

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique
Université de Saïda Taher Moulay
Faculté des Sciences
Département de Biologie



Laboratoire de Bio-Toxicologie Pharmacognosie
Et valorisation des plantes médicinales

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de master en Biologie
Option : Biotechnologie végétal

Présenté par

- AMARI Asmaa
- BENARBIA Ouarda

Intitulé

Evaluation des effets thérapeutiques de l'extrait aqueux de
Salvia argentea sur des rats wistar suite à une intoxication
sub-chronique au Nickel

+ étude neurocomportementale et histopathologie

Président : Dr HACHEM Kadda..... Maitre de conférence (A)

Examineur : Melle CHIKHI Amira Maitre assistante (A)

Encadreur : Mme BENABDESSLEM Yasmina ... Maitre assistante (A)

Invité d'honneur : Pr KAHLOULA Khaled Professeur

Année Universitaire 2017-2018

Remercîment

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

La première personne que nous tenons à remercier est notre encadrant « Mme. Hachem », pour l'orientation, la confiance, la patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être menée.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail Et de l'enrichir par leurs propositions.

Ce mémoire n'aurait pas été possible sans l'intervention, consciente, d'un grand nombre de personnes.

Nous souhaitons ici les en remercier.

Nous tenons d'abord à remercier très chaleureusement « Ms. Hachem » « melle. chikhi » qui nous a permis de bénéficier de son conseils et la confiance qu'il nous a témoignés ont été déterminants dans la réalisation de notre travail de recherche

Nous remercie également monsieur « KAHLOULA Khaled » et « AMMAM Abdelkader » pour leurs efforts

et leur aide dans ce travail

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicace

*Je dédie mon travail à
Mes parentes*



*Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour Dont
ils ne cessent de me combler." Que Dieu les bénisse"*

Ma sœur « Chaimaa »

Mon ami proche et sincère « Marwa »

Ma tante « Fatma Amari »

Mes cousines « Linda-Habiba »

A mon binôme « Warda »

A toute ma famille

A toutes mes amies

ASMAA...

Dédicace

Je dédie ce modeste travail et ma profonde gratitude à ma mère et mon père pour l'éducation qu'ils m'ont prodigué; avec tous les moyens et au prix de toutes les sacrifices qu'ils ont consentis à mon égard, pour le sens du devoir qu'ils m'ont enseigné depuis mon enfance.

*Je le dédie particulièrement à mon frère, **Abdelkader**,*

*à mes sœurs **Yamina**, **Saadia**, **Samia**, et **Amel** et aussi à tout ma famille, je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.*

*A mon binôme **Asmaa** et toute la famille **Amari**. Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.*

Ouarda...

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer d'une part, les modifications induites par le nickel en employant plusieurs approches : biochimiques, histologiques et neurocomportementales chez les rats wistars , d'autre part, l'efficacité de l'extrait de *Salvia Argentea* à rétablir ou non les effets néfastes induits par le nickel par un gavage de 100mg/kg de poids corporel durant une période de 21 à 42 jours.

L'exposition sub-chronique au Nickel durant l'experimentation, a engendré une baisse du poids corporel comparée aux rats témoins. L'utilisation de différents tests comportementaux plus précisément ceux de l'anxiété (Dark and Light test), de la dépression (Forced Swimming Test) et de l'activité locomotrice (Open Field test), révèle clairement que l'intoxication au Ni provoque des troubles neurocomportementaux se traduisant par une hypoactivité locomotrice, une réduction de comportement d'exploration du milieu qui reflète l'instauration d'un état de stress, d'anxiété et de dépression.

Cette intoxication au Ni se traduit également par une perturbation des différents paramètres biochimiques notamment les paramétrés hépatiques. De plus, l'étude histologique a montrée des lésions aux niveaux du tissu hépatique et pulmonaire.

L'administration de l'extrait de *Salvia argentea* par voie orale à une dose de 100mg/kg pour les rats jeunes et les rats adultes durant la période de traitement (21-42 jours),a permis d'enregistrer un gain du poids comparé aux rats intoxiqués.

De plus, les tests de comportements : Dark& light, FST, Open Field dévoilent clairement que EA de *Salvia Argentea* corrige l'état d'anxiété, résignation, l'activité locomotrice et l'apprentissage spatial respectivement comparé aux rats exposer au Ni. Les résultats obtenus des dosages biochimiques principalement hépatique (TGO,TGP) montrent une régulation des valeurs de ces paramètres chez les rats intoxiqués suite à l'administration de l'EA comparés aux rats intoxiqués non traités. En effets, l'étude histologique montre une protection de l'architecture hépatique et pulmonaire chez les rats traités par l'EA comparé aux rats intoxiqués. Cette série d'expérience à montrer que l'EA de *Salvia Argentea* est doté d'un pouvoir protecteur contre les dommages causés par les effets toxiques du Nickel. Ces résultats viennent en appuis à l'utilisation traditionnelle de *Salvia argentea* contre les maladies inflammatoires du système respiratoire.

Mots clés : *Salvia argentea*, nickel, rats, poumons, biochimie, neurocomportemental.

الملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم من جهة، والتغيرات التي تحدثها النيكل باستخدام عدة طرق: الكيمياء الحيوية، والنسجية والسلوك العصبي في فئران ويستار، من ناحية أخرى، فإن فعالية مستخلص المريمية *argentea* استعادة أم لا الآثار السلبية الناجمة عن النيكل مع أنبوب تغذية من 100 ملغم / كغم من وزن الجسم لمدة 21-42 يوما.

أدى التعرض الثانوي للنيكل أثناء التجربة إلى انخفاض في وزن الجسم مقارنة بفئران التحكم. استخدام اختبارات سلوكية مختلفة وتحديدًا تلك القلق (الظلام والضوء الاختبار)، والاكنتاب (القسري اختبار سباحة) والنشاط الحركي (فتح حقل تجارب)، يكشف بوضوح أن التسمم يسبب ني الاضطرابات السلوكية العصبية مما يؤدي إلى قصور النشاط الحركي، واستكشاف البيئة للحد من السلوك الذي يعكس إدخال حالة من التوتر والقلق والاكنتاب.

يؤدي تسمم النيكل هذا أيضًا إلى تعطيل مختلف المعايير البيوكيميائية، خاصة معلمات الكبد. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت الدراسة النسيجية آفات في الكبد وأنسجة الرئة.

ساعدت إدارة مستخرج من قصعين فضي شفويا في جرعة من 100mg / كغ للجراء والجرذان الكبار خلال فترة العلاج (21-42 يوما) لتسجيل مكاسب من وزنه مقارنة إلى الفئران المخمورين.

بالإضافة إلى ذلك، الاختبارات السلوكية: (الظلام والضوء الاختبار) والاكنتاب (القسري اختبار سباحة) والنشاط الحركي (فتح حقل تجارب) تكشف بوضوح أن EA سالفيا أرجنتيا يصحح حالة القلق والاستسلام والنشاط الحركي والتعلم المكاني على التوالي مقارنة بالفئران المعرضة للني. تظهر النتائج التي تم الحصول عليها من الاختبارات البيوكيميائية الكبدية (TGO، TGP) تنظيم لقيم هذه المعلمات في الفئران المسمومة بعد إدارة EA مقارنة مع الجرذان المسمومة غير المعالجة. في الواقع، أظهرت الدراسة النسيجية حماية البنية الكبدية والرئوية في الفئران المعالجة ب EA مقارنة بالفئران المخمورين. تظهر هذه السلسلة من التجارب أن EA *Salvia Argentea* له تأثير وقائي ضد الأضرار الناجمة عن التأثيرات السامة للنيكل. هذه النتائج تدعم الاستخدام التقليدي *Salvia Agrentea* ضد الأمراض الالتهابية في الجهاز التنفسي .

الكلمات المفتاحية: سالفيا ارجوننتيا، نيكيل، فأر، رئة، كيمياء حيوية، سلوكي عصبي.

Abstract

The objective of this study is to evaluate, on the one hand, the modifications induced by nickel by using several approaches: biochemical, histological and neuro-behavioral in wistar rats, on the other hand, the effectiveness of *Salvia argentea* to restore or not the harmful effects induced by the nickel by a gavage of 100mg / kg of body weight during a period of 21 to 42 days.

Subchronic exposure to nickel during the experiment resulted in a decrease in body weight compared to the control rats. The use of different behavioral tests, specifically those of anxiety (Dark and Light test), depression (Forced Swimming Test) and locomotor activity (Open Field test), clearly reveals that Ni intoxication causes neurobehavioral disorders resulting in locomotor hypoactivity, a reduction in environmental scanning behavior that reflects the onset of stress, anxiety and depression.

This Ni intoxication also results in a disruption of the various biochemical parameters, especially the liver parameters. In addition, the histological study showed lesions in liver and lung tissue.

Administration of *Salvia argentea* extract orally at a dose of 100mg / kg for young rats and adult rats during the treatment period (21-42 days) resulted in a comparative gain in weight to intoxicated rats.

In addition, behavioral tests: Dark & light, FST, Open Field clearly reveal that *Salvia Argentea's* EA corrects the state of anxiety, resignation, locomotor activity and spatial learning respectively compared to rats exposed to Ni. The results obtained from the mainly hepatic biochemical assays (TGO, TGP) show a regulation of the values of these parameters in the rats poisoned after the administration of the EA compared to the untreated poisoned rats. In effect, the histological study shows protection of hepatic and pulmonary architecture in rats treated with EA compared to intoxicated rats. This series of experiments show that *Salvia Argentea's* EA has a protective effect against the damage caused by the toxic effects of nickel. These results support the traditional use of *Salvia argentea* against inflammatory diseases of the respiratory system.

Keys Word: *Salvia argentea*, nickel, mouse, lungs, biochemistry, neurobehavioral.

Table des matières :

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	01
Chapitre 01 : synthèse bibliographie	
Les plantes médicinales	03
1. Propriétés et principes actifs des plantes médicinales	03
1.1 Les plantes à alcaloïdes :	04
1.2 Les plantes à flavonoïdes :	04
1.3 Les plantes à Sponosoides :	04
1.4 Les plantes à hétérosides :	05
1.5 Les plantes à vitamines	05
1.6 Les plantes à Tanins	05
2. Les métabolites secondaires	06
2.1. Définition	06
2.2. Biosynthèse	06
2.3. Classification	07
2.3.1. Polyphénols	07
Acides phénoliques	08
Acide phénols dérivés d'acide benzoïque	08
Acide phénols dérivés d'acide cinnamique	08
2.3.2.Flavonoïdes	09
2.3.3. Polyphénols sous forme de polymères	11
2.3.4.Coumarines, Stilbènes (les plus rares)	13
2.3.5. Biosynthèse des polyphénols	15
3.2. Alcaloïdes	15
3.2.1. Définition	15
3.2.2. Fonctions et propriétés	16
3.2.3. Biosynthèse	16
3.2.4. Classification	17
3.2.4.1. Selon l'origine biosynthétique	17
3.2.4.2. Selon leur composition chimique et structure moléculaire	17
3.2.5. Propriétés physicochimiques et pharmacologiques	18
L'extraction	20
Méthodes d'Extraction Traditionnelles	20
1.La filtration	20
2.Le pressage	20
3.L'enfleurage	20
4.La décoction	21
5.L'infusion	21

6.La macération	21
7.L'extraction par solvant	21
8.L'entraînement à la vapeur ou l'hydro distillation	21
Les types d'extraction	22
1. Extraction par solvant	22
1.2.1. Extraction directe	23
1.2.2. Extraction liquide-liquide	23
•Types d'extraction liquide-liquide	23
A) Extraction liquide-liquide discontinue	23
B) Extraction liquide-liquide continue	24
1.2.3. Extraction solide-liquide	24
A) Techniques de dissolution	24
B) Principes des techniques de dissolution	25
C) Appareil de Soxhlet	25
D) Mode opératoire	26
LES MOYENS DE PURIFICATION	27
Définition de la purification	27
Moyens de purification	27
1. Filtration	27
Présentation de la plante étudiée (salvia argeantea)	28
La famille des Lamiaceae	28
Le genre Salvia	28
Salvia argentea	30
1.Définition	30
2.Classification	30
3.Les caractéristiques (salvia argentéa)	31
4. Présentation botanique	31
Le Nickel	34
1.Les propriétés physico-chimiques du nickel	34
2.Les dérivés du nickel et leur utilisation	35
3. Principales sources d'exposition	37
4.L'apport alimentaire	38
5.La toxico-cinétique du Nickel	38
5.1.L'absorption	38
5.2.Distribution	38
5.3.Elimination	39
6. La toxicité aiguë	39
7. Toxicité chronique	40
8. Toxicité subchronique	40
9. Effet du nickel sur les différents organes	41
9.1. Effet du nickel sur les reins	41
9.2.Effet du nickel sur le système hépatique	41
9.3. Effet du nickel sur l'appareil respiratoire	42
9.4. Effets cancérogènes	42
Chapitre 02 :Matériels et méthodes	
Matériels biologique 1. Matériel végétal	43
1.1. Préparation de l'extrait aqueux	43
1.2.Extraction	44

1.2.1. extraction par Soxhlet	44
1.2.2. extraction par agitateur magnétique	45
Détermination du rendement	46
2. Animaux d'expérimentation	46
2.1. Répartition des groupes :	47
3. Tests neurocomportementaux	48
3.1. Test de la nage forcée (Forced Swimming Test)	48
3.2. Le test du compartiment obscurité/ lumière (Light Dark Test)	48
3.3. Meure l'activité locomotrice : Open Field	49
4. Evaluation du poids corporel et le poids relatif des organes	50
5. Prélèvement des échantillons	50
6. Étude histologique des organes	50
6.1. Techniques d'anatomie pathologique	51
6.1.1. Fixation	51
6.1.3. Mise en cassettes	52
6.1.4. Déshydratation	52
6.1.5. Inclusion en paraffine	53
6.1.6. Coupe au microtome	53
6.1.7. Étalement sur lames	54
6.1.8. La coloration standard HES (Hématoxyline-Eosine-Safran)	54
Chapitre 03 : Résultats et discussions	
Conclusion et perspectives	68
Référence bibliographique :	69

Liste des figures :

<u>Figures</u>	<u>page</u>
Figure01 : origine biosynthèses des métabolites secondaires	07
Figure02 : acide benzoïques	08
Figure03 : acide cinnamique	09
Figure04 : structure de base d'un flavonoïde	09
Figure05 : différentes classes de flavonoïdes	10
Figure06 : structure générale de tanins hydrolysable	12
Figure07 : structure générale de tanins condensés	12
Figure08 : structure chimiques de lignine	13
Figure09 : biosynthèses des composés phénoliques	14
Figure10 : origine biosynthétiques de différentes classes d'alcaloïdes	14
Figure11 : les principaux cycles azotes des alcaloïdes	15
Figure12 : enflourage de pétales de rose	16
Figure13 : les extracteurs de Soxhlet et de Kumagawa	18
Figure14 : photo d'un lyophilisateur	21
Figure15 : répartition géographique du genre Salvia dans le monde	24
Figure16 : Salvia argentea	29
Figure17 : la tige de Salvia argentea	31
Figure18 : feuille de Salvia argentea	32
Figure19 : la fleur de Salvia argentea	33
Figure20 : racine de Salvia argentea	33
Figure21 : le séchage de la plante	43
Figure22 : le séchage de la plante	43
Figure23 : préparation de la poudre à l'aide du broyeur électrique	44
Figure24 : montage de Soxhlet	45
Figure25 : extraction par agitation	45

Figure26 : décantation	45
Figure27 : filtration	45
Figure28 : l'extrait aqueux après filtration	46
Figure 29 : la disposition des lots de rats dans l'animalerie	47
Figure30 : teste de la nage forcé	48
Figure31 : Test de l'anxiété chez le rat (compartiment éclairé /obscur)	49
Figure32 : test d'open Field	50
Figure33 : fixation des organes	51
Figure34 : mensuration et description des pièces	51
Figure35 : Une cassette avec un échantillon orienté	52
Figure36 : La déshydratation des pièces se fait au travers de plusieurs bains de toluène dans un automate	52
Figure37 : L'inclusion en paraffine	53
Figure38 : microtome	53
Figure39 : Etalement sur lames	54
Figure40 : Appareil à coloration automatique	54
Figure41 : Plateau de lame présenté à l'anatomo-pathologiste pour l'interprétation	55
Figure42 : La comparaison des différents paramètres du teste du compartiment obscurité/ lumière les rats jeunes (témoins, témoins traite, intoxiqués, Co-administrative)	56
Figure43 : La comparaison des différents paramètres du teste du compartiment obscurité/ lumière entre des rats adultes (témoins, témoins traite, intoxiqués, Co-administrative)	56
Figure44 : La comparaison des différents paramètres du test Open Field (jeune)	57
Figure45 : La comparaison des différents paramètres du test Open Field (adulte)	57
Figure46 : Le temps d'immobilité durant le test de la nage forcée chez les rats	58
Figure47 : Le temps d'immobilité durant le test de la nage forcée chez les rats adultes Ni vs Ni-TRT (*: p<0.05)	59
Figure48 : L'évolution du poids corporel chez les rats adultes (témoins, traite, intoxiqué, curatifs, préventifs, Co-administrative).	60
Figure49 : L'évolution du poids corporel chez les rats jeunes (témoins, traite, intoxiqué, curatifs, préventifs, Co-administrative).	60
Figure50 : L'évolution du poids des organes poumons, foie, cerveau, rein chez les rats jeunes	61
Figure51 : L'évolution du poids des organes poumons, foie, cerveau, rein chez les rats adultes	61
Figure52 : observation microscopique des tissus de poumons (×40)	62

Liste des abréviations :

extrait aqueux de salvia	EaS
éléments traces métalliques	ETM
organisation mondiale de la santé	OMS
nickel	Ni
témoins	T
transaminase glutamique oxaloacétique	TGO
transaminase glutamique pyruvique	TGP
traite	TRT
intoxique au nickel traite	Ni-TRT
numérotation formule sanguine	FNS
acide éthylène diamine tétra acétique	EDTA
chlorure de sodium	NaCl
immunoglobuline A	Iga
immunoglobuline E	Ige
immunoglobuline M	Igm
alanine amino transférase	ALAT
aspartate aminotransférase	AST
centre international de recherche sur le cancer	CIRC
système nerveux central	CNS

Introduction

INTRODUCTION GENERALE

La phyto-aromathérapie concerne l'emploi associé de la phytothérapie (ou thérapeutique par les plantes) et de l'aromathérapie (ou thérapeutique par les essences végétales ou huiles essentielles). Depuis des millénaires, l'utilisation des plantes fut le principal recours de l'homme pour lutter contre la maladie. Les premières traces connues des modes de préparation et d'indications dont les vertus bénéfiques ont été transmises de génération en génération, remontent à plus de 6000 ans. Les égyptiens savaient utiliser de nombreuses médications tirées de plantes. Ils savaient anesthésier par des macérations de plantes dans des vins.

Ce n'est qu'au 19^{ème} siècle que les principes actifs ont commencé à être isolés des plantes. La découverte de la quinine isolée du *Cinchona ledgeriana* par les chercheurs français J.B. Caventon et J.B. Pelletier a encouragé les chercheurs à isoler d'autres médicaments à partir de plantes médicinales. Avant la 2^{ème} guerre mondiale, une série de produits naturels de source végétale, sont devenus des agents chimiques utilisés jusqu'à ce jour. Nous citerons, la morphine (*Papaver somniferum*) découverte par le pharmacien prussien F.W.A. Serturmer en 1803, la codeïne (*Papaver somniferum*) découverte par Robiquet en 1832, la digitoxine (*Digitalis purpurea*) et bien d'autres métabolites à activités diverses.

L'industrie pharmaceutique a développé son intérêt aux agents issus de sources naturelles, depuis la découverte au pacifique du taxol (*Taxus brevifolia*)⁸ possédant une activité anti-tumoral . La vinblastine et la vincristine, isolées du *Catharantus roseus*⁷, figurent dans la liste des médicaments anti-cancéreux les plus efficaces.

Depuis quelques années, un nombre croissant de médecins et de pharmacologues redécouvrent avec intérêt la valeur thérapeutique et l'innocuité des végétaux. Ainsi, renaît la phytothérapie et l'une de ses branches principales, l'aromathérapie qui utilise les essences végétales. Les agents cliniques sont recherchés pour guérir des maladies dues aux tumeurs, aux virus et au dysfonctionnement du système nerveux central (CNS) (Alzheimer,

Parkinson, épilepties, migraine, Syndrome de fibromialgie myofaciale, troubles du sommeil etc...).

Notre travail s'inscrit dans l'axe de recherche de la phytothérapie . Il se veut une contribution à l'étude des activités biologiques d'une plante appartenant à la famille des Labiées (Lamiaceae). Cette famille comprend environ 6000 espèces et près de 210 genres dont la plupart ont une importance économique due à leur richesse en huiles essentielles. Un très grand nombre de genres de la famille des Lamiaceae sont des sources riches en terpénoïdes, flavonoïdes et iridoïdes glycosylés.

Le genre *Salvia* (sauge), comprenant près de 900 espèces, majoritairement distribuées au Mexique, en Chine et en Turquie, et riche en diterpénoïdes. Les sauges chinoises, *S. przewalskii*¹⁶ et *S. miltiorrhiza*¹⁷⁻¹⁸, communément appelée "Danshen" sont très utilisées en Chine, pays où la phytothérapie fait bon ménage avec la médecine, pour traiter certains cancers. Les espèces, chinoise *S. prionitis*^{19,20} et turque *S. multicaulis*^{21,22} sont connues pour leur activité anti-tuberculeuse ,depuis des millénaires.

Des études portant sur des huiles essentielles de différentes espèces du genre *Salvia* ont montré leurs activités, anti-microbiennes, anti- inflammatoires, en plus de leurs utilisations en cosmétique et en agro-alimentaire.

A la lumière de ces données, nous avons choisi d'étudier une espèce du genre *Salvia* (*Salvia argentea*) et son effets thérapeutique sur les rats wistar intoxiqués au Nickel.

Ainsi, ce manuscrit est divisé en trois parties, Les deux premières parties comportent respectivement un chapitre bibliographique et un chapitre de description des travaux. La troisième partie comprend un chapitre comportant les résultats de cette étude.

Synthèse bibliographie

Les plantes médicinales :

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles comme remède à diverses maladies humaines. Ces plantes doivent leur pouvoir thérapeutique à des substances, dites alors actives, qu'elles renferment. Pour l'évaluation de l'activité biologique de ces plantes, il est impératif de recourir à des tests biologiques appropriés et à des méthodes de screening chimique (Tyihák *et al.*, 2007).

Depuis la plus haute antiquité, les plantes ont fait partie de la vie quotidienne des l'hommes, puisqu'ils s'en servent pour se nourrir, se soigner et parfois dans leurs traditions superstitieuses et religieuses. Les propriétés odorantes et thérapeutiques des plantes étaient, déjà, connues par l'ancienne Egypte et en Chine (FELLAH *et al.*, 2006).

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), 75 à 95% des populations rurales (particulièrement dans les pays en développement) font recours à la médecine traditionnelle faite en grande partie à base de plantes (OMS, 2003).

Dans la plupart des cas, l'activité biologique des métabolites secondaires est reconnue bien avant la détermination de leurs structures chimique (Sofowora, 2010). Il est néanmoins important de noter que la nature active de ces composés peut engendrer des effets bénéfiques, aussi bien que des effets néfastes, sur les organismes vivants.

