### V.4.4. Bilan lipidique :

L'analyse statistique révèle que la teneur en lipides plasmatiques essentiellement les triglycérides et le cholestérol total sont significativement supérieurs (p<0,001) chez les rats intoxiqués (Al) comparé aux des témoins

Par ailleurs, l'administration de l'EXT chez les rats préalablement exposés ont montré une réduction significative (p<0,01) des paramètres biochimiques (triglycérides et le cholestérol total) comparé au rats intoxiqués.

**Tableau 08:** Effet de l'extrait de la plante *A.leucotrichus* sur les différents paramètres biochimiques chez des rats intoxiqués par l'aluminium comparés aux rats témoins.

	AlCl <sub>3</sub>	AlCl <sub>3</sub> .EXT	EXT	Témoin
Cholestérol total (g/l)	0,67±0,32	0,43±0,02	0,38±0,01	0,5±0,23
Triglycérides	0,81±0,43	0,75±0,21	0,5±0,04	0,49±0,02

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM

#### V.4.5 Effet d'aluminium sur les Paramètres hématologiques

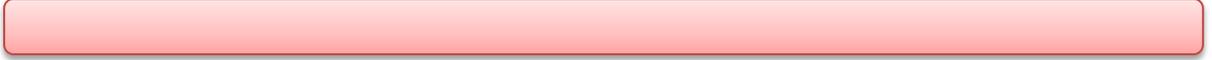
La détermination des paramètres hématologiques (FNS) chez les rats intoxiqués par le l'aluminium après les 45 jours d'expérimentation a révélé une baisse significative des globules rouges, Les leucocytes et les plaquettes et l'hémoglobine chez les rats intoxiqués comparés aux témoins ce qui indique que l'aluminium a provoqué une anémie chez les rats (Tableau 09).

**Tableau 09:** La Détermination des paramètres hématologiques chez les rats Témoins, intoxiqués aux AlCl<sub>3</sub>, intoxiqués et traités à l'EXT

	AlCl <sub>3</sub>	AlCl <sub>3</sub> .EXT	EXT	Témoin
GB (10 <sup>3</sup> /UI)	5,9±0,32***	6,02±0,21	6±0,31	14,27±2.22
HGB	12,55±	12,3±	12,35±	10,4±

(g /dl)	0.97	0,27	0,29	0.58
<b>GR</b> (10 <sup>6</sup> /UI)	6,81± 0.51	7,31± 0.89	5,73± 0,26	5,21± 0.51
<b>HCT</b> %	41,67± 3.13	35,9± 1,01	33,72± 1,91	38,42± 0.8
<b>PLT</b> (10 <sup>3</sup> /UL)	120,75± 9,74***	725,27± 17***	329,5± 19.75***	276,5± 22.50

Les valeurs sont exprimée en moyenne ± SEM (\*\*\*) :p<0,001)



# Discussion



L'aluminium est connu pour ses effets toxiques sur différents organes, tels que le foie, le cerveau, les os, les reins et le sang ( Ozakaya et al., 2010). Il a été suggéré qu'il y a une corrélation entre la dose élevée de l'aluminium et le risque de l'apparition de diverses pathologies, entre autres la maladie d'Alzheimer, et la maladie de Parkinson et l'anémie (Becaria et al., 2002 ; Yokel, 2002). Ce métal lourd est susceptible d'induire un déséquilibre de la balance prooxydant/antioxydant au niveau cellulaire (Kalaiselvi et al., 2014 ; Kassab et Bauomy, 2014 ; Singh et al., 2014). Dans l'intention de mettre cette balance en équilibre il est conseillé d'utiliser des antioxydants entre autres les extraits des plantes qui sont riches en métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes, tanins ; etc.) (Kumar et Gill ; 2014).

### **1. Rendement et composition chimique**

Toutefois, l'extrait de la plante de *A. leucotrichus* a été obtenu par macération à partir de la matière sèche broyée avec un rendement de 17,3%, ceci est relativement en accord pas avec les travaux de **Sifi et al. (2015)** qui ont rapporté une valeur de 20,40% avec du méthanol. Ce niveau élevé peut être dû au solvant utilisé.

