

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955 - سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



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

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie Appliqué
Intitulé :

Contribution à l'étude de l'effet protecteur de la plante
médicinale *Rhamnus alaternus* L. sur le bilan lipidique
chez les rats intoxiqués par les nanoparticules de
l'oxyde d'aluminium

❖ Présenté Par : M^{elle} Mezzedjri Roumaissa
M^{elle} Maaoui Rayene
M^{elle} Khroufa Roufeida
M^{elle} Letrach Chaima

Membre de Jury:

Basli Abd alkader	(MCA) Président	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Mellahi Lamia	(MAA) Promoteur	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Benzazia Samia	(MCB) Examineur	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2022/2023



Remerciement



*Avant tout, nous remercions en premier lieu **ALLAH** le tout puissant de nous avoir illuminés et ouvert les voies du savoir et pour nous avoir accordé la volonté et le courage pour élaborer notre travail.*

*Au terme de ce modeste travail nous tenons tous particulièrement à témoigner notre profonde gratitude à notre encadreur Madame «**Mallahi Lamia**» de nous faire orienter et partager ses connaissances qui ont été très utiles et pour ses précieux conseils et encouragements.*



*Nous remercions et saluons vivement nos membres de jury Monsieur «**Basfi Abdelkader**», d'avoir accepté de présider le jury de soutenance, hommage respectueux,*

*Nous souhaitons adresser nos remerciements à Madame «**Benzazia Samia**», qui a bien voulu examiner ce travail. Ces remarques nous seront d'une grande utilité.*

Nous tenons évidemment à remercier l'ensemble d'équipe de laboratoire du hall technologique de l'université 20 août 1955 Skikda, pour leur disponibilité, leur conseils et leur confiances.

Un grand merci à l'ensemble des enseignants-chercheurs du département de la SNV en générale.

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



Dédicace

Tout d'abord louange à Allah qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long de mes études et m'a inspiré les bons pas. A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère (Massika) qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'études, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.

A mon père (Ahcenne) pour ses encouragements incessants et son soutien moral aux moments difficiles qui furent pour moi les meilleurs gages de réussite.

Que Dieu les protège et que ce travail soit la preuve modeste d'une reconnaissance infinie et d'un profond amour pour eux.

A ma chères sœurs : Farida, Aya

A mon chère frère : Abou bakralssidik

A toute ma très chère famille.

A mes chères amies : Boutaina, Nadjet.

A mon fiancé : Anis

A mon trinome Roufaida, Rayene et Chaima pour les moments de joie partagés ensemble

A tous les enseignants qui ont participé à ma formation depuis que J'ai commencé mes études.



ROUMAÏSSA



Dédicace

Je remercie en premier lieu Allah le miséricordieux de m'avoir donnée la force, volonté et la patience durant toutes mes années d'étude.

Je dédie ce modeste travail :

A ma chère mère source d'amour et d'affection Belbati Farida qui m'a toujours témoigné son sacrifice et sa bienveillance dans les moments les plus importants de ma vie.

A mon très chère père Houssine qui m'a toujours soutenu et aidé, il était toujours à mes côtés, depuis mon enfance pour que je réussisse.

*A mon, deuxième père Aissa il était toujours à mes côtés et Ma tante Houda
Ma grande mère Laba.*

Que Allah les garde et les protège.

A ma petite sœur : Oumaima

A mon chère frère : Moussaad

A ma trinôme: Roumaissa, Rayene, Chaima

A tous les personnes que j'aime y



ROUFAIDA



Dédicace

Je remercie en premier lieu Allah le miséricordieux de m'avoir donnée la force, volonté et la patience durant toutes mes années d'étude.

Je dédie ce modeste travail :

A ma chère grande mère ma source d'amour et d'affection Messouda qui m'a toujours témoigné son soutien et sa bienveillance dans les moments les plus importants de ma vie.

*A mes chères parents et surtout ma maman de m'avoir soutenue et aidée
Que Allah la garde et la protège pour moi.*

*A ma tante Salima qu'était
toujours à mes côtés , depuis mon enfance pour que je réussisse .*

A ma chère sœur Roumaïssa et mon petit frère Amir

A ma meilleure amie Youssra

A ma trinôme: Roumaïssa, Roufaïda, Rayene

*Un grand décadasse pour mon petit cœur d'amour Loudjaine
(Loulou)*

Et toutes les personnes que j'aime



CHAIMA

Dédicace

En premier lieu et avant tout, je prie ALLAH de m'avoir donné la volonté et le courage d'achever mes études.