1. Propriétés et principes actifs des plantes médicinales :

Dans l'antiquité, certaines plantes étaient vénérées pour des vertus qu'on leur avait reconnues. Personne ne cherchait à savoir pourquoi ou comment elles agissaient, mais c'était un fait incontesté et qui paraissait magique. En effet, il est étonnant qu'une feuille, une fleur ou une racine puisse guérir, ou tout au moins soulager un état maladif ou des troubles organiques. La science moderne, en analysant et étudiant les effets thérapeutiques des plantes, n'a pas pour but de diminuer cette confiance en la nature, mais elle veut préciser, comparer et classer les diverses propriétés pour grouper les plantes à effet similaires, choisir les plus efficaces et les faire connaître. (PAUL ET FERDINAND, 2010).

1.1 Les plante à alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des substances organiques, le plus souvent d'origine végétale. La Présence d'azote confère à la molécule, un caractère basique plus ou moins prononcé, de distribution restreinte et douée d'activité biologique, à faibles doses. Les drogues à alcaloïdes ont une importance considérable en thérapeutique. Certaines agissent au niveau central, d'autres sur le système nerveux autonome : sympatholytique (ergotamine) et d'autres ont des propriétés anesthésiques, anti-tumorales, Elles agissent à faibles doses, mais peuvent même être très toxiques à forte dose.

1.2 Les plantes à flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des composés poly phénoliques, presque toujours hydrosolubles et très répandus dans le règne végétal. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical. Les flavonoïdes agissaient sur le cœur et sur la circulation sanguine. Elles diminuent aussi la fragilité des vaisseaux capillaires d'une manière générale, on les emploie surtout comme spasmolytique et diurétique, propriétés reconnues depuis longtemps. (PAUL ET FERDINAND, 2010).

1.3 Les plantes à Saponosides :

Ce sont les principaux constituants de nombreuses plantes médicinales (saponaire officinale) .

Les saponines comme le savon sont douées de propriétés tensioactives, elles font mousser leurs solutions et servent de détergent.

Les saponosides possèdent des propriétés anti-inflammatoires et anti-œdémateuses. Elles sont particulièrement toxiques pour les poissons et autres animaux aquatiques. Actuellement, les recherches montrent que les saponosides isolés à partir des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle possèdent des propriétés antibactérienne et antifongique. (PAUL ET FERDINAND, 2010).

1.4 Les plantes à hétérosides :

Ce sont des sucres (glucosides) combinés à des matières efficaces. Celles-ci ont comme particularité de pouvoir agir sélectivement dans le corps humain, sur un ou plusieurs organes. Ainsi, le groupe des anthracénocides se concentre, comme laxatif, uniquement sur le gros intestin, Tandis que le groupe cardénolide agit au niveau du cœur et des reins. (PAUL ET FERDINAND, 2010).

1.5 Les plantes à vitamines :

Les vitamines sont des substances organiques, que l'organisme n'est pas capable de synthétiser, qui sont nécessaires à sa croissance, à son fonctionnement et qui doivent donc lui être apportées de façon Régulière et harmonieuse par le régime alimentaire.

On les classe selon leur solubilité dans l'eau (vitamines hydrosolubles) dont la vitamine C et dans les lipides (vitamines liposolubles) dont la vitamine A et la vitamine E (PAUL ET FERDINAND, 2010).

La vitamine A : elle agit également comme substance protectrice des tissus de l'épiderme et des muqueuses, son action s'étend aussi sur l'ouïe et sur la vue, car elle empêche le durcissement de la Cornée. Enfin, elle aide à lutter contre l'infection.

La vitamine B1 : elle contribue au bon fonctionnement du système nerveux.

La vitamine C : est nécessaire à la formation des os. Elle active la respiration des cellules et le fonctionnement des vaisseaux sanguins et lutte contre les infections.

1.6 Les plantes à Tanins:

Substances polyphénoliques de structures variées, ayant en commun la propriété de tanner la peau, ces substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines. Les tanins favorisent la régénération des tissus en cas de blessures superficielles et de brûlures. Ils sont utilisés comme anti-diarrhéiques et hémostatiques, mais surtout comme protecteur veineux dans le traitement des varices. En cosmétique, les tanins sont des astringents très utilisés, sous forme de lotions. Ils sont largement employés dans l'industrie, notamment dans l'industrie du cuir, des vernis et de la peinture (PAUL ET FERDINAND, 2010).

2. Les métabolites secondaires :

2.1. Définition :

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes et les microorganismes (BOUDJOUREF, 2011). Ce sont caractérisés généralement par de faible concentration dans les tissus végétal, si on exclue la lignine de cette catégorie (NEWMAN et CRAGG, 2012). Aussi n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante (GUIGNARD, 1996).

Biosynthétisés à partir de métabolites primaires et jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème (PEEKING *et al.*, 1987). En 1987 Plus de 8500 métabolites secondaires sont déjà connus. Les plus grands groupes sont les alcaloïdes, les terpénoïdes, les stéroïdes et les composés phénoliques. Ils présentent une énorme valeur économique (en particulier pour l'industrie pharmaceutique et cosmétique) (PEEKING *et al.*, 1987).

2.2. Biosynthèse :

La production des métabolites secondaires est étroitement liée au métabolisme primaire, résultent généralement de trois voies de biosynthèse (Figure 01): la voie de shikimate, la voie de mévalonate et du pyruvate (VERPOORTE et ALFERMANN, 2000). La plupart des précurseurs sont issus de la glycolyse (pyruvate, phosphoenolpyruvate, acétyl-CoA), de la voie des pentoses phosphate (glyceraldéhyde-3-P, Erythrose-4-P) et du métabolisme des lipides (glyceraldéhyde-3-P et acétyl-CoA). Ces précurseurs sont à l'origine de la diversité structurale observée au niveau des métabolites secondaires (MAYER, 2004).

Du point de vue synthétique, ces métabolites secondaires peuvent aussi être subdivisés en deux catégories : ils peuvent être de type phyto anticipines ou de constitution, C'est-à-dire synthétisés par la plante de manière permanente même en absence d'un facteur de stress par opposition aux métabolites induits ou

phytoalexines qui sont synthétisés uniquement en cas de stress et sont donc formés de novo (LITVAK et MONSON, 1998).

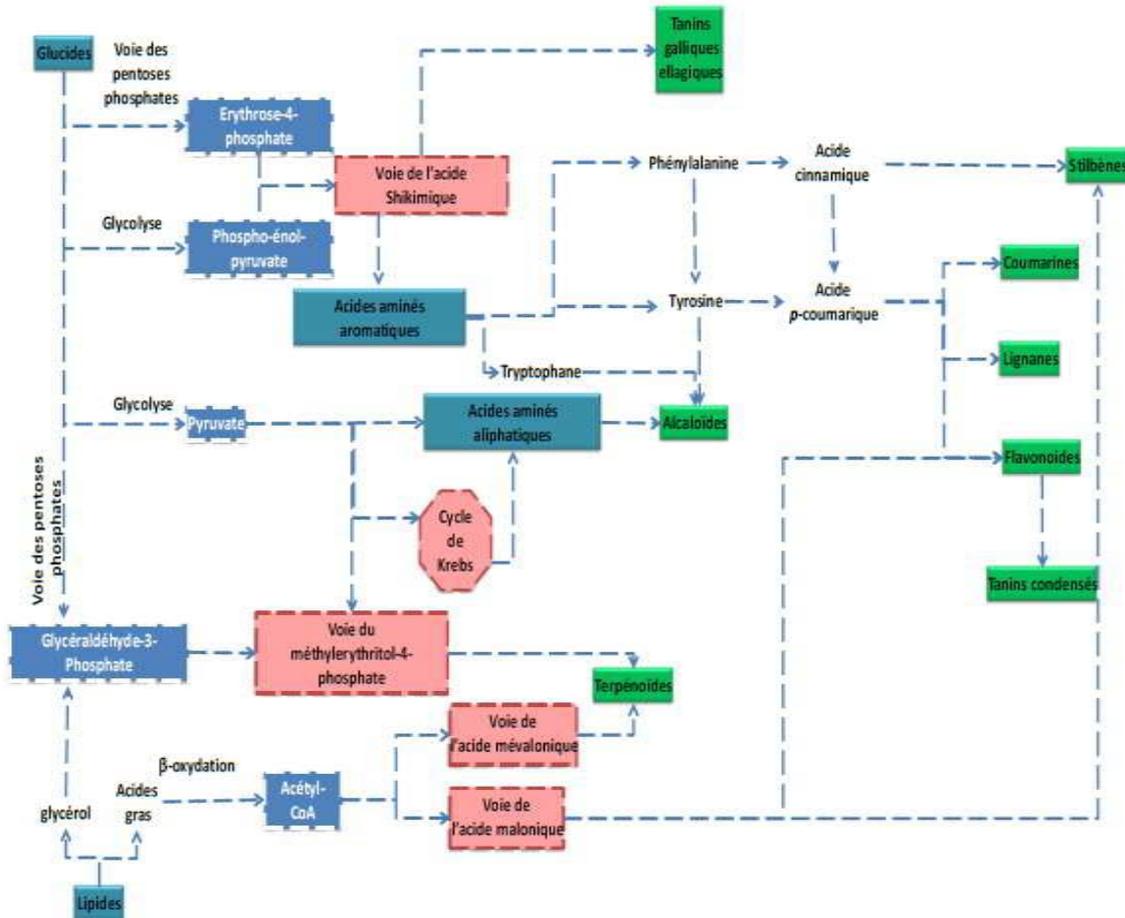


Figure 01 : Origine biosynthétique des métabolites secondaires (AHARONI et GALILI, 2001).

2.3. Classification :

D'après leur biosynthèse, les métabolites secondaires peuvent être divisés en trois classes: Polyphénols; terpénoïdes et alcaloïdes (HENNEBELLE *et al.*, 2004).

2.3.1. Polyphénols :

- **Définition :**

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc (BRUNETON, 1999). La grande majorité de composés phénoliques dérivent de l'acide cinnamique formé par la

voie du shikimate (GORHAM, 1977). Sont solubles dans la solution de carbonate de sodium. Chimiquement, ils sont réactifs et donnent souvent lieu à des liaisons hydrogènes, ou chélater des métaux pour les O-dihydroxyphénols (catéchol); Enfin, ils sont sensibles à l'oxydation (GORHAM, 1977).

- **Classification :**

La classification de ces substances a été proposée par HARBORNE (1980). On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base (MACHEIX *et al.*, 2006).

- A) Polyphénols monomériques :**

- **Acides phénoliques :**

Les acides phénoliques, ou acides phénols ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols, Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature (HASLAM, 1994). Ils se divisent en deux classes: les dérivés de l'acide benzoïque (les acides hydroxycinnamiques) et les dérivés de l'acide cinnamique (les acides hydroxybenzoïques) (PANDEY et RIZVI, 2009).

- **Acide phénols dérivés d'acide benzoïque :**

Sont des hydroxybenzoïques et ont une structure générale de base de type (C6-C1) ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides (HARRAR., 2012). Les plus répandus sont: l'acide salicylique et l'acide gallique (BRUNETON, 1999).

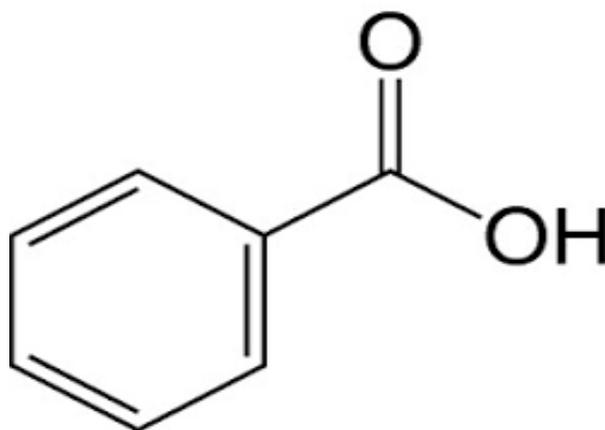


Figure 02 : Acide benzoïque (PAWLOWSKA *et al.*, 2006).

- **Acide phénols dérivés d'acide cinnamique :**

Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique sont souvent estérifiés. Les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféïque, l'acide férulique, l'acide *p*coumarique et l'acide synaptique (HASLAM, 1994).

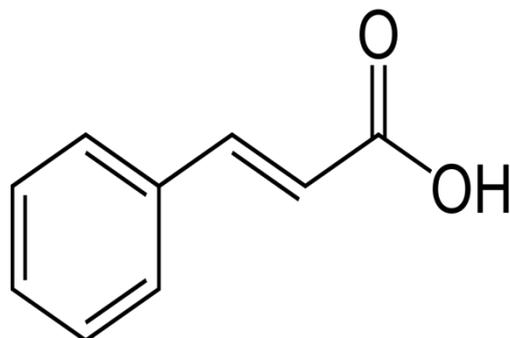


Figure 03 : Acide cinamique (GORHAM, 1977)

- **Flavonoïdes :**

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques, ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres (BENHAMMOU, 2011). En 2003, environ de 4000 composés flavoniques sont connus (EDENHARDER et GRUNHAGE, 2003). Certains sont des pigments quasi-universels des végétaux, ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, c'est à-dire liée à des oses et autres substances (HELLER et FORKMANN, 1993).

ont une squelette de base formé par deux cycles en C6 (A et B) reliés entre eux par une chaîne en C3 qui peut évoluer en un hétérocycle (Cycle C) (figure 0)

(AKROUM, 2011).

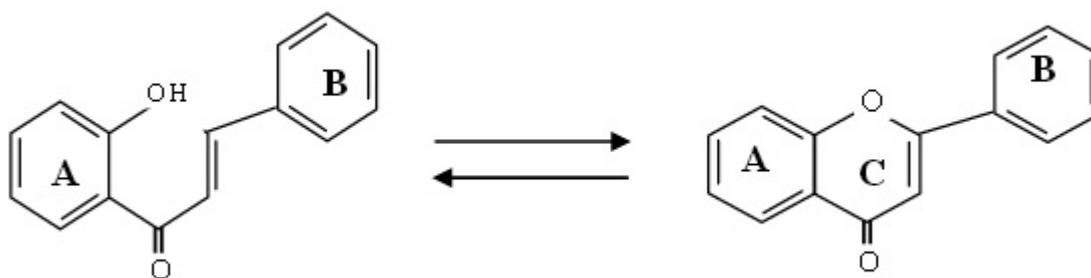


Figure 04 : Structure de base d'un flavonoïde (HELLER et FORKMANN, 1993).

La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de méthylation, de degré de polymérisation, des substitutions et des conjuguaisons sur le cycle C c'est-à-dire la présence : de double liaison C2-

C3, du groupe 3-O et la fonction 4-oxo (YAO *et al.*,2004). Ils se répartissent en plusieurs classes des molécules dont les plus importants

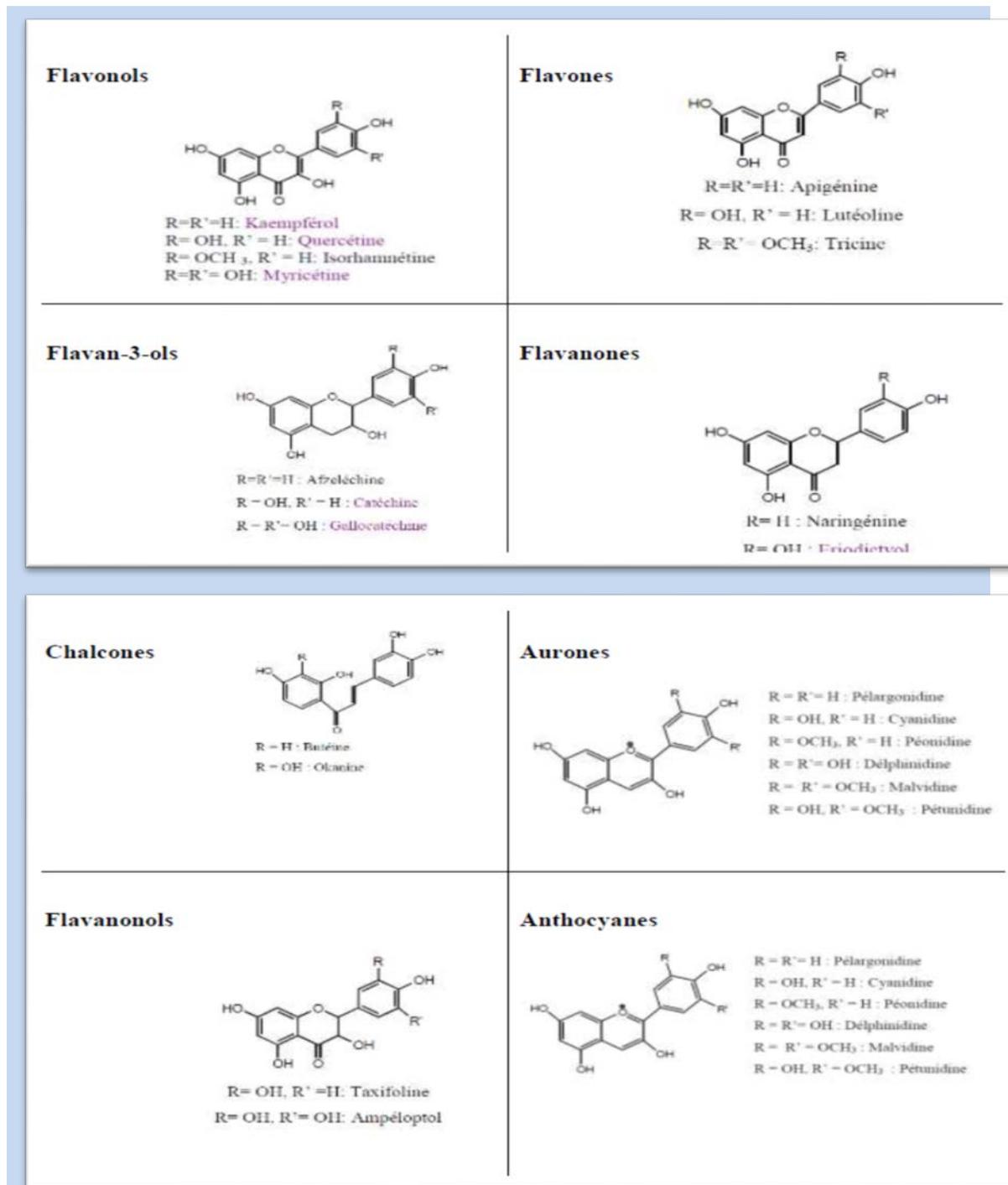


Figure 05 : Différentes classes de flavonoïdes (NKHILI, 2009).

B) Polyphénols sous forme de polymères

- **Tanins**

Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da (KAMRA *et al.*, 2006). Ces composés naturellement produits par les plantes se caractérisent par leur facilité à se combiner aux protéines (MAKKAR, 2003; MANGAN, 1988; MCSWEENEY *et al.*, 2001).

Ils sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les *conifères*, les *Fagacée*, les *Rosacée* (GHESTERM *et al.*, 2001). Ils peuvent exister dans divers organes: l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les grains (KHANBABAE et REE, 2001). En général, ils sont subdivisés en deux groupes distincts en fonction du type de l'acide phénolique et du type de liaisons qui déterminent la taille et la réactivité chimique de la molécule (RIRA, 2006).

- **Tanins hydrolysables:**

Sont des hétéro polymères possédant un noyau central constitué d'un polyol, il s'agit souvent d'un D-glucose; comme leur nom l'indique, ces substances s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes (telle que la tannase), pour donner des glucides et des acides phénoliques (LEINMULLER *et al.*, 1991). Ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue: les tanins galliques (Gallo tanins), ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique et les tanins ellagiques (Ellagitanins), Ainsi sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique (PARIS et HURABIELLE, 1981).

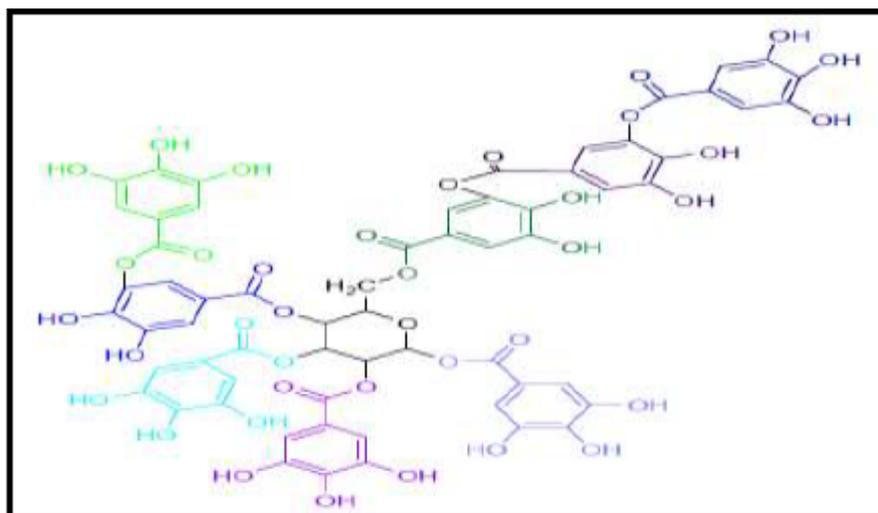


Figure 06 :Structure générale de tanins hydrolysable (GILBERT et NORRIS, 1968).

- **Tanins condensées**

Ce sont des tanins non hydrolysables (Dits catéchiques et proanthocyaniques), ils sont plus complexes que les tanins galliques , ils possèdent une squelette phényl-2-chromane de flavonoïdes (ALILOU, 2012). Il est admis aujourd’hui que ces tanins sont constitués par le mélange de produits de polymérisation oxydative de catéchines (flavan-3 ols) et de proanthocyanes (flavan-3,4- dioles), on peut les qualifier encore de tanins flavaniques (RICHTER, 1993).

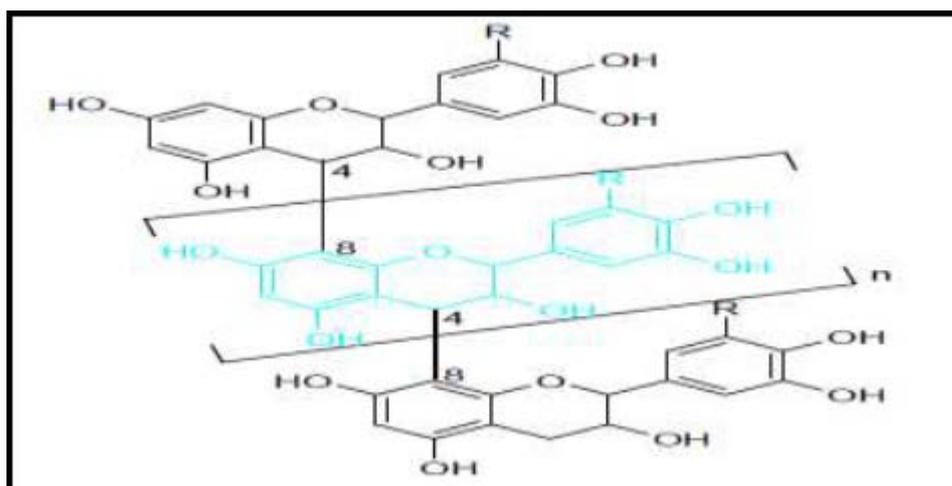


Figure 07 :Structure générale de tanins condensés (GILBERT et NORRIS, 1968).

- **Lignines:**

C'est l'un des polymères biologique les plus abondants sur Terre, elle constitue de 15 à 40% de la matière sèche des arbres et de 5 à 20% des tiges des plantes annuelles. C'est également le polymère aromatique naturel le plus abondant (PRIVAS, 2013). Subissant les contraintes de la gravité, la lignine est apparue afin notamment de rigidifier les parois cellulaires (CRUZ *et al.*, 2001). Le rôle des lignines dans l'évolution des végétaux, est celui d'une barrière mécanique, de goût désagréable, et réduisant la digestibilité des sucres de la paroi, les lignines participent à la résistance des plantes aux microorganismes et herbivores, la lignification est une réponse courante à l'infection ou la blessure (MURRY *et al.*, 1982).