Les rendements sont élevés dans les extraits bruts méthanolique, ceci a été prouvé par plusieurs études qui ont suggéré que le méthanol est le solvant le plus utilisé pour extraire les composés phénolique d'une plante (**Falleh et al., 2008**).

En effet, il est difficile de comparer les résultats du rendement avec ceux de la bibliographie, car ils ne sont que relatifs et dépendent de la méthode et les conditions dans les quels l'extraction a été effectuée, ainsi de l'origine géographique de la plante, conditions pédoclimatiques, et du fait de la différence de composition et des structures chimiques contenues dans le produit naturel. (**Sefidkon, 2001**).

### **Etude phytochimique**

Très peu de travaux ont été réalisés sur l'étude phytochimique et l'évaluation des propriétés biologiques de *A. leucotrichus*. Pour cela, il est nécessaire de comparer nos résultats avec des espèces du même genre. Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur la partie aérienne montrent la présence des tanins, flavonoïdes, anthocyanes, coumarines, les alcaloïdes, stérols et triterpènes et composés réducteurs. Ces résultats concordent avec les travaux de **Halla et al., (2018)** qui ont illustrés la présence des mêmes composants au sein de la même espèce.

## Activité antioxydant

Les propriétés antioxydantes des plantes médicinales ne peuvent pas être évaluées par méthode unique en raison de la variété de composés phytochimiques complexes. Ainsi, deux méthodes largement utilisées ont été utilisées dans cette étude DPPH, qui sont basées sur le piégeage des radicaux libres et de réduire les capacités de puissance des extraits des plantes.

L'activité antioxydante de l'extrait la plante *A. leucotrichus* a été évaluée par la mesure des activités de piégeage de radical DPPH qui est stable de couleur violet foncé qui va changé au jaune en acceptant un électron a partir d'un antioxydant (**Prieto et al., 1999**).

Les résultats obtenus montrent une valeur de IC50 de 26.57 mg/ml et ceci en n'accord pas avec les travaux de (**Halla et al ., 2018**) qui a montré que la valeur IC50 d'activité antioxydante de la plante d' *A. leucotrichus* est de  $5,702 \pm 0,373$ mg/ml.

La plupart des études sur l'activité antioxydante des fruits d' *A. le* La plupart des études sur l'activité antioxydante des fruits d' *A. leucotrichus* étaient limitées aux huiles essentielles. Contrairement à nos résultats, **Rached et al. (2010)** ont révélé que l'extrait aqueux de la partie aérienne de *A. leucotrichus* présentait une IC50 de  $0,045 \pm 0,001$  mg / ml. Cette dissimilarité peut être due à la différence des parties ou du solvant utilisé.

L'activité antioxydante des extraits des plantes est due essentiellement à la présence des composants bioactifs dans l'extrait testée (**Vermeris et Nicholson, 2006**). Il semble aussi que cette activité est liée à la présence des composés phénoliques dans l'extrait d'*A. leucotrichus* (**Halla et al ., 2018**). Le rôle principal des composés comme réducteurs des radicaux libres est souligné dans plusieurs rapports (**Villano et .,al 2007**). Cependant, d'autres études montrent que l'activité anti-radicalaire est corrélée avec le taux des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits des plantes médicinales (**Mariod et al., 2009**). Le mécanisme de la réaction entre l'antioxydant et le radical DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant (**Kouri et al., 2007**). Ce dernier réagit avec le radical DPPH en réduisant un nombre égal aux groupements hydroxyles portés par la molécule de l'antioxydant (**Chung et al., 2005**). Par ailleurs, ce n'est pas uniquement les composés majoritaires des extraits qui sont responsables de cette activité antioxydante, mais il peut y avoir aussi d'autres composés minoritaires qui peuvent interagir d'une façon synergique ou antagoniste pour créer un système efficace vis-à-vis des radicaux libres (**Gulcin et al., 2004 ; Dorman et al., 2000**).