Je dédie ce modeste travail à:

A ma chers parents; mon père Ahcenne et ma mère Samia , pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.

A ma chères sœur Feriel pour leur encouragements permanents, et leur soutien moral.

A mon cher frère Adem, pour leur appui et leur Encouragement.

A mon marie Amir pour ses encouragements incessants et son soutien moral aux moments difficiles qui furent pour moi les meilleurs gages de réussite.

A ma grand-mère Mama hada.

A ma petite bouts de sucre, ma fille Iline.

A ma meilleure amie Baya pour son aide dans les moments Difficiles

A mon trinômes Roumaissa, Roudeida et Chaima pour les moments de joie Partagés ensemble.

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible,
Merci d'être toujours là pour moi*



RAYENE

Sommaire

Résumé :	
ملخص.....	
Summary.....	
Liste des abréviations :.....	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	

Chapitre I : Nanoparticules d'oxyde d'aluminium

1. Définition des nanoparticules	5
1.2. Les différents types de nanoparticules.....	5
1.2.1. Les nanoparticules naturelles	5
1.3. Les principaux facteurs influençant les mécanismes de toxicité	5
2. Nanoparticules d'oxyde d'aluminium.....	6
2.1. Définition des nanoparticules d'oxyde d'aluminium.....	6
3. Oxyde d'aluminium	7
3.1. Définition d'oxyde d'aluminium	7
3.2. Utilisation d'oxyde d'aluminium.....	7
3.3. Toxicité de l'oxyde d'aluminium	7

Chapitre II : *Rhamnus alaternus* L.

1. <i>Rhamnus alaternus</i> L.	9
2. Morphologie de l'espèce <i>Rhamnus alaternus</i> L.	10
3. Les parties utilisées	11
4. La multiplication :	11
5. Répartition géographique	11
6. Taxonomie et nomenclature.....	12
7. La composition chimique et biochimique	13
7.1. Les composés phénoliques	14
8. Utilisation traditionnelle de <i>Rhamnus alaternus</i> L.	15
9. Activités biologiques	16
10. Toxicité de <i>Rhamnus alaternus</i> L.	17

Chapitre III : Les lipides

1. Les lipides.	19
----------------------	----

1.1.Définition.....	19
1.2.Rôle.....	19
1.3.Classification	19
2. Les acides gras.....	20
2.1. Définition.....	20
2.2. Classification des acides gras	20
3. Lipides simples	22
3.1. Les glycérides	22
3.2. Les cérides	22
3.3. Les stérides	23
4.Les lipides complexes.....	23
4.1.Les glycérophospholipides	23
4.2. Les sphingolipides	24
5.lipoprotéines.....	25
5.1.Définition.....	25
5.2.Structure générale des lipoprotéines.....	25
5.3.Classification	25
5.4.VLDL et IDL.....	26
5.6.LDL	27
5.7.HDL.....	27

I.Matériel et méthode

1.Matériels :.....	31
1.1.Matériel chimique.....	31
1.2.Matériel biologique.....	31
1.2.1.Matériel végétal	31
1.2.2.Matériel animal	32
1.3.Matériels et produits de laboratoire utilisés.....	33
2.Méthodes	33
2.1.Préparation d'oxyde d'aluminium	33
2.2.Séchage et broyage de la plante.....	33
2.3.Préparation de l'extrait par :	34
2.4.Etude quantitative	35
2.4.1.Dosage des polyphénols totaux.....	35
2.4.2.Dosage des flavonoïdes totaux.....	36
2.4.3.L'activité anti- oxydante DPPH radical libre.....	36
2.4.4.Détermination d'IC50	37

3.Traitement des rats	37
4.Dissection et prélèvement :	39
4.1.Prélèvement sanguin	40
4.2.Prélèvement des organes :	41
4.3.Dosage des métabolites :	41
4.4.Etude histologiques :	44

II.Résultats et discussion

1.Teneur en composés phénoliques :	49
1.1.Teneur en polyphénols totaux.....	49
1.2.Teneur en flavonoïdes	50
1.3.L'activité anti oxydante :.....	51
1.3.1.Détermination de l'activité anti-radicalaire au radical DPPH :	51
2.Gain du poids	52
3.Les paramètres biochimiques.....	53
4.Paramètres hématologiques :	57
5.Les glucides et lipides.....	59
6.L'étude histologique :	61
Conclusion	65
Référence	68

Résumé :

L'objectif de ce travail est l'évaluation de la toxicité potentielle d'oxyde d'aluminium Al_2O_3 (nanoparticule) et l'effet protecteur du *Rhamnus alaternus* L. sur le bilan lipidique des rats Wistar albinos qui sont parfaitement adaptés aux études toxicologiques.