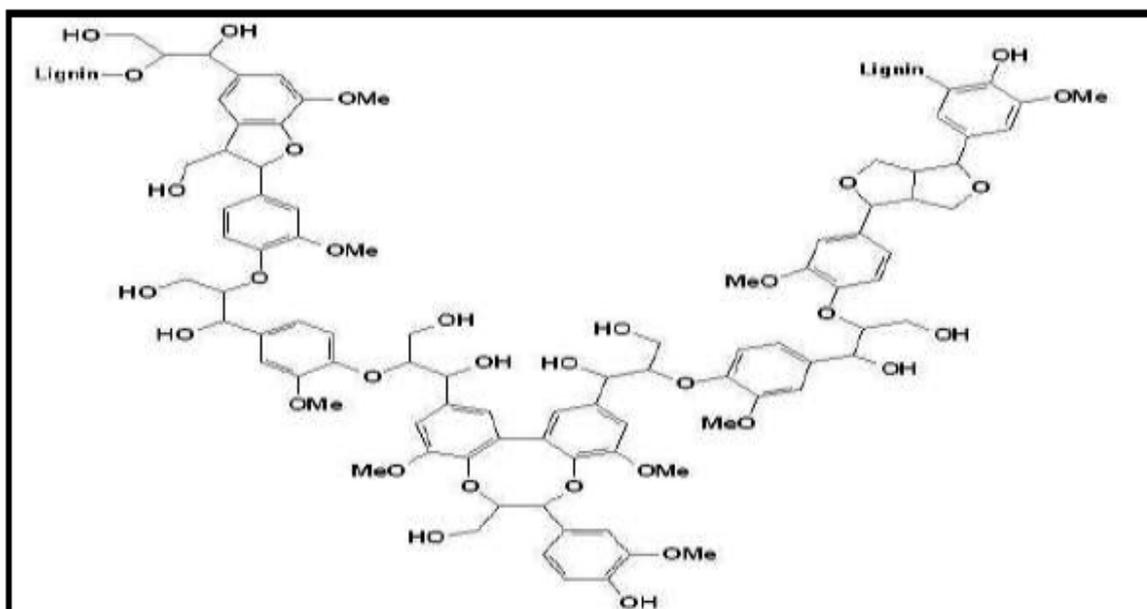


Figure 08 : Structures chimiques de lignine (SCALBERT et WILLIAMSON, 2000).

- **Coumarines, Stilbènes (les plus rares)** (NKHILI, 2009)
- **Coumarines**

Les coumarines sont des molécules largement répandues dans tout le règne végétal, sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, considérées comme étant les lactones des acides 2- hydroxy-7-cinnamiques (BENAYACHE, 2005) (Figure 08). Elles existent sous forme libre solubles dans les alcools et dans les solvants organiques

ou les solvants chlorés ou encore liées à des sucres (hétérosides) sont plus ou moins solubles dans l'eau (BRUNETON, 1999).

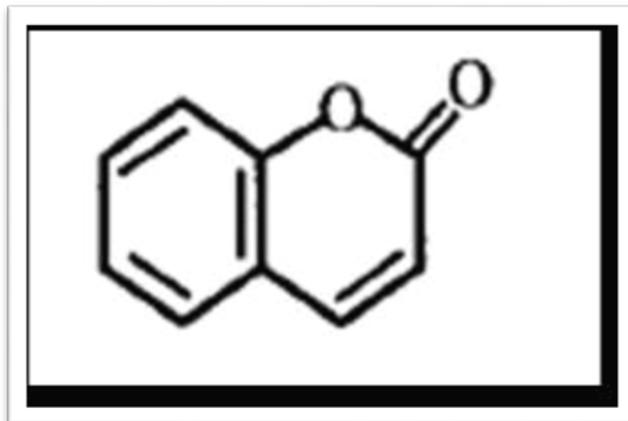


Figure 09 : Structure d'une molécule de coumarine (COWAN, 1999)

La coumarine et ses dérivés ont des actions phyto biologiques (HOSTETTMANN, 1992), bactériostatiques et anti fongiques (RUFINI et SAMPAOLO, 1977). Ils ont un effet antioedémateux (HOULT et PAYA, 1996).

- **Stilbènes :**

Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison, Le resvératrol et le ptérostilbène font partie de la famille des stilbènes et sont des composés synthétisés par la plante suite à un stress, Ces molécules peuvent s'oxyder sous l'action d'enzymes oxydase et les peroxydases (PERRET, 2001).

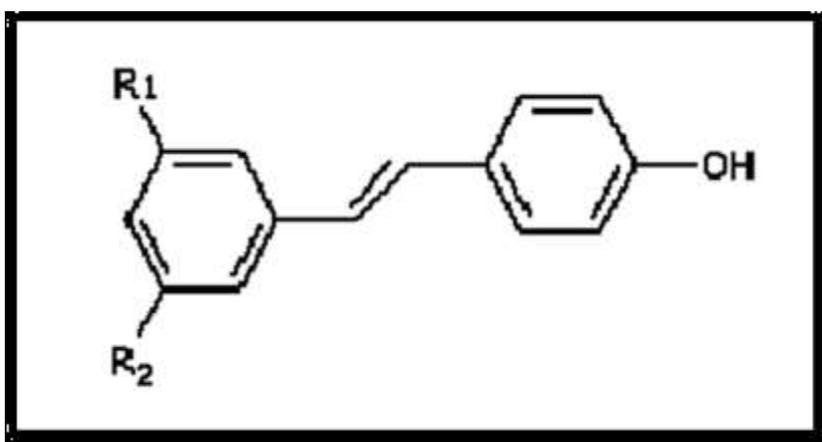


Figure 10 : Structure chimique de stilbène (PERRET, 2001).

2.4. Biosynthèse des polyphénols

Les polyphénols sont synthétisés par deux voies biosynthétiques:

- □ Celle de l'acide shikimique (shikimate).
- □ Celle issue de l'acétate-malonate (MOHAMMEDI, 2013).

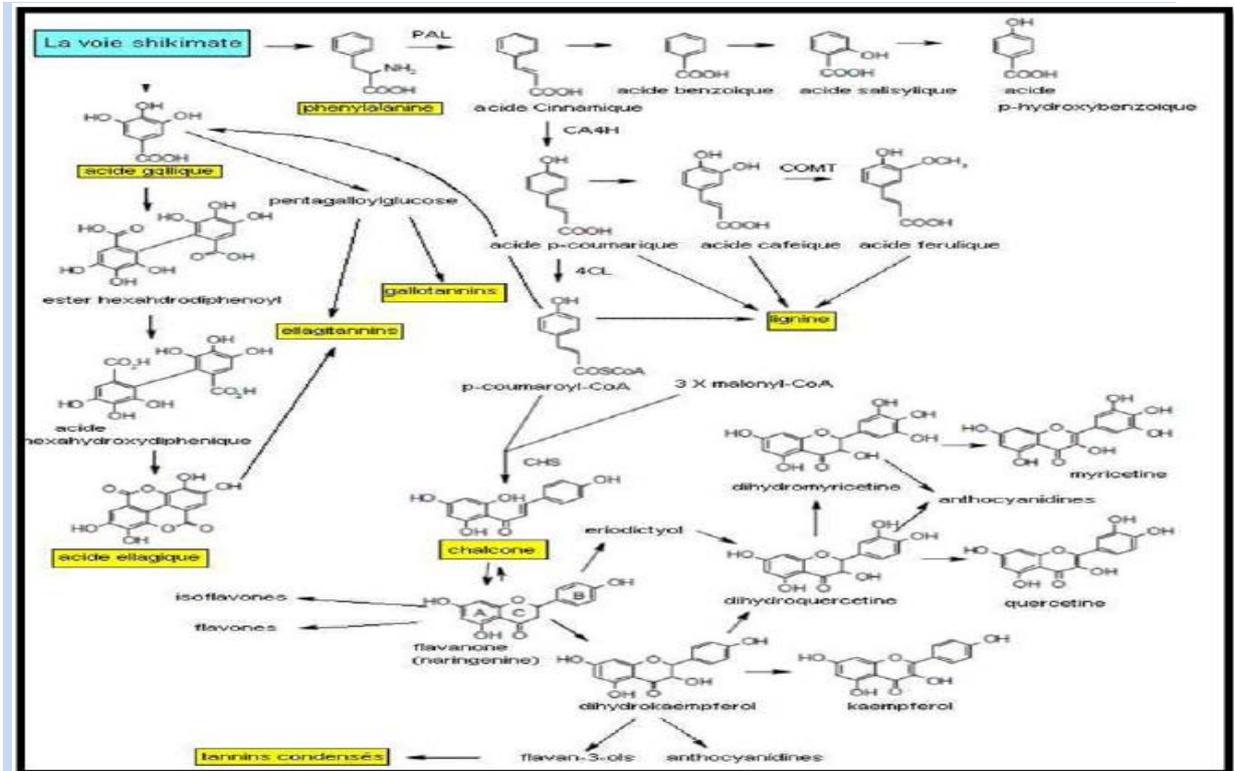


Figure 11 : Biosynthèse des composés phénoliques (MOHAMMEDI, 2013)

De plus la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte (MARTIN et TSITOHAINA, 2002).

2.3.2. Alcaloïdes

A) Définition :

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles composés de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote (SCHAUENBERG et PARIS, 2005). Typiquement comme les amines primaires, secondaires, ou tertiaires et cela confère la basicité à l'alcaloïde, en facilitant leur isolement et purification comme sels solubles dans l'eau formés en présence des acides minéraux (HESS, 2002). Ils peuvent être présents dans tous organes (ZIEGLER et FACCHINI, 2008). Leur

teneur est très variable, généralement comprise entre 0.1% et 2 à 3 % du poids sec de la drogue (ROUX et CATIER, 2007).

Les alcaloïdes existent rarement à l'état libre dans la plante, mais le plus souvent ils sont combinés à des acides organiques ou à des tanins (ZIEGLER et FACCHINI, 2008).

B) Fonctions et propriétés

Les alcaloïdes sont des molécules très intéressantes au point de vue biologique car certaines sont le principe actif de plusieurs extraits de plantes anciennement utilisés comme médicaments, comme poisons ou encore comme psychotropes (HESS, 2002). Insolubles ou fort peu solubles dans l'eau; ils sont solubles dans l'alcool plus à chaud qu'à froid, l'éther, les acides et dans l'ammoniaque (COWAN, 1999).

C) Biosynthèse

Contrairement à la plupart des autres types de métabolites secondaires, les nombreuses classes d'alcaloïdes ont des origines biosynthétiques unique (figure 11) (ZIEGLER et FACCHINI, 2008). Les noyaux de base de ces différents alcaloïdes dérivent des acides aminés du métabolisme primaire (NACOULMA, 2012).

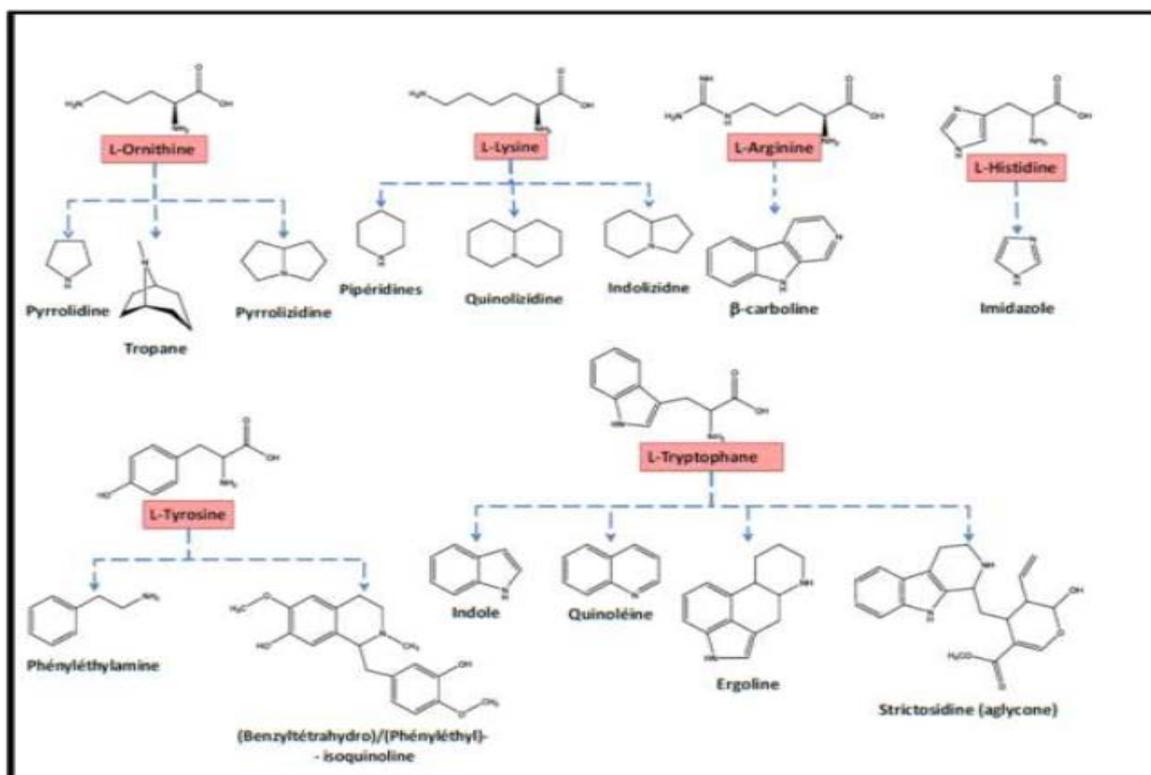


Figure 12 : Origine biosynthétique de différentes classes d'alcaloïdes (NACOULMA, 2012).

D) Classification

D.1) Selon l'origine biosynthétique

On distingue trois types d'alcaloïdes :

□□ **Alcaloïdes vrais** : d'après certains auteurs, ils sont issus seulement du règne végétal. Ilsexistent à l'état de sels et l'on peut ajouter qu'ils sont biosynthétiquement formés à partir d'un acide aminé (BRUNETON, 1999).

□□ **Pseudo-alcaloïdes** : ils représentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas dérivés des acides aminés (BRUNETON, 1999).

□□ **Proto-alcaloïdes** : se sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique ; ils ont une réaction basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acides aminés (BRUNETON, 1999).

D.2) Selon leur composition chimique et structure moléculaire

Les alcaloïdes peuvent être divisés en plusieurs groupes.

□□ **Phénylalanines**: comme capsaïcine chez piment, colchicine chez colchique.

□□ **Alcaloïdes isoquinoléïques** : comme: morphine, éthylmorphine, codéine et papavérine continues dans l'opium du pavot; et des alcaloïdes indoliques: ergométrine, ergotamine et ergotoxine de l'ergot des céréales (GONZALEZ *et al.*, 1984).

□□ **Alcaloïdes quinoléïques**: se trouvent dans les écorces de Cinchona (DONATIEN, 2008).

□□ **Alcaloïdes pyridiques et pipéridiques**: par exemple: ricinine chez ricin.

□□ **Alcaloïdes dérivés du tropane** : comme scopolamine et atropine chez la belladone.

□□ **Alcaloïdes stéroïdes**: racine de vératre, douce-amère ou aconite (aconitine) par exemple (GONZALEZ *et al.*, 1984).

Les principaux cycles azotés des alcaloïdes sont de type a, b, c, d, e, f, g et h (MEDJROUBI *et al.*, 1997).

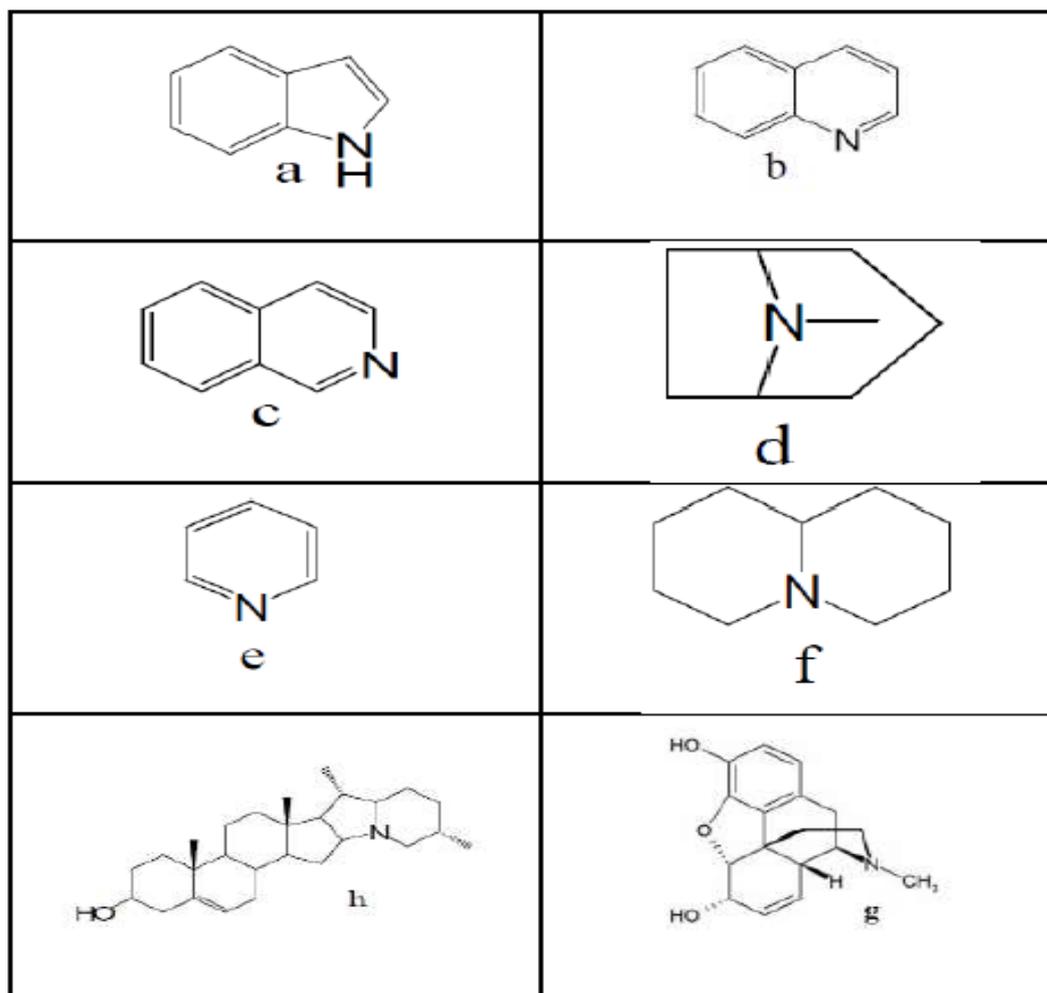


Figure 13 : Les principaux cycles azotés des alcaloïdes (GONZALEZ *et al.*, 1984). Indole (a), Quinoline (b), Isoquinoline (c), Tropane (d), Pyridine (e), quinolizidine (f), la morphine (g) et solanidine (h) (stéroïde)

E) Propriétés physicochimiques et pharmacologiques

Si dans les plantes, les alcaloïdes en tant que composés du métabolisme secondaire jouent un rôle écologique de défense contre des herbivores, chez l'homme ils trouvent cependant plusieurs applications pharmaceutiques (MCCALLEY, 2002 ; STÖCKIGT *et al.*, 2002).

□□ Les alcaloïdes présentent fréquemment de propriétés pharmacologiques marquées et ont de nombreuses utilisations en thérapeutique, notamment au niveau du système nerveux central, du système nerveux autonome et du système cardiovasculaire (GAZENDEL et ORECCHIONI, 2013).

□□ On notera aussi l'existence d'anti-tumoraux, d'anti-parasitaires, de curarisants, les alcaloïdes sont utilisées comme anti-cancer, sédatifs et pour leur effet sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) (ISERIN *et al.*, 2007).

Ces nombreuses activités conduisent à une utilisation importante des drogues à alcaloïdes, soit sous forme de préparation galéniques, soit le plus souvent, pour l'extraction des alcaloïdes qu'elles renferment, ces alcaloïdes étant utilisés eux mêmes ou servant de matière première d'hémi-synthèse (GAZENDEL et ORECCHIONI, 2013).

L'extraction

Méthodes d'Extraction Traditionnelles :

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).

L'extraction est utilisée pour extraire sélectivement un ou plusieurs composés d'un mélange initial, sur la base de propriétés chimiques ou physiques.

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).

L'homme utilise des colorants, des parfums, des arômes, et des extraits de produits naturels depuis la haute Antiquité, par différentes techniques:

1.La filtration: Depuis les temps préhistoriques, l'homme utilise un lit de sable ou de mousse pour rendre une eau boueuse (pleine de boue) limpide (claire et transparente).

2.Le pressage: Consiste à exercer une pression sur une orange pour obtenir le jus, ou à écraser des fleurs pour extraire les arômes.

3.L'enfleurage: Est une forme d'extraction utilisée en parfumerie. Il repose sur le pouvoir d'absorption d'une huile essentielle par les corps gras. Par exemple, les fleurs fragiles sont posées sur des cadres enduits de graisse animale très pure et

inodore qui absorbe le parfum des fleurs au contact; en fin de séchage, les graisses sont imprégnées de substances odorantes.



Figure 14 : Enfleurage de pétales de rose.

4.La décoction: Cette méthode est très ancienne. Elle consiste à chauffer la racine ou l'écorce d'une plante avec de l'eau; jusqu'à ce que cette dernière soit bouillante et les constituants se dissolvent.

5.L'infusion: Elle consiste à verser de l'eau bouillante sur des plantes (les feuilles ou les fleurs) finement broyées puis les laisser tremper pour dissoudre leurs principes actifs.

6.La macération: Consiste à laisser séjourner à froid un solide dans un liquide pour en extraire les constituants solubles dans ce liquide.

7.L'extraction par solvant: C'est un procédé qui permet d'extraire des composés qui ne peuvent pas l'être avec de l'eau.

8.L'entraînement à la vapeur ou l'hydro distillation: Cette technique date de l'Egypte ancienne. Elle consiste à extraire les parfums des plantes (huiles parfumées ou huiles essentielles) par de la vapeur d'eau.

Nous ne pourrions appliquer que les méthodes d'extraction par hydro distillation ou bien par solvants, l'enfleurage étant trop long et coûteux en matière première (pour un litre d'absolu de jasmin, il faut compter un tonne de fleurs).

L'extraction consiste à transférer un composé d'une phase à une autre:

- D'une phase liquide à une autre phase liquide.
- D'une phase solide à une phase liquide.

Les types d'extraction

Il existe plusieurs méthodes d'extraction dont certaines ont été développées par les artisans parfumeurs bien avant l'essor de la chimie moderne.

1. Extraction par solvant

Elle consiste à faire passer, par solubilisation, la substance à extraire dans un solvant.

Celui-ci peut être de l'eau, mais généralement il s'agira d'un solvant organique: éthanol, cyclohexane, éther de pétrole, toluène, etc. Dans l'extraction par solvant, les plantes sont mélangées à un solvant. Les composés à extraire étant emprisonnés dans la cellule par la membrane cellulaire, il faudra donc des solvants capables de la traverser. En plus, il arrive que des traces de solvant soient présentes dans les molécules à extraire ou bien dans la matière végétale après traitement.

L'extraction par solvant fait intervenir trois étapes.

□□ La mise en contact du solvant avec la substance contenant le composé à extraire:

Elle peut se faire directement par le solvant d'extraction ou en faisant intervenir d'abord *l'eau*.