### Pouvoir hémolytique de l'extrait

En considérant l'utilisation de ces plantes en médecine traditionnelle, l'étude des propriétés d'hémolyse de leurs extraits doit être réalisée, compte tenu de la sensibilité de l'être humain à l'hémolyse induite par certaines substances (**Devecioglu et al., 2001**)

La cytotoxicité d'extrait brut méthanolique d'*A. leucotrichus* vis-à-vis des globules rouges est élevée au bout de 60 minutes par rapport aux premières 30 minutes d'incubation. Sachant que les compositions phénoliques, aldéhydes et alcools favorisant la lyse des globules rouges, de ce fait nous pouvons dire que l'activité cytotoxique des extraits est liée le plus souvent à la présence de ces composés (**Sacchetti et al., 2005**).

### Pouvoir hémolytique de l'extrait

En considérant l'utilisation de ces plantes en médecine traditionnelle, l'étude des propriétés D'autre part, **Wenting et al., (2014)** ont étudié l'effet de l'aluminium administré aux rats wistar (281,4 mg/kg/jour) par gavage pendant un mois. Les résultats ont montré que l'exposition à l'aluminium pourrait avoir une influence sur la prise alimentaire, le tractus gastro-intestinal et l'absorption des aliments au niveau **et al., 2014**).

Par conséquent, l'administration de l'extrait d'*A. leucotrichus* à des rats préalablement exposés à l'aluminium a permis d'observer une nette augmentation dans le gain corporel ceci comparé aux animaux exposés à l'aluminium et non traités. Ce regain de poids enregistré pourrait être dû à la présence de composés terpénoïdes qui agissent en stimulant le transport du glucose dans les cellules (**Vinay Dwivedi et al., 2011**). Vu que, les variations du glucose et l'hormone d'insuline dans le sang sont liées à l'appétit, à la faim et à différents besoins en nourriture, particulièrement des besoins en hydrates de carbone. En contrôlant le taux de ces paramètres dans le sang, elle constitue donc un complément efficace pour corriger la perte de poids chez l'animal (**Judpentiene et Mockute, 2004**).

## Impact du Aluminium sur les paramètres biochimiques

Par ailleurs, Thirunvukkarasu et al., 2012 ont intoxiqué des rats avec  $AlCl_3$  (100mg/kg) et traités par *Manasamitra vatakam* (100mg/kg) pendant 90 jours. La présence des molécules actives telles que la saponine et les flavonoïdes dans l'extrait de *Manasamitra vatakam* a induit à une diminution des activités d'AST, ALT et taux de LPO dans les foies des rats intoxiqués. Ces résultats corroborent avec ceux de Shrivastava, (2013) qui a intoxiqué des rats par le nitrate d'aluminium et traité cette intoxication par l'introduction de l'extrait de l'ail ('Allium Sativum). L'introduction a induit une augmentation de l'activité d'AST, ALT et LDH, l'introduction de l'extrait de l'ail a abouti à une diminution de l'activité de ces paramètres, ceci pourrait être dû à la présence de métabolites secondaires biologiquement actifs (Shrivastava, 2013).

L'urée et la créatinine sont des marqueurs biochimiques très spécifiques ; ces marqueurs sont employés dans les diagnostics des dommages au niveau rénal (Saleh et al., 2012 ; Soliman et al., 2012). Dans le cas d'une atteinte rénale, l'urée et la créatinine seront secrétées en abondance dans le sang (Nwanjo et al., 2005).

Nous avons enregistré des taux élevés d'urée et de créatinine au niveau sérique dans des groupes intoxiqués par  $AlCl_3$  par rapport aux groupes témoins. Plusieurs auteurs reportent des résultats similaires (Shilpi et al., 2009 ; Mohammadirad et al., 2011 ; Silpa, 2014 ; Al-Qayin et Mashi, 2014 ; Kalaiselvi et al., 2015). L'augmentation du taux d'urée et de créatinine chez les rats intoxiqués à l'aluminium reflète une dysfonctionnement rénal (Shrivastava, 2013). Ce métal lourd peut être impliqué dans des pathologies à désordre clinique sévère au niveau rénal (Shrivastava, 2013).