Rhamnus alaternus L. est l'une des plantes appartenant à la famille botanique des Rhamnacées. L'extrait méthanolique est obtenu par macération, la teneur en polyphénols totaux déterminée par le réactif de folin-ciocalten est de 8.33 μ g EAG/ mg ES.

Les flavonoïdes ont été évalués par la méthode du trichlorure d'aluminium, leur teneur est de 26.81 μ g EQ/mg ES.

L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de réduction du radical libre DPPH, IC₅₀ a été estimée à 146 μ g/mg.

L'étude in vivo a été portée sur 42 rats wistar albinos répartis en 6 groupes, le premier contient 7 rats sert de témoin, le second contient 7 rats exposés au extrait de la plante *Rhamnus alaternus* L. par voie orale à dose de 250mg/kg/jour , et le 3^{ème} contient 7 rats exposés au extrait de la plante à dose de 500mg/kg/jour , et le 4^{ème} contient 7 rats exposés au oxyde d'aluminium Al_2O_3 (nanoparticule) à dose de 50mg/kg/jour, et le 5^{ème} contient 7 rats exposés à une combinaison d'oxyde d'aluminium Al_2O_3 (nanoparticule) (50mg/kg/jour) plus la dose 250mg/kg/jour de la plante , et le dernier contient 7 rats exposés à une combinaison d'oxyde d'aluminium Al_2O_3 (nanoparticule) (50mg/kg/jour) plus la dose 500mg/kg/jour de la plante .

➤ Les résultats de ce travail montrent une diminution significative du gain de poids des rats traitées par l'oxyde d'aluminium par contre une augmentation significative chez les rats traitées par les doses de la plante par rapport au groupe témoin et chez les rats traitées par l'oxyde d'aluminium plus les doses de la plante par rapport au groupe traitée par l'oxyde d'aluminium.

➤ L'étude de quelques paramètres biochimiques et hématologiques indique Une augmentation significative des concentrations du glucose, cholestérol, LDL, TRG, Lipase et aucune différence significative du concentration de HDL chez les rats traitées par l'oxyde d'aluminium par rapport aux rats témoins.

Ainsi qu'une diminution significative des concentration de glucose cholestérol, LDL, triglycéride et lipase chez les rats traitées par l'oxyde d'aluminium plus les doses de la plante par rapport au rats traitées par l'oxyde d'aluminium.

Et une diminution significative du taux des glucides, lipides du foie chez les rats intoxiqués par l'oxyde d'aluminium par rapport aux rats témoins.

Et une augmentation significative du taux des glucides et lipides du foie chez les rats traitées par l'oxyde d'aluminium et les doses de la plante par rapport aux rats traitées par l'oxyde d'aluminium.

Une augmentation de nombre des globules blancs et une diminution du nombre des globules rouges et HB et HT chez les rats traitées par l'oxyde d'aluminium par rapport aux rats témoins.

Une augmentation significative du nombre de globules blancs (GB) et une diminution significative du taux de GR, HB, HT chez les rats traités par les doses de la plante plus l'oxyde d'aluminium par rapport aux rats traitées par l'oxyde.

- L'étude des coupes histologiques du foie montre des altérations au niveau des tissus des rats intoxiqués par l'oxyde d'aluminium. La présente étude révèle que l'exposition au oxyde d'aluminium a eu des effets toxiques au niveau des paramètres mentionnés précédemment, la supplémentation de *Rhamnus alaternus* L. a améliorée certains de ces paramètres étudiés.

Mots-clés : *Rhamnus alaternus* L., oxyde d'aluminium Al_2O_3 (nanoparticule), effet protecteur, polyphénols, flavonoïdes, DPPH.