On fait alors agir le solvant sur une décoction, une infusion ou une macération.

□□ La décantation: Est réalisée à l'aide de l'ampoule à décanter. En fonction de la nature du solvant utilisé et en particulier de sa densité par rapport à celle de l'eau (1,00), la phase organique à récupérer se situera au dessus ou en dessous.

□□ Le séchage et la filtration: Afin d'éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans la phase organique, on fait agir un déshydratant. On filtre ensuite pour ne recueillir que la phase organique exempte d'eau.

Généralement, on veut ensuite évaporer le solvant pour récupérer l'extrait seul, il faudra donc aussi que le solvant soit volatil (température d'ébullition faible).

Le choix du solvant obéit à trois critères et nécessite la connaissance d'un paramètre physique caractéristique de ce solvant.

□□ L'état physique du solvant: Le solvant doit être liquide à la température et à la pression où l'on réalise l'extraction.

□□ La miscibilité du solvant: Le solvant doit être non miscible à la phase qui contient initialement le composé à extraire.

□□ La solubilité: Le composé à extraire doit être très soluble dans le solvant. C'est-à-dire, beaucoup plus soluble dans le solvant que dans le milieu où il se trouve initialement (milieu aqueux en général).

□□ La densité du solvant: Il est nécessaire de connaître ce paramètre car c'est lui qui détermine si la phase organique, contenant le composé à extraire, se trouve au dessus ou en dessous de la phase aqueuse dans l'ampoule à décanter.

Les solvants d'extraction doivent être aussi:

□□ Facilement éliminés après extraction et donc avoir un point d'ébullition bas. Leur point d'ébullition doit être le plus éloigné possible de celui des produits à extraire.

□□ Inertes chimiquement vis-à-vis de la solution à extraire.

□□ Peu toxiques que possible.

1.2. Types d'extraction par solvant

Il existe plusieurs types d'extraction par solvant.

1.2.1. Extraction directe

L'espèce chimique est extraite d'un produit naturel par macération puis filtration (par exemple l'extraction des arômes des zestes d'orange).

1.2.2. Extraction liquide-liquide

L'extraction liquide-liquide est l'une des techniques de préparation d'échantillons les plus anciennes. C'est une opération fondamentale de transfert de matière entre deux phases liquides non miscibles, sans transfert de chaleur. Cette technique permet d'extraire une substance dissoute dans un solvant, à l'aide d'un autre solvant, appelé solvant d'extraction, dans lequel elle est plus soluble. Le solvant initial et le solvant d'extraction ne doivent pas être miscibles.

- ***Types d'extraction liquide-liquide***

Il existe deux types d'extraction liquide-liquide.

A) Extraction liquide-liquide discontinue

Elle est réalisée grâce à des ampoules à décanter. Il existe plusieurs modèles d'ampoules à décanter. Celles ayant la tubulure au dessus du robinet sont les plus

utilisées, car elles permettent de mieux visualiser l'interface et donc de mieux séparer les deux phases.

B) Extraction liquide-liquide continue

Lorsque le produit à isoler est relativement soluble dans la phase à extraire, l'extraction discontinue peut se révéler insuffisante. On peut alors utiliser une méthode d'extraction en continu. Le solvant est recyclé et passe continuellement à travers la solution à extraire.

1.2.3. Extraction solide-liquide

L'extraction solide-liquide est un phénomène lent qui permet d'extraire une substance présente dans un solide pour la faire passer dans un solvant liquide.

On peut utiliser successivement des liquides dont le pouvoir solvant vis-à-vis des constituants de la phase solide est différent (dissolution fractionnée).

La macération, l'infusion et la décoction sont des méthodes d'extraction solide-liquide.

A) Techniques de dissolution

□□ Il faut avant tout réduire le prélèvement en fines particules ce qui favorise l'action du solvant en augmentant la surface de contact.

□□ Il est possible de procéder en continu ou effectuer des phases successives d'extractions suivies de filtration ou de centrifugation.



Figure 15 : Les extracteurs de Soxhlet et de Kumagawa

L'extracteur de Soxhlet est un appareil utilisé en chimie analytique qui permet de faire à chaud l'extraction par solvant d'un solide avec une grande efficacité. Cet appareil porte le nom de son inventeur: Franz Von Soxhlet. Très proche de l'extracteur de Soxhlet, le Kumagawa a l'avantage de pouvoir être utilisé à des températures bien supérieures et d'être moins encombrant grâce à la cartouche incorporée dans le porte-ballon.

B) Principes des techniques de dissolution

Les principes des techniques de dissolution sont les suivants:

□□ La variation du pouvoir solvant:

- La dissolution fractionnée: Consiste à utiliser initialement des liquides à faible pouvoir solvant puis à augmenter progressivement la capacité de dissolution par l'emploi des solvants de plus en plus actifs.
- Le gradient de dissolution: Consiste à utiliser de mélanges de solvants.

□□ La limitation du volume de solvant:

Afin d'éviter l'utilisation de grands volumes de solvants, il faut réaliser l'extraction et la concentration dans le même appareil.

En règle générale, un solide ne se laissera pas traverser par un liquide.

Il est donc nécessaire de réaliser plusieurs extractions successives par utilisation d'un extracteur de Soxhlet, ou alors sa variante plus économique.

C) Appareil de Soxhlet

Le Soxhlet est constitué d'un :

□□ Ballon contenant une réserve de solvant.

□□ Extracteur proprement dit permettant le contact entre le solvant et le solide dans une cartouche poreuse.

□□ Siphon qui permet l'évacuation de la solution vers le ballon.

□□ Réfrigérant à eau qui permet la condensation des vapeurs de solvant dans la cartouche.

Le solide est toujours en contact avec le solvant pur grâce au remplissage régulier de la cartouche, ce qui présente les meilleures capacités de solubilisation des composés à extraire.

Schéma d'un appareil de Soxhlet.

Le Soxhlet permet:

□□ Le lavage d'un composé solide par un solvant dans lequel il est totalement insoluble.

Les impuretés sont extraites vers le ballon et le solide pur est récupéré dans la cartouche.

□□ La recristallisation d'un composé par un solvant dans lequel il est modérément soluble. Les impuretés insolubles restent dans la cartouche tandis que le composé cristallise dans le ballon récepteur par refroidissement lorsque la solution est assez concentrée.

D) Mode opératoire :

□□ Il est important de rajouter quelques grains de carborundum (cristal de carbure de silicium SiC) ou de pierre ponce dans le mélange pour éviter une élévation de la température sans ébullition.

□□ Le bon fonctionnement du siphon nécessite un volume suffisant du solvant dans le ballon.

□□ Le solide est placé dans la cartouche, elle-même insérée dans l'extracteur.

□□ Le système de chauffage est mis en marche et réglé de façon à ce que les cycles

remplissage/vidange de la cartouche se fassent de façon rapprochée.

□□ Le système peut être laissé sans surveillance particulière si la vidange est régulière.

LES MOYENS DE PURIFICATION

Définition de la purification

En chimie, la purification est la séparation de substances chimiques dans le but de décontaminer des substances.

Moyens de purification

Il existe plusieurs moyens de purification:

- La filtration.
- La centrifugation.
- La chromatographie.
- L'électrophorèse.

1. Filtration

La filtration est une méthode mécanique utilisée pour séparer un solide d'un liquide ou d'un gaz en faisant passer le mélange par une membrane ou un papier filtre, par l'aide d'un entonnoir.

La filtration est un procédé de séparation permettant de séparer les constituants d'un mélange qui possède une phase liquide et une phase solide au travers d'un milieu poreux.

C'est une technique très utilisée que ce soit dans le domaine de l'agro-alimentaire ou de la pharmacie ou par de nombreuses espèces animales, principalement aquatique.

L'utilisation d'un filtre permet de retenir les particules du mélange hétérogène qui sont plus grosses que les trous du filtre (porosité).

Le liquide ayant subi la filtration se nomme filtrat, et ce que le filtre retient se nomme un résidu .

La microfiltration est une séparation de particules de l'ordre de micromètre.

La filtration stérilisante est un cas particulier, les particules étant des microorganismes.

Les applications de la filtration courante résultent de la séparation d'un solide dispersé *dans un liquide pour obtenir:*

- Un liquide clarifié, débarrassé des particules solides.*
- Un solide essoré de l'excès de liquide.*

Présentation de la plante étudiée (*salvia argeantea*)

La famille des Lamiaceae :

La famille des Lamiacées (*Lamiaceae* ou *Labiatae*) est une famille botanique très large. La majorité de ces espèces ont une grande importance, vu leurs valeurs économiques (**Duarte et Lopez, 2007**).

Elle comporte environ 264 genres et 6990 espèces (**Gurchan, 2004**) d'herbes, parfois arbre ou arbustes, annuelles ou pluriannuelles, habituellement aromatiques à tiges quadrangulaires. Les feuilles opposées, rarement verticillées ou alternées, simples à pennées ou composées, sans stipules (**Lihsi et al, 1994**).

Les espèces de la famille des lamiacées sont considérées comme étant les plus évoluées parmi toutes les plantes dicotylédones. Elles sont distribuées dans les différentes zones tempérées du monde entier, mais concentrées en grande partie dans la région méditerranéenne. Cette famille inclut plusieurs espèces utilisées dans la cuisine, la phytothérapie et la cosmétologie notamment celles appartenant aux genres: *Lavandula*, *Mentha*, *Stachys*, *Thymus*, *Rosmarinus* et *Salvia* (**Gurchan, 2004**).

Le genre *Salvia* :

Le genre *Salvia* est considéré comme étant le genre le plus large et le plus important de la famille des lamiacées (*Lamiaceae* ou *Labiatae*) (**Bagci et al, 2008 ; Walter et al, 2002**). Il rassemble, à lui seul, plus de 900 espèces identifiées autour du monde (**Bektas et al, 2005 ; Kivrak et al, 2009**).

Le nom vernaculaire « sauge » est attribué aux différentes espèces aromatiques du genre *Salvia* (**Karousou et al, 2000**). Le nom scientifique de la sauge indique clairement l'importance de son rôle en phytothérapie : *Salvia* vient de « *salvare* » qui, en latin, signifie «sauver» (**Baran, 2010; Ulubelen, 2000 ; Baricevic et al, 2000; Nicolette et al, 2000; Stanley et al, 2000**).

Ce nom est corrompu populairement en « Sauja » et « Sauge » en Français et « Sawge » en ancien anglais, devenu actuellement « Sage », en référence à ces

propriétés médicinales, connues depuis les anciennes civilisations (Anthony, 2000).

Les espèces *Salvia* représentent un groupe d'espèces cosmopolites, qui montrent une gamme remarquable de variation (Pistilli, 2006). Ce genre est distribué dans trois régions principales dans le monde: 530 espèces à l'Amérique centrale et latine, 250 espèces en Asie centrale et en régions méditerranéennes, 30 en Afrique du Sud et 90 espèces en Asie de l'Est (Walker et al, 2004).

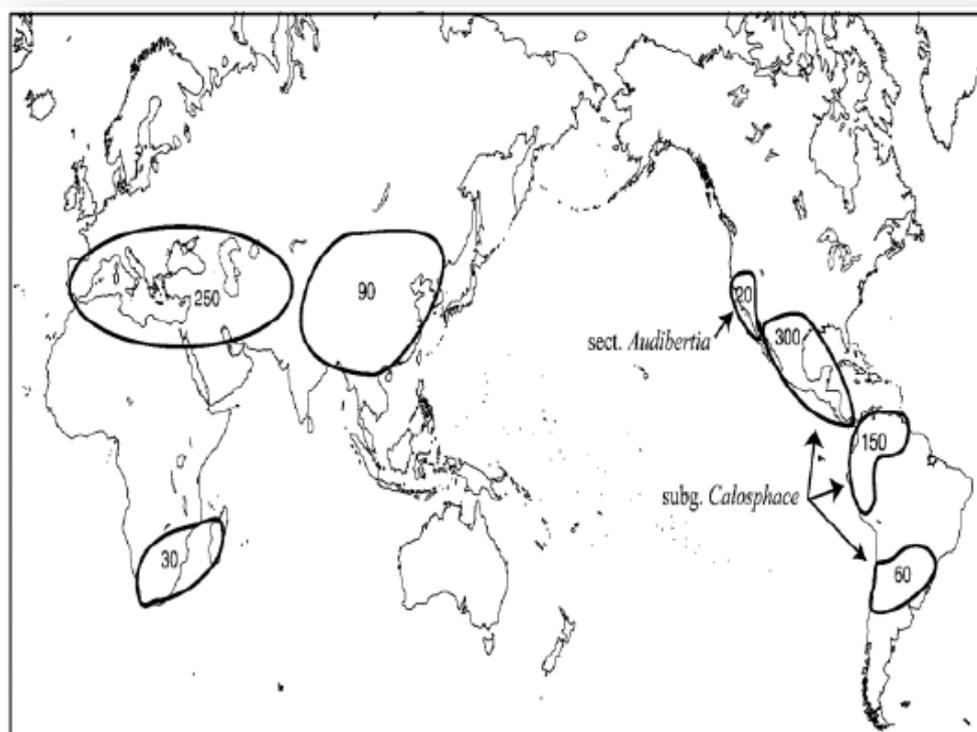


Figure 16 : Répartition géographique du genre *Salvia* dans le monde, selon Walker et al,(2004).

En Algérie, les espèces qui ont été déterminées sont au nombre de dix huit : *Salvia Balansae* de Noé ; *S. officinalis* L. ; *S. Chudaei* Batt. et Trab. ; *S. triloba* L. fils ; *S. lavandulaefolia* Vahl. ; *S. Aucheri* Benth. ; *S. phlomoides* Asso. ; *S. Jaminiana* de Noé ; *S. verbenaca* (L.) Briq. ; *S. Horminum* L. ; *S. aegyptiaca* L. ; *S. silvestris* L. ; *S. tingitana* Ette. ; *S. Sclarea* L. ; *S. Aethiopsis* L. ; *S. algeriensis* Desf. ; *S. Barrelieri* Etting. et *S. argentea* L. (Quezel et Santa, 1963).

Salvia argentea :

1.Définition :

Salvia argentea, est une plante bisannuelle. Elle est ré pondue en Afrique du nord et en Europe méridionale. Au cours de son développement, elle commence par former une rosette basale de feuilles veloutées qui s'étale jusqu'à atteindre 1 mètre de diamètre, en fin d'hiver. En début d'été, lorsqu'elle atteint environ 1m de hauteur, elle fleurit en développant une panicule de petites fleurs blanches ou jaunes (**Burnie et al, 2006**).

2.Classification :

L'espèce se caractérise non seulement par ses fleurs de coloration jaunâtres mais aussi par ses inflorescences terminées par les bractées et par leurs grandes feuilles velues crénelées-dentées, étalées en rosette (**figure 04**) (**Beniston et al, 1984**).

Salvia argentéa était décrit et dénommé par Carl Linnaeus en 1762. Selon **Dweck (2000)**, *Salvia argentéa* se classe comme suit :

Règne	<i>Plante</i>
Classe	<i>Magnoliophyta</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Famille	<i>lamiaceae</i>
Sous-famille	<i>nepetoideae</i>
Genre	<i>salvia</i>
Espèce	<i>Salvia argentea</i>
Nom binomial	<i>Salvia argentea</i> (Barnes et al, 2007)
Le nom commun	فراش الندى

3. Les caractéristiques (*salvia argentéa*) :

- ✓ Couleur fleur : Blanc
- ✓ Couleur feuillage : Gris-argent
- ✓ Hauteur : 70 cm
- ✓ Feuillaison : Mars – Octobre
- ✓ Floraison(s) : Juin – Juillet
- ✓ Type de feuillage : caduc
- ✓ Exposition : soleil
- ✓ Type de sol : sec.
- ✓ Silhouette : Rosette

4. Présentation botanique:

➤ **Tiges:**

Salvia argentéa possède des tiges fortes, dressées, apparaissent portent de grandes feuilles opposées, pubescentes, de forme triangulaire. Les tiges peuvent atteindre une hauteur de 50 à 90 centimètres et d'une amplitude de 60 à 80 centimètres.



Figure 17 : La tige de *salvia argentéa*

➤ **Feuilles:**

Salvia argentéa est une plante à feuilles caduques très variables en taille, texture et forme. De couleur verte jaunâtres, simple et opposées. Elles sont ovales à oblongues dentées, laineuses, de 20 cm de long et pétiolées avec un bord crénelé, Les feuilles sont recouvertes d'un duvet argenté, très doux au toucher, qui rend cette sauge populaire auprès des horticulteurs.



Figure 18 : Feuilles de *salvia argentéa*

➤ **Fleurs et fruits:**

La floraison de *Salvia argentéa* a lieu de juillet à août. Les plantes présentent des fleurs labiées de couleur blanche ou rosées de 3cm de long, à calice gris. Les fleurs s'organisent en panicule. 2-8 fleurs en verticilles axillaires avec divers bractées colorées, Blanches, sont verticellées et hermaphrodite (**Hedge, 1972**).

Les plantes produisent des tétramères.



Figure 19: La fleur *Salvia argentea*.

➤ **Racines :**

Les racines de *Salvia argentea* sont épaisses et tubéreuses (pivotantes) ce qui la rend résistante à la chaleur et à la sécheresse, mais sensible à l'humidité hivernale. Les racines poussent sur des sols frais et préfèrent une exposition ensoleillée. Le substrat doit être limono-graveleux avec un pH entre 8 et 10. Elles supportent des températures jusqu'à (-29°C).



figure 20 : Racine de *Salvia argentea*

Le Nickel

Le nickel est un métal lourd blanc, dur, argenté qui possède un éclat poli, ferromagnétique brillant, il est le quatrième métal le plus utilisé au monde. L'un des micronutriments essentiels pour la croissance et le développement des plantes et il est également un oligo-élément essentiel pour l'organisme, dont les carences sont graves. La dose quotidienne de nickel ingéré se situe idéalement entre 100 et 300 µg/jour, mais peut varier de 100 à 800 µg selon les habitudes alimentaires. **(Benrahou et Hamadouche, 2016).**

1. Les propriétés physico-chimiques du nickel :

Le nickel ne décompose pas l'eau à froid, et ne décompose que très lentement la vapeur d'eau au rouge, avec formation de protoxyde vert cristallisé. Il se dissout très lentement avec dégagement d'hydrogène, dans les acides chlorhydrique, sulfurique et phosphorique étendus.

L'acide sulfurique concentré et chaud l'attaque difficilement.

L'acide azotique ordinaire attaque facilement à froid le nickel, avec dégagement de vapeurs nitreuses **(Henri et Louvrard, 1945).**

Le nickel comme le fer présente, avec l'acide azotique concentré, le phénomène de la passivité, c'est-à-dire que le dégagement de vapeurs nitreuses peut être empêché par l'immersion préalable du métal dans l'acide concentré, qui ne l'attaque pas. Le nickel est oxydé par l'azotate de potassium fondu au rouge. Il s'unit directement à l'arsenic, au phosphore, au chlore, au brome et à l'iode.

Avec le bore il fournit un borure de nickel cristallisé de formule Bo Ni. Les alcalis en solution étendue l'attaquent à peine, mais quand la teneur en potasse anhydre KOH, atteint 60% l'attaque est rapide **(Henri et Louvrard, 1945).**

propriétés physico-chimiques de nickel (ATSDR, Office of Environmental Health Hazard Assessment et al., 2001).

Propriétés	Nickel
Numéro atomique	28
Masse atomique (g.mol ⁻¹)	58.69
Masse volumique (g.cm ⁻³)	8.90
Formule chimique	Ni
Etat physique	Solide
Couleur	Argenté
Point de fusion	1455°C
Point d'ébullition	2730°C
Densité	8.9g /cm ³
Solubilité dans l'eau	101mg/L a 37°C
Pression de vapeur	1mm Hg a 1.810°C
Electronégativité (alied et Rochow)	1.75
Electronégativité (Pauling)	1.91
Rayon atomique (Å)	1.25
Degré d'oxydation (gras = le plus stable)	2 ; 3
Rayon ionique pour M ²⁺ (Å)	0.72
Rayon ionique pour M ³⁺ (Å)	0.62
Potentiel d'ionisation pour M ²⁺ (volts)	18.15
Potentiel d'ionisation pour M ³⁺ (volts)	36.16

2. Les dérivés du nickel et leur utilisation :

Un grand nombre de composés du Ni a été identifié et caractérisé ; beaucoup d'eux comme le sulfate du nickel, le nitrate du nickel, le chlorure du nickel et l'acétate du nickel sont relativement solubles dans l'eau. Cependant, les autres composés de ce métal comme l'hydroxyde du nickel, l'oxyde du nickel, le sulfure

du nickel et le subsulfide du nickel sont pratiquement insolubles dans l'eau. Les formules chimiques et les formes physiques des composés du Ni sont mentionnées dans le tableau 2 (**Office of Environmental Health Hazard Assessment et al.,2001**).

- le sulfate de nickel est utilisé dans les bains de nickelage, comme intermédiaire dans la fabrication de carbonate de nickel et de sulfate d'ammonium et de nickel. C'est le principale intermédiaire pour la fabrication de sels de nickel. Il sert a produire des catalyseur et est employé comme mordant pour les textiles. Il est également employé pour le noircissement du zinc et du bronze.
- Le nickel tétracarbonyle est employé dans la fabrication de poudre de nickel de haute pureté. Il est également utilisé comme mordant catalyseur en synthèse organique.
- L'acétate de nickel est utilisé comme mordant pour les textiles, comme intermédiaire dans la fabrication d'autre composés du nickel et comme catalyseur .
- Le chlorure de nickel est employé pour nickelage, pour fabriquer des encres sympathiques et comme réactif de laboratoire. Il sert également à piéger l'ammoniac dans les masques à gaz
- Le nitrate de nickel entre dans la composition de bains de nickelage et est utilise comme colorant pour les porcelaines. Il est également employé dans les batteries cadmium-nickel
- L'oxyde de nickel est utilise dans la fabrication de sels de nickel, dans la fabrication ferrites utilisées dans l'industrie électronique, dans la production de catalyseurs et pour le nickelage. Il est également employé comme colorant pour le verre et utilise dans les peintures sur porcelaine.
- Le sulfure de nickel est utilise dans la production de catalyseurs et dans l'hydrogénation des composés de soufre en pétrochimie (**pichard et al,2006**).

les différentes formes physiques du nickel (INRS, 1992 ; INERIS,2005 ;Brignon et al., 2006)

Substance chimiques	Forme physique
Nickel tetracarbonyle	Liquide Très peu soluble
Acétate de nickel	Solide cristallisé Soluble
Oxyde de nickel	Poudre Insoluble
Hydroxyde de nickel	Poudre Très peu soluble
Carbonate de nickel	Cristaux Très peu soluble
Chlorure de nickel	Solide cristallisé Très soluble
Nitrate de nickel	Solide cristallisé Très soluble
Sulfure de nickel	Solide cristallisé Insoluble
Sulfate de nickel	Solide cristallisé Facilement soluble

3. Principales sources d'exposition :

La croûte terrestre contient environ 0,009 % de nickel dans les minerais sulfurés, arséniures, antimoniures, oxydés et silicatés. De plus, le nickel est présent dans l'air, dans les particules en suspension, après avoir été rejeté par des activités humaines ou des phénomènes naturels, comme les éruptions volcaniques, les incendies de forêts et les météorites provenant de la haute atmosphère. (**Ministère de l'environnement, 2001**).

4.L'apport alimentaire

La présence de nickel dans la nourriture est due à deux facteurs principaux. La plante elle-même absorbe une partie du nickel présent naturellement ou artificiellement dans le sol. Mais il est connu que certains végétaux arrivent à concentrer 1000 fois ce taux normal.