Le taux de créatinine et urée des groupes intoxiqués traités à la plante décroît non significative par rapport aux rats intoxiqués par  $AlCl_3$ . Les rats traités à la plante seuls ne présentent pas des taux de créatinine et urée élevés à ceux de rats intoxiqués par l' $AlCl_3$ , dès lors la consommation de la plante a produit une amélioration au niveau rénal. Nos résultats comparables aux travaux de Kalaiselvi et al., (2015) qui ont intoxiqué les rats avec  $AlCl_3$  (100 mg/kg), et traité les rats par l'extrait de (100 mg/kg) pendant 08 jours. L'ajout de dans les groupes intoxiqués engendre la réduction des niveaux de l'urée, acide urique et la créatinine. La présence des polyphénols et des flavonoïdes dans l'extrait de peut être responsable de son rôle néphroprotecteur.

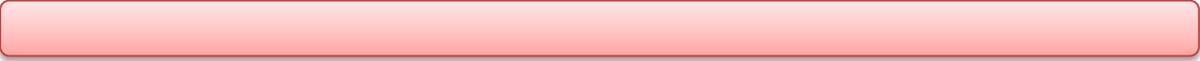
Ainsi, il est raisonnable de penser que les effets protecteurs observés de l'extrait aqueux de *Ammodaucus Leucotrichus* contre les altérations des paramètres biochimiques induites par

l'ALCL<sub>3</sub> pourraient être dus à la présence des coumarines, alcaloïdes, tanins, saponines et stéroïdes parmi d'autres constituants végétaux.

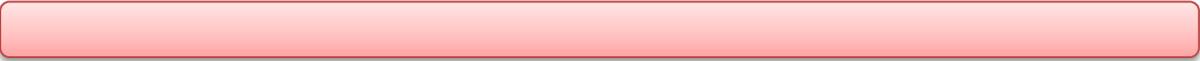
### **Impact de l'aluminium et l'extrait de la plante sur les paramètres hématologiques**

Par ailleurs, les effets de l'Al au niveau hématopoïétique a été également exploré. Les observations ont illustré que l'administration de l'Al chez les rats provoque une diminution des globules rouges, leucocytes, hémoglobine comparés aux témoins. Cette diminution est due à des perturbations hématologiques partant essentiellement l'inhibition de la production des érythrocytes, augmentation dans la destruction de l'érythrocyte et la perturbation de l'absorption de fer. Plusieurs auteurs ont montré que l'Al peut provoquer une anémie microcytaire (**Short et al., 1980; Touam et al., 1983**).

En revanche, on a remarqué que ces différentes anomalies causé par ces métaux sont corrigées par l'administration de l'huile essentielle l'extrait *d'A.leucotrichus*. Ce qui est traduit par son pouvoir régulateurs des différents métabolismes, à son pouvoir protecteur des membranes contre l'attaque radicalaire et à la diminution de la peroxydation des lipides et l'oxydation des protéines au niveau hématopoïétique.



# *Conclusion Générale*



## **Conclusion Générale**

L'intérêt principal de cette étude en premier lieu, d'évaluer le risque de l'intoxication d'aluminium et les mécanismes impliqués dans leurs pouvoir toxique en utilisant différentes approches expérimentales; hématologique, biochimiques et également d'étudier l'efficacité de l'administration de l'extrait aqueux d'*Ammodaucus leucotrichus* à rétablir ou non les dommages causés par ces éléments chimiques.

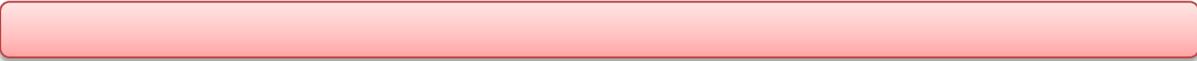
En effet, les différents résultats entrepris chez l'animal ont permis de montrer que l'aluminium à forte dose induisait des effets délétères sur les différents compartiments de l'organisme, plus particulièrement sur le système rénal et hépatique.