الملخص

الهدف من العمل هو تقييم السمية المحتملة لأكسيد الألومنيوم Al_2O_3 (الجسيمات النانوية) والتأثير الوقائي لـ *Rhamnus alaternus* L. على توازن الدهون في فئران Wistar البيضاء والتي تتناسب تماماً مع دراسات السمية. *Rhamnus alaternus* L. هي إحدى الأعشاب التي تنتمي إلى عائلة Rhamnaceae النباتية. يتم الحصول على المستخلص الميثانولي عن طريق النقع ، ومحتوى البوليفينول الكلي المحدد بواسطة كاشف فولين سيوكالتين هو 8.33 ميكروغرام / mg ES / EAG.

تم تقييم مركبات الفلافونويد بطريقة ثلاثي كلوريد الألومنيوم ، محتواها 26.81 ميكروغرام / mg ES / EQ. تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة بواسطة طريقة تقليل الجذور الحرة DPPH ، وقدر IC50 146 ميكروغرام / مجم.

أجريت الدراسة في الجسم الحي على 42 جرذاً من الفئران البيضاء مقسمة إلى 6 دفعات ، الأولى تحتوي على 7 فئران تعمل كعنصر تحكم (G1) ، والثانية تحتوي على 7 فئران تعرضت لمستخلص نبات *Rhamnus alaternus* L. عن طريق الفم بجرعة 250 مجم / كجم / يوم (G2) ، وتحتوي الدفعة الثالثة على 7 فئران معرضة لمستخلص النبات بجرعة 500 مجم / كجم / يوم (G3) ، وتحتوي الدفعة الرابعة على 7 فئران معرضة لأكسيد الألومنيوم Al_2O_3 (جسيمات متناهية الصغر) بجرعة 50 مجم / كجم / يوم (G4) ، وتحتوي الدفعة الخامسة على 7 فئران مكشوفة لواحد مزيج من أكسيد الألومنيوم Al_2O_3 (جزيئات نانوية) (50 مجم / كجم / يوم) بالإضافة إلى جرعة 250 مجم / كجم / يوم من النبات (G5) ، وتحتوي الدفعة الأخيرة على 7 فئران معرضة لمزيج من أكسيد الألومنيوم Al_2O_3 (جسيمات نانوية) (50 مجم / كجم / يوم) مضافاً إليها جرعة النبات 500 مجم / كجم / يوم (G6)

أظهرت نتائج هذا العمل انخفاضاً معنوياً في زيادة الوزن للفئران المعالجة بأكسيد الألومنيوم ومن جهة أخرى زيادة معنوية في الجرذان المعالجة بجرعتين من النبات مقارنة بالمجموعة الضابطة وفي الفئران المعالجة بأكسيد الألومنيوم مضافاً إليه جرعات النبات مقارنة بالمجموعة المعالجة بأكسيد الألومنيوم.

تشير دراسة بعض المتغيرات البيوكيماوية والدموية إلى:

✓ زيادة معنوية في تراكيز الجلوكوز والكوليسترول LDL و TRG والليبيز وعدم وجود فرق معنوي في تركيز HDL في الجرذان المعالجة بأكسيد الألومنيوم مقارنة بالفئران الضابطة.

✓ انخفاض معنوي في تركيز الجلوكوز والكوليسترول والكوليسترول الضار والدهون الثلاثية والليبيز في الفئران المعالجة بأكسيد الألومنيوم بالإضافة إلى جرعتين من النبات مقارنة بالفئران المعالجة بأكسيد الألومنيوم.

✓ انخفاض معنوي في نسبة الكربوهيدرات ودهون الكبد في الفئران المسمومة بأكسيد الألومنيوم مقارنة بالفئران الضابطة.

✓ زيادة معنوية في نسبة الكربوهيدرات والدهون في الكبد في الفئران المعالجة بأكسيد الألومنيوم وجرعتين من النبات مقارنة بالفئران المعالجة بأكسيد الألومنيوم.

✓ زيادة في عدد خلايا الدم البيضاء وانخفاض في عدد كريات الدم الحمراء و HB و HT في الفئران المعالجة بأكسيد الألومنيوم مقارنة بفئران المقارنة.