A cette source primaire peut s'ajouter le nickel qui passe secondairement dans les aliments du fait de leur contact avec des ustensiles en acier inoxydable (**Brun, 1979**).

La viande et le poisson sont également relativement riches en nickel et ceci d'autant plus que l'âge des animaux augmente. Les produits laitiers et les boissons sont plutôt pauvres en nickel. Les margarines contiennent des quantités de nickel élevées, puisque celui-ci est utilisé comme catalyseur dans l'hydrogénation commerciale (**Stoltz et al., 2003**).

Les aliments les plus riches sont : cacao, chocolat, soja, les légumes sec, les noix, les céréales. (**Bensefa, 2003**).

5.La toxico-cinétique du Nickel :

5.1.L'absorption :

L'absorption du nickel existe également par voie cutanée. Cette voie est peu significative quantitativement mais importante cliniquement dans la pathogénie de la dermatite de contact. Il n'existe pas de différence d'absorption du nickel par voie cutanée entre les sujets hypersensibles et les autres (**Lloyd, 1980**).

Le contact avec la peau peut causer une dermatite et un type d'eczéma chronique, connu sous le nom de "Démangeaison au nickel", causée par des réactions d'hypersensibilité du nickel sur la peau (**Patnaik, 2003**).

5.2.Distribution :

La distribution du nickel varie selon la voie d'exposition. Des travailleurs exposés par inhalation au nickel présentent des taux pulmonaires plus élevés que la population en générale, Une étude autopsique d'individus non exposés

professionnellement au nickel a montré que les plus fortes concentrations étaient mesurées dans les poumons, puis dans la thyroïde, les glandes surrénales, les reins, le coeur, le cerveau, la rate et le pancréas (**Rezuke et al., 1987**). Le nickel traverse la barrière foeto-placentaire et s'accumule dans les tissus du fœtus (**Jasim et Tjalve, 1986**).

Les études de **Dieter et al., (1988)** ; **Pardeep, (2004)** ; **Pari et Prasath, (2008)** suggèrent que l'intoxication par le nickel témoigne d'une dégénérescence des hépatocytes. Ainsi, le sulfate de nickel administré par voie cutanée ou orale provoque chez le rat des effets hépatiques qui se traduisent par un gonflement des hépatocytes, une nécrose focale et une vacuolisation accompagnés d'une augmentation de l'activité enzymatique du foie notamment de la catalase, les transaminases, une augmentation de lipides et de la bilirubine.

5.3.Élimination :

Après inhalation, le nickel particulaire insoluble est très lentement éliminé, ce qui entraîne une accumulation avec le temps. L'excrétion du nickel dépend de l'origine de l'exposition ; son élimination se réalise majoritairement par les urines (3-6%). En cas d'ingestion, la plus grande partie du nickel (non absorbé) est excrété par voie fécale (94-97%) et à des taux très faibles dans la sueur. (**Onkelinx et al., 1973**).

6. La toxicité aiguë :

C'est le nickel carbonylé qui présente la toxicité aiguë la plus forte pour l'homme. Elle se traduit par des céphalées frontales, des vertiges, des nausées et vomissements, de l'insomnie et de l'irritabilité, puis par des symptômes pulmonaires évoquant une pneumonie d'origine virale. Un décès par syndrome respiratoire a été observé chez une personne qui pulvérisait du nickel lors d'un procédé de soudure sans porter d'équipement de protection. Des effets toxiques ont également été observés chez des travailleurs d'installation de galvanisation ayant bu accidentellement de l'eau contaminée par du sulfate et du chlorure de nickel. Des tests épicutanés au sulfate de nickel réalisés chez des individus sensibilisés au

nickel ont montré une relation entre la quantité de nickel et la sévérité de la réponse. (CAPSE,2012).

7. Toxicité chronique :

Les études chez l'homme et l'animal indiquent que le système respiratoire est la cible principale de la toxicité du nickel par inhalation. Une augmentation de l'incidence des décès par pathologie respiratoire a été trouvée chez des travailleurs exposés chroniquement à des concentrations supérieures à 0,04 mg de nickel /m³ sous forme de monoxyde ou de métal. (Cornell et Landis, 1984).

Les effets respiratoires étaient de type bronchite chronique, emphysème, diminution de la capacité vitale. Cependant, la toxicité observée ne peut être uniquement au nickel puisque les travailleurs étaient exposés à d'autres métaux comme : l'arsenic, l'uranium, le fer, le plomb et le chrome. D'autres études ne mettent pas en évidence d'augmentation de l'incidence des décès par pathologie respiratoire (Cox et al., 1981 ; Enterline et Marsh, 1982; Shannon et al., 1984,1990).

Chez des travailleurs exposés au nickel (composé non précisé), une augmentation significative des IgG, des IgA et des IgM et une diminution significative des IgE a été observée (Shannon et al., 1991).

8. Toxicité subchronique :

Un certain nombre d'études chez l'homme et chez l'animal suggèrent que l'exposition aux sels solubles de nickel entraîne l'apparition d'effets systémiques sur les reins, la mortalité néonatale et des effets sur le système immunitaire.

Le rein constitue le principal organe cible tant chez l'animal que chez l'homme. (Dieter et al.,1988 ; Smith et al., 1993).

9. Effet du nickel sur les différents organes :

Un certain nombre d'étude chez l'homme et l'animal suggèrent que l'exposition aux sels de nickel entraîne l'apparition d'effets systémique sur les reins, le foie, les poumons.

Ce sont les principaux organes cibles tant chez l'animal que chez l'homme (**Ambrose et al., 1976 ; Dieter et al.,1988; Smith et al., 1993; Vyskocil et al., 1994a, 1994b**).

9.1. Effet du nickel sur les reins :

L'exposition au nickel se traduit par le dysfonctionnement de la fonction rénale. Ainsi, l'exposition à de fortes doses de nickel métallique a provoqué une nécrose des tubules rénaux chez un homme décédé suite à une détresse respiratoire (**Rendall et al., 1994**). De plus la concentration en nickel dans l'urine augmente notablement après plusieurs jours d'exposition au Nickel (**Sunderman.,1993**).

Les rates exposées au sulfate de nickel dans l'eau de boisson montrent un changement du taux urinaire en albumine à la fois chez la femelle que chez le male, alors que la teneur en glucose diminue (**Obone et al., 1999**).

9.2.Effet du nickel sur le système hépatique :

Chez le rat, l'intoxication par le nickel témoigne d'une dégénérescence des hépatocytes.

Ainsi, le sulfate de nickel administré par voie cutanée ou orale provoque chez le rat des effets hépatique qui se traduisent par un gonflement des hépatocytes, une nécrose focale et une vacuolisation (**Dieter et al., 1988; Novelli., 1998; Pardeep Sidhu., 2004**) accompagnés d'une augmentation de l'activité enzymatique du foie notamment de la catalase, l'alanine aminotransférase (ALAT) et l'aspartate aminotransférase (AST), une augmentation du taux des lipides peroxydase et de le bilirubine (**Sunderman et al., 1988; Pari et Prasath, 2008**).

De plus, chez les rats males et les souris, le sulfate de nickel administré dans l'eau de boisson provoque une chute du poids du foie (**Obone et al., 1999**).

9.3. Effet du nickel sur l'appareil respiratoire :

Les études chez l'homme et l'animal indiquent que le système respiratoire est la cible principale de la toxicité du nickel le nickel qui parvient au niveau pulmonaire a tendance à persister au niveau des poumons la rétention dépend notamment de la solubilité des composés et captage cellulaire. La muqueuse nasale peut retenir du Ni pendant de nombreuses années (Torjussen et al., 1978, 1979a, 1979b).

Les formes insolubles, après phagocytose par les macrophages, peuvent générer des quantités très importantes d'espèces réactives de l'oxygène, surtout avec le sous-sulfure Ni₃S₂ (Zhong et al., 1990 ; Huang et al., 1994).

Des changements histopathologiques par des dommages aux poumons (congestion, inflammation, fibrose et oedème) ont été noté chez des rats et des souris exposés au sulfate de nickel hexahydraté pendant 12 jours (**Bensou et al., 1987 ; Dunnick et al., 1988**).

Parmi les effets observés dans les voies respiratoires, on compte une inflammation des poumons accompagnée d'une pneumonie nécrosante et d'une augmentation du nombre de macrophages alvéolaires chez les souris, une dégénération de l'épithélium respiratoire chez les rats et une atrophie de l'épithélium olfactif chez les deux espèces (**Dunnick et al., 1988 ; Haley et al., 1990**).

9.4. Effets cancérigènes :

Le nickel est cancérigène responsable de certains cancers du poumon en milieu professionnel chez l'homme et l'animal. C'est principalement l'inhalation de composés solubles qui est associées avec le risque le plus élevé de cancer des voies aériennes. En 1990 ; le nickel et les composés du nickel ont été classés par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) dans le groupe 1 « cancérigène chez l'animal de laboratoire (**Denkhaus et al., 2002**).

Matériels et méthodes

L'objectif : Ce travail consiste à évaluer l'effet thérapeutique de la plante *Salvia argentea* face à une intoxication sub-chronique à travers une étude neurocomportementale, biochimique et histopathologique.

Matériels biologiques :

1. Matériel végétal :

Les feuilles de *salvia argentea* ont été recueillies dans la région de Rebahia- wilaya de Saïda en mois de décembre

Le séchage de la plante a été effectué naturellement à l'abri de la lumière et de l'humidité sur du papier durant 15 jours , ensuite dans l'étuve à 40°C pendant 48h.



Figure 21 : Séchage des feuilles de *Salvia argentea* (a : sur du papier : dans l'étuve)

1.1. Préparation de l'extrait aqueux : L'extraction est réalisée à partir des feuilles séchées de *Salvia argentea* qui vont être pulvérisé à l'aide du broyeur électrique.



Figure 22 : préparation de poudre

1.2.Extraction :

1.2.1.éxtraction par Soxhlet :

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première (*Petko Ivanov PENCHEV Le 20/07/2010*).

On a mis **25g** de poudre végétale dans **500ml** d'eau distillé et chauffée à (**100°C**) à reflux pendant **20 minutes**, après refroidissement puis filtration sur papier filtre.



Figure 23 : Montage se soxlet (photo réel)

1.2.2. extraction par agitateur magnétique :

Nous avons introduit **25 g** de la poudre végétale broyée dans **750 ml** d'eau distillée à température ambiante, sous agitation magnétique, pendant une heure (60min) .Après décantation pendant 30 minutes, Une filtration sur papier filtre est réalisée.

Le filtrat a été conservé dans une bouteille teintée



Figure 24 :l'extraction par agitation



Figure 25 : décantation



Figure 26 : Filtration

-les deux méthodes nous permettent d'obtenir des extrait aqueux .



Figure 27 : L'extrait aqueux après filtration

Détermination du rendement :

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (Mohammedi, 2006).

$$R\% = \frac{\text{Masse d'extrait sec}}{\text{Masse de la matière végétale}} \times 100$$

2. Animaux d'expérimentation :

Les expériences ont été réalisées sur des rats Wistar, pesant entre 100-150 gramme(jeune) et 200-250 gramme (adulte) , hébergé au niveau de l'animalerie du département de biologie (université de Saïda).

Les rats sont partagés en groupes dans 12 cages, 6 lots pour les jeunes et 6 lots pour les adultes (L x h x p =40×25×18 cm) a raison de 5 rats disposées dans une salle ventilée, a une température de 21°C ± 1°C.



Figure 28 : Animaux d'expérimentation

2.1. Répartition des groupes :



Figure 29 : la disposition des lots de rats dans l'animalerie (photos réel)

Lot F(T) : constitué de 5 rats qui reçoivent de l'eau normale (témoins -)

Lot A (Ni) : constitué de 5 rats qui reçoivent le sulfate de nickel à une concentration de 0.2% dans l'eau distillée par voie orale (**Kahloula et al., 2014**).

Lot B (Trt) : constitué de 5 rats qui reçoivent l'extrait aqueux de *Salvia argentea* par gavage. (0.3ml)

Lot C (co-administrative) : constitué de 5 rats qui reçoivent le sulfate de nickel à raison de 0.2% dans l'eau distillée par voie orale et l'extrait aqueux de *Salvia argentea* (0.3ml) par gavage dans le même jour.

Lot D (préventif) : constitué de 5 rats qui reçoivent l'extrait aqueux de *Salvia argentea* (0.3ml) par gavage (21 jour), ensuite ils reçoivent le sulfate de nickel à raison de 0.2% dans l'eau distillée par voie orale (21 jour).

Lot E (curatif) : constitué de 5 rats qui reçoivent le sulfate de nickel à raison de 0.2% dans l'eau distillée par voie orale (21 jour), ensuite ils reçoivent de l'extrait aqueux de *Salvia argentea*(0.3ml) par gavage (21 jour)

Les mêmes lots adultes ont été reproduit avec des rats adultes.

3. Tests neurocomportementaux :

3.1. Test de la nage forcée (Forced Swimming Test) :

Cette épreuve permettant la sélection de molécules à activité antidépressive. Elle est basée sur la constatation qu'un rat est obligé de nager dans un espace restreint duquel il ne peut s'échapper (cylindre de 20 cm de diamètre et de 40 cm de hauteur) rempli de 30 cm d'eau maintenu (22 -23°C).

Après une période de nage active, les rats s'immobilisent et flottent à la surface de l'eau. Cette immobilité est vue comme un comportement dépressif.

On calcule ce temps d'immobilité. La durée du test est de 6 mn (**Porsolt et al., 1977**).



Figure 30 : Test de la nage forcé

3.2. Le test du compartiment obscurité/ lumière (Light Dark Test):

Ce test permet à l'animal d'explorer une arène formée de deux compartiments : l'un éclairé, l'autre sombre.

Les rats ont généralement horreur des endroits très éclairés.

Ainsi, plus l'animal est anxieux, plus son exploration se réduira au compartiment sombre. Nous avons évalué le temps de séjour dans chaque compartiment après 3 minutes d'exploration du milieu par le rat. Duré de l'expérience est de 5 mn (**Kahloula, 2010**).

Entre chaque essai on nettoie la cage avec de l'éthanol 10%.



Figure 31 : Test de l'anxiété chez le rat (compartiment éclairé /obscur)

3.3. Mesure l'activité locomotrice : Open Field

L'activité locomotrice des rats est caractérisée par l'activité horizontale et verticale des animaux dans la cage d'expérimentation. L'observation des animaux commence quelque secondes après l'introduction des animaux dans la cage d'observation. On l'utilise avant tout pour mesurer ses fonctions motrices. Mais aussi, pour évaluer son degré d'anxiété (**Kulli jaako-Movits et al. 2005**).

Chaque rat était initialement placé dans l'un des quatre coins de l'open Field, la tête orientée vers le coin. Son comportement était observé pendant 6 min. Six paramètres sont mesurés durant l'expérience :

1. Temps de latence : c'est le temps mis par le rat pour sortir des quatre carreaux formant le coin
2. Nombre des carreaux traversés par le rat pendant 6 min, qui reflète son activité locomotrice horizontale
3. Nombre des visites au centre
4. Nombre de redressement (activité locomotrice verticale)
5. Nombre de toilettage
6. Nombre défécation

Entre chaque essai on nettoie la cage par l'éthanol 10%.

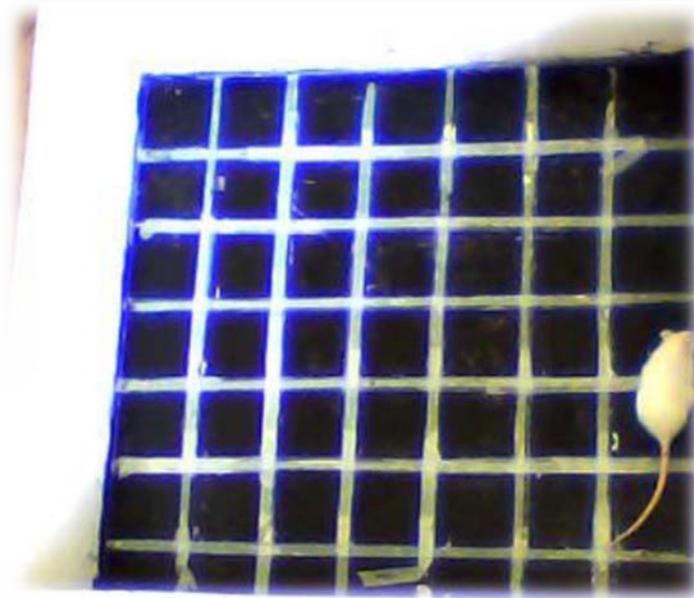


Figure32 : test d'open Field

4. Evaluation du poids corporel et le poids relatif des organes :

Le poids corporel de chaque rat a été noté chaque semaine durant la durée de l'expérimentation (3 semaines) ensuite, nous avons procédé au sacrifice de ces rats et le poids du poumon, cerveau, foie et reins des 12 lots a été enregistré. Ces organes sont utilisés pour l'étude histologique.

5. Prélèvement des échantillons :

A la fin des expériences neurocomportementales, les rats sont sacrifiés. Après 12 h de jeûne, en les anesthésiant et les décapitant.

Le sang est récupéré dans les tubes EDTA (FNS).

Les organes prélevés (foie, poumons, reins et cerveau) sont rincés par l'eau physiologique (NaCl 0.9%), séchés, pesés, puis sont conservé dans le formaldéhyde dilué 9% pour l'étude histologique.

6. Étude histologique des organes :

L'étude histologique a été réalisée dans le laboratoire d'anatomie et histopathologie au niveau du département de vétérinaire a l'université IBN KHALDOUN TIARET

Cette technique nécessite une préparation de fragment des oranges (foie, cerveau, poumon, rein) pour l'examen au microscope optique.

Elle requiert plusieurs temps successifs : fixation, la déshydratation, l'imprégnation suivie d'une inclusion dans la paraffine pure ; ensuite une coloration suivie d'un montage sur lame et lecture à l'aide d'un microscope optique.

6.1. Techniques d'anatomie pathologique :

Les étapes suivantes sont le prélude à l'analyse histologique et au compte rendu. La qualité apportée à la technique est fondamentale.

6.1.1. Fixation :

formol tamponné - 4 à 6 h pour les biopsies, 24 h au moins pour les pièces opératoires. La fixation des pièces dure en général 24 heures.



Figure33 : fixation des organes

6.1.2. Mensuration et description des pièces :

C'est l'étape de la macroscopie

- Les pièces à analyser sont mesurées, pesées pour certaines et décrites. En particulier, il est utile de noter la taille, l'aspect et la consistance des lésions ainsi que leur rapport avec le tissu sain avoisinant et les limites d'exérèse.

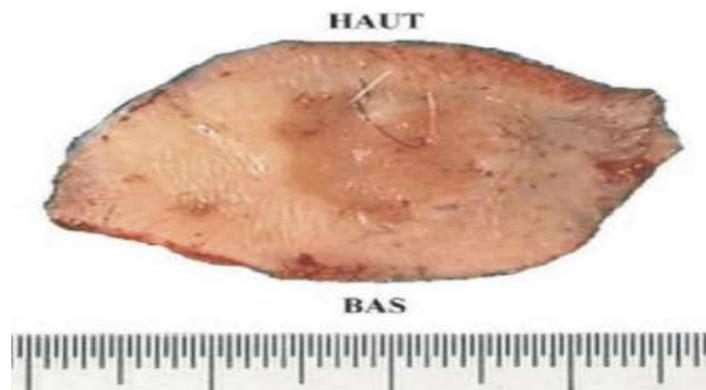


Figure34 : mensuration et description des pièces

L'étude macroscopique doit comporter une mesure précise des lésions, et la coupe de tranches significatives de la pièce et de la lésion pour l'étude microscopique

6.1.3.Mise en cassettes

Echantillonnage pertinent des lésions, du tissu avoisinant, des limites d'exérèse.



Figure35 : Une cassette avec un échantillon orienté

Les cassettes sont numérotées pour éviter toute confusion

6.1.4.Déshydratation

Cette étape prépare les tissus à l'inclusion en paraffine. Elle est réalisée dans un automate



Figure36 : La déshydratation des pièces se fait au travers de plusieurs bains de toluène dans un automate

6.1.5. Inclusion en paraffine

Les tissus sont inclus en fait dans de la paraffine purifiée .



Figure 37 : L'inclusion en paraffine

L'inclusion en paraffine permet d'obtenir des blocs, dont la conservation peut se faire en cas de besoin dans les laboratoires d'anatomo-pathologie.

6.1.6. Coupe au microtome

Le bloc de paraffine contenant le tissu est coupé en fins rubans de 4 à 5 μm .

Le bloc va être débité grâce à un microtome (lame très précise animée par un mouvement vertical de va et vient).



Figure 38 : microtome

6.1.7. Etalement sur lames

Plusieurs motifs de coupe tissulaire sont étalés sur lames . Les lames sont alors séchées afin d'assurer une bonne adhésion à la lame des tissus avant coloration.

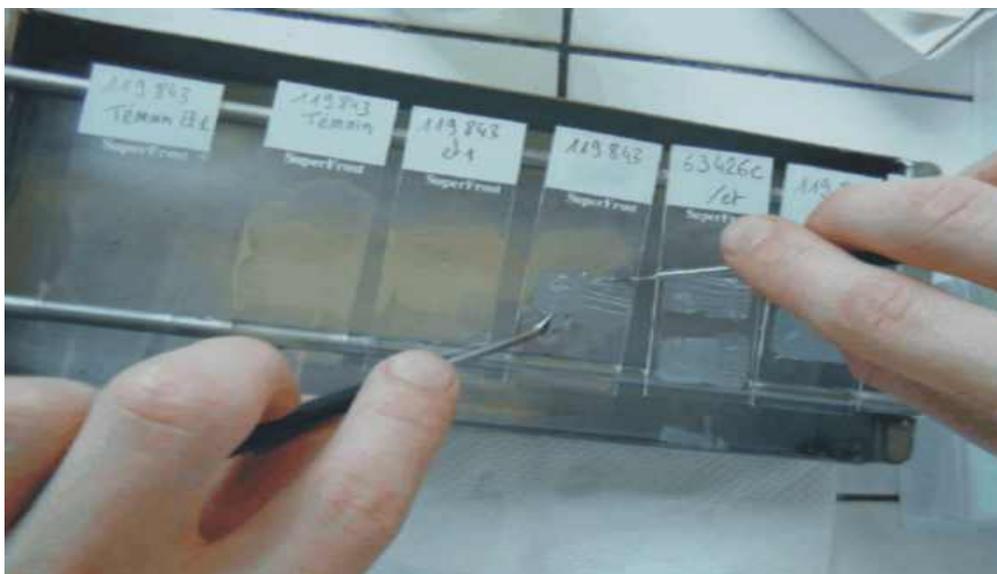


Figure 39 : Etalement sur lames

L'étalement sur les lames se fait avec un léger chauffage de la lame et on doit éviter les plis .

6.1.8. La coloration standard HES (Hématoxyline-Eosine-Safran)

L'hématoxyline colore les noyaux en violet foncé, l'éosine, les cytoplasmes en rose et le safran, les fibres collagènes en jaune



Figure 40 : Appareil à coloration automatique

Appareil à coloration automatique des lames (de nombreux bains successifs sont nécessaires) pour une la coloration à (l'hématoxyline éosine safran)

Analyse des coupes au microscope photonique

Cette seule coloration permet le diagnostic de la grande majorité des lésions tumorales et non tumorales.