Nos résultats ont montré que l'exposition des rats au chlorure d'aluminium à une dose de 100mg/kg/l, traduit par une réduction du poids corporel et une diminution des poids des organes. L'intoxication ( $AlCl_3$ ) a permis d'enregistrer une hyperglycémie et perturbation des différents paramètres biochimiques par une augmentation des concentrations des biomarqueurs de la fonction rénal (urée et créatinine) et ceux de la fonction hépatique (TGO, TGP, cholestérol et triglycérides)

L'activité antioxydant des extraits des plantes est due essentiellement à la présence des composants bioactifs dans l'extrait testée. Il semble aussi que cette activité est liée à la présence des composés phénoliques dans l'extrait d'*A. leucotrichus*. La cytotoxicité d'extrait brut méthanolique d'*A. leucotrichus* vis-à-vis des globules rouges est élevée au bout d'incubation Sachant que les compositions phénoliques, aldéhydes et alcools favorisant la lyse des globules rouges,



***Références bibliographiques***



**Références bibliographiques**

1. Abu Zarga M.H, Al-Jaber H.I, Baba Amer Z.Y, Sakhril L, Al-Qudah M.A, Al-humaidi J.Y.G, Abaza I.F, Afifi F.U (2013). Chemical Composition, Antimicrobial and Antitumor Activities of Essential Oil of *Ammodaucus leucotrichus* Growing in Algeria. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 3:3, 224-231.
2. Beghalia M, Ghalem S, Allali H, Belouatek A, Marouf A (2009). Effects of an aqueous extract from *Ammodaucus leucotrichus* on calcium oxalate crystallization in vitro. *Medicinal Plants*, 1(1) January.
3. Botineau M (2010). *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*. Edition Tec et Doc / Lavoisier 1336 p.
4. Dupont F, Guignard J.L (2012). *Botanique: Les familles des plantes*. Elsevier Masson, 15<sup>ème</sup> édition, 336 p.
5. IUCN: International Union for Conservation of Nature and Natural Resources (2005). *Aguide to medicinal plants in North Africa*. IUCN The World Conservation Union; 1<sup>st</sup> edition, Centre for Mediterranean Cooperation, Malaga (Spain), 256 pages (pp 27-28).
6. Lahsissene H, Kahouadji A, Tijane M, Hseini S (2009). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de zaër (Maroc occidental). *Revue de botanique Lejeunia* N°186, 30 p.
7. Ozenda P (1983). *Flore du Sahara*. France : éditions du CNRS, 441 p
8. Seidemann J (2005). *World Spice Plants: Economic Usage, Botany, Taxonomy*. Springer Verlag Berlin Heidelberg, 593 p (pp34).
9. Aluminium et dérivés. Fiche toxicologique et environnementale. INERIS, 2005
10. Toxicological profile for Aluminum. ATSDR, 2008
11. Statement on the potential risks from aluminium in the infant diet. Committee on toxicity of chemical in food, consumer products and the environment. 2013.
12. Safety of aluminium from dietary intake. EFSA, 2008.
13. Aluminum-containing food additives. WHO Food additives series : 65. FAO, 2012.  
Yokel RA et McNamara PJ - Influence of renal impairment, chemical form, and serum protein binding on intravenous and oral aluminum kinetics in the rabbit. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1988 ; 95(1) : 32-43.