✓ زيادة معنوية في عدد خلايا الدم البيضاء (GB) وانخفاض معنوي في مستوى GR و HB و HT في الجرذان المعالجة بجرعتين من النبات بالإضافة إلى أكسيد الألومنيوم بالمقارنة مع الفئران المعالجة بالأكسيد.

تظهر دراسة المقاطع النسيجية للكبد تغيرات في أنسجة الفئران المسمومة بأكسيد الألومنيوم. كشفت الدراسة الحالية أن التعرض لأكسيد الألومنيوم له تأثيرات سامة على مستوى المتغيرات المذكورة سابقاً ، فقد حسنت مكملات *Rhamnus alaternus* L. بعض هذه المعايير المدروسة..

أظهرت دراسة المقاطع النسيجية للكبد حدوث تغيرات في أنسجة الفئران المسمومة بأكسيد الألومنيوم (NPs). كشفت الدراسة الحالية أن التعرض لأكسيد الألومنيوم له تأثيرات سامة على مستوى المعلمات المذكورة سابقاً ، مكملات *Rhamnus alaternus* L. تحسّن بعض هذه المعلمات المدروسة.

الكلمات المفتاحية: *Rhamnus alaternus* L. ، أكسيد الألومنيوم Al_2O_3 (جسيمات نانوية) ، تأثير وقائي ، بوليفينول ، فلافونويد ، DPPH.

Summary:

The objective of the work is the evaluation of the potential toxicity of aluminium oxide AL₂O₃ (nanoparticle) and the protective effect of *Rhamnus alaternus* L. on the lipid balance of Wistar albino rats which are perfectly suited to toxicological studies.

Rhamnus alaternus L. is one of the herbs belonging to the botanical family Rhamnaceae.

The methanolic extract is obtained by maceration, the content of total polyphenols determined by the folin-ciocalten reagent is 8.33 µg EAG/mg ES.

The flavonoids were evaluated by the aluminum trichloride method, their content is 26.81 µg EQ/mg ES.

Antioxidant activity was assessed by the DPPH free radical reduction method, IC₅₀ was estimated at 146 µg/mg.

The in vivo study was carried out on 42 wistar albino rats divided into 6 batches, the first contains 7 rats serves as a control (G1), the second contains 7 rats exposed to the extract of the plant *Rhamnus alaternus* L. by oral route at a dose of 250mg/kg/day (G2), and the 3rd batch contains 7 rats exposed to the plant extract at a dose of 500mg/kg/day (G3), and the 4th batch contains 7 rats exposed to aluminum oxide AL₂O₃ (nanoparticle) at a dose of 50 mg/kg/day (G4), and the 5th batch contains 7 rats exposed to one combination of aluminum oxide AL₂O₃ (nanoparticle) (50mg/kg/day) plus the dose 250mg/kg/day of the plant (G5), and the last batch contains 7 rats exposed to a combination of aluminum oxide AL₂O₃ (nanoparticle) (50mg/kg/day) plus the 500mg/kg/day dose of the plant (G6).

The results of this work show a significant decrease in weight gain in rats treated with aluminum oxide on the other hand a significant increase in rats treated with two doses of the plant compared to the control group and in rats treated with aluminum oxide plus doses of the plant compared to the group treated with aluminum oxide.

The study of some biochemical and hematological parameters indicates

A significant increase in the concentrations of glucose, cholesterol, LDL, TRG, Lipase and no significant difference in the concentration of HDL in rats treated with aluminum oxide compared to control rats.

As well as a significant decrease in the concentration of glucose, cholesterol, LDL, triglyceride and lipase in rats treated with aluminum oxide plus the two doses of the plant (250 and 500mg/kg/day) compared to rats treated with aluminum oxide.

And a significant decrease in the rate of carbohydrates, liver lipids in rats poisoned by aluminum oxide compared to control rats.

And a significant increase in the rate of carbohydrates and lipids in the liver in rats treated with aluminum oxide and doses of plant compared to rats treated with aluminum oxide.

An increase in the number of white blood cells and a decrease in the number of red blood cells and HB and HT in rats treated with aluminum oxide compared to control rats.

A significant increase in the number of white blood cells (WBC) and a significant decrease in the level of GR, HB, HT in rats treated with the two doses of the plant 250 and 500 mg/kg/day plus aluminum oxide by compared to oxide-treated rats.