Figure 41 : Plateau de lame présenté à l'anatomo-pathologiste pour l'interprétation

Résultats et discussions

Tests neurocomportementaux:

1. Light darck test :

Dans ce test les résultats montrent qu' il existe une différence significative entre : les animaux intoxiqués (Ni) et les animaux intoxiqués traités (Ni-TRT ½) ($p < 0.001$) , et aussi entre les témoins et les témoins traites, en terme de temps passé dans le compartiment éclairé par les intoxiqué est significativement supérieure à celui des rats témoins et les rats traités intoxiqués . (jeunes et adultes).

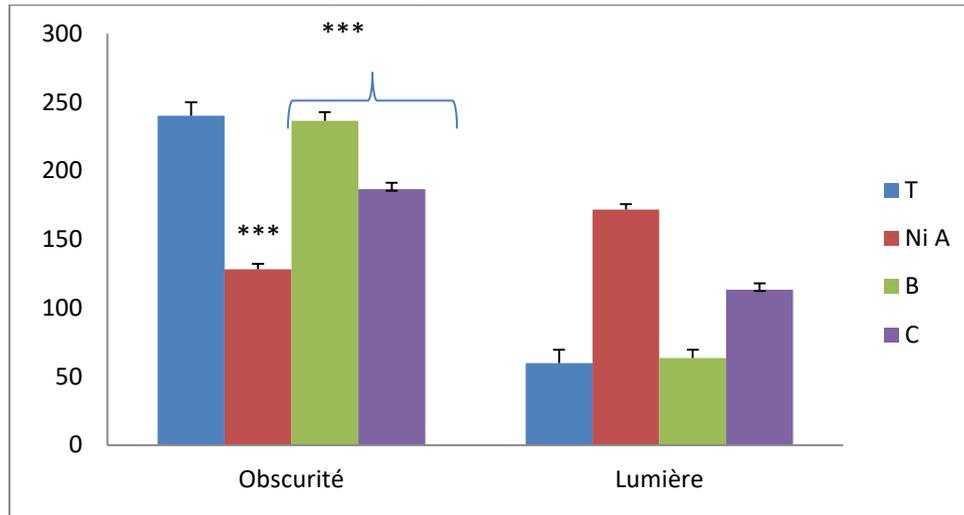


Figure 42 : La comparaison des différents paramètres du teste du compartiment obscurité/ lumière les rats jeunes (témoins, témoins traite, intoxiques, Co-administrative)

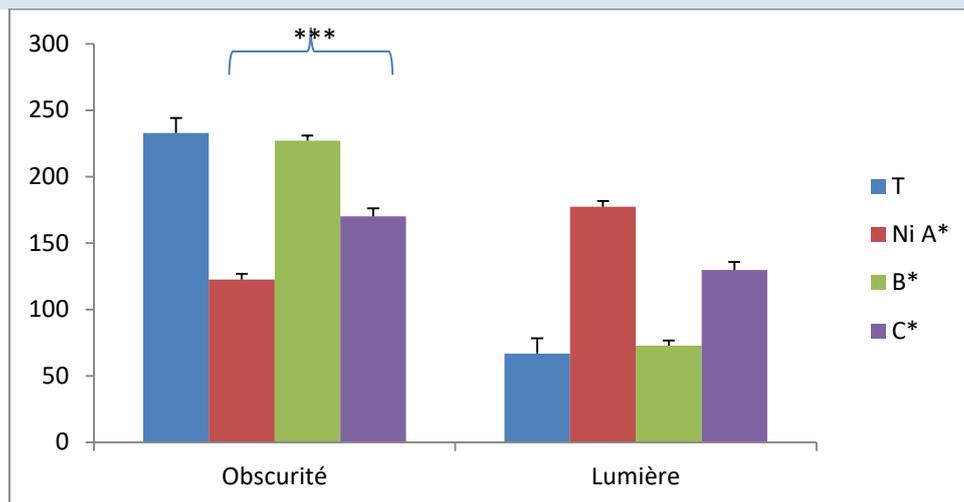


Figure 43 : La comparaison des différents paramètres du teste du compartiment obscurité/ lumière entre des rats adultes (témoins, témoins traite, intoxiques, Co-administrative)

2. Open Field :

Ce test permet d'évaluer la réaction du rat dans un environnement nouveau et spécial, ainsi que son désir à explorer les espaces.

Dans ce test les résultats ont montré l'installation d'un état d'anxiété chez les rats intoxiqués au (Ni) qui est observé par une diminution significative de nombre de visite du centre ($p < 0,001$) comparé aux rats témoins.

Par contre les rats traités et intoxiqués traités une augmentation significative du nombre de visite au centre ($p < 0,001$).

Aucune différence significative n'est observée en termes de temps de latence nombre défécation et le nombre du toilettage entre les différents lots.

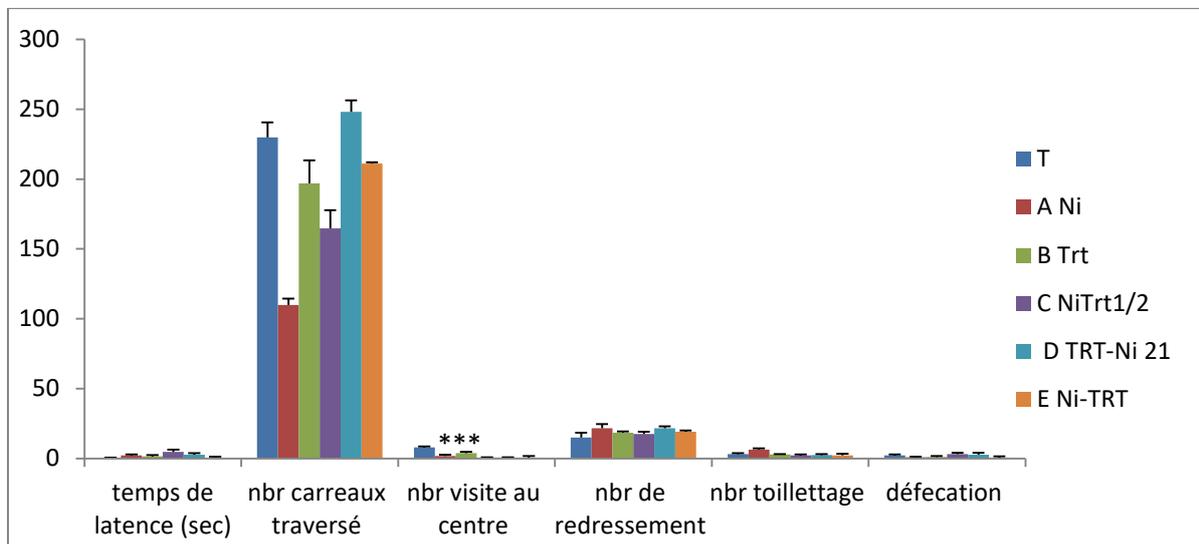


Figure 44 : La comparaison des différents paramètres du test Open Field (jeune)

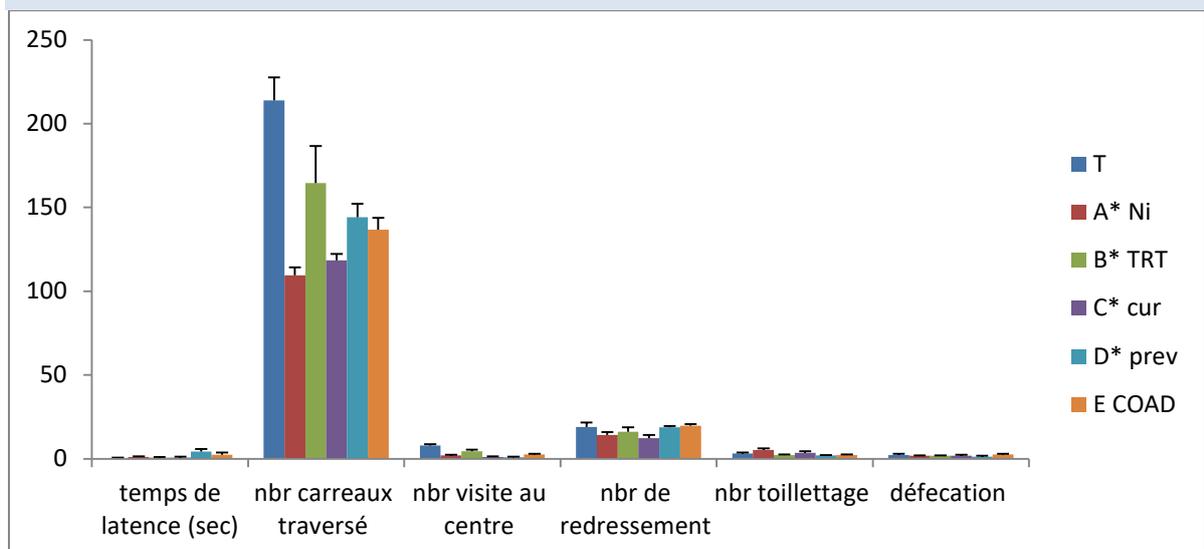


Figure 45 : La comparaison des différents paramètres du test Open Field (adulte)

3. Test de la nage forcée (Forced Swimming Test) :

Les résultats relatifs à ce test montrent que le temps d'immobilité chez les rats exposés au Ni au cours du développement est significativement supérieur à celui des rats témoins ($P < 0,001$).

Cette réduction de la durée de la nage active explique bien l'incapacité de l'animal à nager ceci est due à l'instauration d'un comportement de désespoir.

Cependant on a observé chez les animaux jeunes traités intoxiqués au Ni une amélioration significative de temps d'immobilité ($p < 0,01$) par rapport aux animaux témoins.

Pour les rats adultes on a observé chez les rats intoxiqués et les rats témoins traités une amélioration significative de temps d'immobilité ($p < 0,05$)

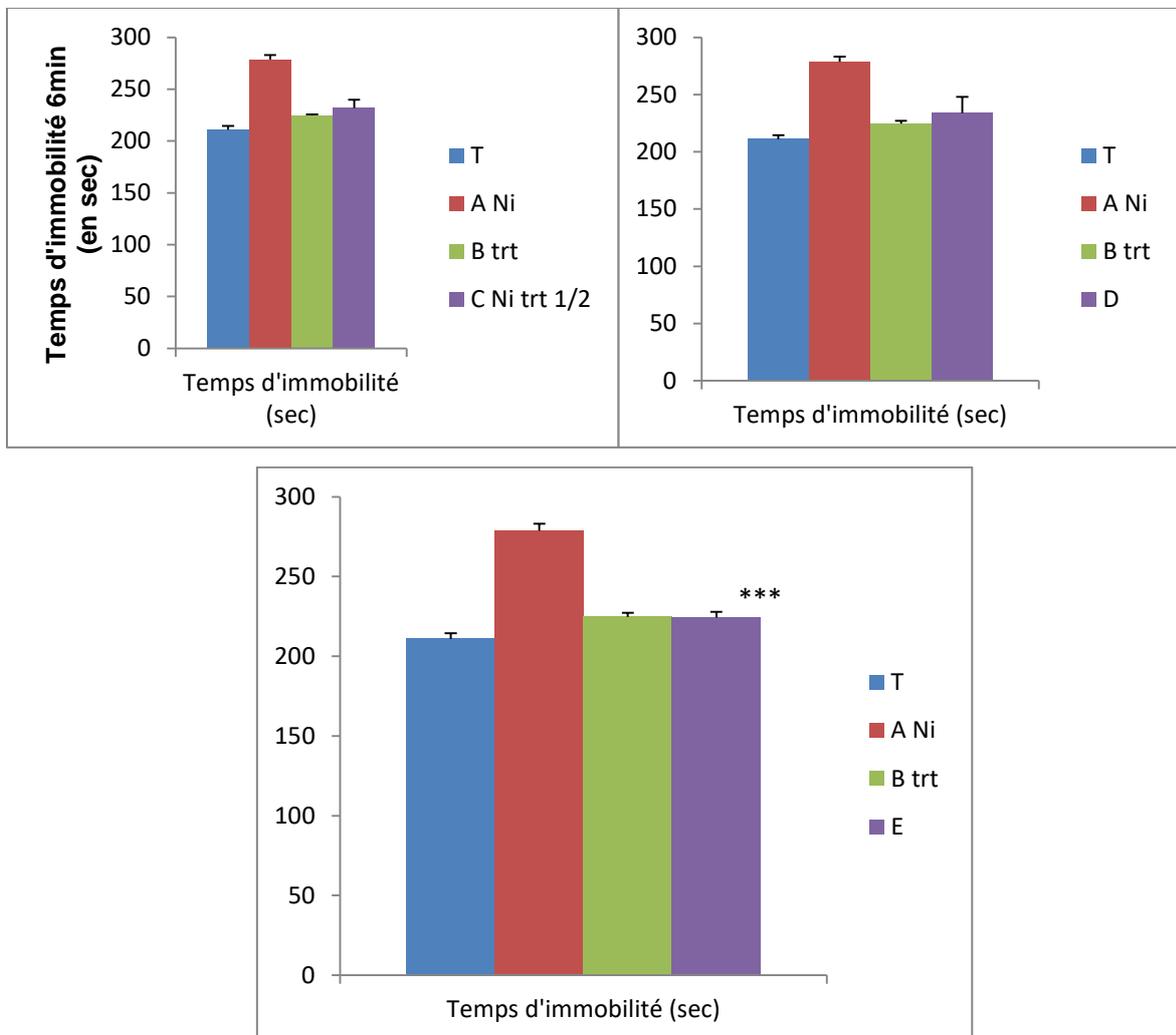


Figure 46 : Le temps d'immobilité durant le test de la nage forcée chez les rats

témoins(T), intoxiqués(Ni)et traités intoxiqués (TRT-Ni) et intoxiqués traités (Ni-TRT)

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM T vs Ni (***: $p < 0.001$) Ni vs Ni-TRT (***: $p < 0.001$) Ni vs TRT-Ni (**: $p < 0.01$)

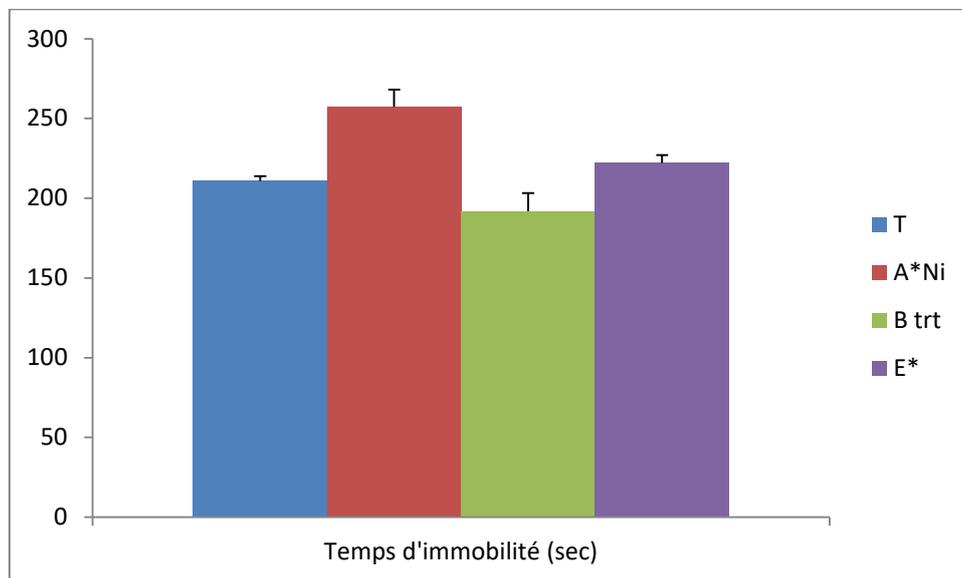


Figure 47 : Le temps d'immobilité durant le test de la nage forcée chez les rats adultes Ni vs Ni-TRT (*: $p < 0.05$)

Effet du Nickel sur le poids corporel et le poids des organes :

L'étude a porté sur la détermination du poids corporel et le poids des organes, chez les rats intoxiqués au Ni comparés aux rats traités et rats témoins. (adultes et jeunes)

Les résultats enregistrés montrent une diminution significative (***: $P < 0,001$) du poids corporel chez les rats intoxiqués au Nickel pendant la période de l'expérience par rapport aux rats témoins.

Cependant les rats qui sont traités par Ea.S présentent une augmentation significative (### : $< 0,001$) du poids corporel par rapport à celui des rats intoxiqués.

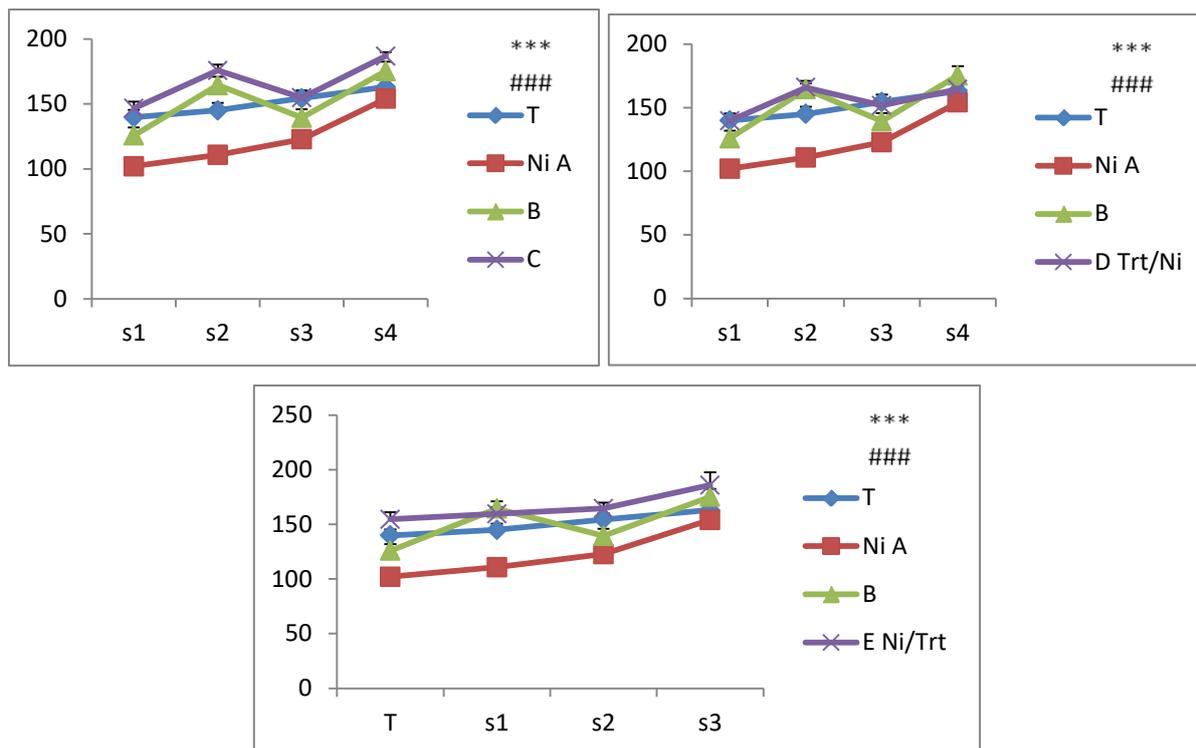


Figure 48 : L'évolution du poids corporel chez les rats adultes (témoins, traite, intoxicante, curatifs, préventifs, Co-administrative).

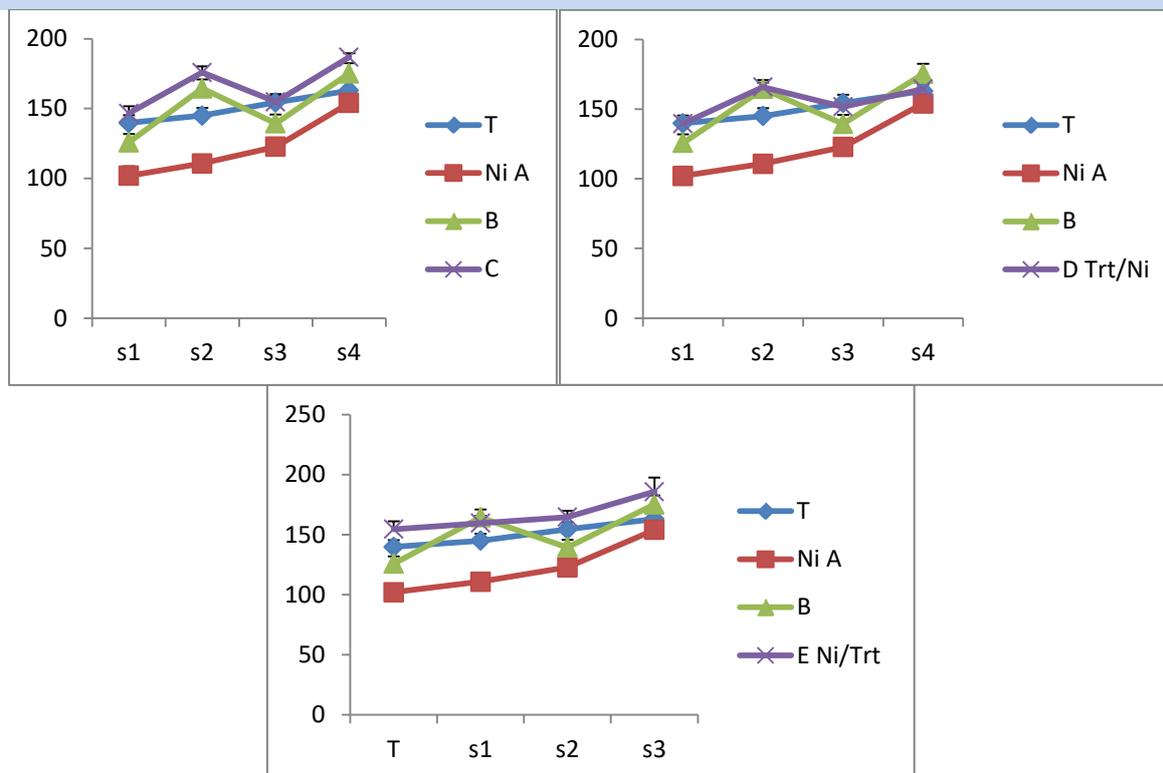


Figure 49 : L'évolution du poids corporel chez les rats jeunes (témoins, traite, intoxicante, curatifs, préventifs, Co-administrative).

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (***: $p < 0.01$).

Les résultats trouvés chez les animaux intoxiqués révèlent également une baisse significative ($p < 0,05$) des poids du poumon. Ceci montre que le Ni induit un retard de croissance de cet organe chez les rats traités par cet élément métallique. Par contre, les animaux qui ont été traités par Ea.S présentent une augmentation significative ($p < 0,05$) des poids des poumons par rapport aux rats exposés uniquement à ce métal.