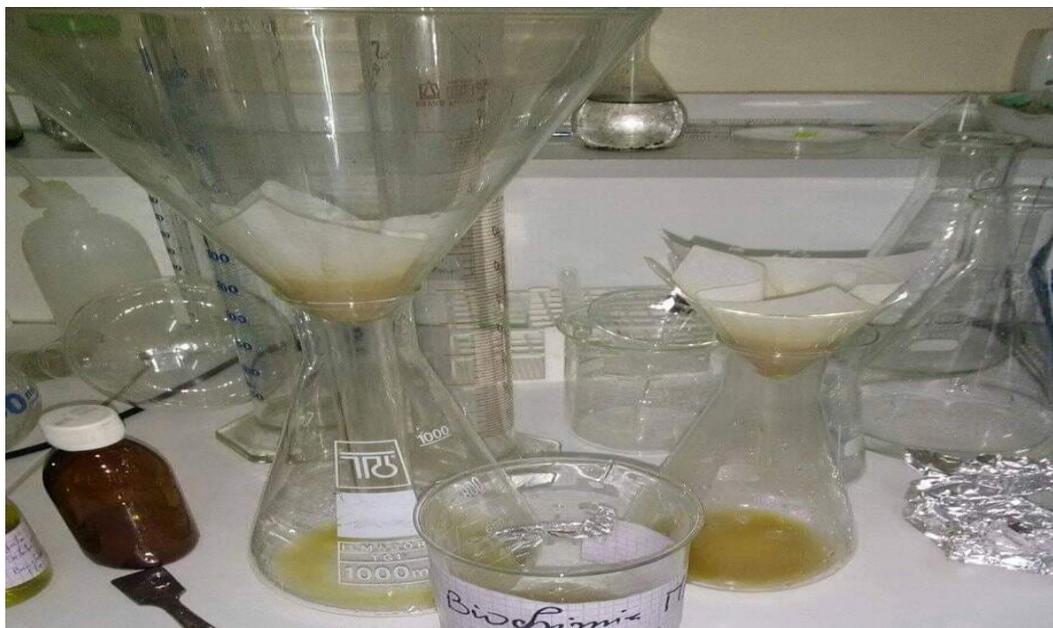
14. Anane R, Bonini M, Grafeille MJ et al - Bioaccumulation of water soluble aluminum chloride in the hippocampus after transdermal uptake in mice. Arch Toxicol.1995 ; 69(8) : 568-571
15. | Chlorure d'aluminium, Nitrate d'aluminium, Sulfate d'aluminium. Rapport d'évaluation, liste des substances d'intérêt prioritaire, Loi canadienne sur la protection de l'environnement. Environnement Canada, Santé Canada, 2010.
16. Regehr JL et Sutherland JE - Aluminum exposure and metabolism. Crit Rev Clin Lab Sci. 1997 ; 34(5) : 439-474.
17. Flarend R, Bin T, Elmore D et al - A preliminary study of the dermal absorption of aluminum from antiperspirants using aluminum-26. Food Chem Toxicol. 2001 ;39(2) : 163-168
18. Aluminium et dérivés. Fiche toxicologique et environnementale. INERIS, 2005
19. Aluminium et ses composés minéraux Fiche toxicologique n°306,2014
20. Day J.P., Barker J., King R.V., Miller J and al. Biological chemistry of aluminium studied using Al and accelerator mass spectrometry. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research,1994; B92:463-468.
21. ATSDR. Toxicological Profile for Aluminium. July 1999
22. Kaehny WD, Hegg AP, Alfrey AC. Gastrointestinal absorption of aluminum from aluminum containing antacids. New England Journal of Medicine 1977;296(24):1389-90.
23. Lauwerys R.R., Hoet P. Industrial chemical exposure : Guidelines for biological monitoring Lewis publishers. 3rd Ed. 2001;638p.
24. Valkonen S, Aitio A. Analysis of aluminium in serum and urine for the biomonitoring of occupational exposure. Science of the Total Environment 1997;199(1-2):103-10.
25. Julien SONTONNAX. L'aluminium et son potentiel toxique 2014 ;65(04) :142pages
26. TAÏR K ,Recherche et évaluation des effets cytoprotecteurs de l'extrait aqueux d'Arthrophytum « Hammadascoparia » chez les rats exposés à l'Aluminium.2017 ;21(1-6) :231pages
27. Colomina, M.T., Roig, J.L., Torrente, M., Vicens, P., Domingo, J.L. 2005. Concurrent exposure to aluminum and stress during pregnancy in rats: Effects on postnatal development and behavior of the offspring. Neurotoxicol. Teratol. 27(4):565-574.