Liste des abréviations :

Al₂O₃ : Oxyde d'aluminium

AG : Acide gras

AA : Acide aminé

APO : Apo lipoprotéines

ACAT : L'acyl-cholesterol-acyltransferase

ANOVA : Analysis Of Variance.

CoA : AcylcoenzymeA

CETP : Cholesteryl Ester Transfer Protein

CM: Chylomicrons

C° : Degrée Celsius

CE: Cholestérol Estérifié

DPPH : 2-2 diphenyl- 1- picrylhydrazyl.

EDTA : Éthylène diamineTetra – acétate

FNS : Numérotation fer sanguin

g : Gramme

GR : Globule rouge

GB : Globule blanc

HMG-CoA : Hydroxy-Méthyl-Glytaryl-Coenzyme A Réductase

H : Heure

H₂O : L'eau

HB : Hémoglobine

HT : Hématocrite

HDL : High Density Lipoprotein

H₃PO₄ : L'acide phosphatique

IC50 : La concentration inhibitrice médiane

IDL: IntermediateDensityLipoprotein

J : Jour

Kg : Kilogramme

L : Litre

LDL : LowDensityLipoprotein

LCAT : Lécithine-cholestérol-acyl-transférase

LPL : Lipoprotéine Lipase

PL : Phospholipides

PUF : particule atmosphérique ultrafine

LH: Lipase Hépatique

Lp(a) : Lipoproteine (a)

m³: Mètre cube

µg : Microgramme

Mg : Milligramme.

mg/ml : Milligramme par millilitre.

mgEq AG/g M.S : Milligramme équivalent en acide gallique par gramme de la matière sèche.

NaCl : chlorure de sodium.

NPs : Nanoparticules

W₈O₂₃ : Oxydes bleus de tungstène

W₈O₂₃ : Oxydes bleus de tungstène

PH : Potentiel hydrogène

R²: Coefficient de corrélation

% : pourcentage

T° : Degré température

TG : Triglycéride

TGLH:Triglycérides Lipase Hépatique

TCA : Trichloracétique

VLDL : VeryLowDensityLipoprotein

Liste des figures

N°	Le titre	Page
Figure 1	Photographie de l'arbuste de <i>Rhamnus alaternus</i> L.	09
Figure 2	Différents organe végétales de l'espèce de <i>Rhamnus alaternus</i> L.	10
Figure 3	Répartition de <i>Rhamnus alaternus</i> L. dans le bassin méditerranéen	11
Figure 4	Répartition de l'espèce <i>Rhamnus alaternus</i> L. en Algérie	12
Figure 5	Structures chimiques des acides hydroxybenzoïques	14
Figure 6	Structure chimique de base des flavonoïdes Structure chimique de base des flavonoïdes	15
Figure 7	Classification des lipides	20
Figure 8	Structure de Cérides	23
Figure 9	Structure de céramide	24
Figure 10	Structure de Sphingomyéline	24
Figure 11	Structure d'une lipoprotéine	25
Figure 12	Relation entre la taille et la densité des lipoprotéines	26
Figure 13	Métabolisme général des lipoprotéines	28
Figure 14	Carte géographique montrant la région ZERDEZAS, Skikda	31
Figure 15	Rats Wister	32
Figure 16	Les conditions d'élevage des rats	33
Figure 17	Préparation d'oxyde d'aluminium	33
Figure 18	Le séchage de la partie aérienne sèche de <i>Rhamnus alaternus</i> L.	33
Figure 19	A : Le broyage des feuilles sèches de <i>Rhamnus alaternus</i> L., B : La poudre	34
Figure 20	Les différentes étapes de l'extraction ; A- Macération dans une solution méthanolique, B- Filtration, C- Evaporation a base pression dans un évaporateur rotatif, D- L'extrait méthanolique	34
Figure 21	Préparation de l'extrait et les dose(A), agitation (B), Filtration (C)	35
Figure 22	Technique de gavage	38
Figure 23	Mesure du poids de rat	38
Figure 24	Schéma récapitulatif du protocole	39
Figure 25	Prélèvement du sang au niveau cardiaque ouvert	40
Figure 26	L'automate de FNS modèle minidary.	40
Figure 27	L'automate des analyses biochimiques modèle snibebiossay 240 plus.	40
Figure 28	A : Les organes conservés dans le formol de 10%, B : Fragments d'organe dans le TCA (20%)	41
Figure 29	Principales étapes d'extraction des métabolites : glucides, lipides	42
Figure 30	Préparation des cassettes	44
Figure 31	Automate pour la circulation	4
Figure 32	Les blocs après le refroidissement	45
Figure 33	Bain marie(A), Microtome(B), L'étuve (C).	45
Figure 34	Coloration hématoxyline d'Harris Eosine (HE)	46
Figure 35	Matériel utilisés pour le montage des lames.	46
Figure 36	Le microscope optique	47
Figure 37	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols	49