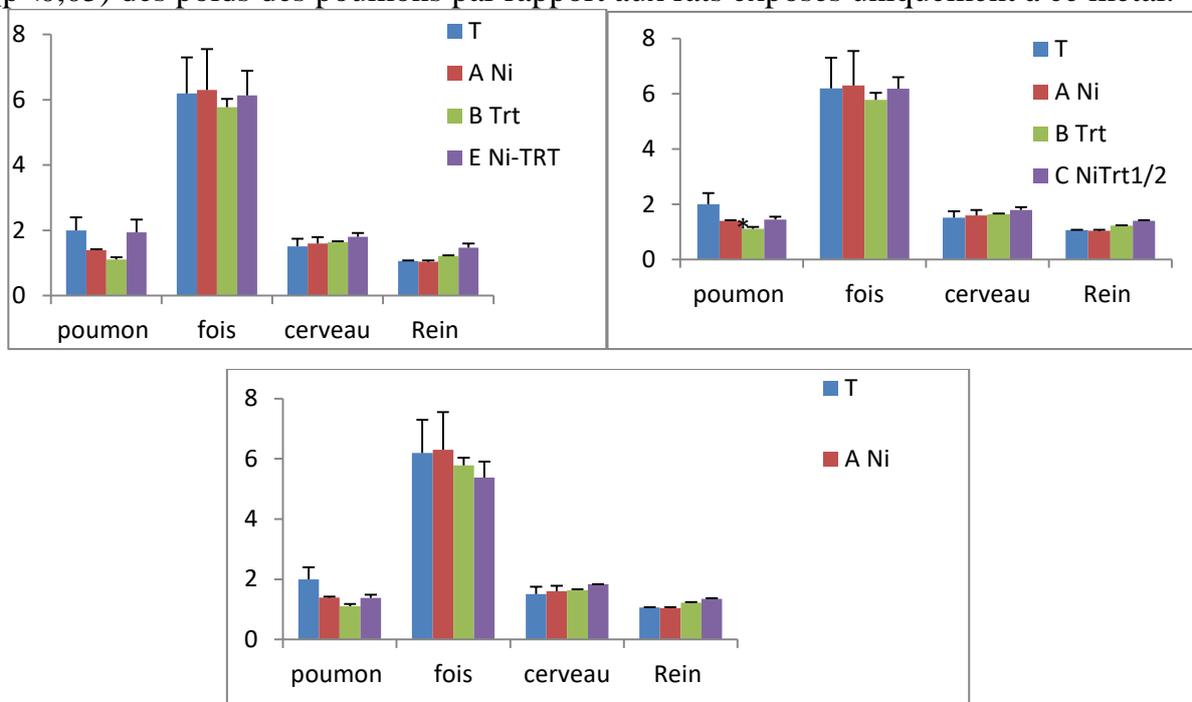


Figure 50 : L'évolution du poids des organes poumons, foie, cerveau, rein chez les rats jeunes

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (*: $p < 0.05$).

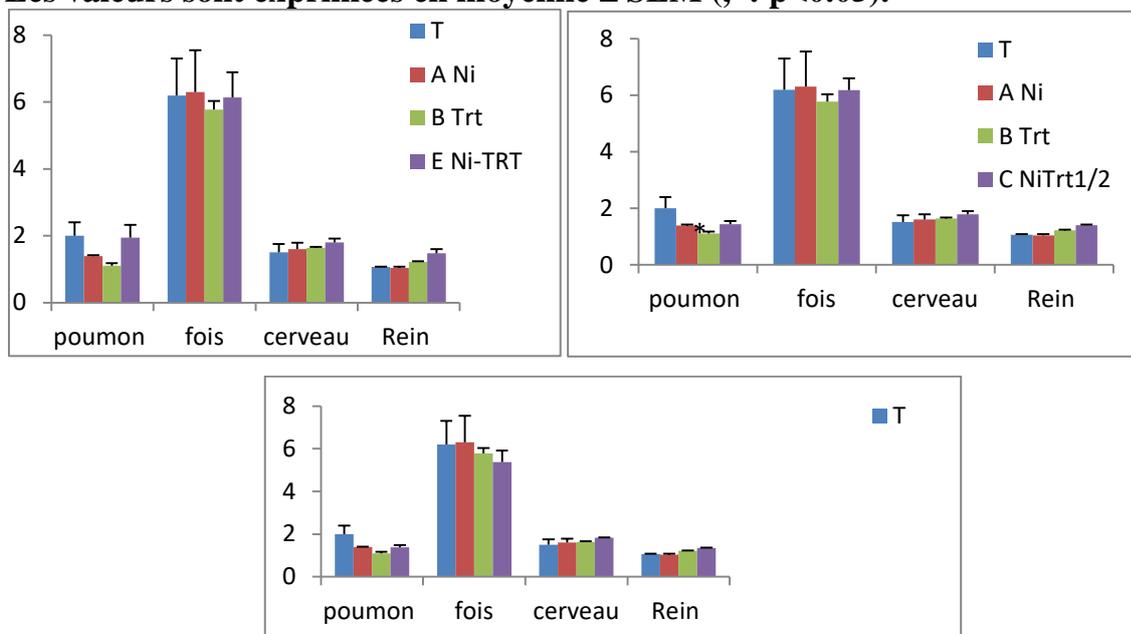


Figure 51 : L'évolution du poids des organes poumons, foie, cerveau, rein chez les rats adultes

Résultats histologie :

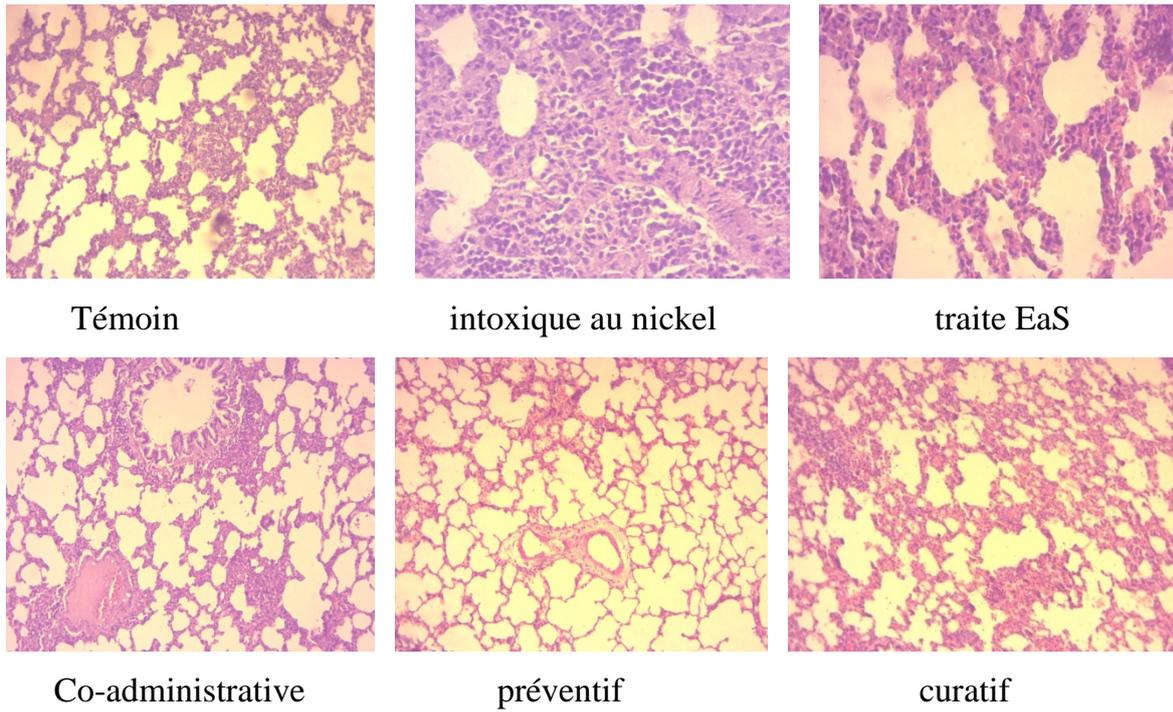


Figure 52 : observation microscopique des tissus de poumons (×40)

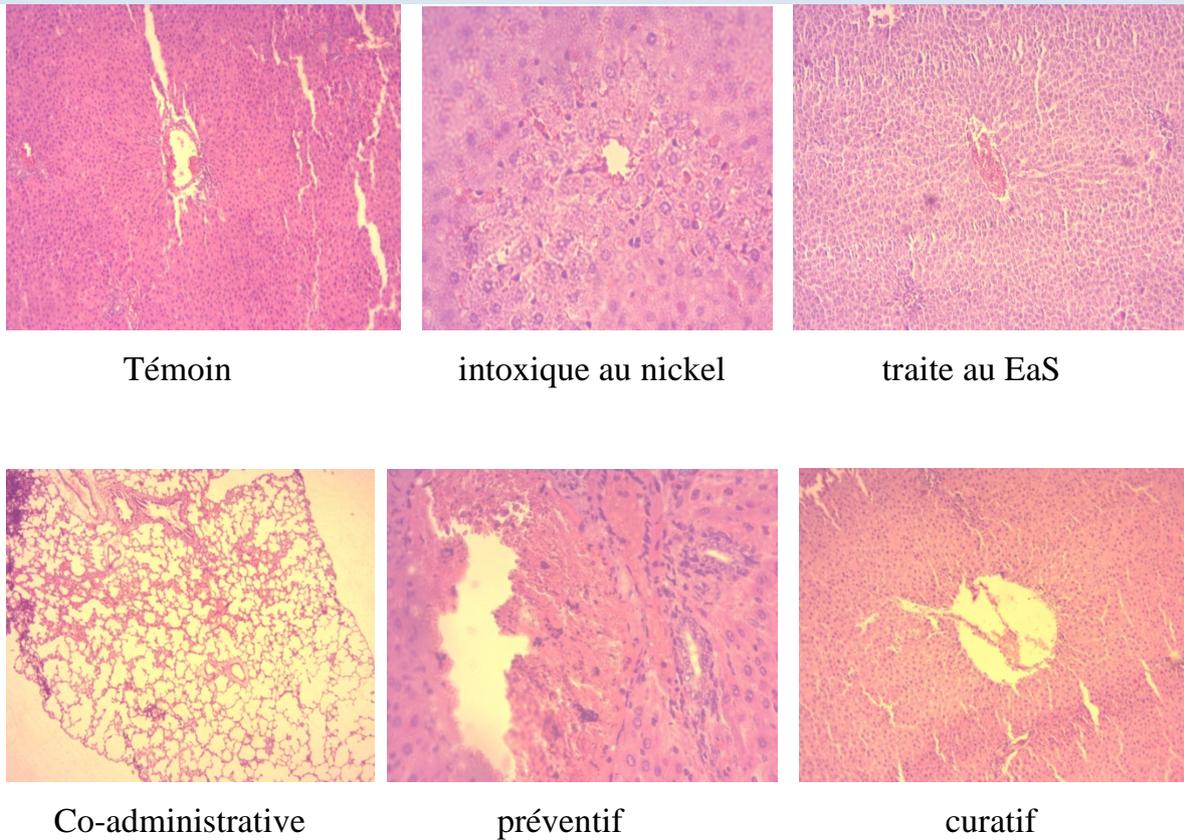


Figure 53 : observation microscopique des tissus hépatiques (×40)

Discussion

Les métaux lourds sont un groupe de produits chimiques environnementaux, qui sont universels et non biodégradables. Bien que les effets indésirables émanant de leur exposition sont largement connus, leur utilisation et leurs concentrations dans l'environnement sont croissantes (Zhao et al., 2014).

De nombreuses études ont mis en évidence la toxicité des métaux individuels pour les systèmes vivants (Taylor et al., 2014), cependant, ces métaux n'existent pas en tant qu'individuel, mais aussi sous forme de mélanges dans l'environnement (GE et al., 2014).

Le nickel comme étant un des métaux lourds est un polluant environnemental. C'est un cancérigène responsable de cancers du poumon en milieu professionnel. Chez l'animal, il s'accumule au niveau des reins et il induit des lésions au niveau des glomérules et une protéinurie. Il produit aussi des perturbations sexuelles. Des études ont montré qu'il entraîne une peroxydation lipidique, qui serait en relation avec la production de radicaux hydroxyles. Il peut ainsi altérer le statut antioxydant de la cellule (Hfaiedh et al., 2004 ; Das et al., 2008)

Cependant, pour de nombreux métaux toxiques, il existe des plantes et des extraits de plantes efficaces pour atténuer l'accumulation de ces éléments toxiques et diminuer de leurs effets néfastes. Il convient alors de faire recours à la médecine alternative et traditionnelle.

Salvia argentea est l'une des plantes de la famille des lamiacées, utilisées par les tradithérapeutes dans le traitement exclusif des maladies respiratoires (Benabdesslem, 2017), selon des études chez l'homme et l'animal le système respiratoire est la cible principale de la toxicité du nickel par inhalation. Une augmentation de l'incidence des décès par pathologie respiratoire a été trouvée chez des travailleurs exposés chroniquement à des concentrations supérieures à 0,04 mg de nickel /m³ sous forme de monoxyde ou de métal. (Cornell et Landis, 1984).

L'extrait de salvia argentea a été administré aux rats pour tester son pouvoir préventif et /ou curatif vis-à-vis d'une intoxication sub-chronique au nickel.

Les résultats relatifs au test de l'open field révèlent une diminution significative dans le nombre de visites du centre ($p < 0,001$), chez le groupe exposé au nickel se traduisant par l'installation d'un état d'anxiété. Cette même exposition des lots de rats jeunes a

permis d'enregistrer, à travers le test de la nage forcée, une augmentation significative ($p < 0,001$) du temps d'immobilité comparé au lot témoin. La réduction de la durée de la nage active explique bien l'incapacité de l'animal à nager due à un comportement de désespoir.

Des résultats similaires ont été rapportés par (KAHLOULA et al., 2014) sur des rats intoxiqués au Nickel durant la période de développement. Les auteurs ont conclu que l'intoxication au nickel durant la période de développement entraîne des effets neurotoxiques qui perturbent toute performance d'apprentissage spatial et de mémorisation ainsi que l'installation d'un état dépressif ce qui reflète une altération des processus de neurodéveloppement.

Cependant chez les animaux du lot de rat jeunes ayant reçu un traitement préventif par l'Ea.S avant l'intoxication au nickel, une amélioration significative de temps d'immobilité ($p < 0,01$) a été enregistrée par rapport aux animaux intoxiqués.

Selon ZERROUKI (2017), l'étude de l'effet d'une résine de *Boswellia serrata* sur la maladie d'Alzheimer a montré une correction de comportement et de mémoire très significative, de même cette espèce a amélioré les lésions tissulaires induites par l'exposition au plomb. Les tremblements de la maladie de Parkinson sont corrigés à une courte durée de traitement par le *Quercus suber*, de même le stress *in vivo* induit dans cette étude a été clairement chassé par cette plante, résultat visible par étude histologique. La même étude *in vitro* a été menée sur une espèce du genre *Salvia* (*Salvia officinalis*) et dont les résultats étaient importants à l'échelle biochimique et histologique.

La richesse de *Salvia argentea* en métabolites secondaires (Benabdesslem, 2017), nous laisse déduire que le traitement par son extrait aqueux a probablement conduit à des corrections des perturbations comportementales engendrées par le Nickel.

Le poids total des rats intoxiqués a diminué d'une manière significative. De même pour le poids relatif aux organes (précisément le poumon) qui a significativement diminué suite à l'intoxication.

Tahri (2016) a enregistré que le poids corporel est resté sans variation significative par contre les poids relatifs du foie et du cerveau ont diminué significativement suite à l'intoxication au chlorure d'aluminium à 30 mg/kg.

De plus, chez les rats males et les souris, le sulfate de nickel administré dans l'eau de boisson provoque une chute du poids du foie selon **Obone et al (1999)**.

Les observations histologiques des tissus hépatiques des rats intoxiqués par le Nickel montre une congestion modérée à sévère des capillaires sinusoides , avec une augmentation importantes des enzymes hépatiques. tandis que l'étude histologique du foie des rats intoxiqués et traités (lot co-administratif) révèle un aspect histologique normal .Ce même aspect et sans aucun changement cellulaire a été enregistré chez les rats des lots (préventifs) et (curatif) avec seulement une légère réaction au niveau du triode ,avec des taux d'enzymes hépatique (TGO) et (TGP) normaux.

Il a été signalé par Dieter et al(1988)., Novelli., (1998)., Pardeep Sidhu., (2004) que chez les rats, l'intoxication par le sulfate de nickel administré par voie cutanée ou orale, témoigne d'une dégénérescence et gonflement des hépatocytes, une nécrose focale et une vacuolisation .Selon Sunderman et al., (1988); Pari et Prasath (2008) ses altérations s'accompagnent d'une augmentation de l'activité enzymatique du foie notamment de la catalase, l'alanine aminotransférase (ALAT) et l'aspartate aminotransférase (AST), une augmentation du taux des lipides peroxydase et de le bilirubine .

Des études expérimentales, sur l'effet hépato-protecteur des extraits de plantes à différentes concentrations en utilisant le paracétamol comme agent hépatotoxique, ont révélé des effets préventifs de ces extraits d'une manière dose dépendante (Murugesh et al., 2005 ;Balamurugan et al., 2008 ; Sundari et al., 2013).

D'autre part, Balamurugan et ses collaborateurs (2008) ont rapporté un effet hépato-protecteur de l'extrait de *Lampito mauritii* , à des doses 100 et 200 mg/kg avec une dose de paracétamol 2000mg/kg ,qui est presque similaire à celui obtenu avec l'extrait de *Clematis flammula* .Ce même effet hépato-protecteur avec une diminution nottoir des enzyme hépatiques a été soulevé par les travaux de deux auteurs, Zarei

(2015) et Paesai et al (2014) sur deux espèces du genre *Salvia* : *Salvia hydrangea* et *Salvia officinalis* respectivement.

Cependant les résultats de l'étude histologique des poumons des rats intoxiqués par le Nickel montre un épuisement des tissus et la présence d'un voile (opacité pulmonaire), contrairement aux rats intoxiqués et traités (lot co-administration du Ni et de l'Ea.s) révèle un aspect histologique normal (cellules parfaites), ainsi les poumons des rats traités (lot curatif) révèle une hémorragie légère dans les tissus.

Les études chez l'homme et l'animal indiquent que le système respiratoire est la cible principale de la toxicité du nickel, le nickel qui parvient au niveau pulmonaire a tendance à persister au niveau des poumons la rétention dépend notamment de la solubilité des composés et du captage cellulaire. La muqueuse nasale peut retenir du Ni pendant de nombreuses années (Torjussen et al., 1978, 1979a, 1979b). Les formes insolubles, après phagocytose par les macrophages, peuvent générer des quantités très importantes d'espèces réactives de l'oxygène, surtout avec le sous-sulfure Ni₃S₂ (Zhong et al., 1990 ; Huang et al., 1994).

Les alterations et changements histopathologiques par des dommages aux poumons (congestion, inflammation, fibrose et oedème) ont été signalés chez des rats et des souris exposés au sulfate de nickel hexahydraté pendant 12 jours dans des travaux de **Bensou et al., (1987)** et **Dunnick et al., (1988)**. D'autres travaux entrepris par **Dunnick et al., (1988)** et **Hay et al., (1990)**, on rapporté une inflammation des poumons accompagnée d'une pneumonie nécrosante et une dégénération de l'épithélium respiratoire chez les rats et une atrophie de l'épithélium olfactif.

Une étude autopsique d'individus exposés professionnellement au nickel a montré que les plus fortes concentrations étaient mesurées dans les poumons, puis dans la thyroïde, les glandes surrénales, les reins, le coeur, le cerveau, la rate et le pancréas (**Rezuke et al., 1987**). Le nickel traverse la barrière foeto-placentaire et s'accumule dans les tissus du foetus (**Jasim et Tjalve, 1986**)

Dans notre étude l'aspect histologique normal (cellules parfaites) du parenchyme pulmonaire remarqué chez le lot de rat intoxiqués et traités (lot co-administration du

Ni et de l'Ea.s) est probablement du à l'effet protecteur de l'extrait aqueux de *Salvia argentea* .

Ces résultats rejoignent ceux de Benzidane (2014), où l'incubation de la trachée de rat pour 30mn avec des extraits (aqueux et méthanolique) de *Capparis spinosa* (0,1 : 1 et 10 mg /ml), prouve que ces extraits sont bien efficaces comme Broncho-relaxants.

Conclusion et perspectives

En Algérie, pays très riche dans sa bio-diversité florale, la médecine traditionnelle y a sa place mais on ne voit pas cette complémentarité de la phytothérapie à la médecine. Botanistes, phytochimistes, pharmacologues et médecins cliniciens sont appelés à conjuguer leurs connaissances scientifiques pour que la phytothérapie soit une discipline thérapeutique officielle comme c'est le cas dans plusieurs pays (Chine, Turquie, etc...).

Notre travail a porté sur l'impact de l'intoxication chronique au Nickel sur plusieurs approches: neurocomportementale, biochimique et histologique, et aussi d'apprécier l'efficacité de l'extrait de *Salvia argentea* à rétablir ou non les dommages causé par ce métal.

Les études chez l'homme et l'animal indiquent que le système respiratoire est la cible principale de la toxicité du nickel

Cependant, les résultats trouvés ont montré que La richesse de *Salvia argentea* en métabolites secondaires nous laisse déduire que le traitement par son extrait aqueux à probablement conduit à des corrections des perturbations comportementales engendrées par le Nickel. Et une amélioration dans les différentes analyses biochimiques, histologique, ce qui est due en grande partie au pouvoir régulateur des différents métabolites,

En termes de perspectives, il serait envisageable d'entreprendre un ensemble de protocole expérimentaux plus approfondis portant sur différents volets :

Il serait nécessaire de réaliser de nouvelles expérimentations portant sur l'intoxication des rats en période de développement , pour tester l'éventuel effet correcteur de l'extrait de *salvia argentea* durant ce stade .

Références bibliographiques

Référence bibliographique :

- **Duarte, M. R., & Lopez, J. F. (2007).** Stem and leaf anatomy of *Plectranthus neochilus* Schltr., Lamiaceae. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* , 17 (4), pp. 549-556.
- **Gurchan, S. (2004).** *Plants Systematics: an integrated approach*. USA: Science Publisher, INC, infield, NH (Printed in India), disponible online sur [<http://books.google.fr>].
- **LiHsi, W., & Hedge, I. C. (1994).** LAMIACEAE (唇形科 chun xing ke). *Flora of China* , 17, pp. 50–299.
- **Bagci, E., & Kokak, A. (2008).** Essential oil composition of the aerial parts of two *Salvia* L. (*S. multicaulis* Vahl. Enum and *S. tricochlada* Benth) Species from east Anatholian region (Turkey). *International journal of science and technology* , 3 (1), pp. 13-18.
- **Walter, S. J., Christopher, S. C., Elizabeth, A. K., & Peter, S. (2002).** *Botanique systématique: une perspective phylogénétique* (éd. traduisée). Paris, France: De Boeck University.
- **Bektas, T., Dimitra, D., Atalay, S., Munevver, S., & Moschos, P. (2005).** Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller. *Food Chemistry*, 90, pp. 333-340.
- **Kivrak, I., Duru, M. E., Ozturk, M., Mercan, N., Harmandar, M., & Topçu, G. (2009).** Antioxydant, anticholinesterase and antimicrobial constituents from essential oil and ethanol extract of *Salvia potentillifolia*. *Food chemistry* , doi:10.1016/j.foodchem.2009.02.069. Article in press.
- **Karousou, R., Hanlidou, E., & Kokkini, S. (2000).** The sage plants of greece: distribution and infraspecific variation. Dans E. K. Spiridon, *SAGE: The genus Salvia* (pp. 27-46). Athens, Greece: Overseas Publishers Association.
- **Baran, P., Ozdemir, C., & Aktas, K. (2010).** Structural investigation of the glandular trichomes of *Salvia argentea*. *Biologia* , 65 (1), pp. 33-38.
- **Ulubelen, A. (2000).** Chemical constituents: Terpenoids in the genus *Salvia*. Dans E. K. Spiridon, *SAGE: The genus Salvia* (pp. 55-68). Athens, Greece: Overseas Publishers Association.