28. Chen, J., Wang, M., Ruan, D., She, J. 2002. Early chronic aluminium exposure impairs long-term potentiation and depression to the rat dentate gyrus in vivo. *Neuroscience* 112(4):879-887.
29. Golub, M.S., Germann, S.L. 2000. Long-term consequences of developmental aluminum (Al) in mice. *Neurotoxicol. Teratol.* 22(3):460.
30. Golub, M.S., Han, B., Keen, C.L., Gershwin, M.E. 1992a. Effects of dietary aluminum excess and manganese deficiency on neurobehavioral endpoints in adult mice. *Tox. Appl. Pharmacol.* 112(1):154-160.
31. Golub, M.S., Han, B., Keen, C.L., Gershwin, M.E. 1993. Developmental patterns of aluminum in mouse brain and effects of dietary aluminum excess on manganese deficiency. *Toxicology* 81(1):33-47.
32. Lima, P.D., Leite, D.S., Vasconcellos, M.C., Cavalcanti, B.C., Santos, R.A., Costa-Lotufo, L.V., Pessoa, C., Moraes, M.O., Burbano, R.R. 2007. Genotoxic effects of aluminum chloride in cultured human lymphocytes treated in different phases of cell cycle. *Food Chem. Toxicol.* 45:1154-1159.
33. Sharma, P., Mishra, K.P. 2006. Aluminum-induced maternal and developmental toxicity and oxidative stress in rat brain: response to combined administration of Tiron and glutathione. *Reprod. Toxicol.* 21(3):313-321.
34. Wang, M., Chen, J.T., Ruan, D.Y., Xu, Y.Z. 2002a. The influence of developmental period of aluminum exposure on synaptic plasticity in the adult rat dentate gyrus in vivo. *Neuroscience* 113(2):411-419.
35. Buckle J (2003) *Clinical Aromatherapy*. Churchill Livingstone, Edinburgh-London-New York-Oxford-Philadelphia-St. Louis-Sydney Toronto k, pp. 213-27
36. Buckle J (1999) Use of aromatherapy as a complementary treatment for chronic pain. *Altern Ther Health Med* 52(5): 331-3
37. Chambliss CR, Heggen J, Copelan DN, et al. (2002) The assessment and management of chronic pain in children. *Pediatr Drugs* 4(11):737-46
38. Grosmann J, Hippeli S, Dornisch K, et al. (2000) Antioxidant properties of essential oils. Possible explanations for their anti-inflammatory effects. *Arzneimittelforschung.* 50(2):135-9
39. Harris B (2006) Analgesic and anti-inflammatory eucalyptus. *The International Journal of Aromatherapy* 16: 51-4

40. Kim MJ, Nam ES, Paik SI (2005) The effects of aromatherapy on pain, depression, and life satisfaction of arthritic patients. *Taehan Kanho Hakhoe Chi* 35(1): 186-94
41. Peana AT, D'Aquila PS, Panin F, et al. (2002) Anti-inflammatory activity of linalol and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine* 9(8): 721-6
42. Sharma JN, Srivastava KC, Gan EK (1994) Suppressive effects of eugenol and ginger oil on arthritic rats. *Pharmacology* 52(5): 314-8
43. Vickers A (1996) *Massage and Aromatherapy. A guide for health professionals.* Chapman & Hall, London-Weinheim-New YorkTokyo-Melbourne-Madras
44. Mohammedi Zohra. ;Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie ;2013 ;p(22-23)
45. Benzeggouta Nairouz, Evaluation des Effets Biologiques des Extraits Aqueux de Plantes Médicinales Seules et Combinées ;2015,p(6-7).
46. TREASE E., EVANS W.C . 1987- Pharmacognosie, Billiaire Tindall. London 13 th Edition. P 61-62. In Karumi Y, Onyeyili PA et Ogugduaja VO, 2004. Identification des principes actifs de l'extrait de feuilles de *M. balsamia* (Baume du pommé). *Journal of Medicine and scientific. Nigeria.* Vol. 4(3): 179-182.
47. Khan, A. V., Q. U. Ahmed, I. Shukla, and A. I. Khan. 2011. Antibacterial activity of leaves extracts of *Trifolium alexandrinum* Linn. against pathogenic bacteria causing tropical diseases. *Asian Pacific. J. Trop. Biomed.* 11:189–194
48. Oloyede O. I., (2005). Chemical Profile of unripe Pulp of *Carica papaya*. *Pakistan Journal of Nutrition* ; 4 (6): 379-381. (Aworet Samseny *et al.*,2003). **Mucilages**
49. Aworet Samseny R-R. Contribution à l'étude phytochimique d'une plante traditionnellement utilisée comme poison d'épreuve au Gabon : le *Strychnos Icaja* Baillon (Mbundu), Loganiacée. Thèse, Université de Bamako, Faculté de Médecine, de Pharmacie Et d'Odonto - Stomatologie, Mali.2003.Available on .
50. Bruneton J., (1999). Pharmacognosie-Phytochimie-Plantes médicinales. Technique et documentation. Lavoisier 3ème édition 17(5): 54-61
51. Majob F., Kamalinejab M., Ghaderi N., Vahidipour H.R., 2003. Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranien Journal of Pharmaceutical Research.* 77-82
52. Karumi Y ; Onyeyili PA ; Ogugb uaja VO; 2004. Identification of active principales of *M. balsamina* (Balsam apple) leaf extract. *J Med Scien* 2004 ; 4: 179-182.
53. Derbray M. jacquemin H, Razafindrambo R.(1971). Travaux et documents de l'Orstom (Paris, N°8).

# ***ANNEXE***

**Annexe 01 : Préparation des extrais méthanolique et aqueux**



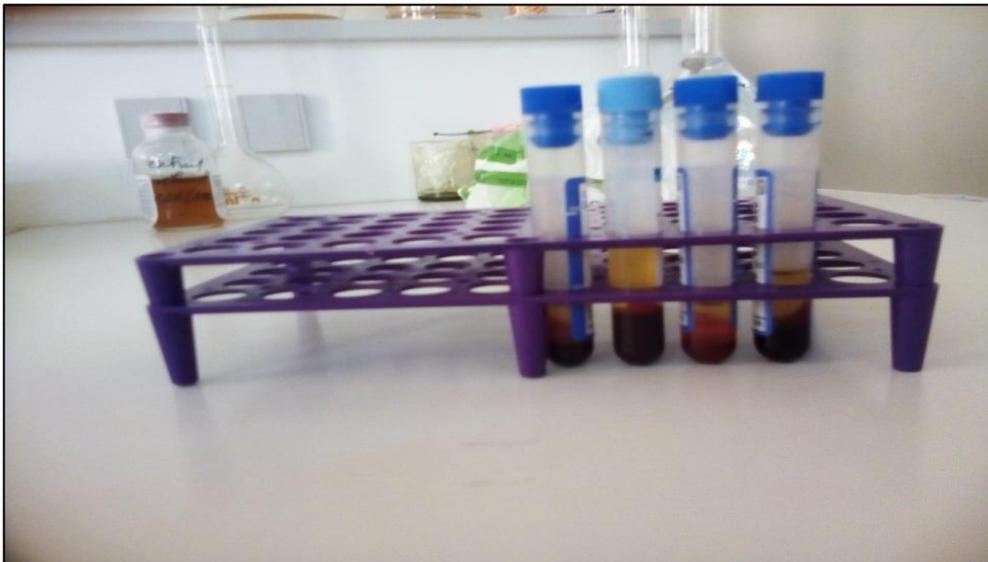
**Annexe02 : Préparation des extrais méthanolique et aqueux**



Annexe :



Annexe :



Annexe : Préparation de la suspension érythrocytaire



Annexe : Incubation du suspension érythrocytaire sous agitation continue



Annexe : Centrifugation de la solution réactionnelle à 4000 tours/minutes pendant 5