- **Baricevic, D., & Bartol, T. (2000).** Pharmacology: The biological/pharmacological activity of the *Salvia* genus. Dans E. K. Spiridon, SAGE: The genus *Salvia* (pp. 143-184). Athens, Greece: Overseas Publishers Association.
- **Nicolette, P., Melaine-Jayne, H., Houghton, P., & Elaine, P. (2000).** Why sage may be a wise remedy: effects of *salvia* on the nervous system. Dans E. K. Spiridon, Sage: The genus *Salvia* (pp. 207-223). Athens, Greece: Overseas Publishers Association.
- **Stanley, G., & Simpson, E. J. (2000).** Antioxidants from *Salvia officinalis*. Dans E. K. Spiridon, SAGE: The genus *Salvia* (pp. 185-192). Athens, Greece: Overseas Publishers Association.
- **Anthony, C. D. (2000).** The folklore and cosmetic use of various *Salvia* species. Dans E. K. Spiridon, SAGE: The genus *Salvia* (pp. 01-25). Athens, Greece: Overseas Publishers Association.
- **Pistelli, L. (2006).** Photochemicals from lamiaceae: from nutraceuticals to Hallucinogens. International symposium The Labiatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilization, Sanremo, Italy: 22-25 February 2006.
- **Walker, J. B., Kenneth, J., Treutlein, J., & Wink, M. (2004).** *Salvia* (lamiaceae) is not monophyletic: Implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Mentheae. *American Journal of Botany* , 91 (7), pp. 1115–1125.
- **Quezel, P., & Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Paris, France: éd CNRS, 603 p.
- **Burnie, G., Forrester, S., Greig, D., Guest, S., Harmony, M., Hobley, S., et al. (2006).** *Botanica: Encyclopédie de botanique et d'horticulture* (éd. française). Paris: éd Place des victoires(sous licence de Random House Australia).
- **Beniston, W. S. (1984).** *Fleurs d'Algérie*. Alger, Algérie: éd Entreprise National du Livre.
- **Benrahou S, Hamadouch T., 2016.** Contribution à l'étude de l'effet de l'extrait aqueux de la plante *Melissa Officinalis* L chez les jeunes rats Wistar intoxiquée au nickel. Evaluation de la fonction rénale. Thèse de master en biologie, option biochimie, université de Saida. P5
- **INERIS, (2012).** Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Manganèse et ses dérivés. 11-117259-10310B.
- **Brun R. (1979).** Nickel dans les aliments et eczéma de contact. *Dermatologica*. 159: 365-70

- **Lloyd G.K. (1980).** Dermal absorption and conjugation of nickel in relation to the induction of allergic contact dermatitis Preliminary results. Brown SS Sunderman FW Jr Nickel toxicology. London UK Academic Press. 145-148.
- **Rezuke W.N., Knight J.A. and Sunderman F.W. (1987)** - Reference values for nickel concentrations in human tissues and bile. *Am J Ind Med*, 11, 4, 419-426.
- **Dieter M.P., Jameson C.W., Tucker A.N. et al. (1988).** Evaluation of tissue disposition, myelopoietic, and immunologic responses in mice after long-term exposure to nickel sulfate in the drinking water. *J. Toxicol. Environ. Health*. 24(3): 357-72.
- **Pardeep Sidhu, Garg ML & Dhawan DK (2004)** 'Protective role of zinc in nickel induced hepatotoxicity in rats'. *Chemico-Biological Interactions* 150 : 199–209.
- **Pari L & Prasath A (2008)** 'Efficacy of caffeic acid in preventing nickel induced oxidative damage in liver of rats ' *Chemico-Biological Interactions* 10:1016
- **Onkelinx C., Becker J., Sunderman Jr. F.W. (1973).** Comportamental analysis of the metabolism of ⁶³Ni(II) in rats and rabbits. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*. 6: 663-676. OMS,1981, Organisme Mondial pour la Santé, Le manganèse, in Série des critères d'hygiène de l'environnement, 7, Genève,123 pages.
- **CARTERS .D.,HEIN J.F.,R EHNBERG G.L. & LASKEY J.W.,1980,** Chronic manganese oxide ingestion in rats. Hematological effects, *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 6, 207-216.
- **Cornell R.G. and Landis J.R. (1984)** - Mortality patterns among nickel/chromium alloy foundry workers. *Nickel in the Human Environment*. Lyon, France, IARC scientific publication, vol n.53, pp. 87-93.
- **Cox J.E., Doll R., Scott W.A. and Smith S. (1981)** - Mortality of nickel workers: experience of men working with metallic nickel. *Br J Ind Med*, 38, 3, 235-239.
- **Enterline P.E. and Marsh G.M. (1982)** - Mortality among workers in a nickel refinery and alloy manufacturing plant in West Virginia. *J Natl Cancer Inst*, 68, 6, 925-933.
- **Shannon H.S., Walsh C., Jadon N., Julian J.A., Weglo J.K., Thornhill P.G. and Cecutti A.G. (1991)** - Mortality of 11,500 nickel workers--extended follow up and relationship to environmental conditions. *Toxicol Ind Health*, 7, 4, 277-294.
- **Shannon H.S., Julian J.A. and Roberts R.S. (1984)** - A mortality study of 11,500 nickel workers. *J Natl Cancer Inst*, 73, 6, 1251-1258.

- **Dieter MP, Jameson CW, Tucker AN, Luster MI, French JE, Hong HL & Boorman GA (1988)** 'Evaluation of tissue disposition, myelopoietic, and immunologic responses in mice after long-term exposure to nickel sulfate in the drinking water'. J Toxicol Environ Health 24 : 356-372.
- **Smith MK, George EL, Stober JA, Feng HA & Kimmel GL (1993)** 'Perinatal toxicity associated with nickel chloride exposure'. Environ Res 61: 200-211.
- **Ambrose AM, Larson PS, Borzelleca JF & Hennigar GR (1976)** 'Long term toxicologic assessment of nickel in rats and dogs'. J Food Sci Technol 13:181-187.
- **Vyskocil A, Senft V, Viau C, Cizkova M & Kohout J (1994a)** 'Biochemical renal changes in workers exposed to soluble nickel compounds'. Hum Exp Toxicol. 13:257-61.
- **Vyskocil A, Viau C & Cizkova M (1994b)** 'Chronic nephrotoxicity of soluble nickel in rats'. Hum Exp Toxicol 13:689-93.
- **Rendall RE, Phillips JI & Renton K.A. (1994)** 'Death following exposure to fine particulate nickel from a metal arc process'. Ann Occup Hyg, 38: 6, 921-930.
- **Sunderman F W Jr FW Jr (1993)** 'Search for molecular mechanisms in the genotoxicity of nickel. Scand J Work Environ Health 19:75-80
- **Sunderman FW Jr, Dingle B, Hopfer SM, Swift T.** Acute nickel toxicity in electroplating workers who accidentally ingested a solution of nickel sulphate and nickel chloride, Am J Ind Med 1988; 14 : 257-66.
- **Obone E, Chakrabarti SK, Bai C & Kalick MA (1999)** 'Toxicity and bioaccumulation of nickel sulphate in Sprague- Dawley rats following 13 weeks of subchronic exposure'. J Toxicol Environmental Health 57: 379-401.
- **Novelli ELB, Hernandes RT, Filho LVB & Barbosa LL (1998)**' Differential/combined effect of water contamination with cadmium and nickel on tissues of rats. Environmental pollution 103 : 295 -300.
- **Pardeep Sidhu, Garg ML & Dhawan DK (2004)** 'Protective role of zinc in nickel induced hepatotoxicity in rats'. Chemico-Biological Interactions 150 : 199–209.
- **Pari L & Prasath A (2008)** 'Efficacy of caffeic acid in preventing nickel induced oxidative damage in liver of rats ' Chemico-Biological Interactions 10:1016.
- **Torjussen W, Haug F & Andersen I (1978)** 'Concentration and distribution of heavy metals in nasal mucosa of nickel exposed workers and of controls, studied with

atomic absorption spectrometry and with Timms'.sulphide silver method. Acta Otolaryngol, 86 : 449-463.

- **Torjussen, W, Solberg LA & Hogetveit AC (1979a)** 'Histopathologic Changes of Nasal Mucosa Nickel Workers: A Pilot Study Cancer 44: 963-974.
- **Torjussen W, Solberg LA & Hogetveit AC. (1979b)** 'Histopathological Changes of the Nasal Mucosa in Active and Retired Nickel Workers' Br J Cancer 40: 568- 579.
- **Zhong Z, Troll W, Koenig K & Frenkel K. (1990)**'Carcinogenic sulfide salts of nickel and cadmium induce H₂O₂ formation by human polymorphonuclear leukocytes' Cancer Res 50 : 5764-5770.
- **Huang X, Zhuang Zx, Frenkel K, Klein Cb& osta M (1994)** 'Role of nickel and nickelmediated reactive oxygen species in the mechanism of nickel carcinogenesis'. Environ Health Perspect 02: 281-284.
- **Benson JM, Burt DG, & Carpenter RL (1988)** 'Comparative inhalation toxicity of nickel sulfate to F344/N rats and B6C3F1 mice exposed for twelve days'. Fundam Appl Toxicol 10:164-178.
- **Dunnick JK, Benson JM, Hobbs CH, Hahn FF, Cheng YS & Eidson AF (1988)** 'Comparative Toxicity of Nickel Oxide, Nickel Sulfate Hexahydrate, and Nickel Subsulfide after 12 Days of Inhalation Exposure to F344/N Rats and B6C3F1 Mice'. Toxicology 12: 145-156.
- **Dunnick J.K., Elwell M.R., Benson J.M., Hobbs C.H., Hahn F.F., Haly P.J., Cheng Y.S. and Eidson A.F. (1989)** - Lung toxicity after 13-week inhalation exposure to nickel oxide, nickel subsulfide, or nickel sulfate hexahydrate in F344/N rats and B6C3F1 mice. Fundam Appl Toxicol, 12, 3, 584-594.
- **Dunnick JK, Elwell MR, Radovsky AE, Benson JM, Hahn FF, Nikula KJ, Barr EB & Hobbs CH (1995)** 'Comparative carcinogenic effects of nickel subsulfide, nickel oxide, or nickel sulfate hexahydrate chronic exposures in the lung. Cancer Res, 55, 22, 5251-5256.
- **Denkhaus E. et Salnikow K. (2002).** Nickel essentiality, toxicity, and carcinogenicity. Cr. Rev. Oncol. J. Hematol. 42: 35-56.
- **ATSDR (1997)** - Toxicological Profiles for nickel. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA: U.S Department of Health and Human Services, Public Health Services.<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp15.html>
- **FALLEH H., KSOURI R., CHAIEB K., KARRAY-BOURAOUI N., TRABELSI N., BOULAABA M., ABDELLY C., 2008-** Phenolic compositionof *Cynara*

cardunculus L. organs, and their biological activities, *C. R.Biologies*. Vol. (331). 372-379.

- **Fellah, S., Romdhane, M., & Abderraba, M.** (2006). Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* L. cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. *J.Soc.Alger.Chim* , 16 (2), pp. 193-202.
- **BOUDJOUREF M., 2011-** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbes, Sétif. Algérie. 99 p.
- **NEWMAN D.J., CRAGG G.M., 2012** – Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.* Vol. (75): 311-335.
- **GUIGNARD JL., 1996-** Biochimie végétale. Ed. Masson, Paris. France. 274 p.
- **PEEKING A., PICAND B., HACENE K., LOKIEC F., GUERIN P., 1987-** Oligimères procyanidoliques (Endotélon) et système lymphatique. *Artères et Veines. Publications médicales AGCF*. Vol. (6): 512-513.
- **VERPOORTE R., ALFERMANN A.W., 2000-** Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism. Ed. Kluwer Academic, Dordrecht. Netherlands.286 p.
- **MAYER A.M., 2004-** Resistance to herbivores and fungal pathogens: Variations on a common theme? A review comparing the effect of secondary metabolites, induced and constitutive, on herbivores and fungal pathogens. *Isrel Journal Of Plant Sciences* . Vol. (52): 279-292.
- **LITVAK M.E., MONSON R.K., 1998-** Patterns of induced and constitutive monoterpène production in conifer needles in relation to insect herbivory.*Oecologia*. Vol. (114): 531-540.
- **AHARONI A., GALILI G., 2011-** Metabolic engineering of the plant primary, secondary metabolism interface. *Current Opinion in Biotechnology*. Vol.)22): 239–244.
- **HENNEBELLE T., SAHPAZ S., BAILLEUL F., 2004-** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. Vol (1): 3-6.
- **BRUNETON J., 1999-** Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Ed. Technique et Documentation. 3ème ed, Paris. France. 1120p.
- **BRUNETON J., 2009-** Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. Ed. Tec & Doc. 4ème ed, Paris. France. 1288 p.

- **GORHAM J., 1977-** Lunularic acid and related compounds in liverworts, algae and hydrangea. *Phytochemistry*. Vol. (16):249-253.
- **HARBORNE J.B., 1980-** Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology. *New series*. Vol. (8): 329-402.
- **MACHEIX J.J., FLEURIET A., SARNI-MANCHADO P., 2006-** Les Polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec et Doc, Paris. France. Pp:1-28.
- **HARRAR A.E.N., 2012-** Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thèse de Magister Biochimie et physiologie expérimentale, Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie.73 p.
- **HASLAM E., 1994-** Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid metabolism. *Nat. Prod.* Vol. (11): 41-66.
- **HASLAM E., 1998-** Practical Polyphenolics: From Structure to Molecular Recognition and Physiological Action. Ed. Cambridge University Press, Cambridge. UK. 422p.
- **PANDEY KB et RIZVI SI., 2009-** Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Vol. 2 (5) : 270 – 278.
- **BENHAMMOU N., 2011-** Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de Doctorat en biologie. Université Aboubakr Belkaïd, Tlemcen. Algérie. 113 p.
- **EDENHARDER R., GRÜNHAGE D., 2003-** Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tertbutyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutat. Res.* Vol. (540): 1–18.
- **HELLER W., FORKMANN G., 1993-** The flavonoids. Advances in research since 1986. In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman et Hall, London. UK. Pp 399-425.
- **AKROUM S., 2011-** Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse de Doctorat en sciences. Université Mentouri de Constantine. Algérie. 113 p.
- **YAO L.H., JIANG Y.M., SHI J., TOMAS-BARBERAN F.A., DATTA N., SINGANUSONG R., Chen S.S., 2004-** Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant. Food Hum. Nutr.* Vol (59) : 113-122.

- **KAMRA D.N., AGARWAL N., CHAUDHARY L.C., 2006.** Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. *International Congress Series*. Vol. (1293) : 156–163.
- **MAKKAR H.P.S. 2003-** Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*. Vol. (49) : 241-256.
- **MANGAN J. L. 1988.** Nutritional effects of tannins in animal feeds. *Nutr. Res. Rev.* Vol. (1) : 209-231.
- **GHESTEM A., SEGUIN E., PARIS M., ORECCHIONI A.M., 2001-** Le préparateur en Pharmacie. 2ème ed. Ed. Tec et Doc, Paris. France. 275p.
- **KHANBABAE K ., REE T.R., 2001-** Tannins:Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry*. Vol. (18): 641-649.
- **RIRA M., 2006-** Effet des polyphénols et des tanins sur l’activité métabolique du microbiote ruminal d’ovins. Thèse de Magister en biochimie et microbiologie appliquées, Université Mentouri Constantine, Algérie. 94 p.
- **LEINMÜLLER E, STEINGASS H, MENKE KH., 1991-** Tannins in feeds for ruminants. II Effects on rumen metabolism in vitro. *Übersichten zur Tierernährung*. Vol. (19):45–70.
- **PARIS M., HURABIELLE., 1981-** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. .Ed. Masson, Paris. France. 339 p.
- **GILBERT B. L., NORRIS D. M., 1968-** Achemical basis for bark beetle (scolytus) distinction between host and non-host trees. *J Insect physiol*. Vol. (14): 1063-1068.
- **RICHTER G., 1993-** Métabolisme des végétaux. Physiologie et Biochimie. Ed. Presses Polytechniques et Universitaire, Romandes. Suisse. 526 p.
- **PRIVAS E., 2013-** Matériaux ligno-cellulosiques «Élaboration et Caractérisation laboration ». Thèse de Doctorat en Science et génie des matériaux, L’École Nationale Supérieure des Mines, Paris. France. 166 p.
- **CRUZ J.M., DOMINGUEZ J.M., DOMINGUEZ H., PARAJO J.C , 2001-** Antioxidant and antimicrobial effects of extracts from hydrolysates of lignocellulosic materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 49(5):2459-2464.
- **MURRY R. D. H., Mendez J., Brown S. A., 1982-** the natural coumarins Occurrence Chemistry and Biochemistry. Ed. Chichester John Wiley and Sons,UK. New York. England. 702 p.

- **SCALBERT A., WILLIAMSON G., 2000-** Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*. Vol. (130): 2073-2085.
- **MOHAMMEDI., 2013-** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. Algérie. 169 p.
- **MARTIN S., TSITOHAINA R., 2002-** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. Vol. (51): 304-315.
- **SCHAUENBERG P., PARIS F., 2005-** Guide des plantes médicinales. Analyse, description et utilisation de 400 plantes. 2ème édition. Ed. Delachaux et Niestlé, Neuchâtel. Suisse. 396 p.
- **HESS M., 2002-** Alkaloids, Nature's Curse or Blessing 1ère édition. Ed. Wiley- VCH, New York. USA. 297 p.
- **ZIEGLER J., FACCHINI P.J., 2008-** Alkaloid Biosynthesis: Metabolism and Trafficking. *Annu Rev Plant Biol*. Vol (59): 735 – 769.
- **ROUX D., CATIER O., 2007-** Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3ème édition. Ed. Wolters Kluwer, Dalian. China. 141 p.
- **COWAN N. M., 1999-** Plant products as anti microbial agents. *Clinical microbiology Reviews*. Vol. 12(4): 564-582.
- **NACOULMA AP., 2012-** Reprogrammation métabolique induite dans les tissus hyperplasiques formés chez le tabac infecté par *Rhodococcus fascians*: aspects fondamentaux et applications potentielles. Thèse de Doctorat en Sciences Pharmaceutiques. Université Libre de Bruxelles Europe. Belgique. 92p.
- **BRUNETON J., 1999-** Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Ed. Technique et Documentation. 3ème ed, Paris. France. 1120p.
- **GONZÁLEZ A.G., BARRERA J.B., GARCÍA T.Z., ROSAS F.E., 1984-** Sesquiterpene lactones from *Centaurea* species. *Phytochemistry*. Vol. 23(9): 2071–2072.
- **DONATIEN K., 2008.** Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes - extraction, Identification d'alcaloïdes - caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante. Thèse de Doctorat mention chimie organiques. Université Paul Verlaine de METZ –UPV- M. France. 150 p.

- **MEDJROUBI K., BENAYACHE F., BENAYACHE S., AKKAL S., KHALFALLAH N., ACLINO P., 1997-** Guaianolides From *Centaurea-Musimomum*. *Phytochemistry*. Vol. (45), 1449-1451.
- **STÖCKIGT J., SHELUDKO Y., UNGER M., GERASIMENKO I., WARZECHA H., STÖCKIGT D., 2002-** High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic– electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups Review. *Journal of Chromatography A*. Vol (967): 85–113.
- **MCCALLEY D.V., 2002-** Analysis of the Cinchona alkaloids by highperformance liquid chromatography and other separation techniques, Review. *Journal of Chromatography A*. Vol (967): 1–19.
- **GAZENDEL JM., ORECCHIONI AM., 2013-** Le préparateur en pharmacie – Guide théorique et pratique. 2éme ed. Ed. Tec et Doc, Paris. France. 1443 p.
- **ISERIN P., MASSON M ., RESTELLINI J P., 2007-** Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins .Ed. Larousse, Paris. France. 335 p.
- **Zhao.Q, Wang.W, Cao. Y ,Chen.Y , Ren.A Ge.Y, Yu.Z , Wan .S, Hu.A and Bo.Q.2014.** Potential health risks of heavy metals in cultivated topsoil and grain including correlations with human primary liver, lung and gastric cancer,in Anhui province, Eastern China, *Sci,Total Environ*,470 .340–347.
- **Taylor.F.V, Bugge.D, Jackson.P.B and Chen.C.Y.2014.** Pathways of CH₃Hg and Hg ingestion in benthic organisms: an enriched isotope approach, *Environ,Sci, Technol.* (48) 5058–5065.
- **Ge. H, Liu.S, Su.B and Qin.T.2014.** Predicting synergistic toxicity of heavy metals and ionic liquids on photobacterium Q67, *J,Hazard, Mater*, (268) 77–83.
- **Hfaiedh, N., Allagui, M.S., Croute, F., Soleilhavoup, J.P., Guermazi, F., Kammoun,A., El feki, A. (2004).** Interactions d'une restriction calorique avec les effets du Nickel sur la reproduction chez le rat, *Andrologie* . 14, 443-451.
- **Cornell R.G. and Landis J.R. (1984) -** Mortality patterns among nickel/chromium alloy foundry workers. *Nickel in the Human Environment*. Lyon, France, IARC scientific publication, vol n.53, pp. 87-93.
- **Kahloula khaled, 2010.** Effet de l'exposition chronique au plomb pendant la période de gestation et lactation sur les fonctions neurocomportementales chez les jeunes rats Wistar. Impact sur les récepteurs glutamatergiques. Thèse de doctorat, option biochimie. Université d'Oran Es-Sénia.

- **Obone E, Chakrabarti SK, Bai C & Kalick MA (1999)** 'Toxicity and bioaccumulation of nickel sulphate in Sprague- Dawley rats following 13 weeks of subchronic exposure'. *J Toxicol Environmental Health* 57: 379-401.
- **Dunnick JK, Benson JM, Hobbs CH, Hahn FF, Cheng YS & Eidson AF (1988)** 'Comparative Toxicity of Nickel Oxide, Nickel Sulfate Hexahydrate, and Nickel Subsulfide after 12 Days of Inhalation Exposure to F344/N Rats and B6C3F1 Mice'. *Toxicology* 12: 145-156.
- **Rezuke W.N., Knight J.A. and Sunderman F.W. (1987)** - Reference values for nickel concentrations in human tissues and bile. *Am J Ind Med*, 11, 4, 419-426.
- **Office of Environmental Health Hazard Assessment et al.,2001.**
- **(INRS, 1992 ; INERIS, 2005 ;Brignon et al, 2006)**
- **Stoltz A., Sauvage C., Lamblin C. et al. (2003).** Urticaire chronique par allergie alimentaire au nickel. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*. 43: 492-496.
- **Benabdesslem Yasmina , 5 December 2017** Ethnobotanical Survey, Preliminary Physico-Chemical and Phytochemical Screening of *Salvia argentea* (L.) Used by Herbalists of the Saïda Province in Algeria Laboratoire de Biotoxicologie, Pharmacognosie et Valorisation Biologique des Plantes (LBPVBP), Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Dr. Tahar Moulay de Saida, BP 138 cité ENNASR, Saida 20000, Algeria;
- **K.ZERROUKI , 2017** l'effet antioxydant de quelque plantes medicinales sur la neurotoxicite et les maladies neurodegeneratives dues aux meteaux lourds (aluminium et plomb) . etude experimontale chez les souris –these doctorat.universite Abdelhamid Ibn badis- mostaganem.272P
- **A.parasai, M. EIDI,A Saderghipour 2014** hepatoprotective effect of soge (*salvia officinalis*) leaves hydro-methanolic extract against aspergiles paraciticus aflatoxin-induced liver samages in male rats. *Bull.pharm. Res !* 4(3) : 129-32
- **A.Zarei, G vaezi , A.Adbeallah, 2015** hypaghychemic and hypolipidemic activities of *salvia hydrogea* in streptozocin- induced diabeted in rats. *Iranj.bacic.Med Sci Apr*, 18(4) :417-22.
- **Nabi karim, Baghdadi adbelkader, 2015** mémoire de fin d'étude contribution a l'étude ethno pharmacologique de *salvia argentea* université dr. Molay Taher saida
- **www.lepage-vivaces.com**