	totaux.	
Figure 38	Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes	50
Figure 39	évaluation de l'activité antioxydante	51
Figure 40	L'évaluation du gain de poids corporel durant chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours de traitement	52
Figure 41	La variation de la concentration de la glycémie (g/l) chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours de traitement.	53
Figure 42	La variation de la concentration de triglycéride (g/l) chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours de traitement	54
Figure 43	La variation de la concentration de cholestérol (g/l) chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours de traitement.	55
Figure 44	La variation de la concentration de HDL (g/l) chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours de traitement.	56
Figure 45	La variation de la concentration de LDL (g/l) chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours de traitement.	56
Figure 46	La variation de l'activité de lipase (u/d) chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours de traitement.	57
Figure 47	La variation de le nombre de GB ($\times 10^3/\mu\text{L}$) et GR ($\times 10^6/\mu\text{L}$) et la variation du taux de HB (g/dl) et de pourcentage du HT% chez les rats témoins et les rats traités après 28 j de traitement	58
Figure 48	La variation de la concentration des glucides du foie ($\mu\text{g}/\text{mg}$ tissu) chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours de traitement	60
Figure 49	La variation de la concentration des lipides du foie ($\mu\text{g}/\text{mg}$ tissu) chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours de traitement.	61
Figure 50	Coupes histologiques de fois du groupe témoin A ($\times 10$), B ($\times 40$)	62
Figure 51	Coupes histologiques de fois du groupe témoin oxyde aluminium A ($\times 40$)	62
Figure 52	Coupes histologiques du foie des rats traitées par l'oxyde aluminium (50mg/kg/jour) plus les doses (250 et 500mg/kg/jour) de l'de <i>Rhamnus alaternus</i> L. A ($\times 40$)	63
Figure 53	Coupes histologiques du foie des rats traitées par les doses 250 et 500mg/kg/jour de <i>Rhamnus alaternus</i> L. G $\times 10$	63

Liste des tableaux

N°	Le titre	N° page
Tableau 1	Détails des nanoparticules d' Al_2O_3 (Ahmed <i>et al</i> , 2018)	6
Tableau 2	Les noms vernaculaires du nerprun	13
Tableau 3	Des acides gras saturés	21
Tableau 4	Des acides gras insaturés	21
Tableau 5	Dosage des glucides: réalisation de la gamme d'étalonnage	43
Tableau 6	Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des lipides.	43

Introduction

Introduction

Depuis lange temps, les plantes médicinales sont considérées comme une source majeure des produits utilisés en thérapeutique, de nos jours, le traitement par les plantes est reconnu pour sa facilité d'utilisation et son efficacité, toutefois, cette utilisation demeure informelle pour deux raisons, la première a trait à l'absence d'un cadre juridico-réglementaire encadrant l'utilisation des plantes médicinales traditionnelle et la phytothérapie, la seconde raison est l'absence d'éléments scientifiques validant l'utilisation thérapeutique des plantes médicinales traditionnelles (**Madi, 2018**).

Rhamnus alaternus L. est une plante appartient à la famille botanique des Rhamnacées, c'est l'une des plantes les plus célèbres dans le bassin méditerranéen et le nord-africain pour ses propriétés guérissantes depuis l'antiquité, elle a été utilisée contre la jaunisse et les troubles hépatiques provoqués par paludisme (**Ait, 2006**)

Les métabolites secondaires (polyphénol, Flavonoïde....) que constituent cette plante sont responsables de leur effet. Ces composés possèdent une capacité antioxydante très importante (**Kanai et al., 1999**).

Les nanoparticules ont une application répandue dans tous les aspects de la vie moderne et extrêmement augmenté dans les procédés domestiques et industriels au cours de ces dernières (**Matej, 2011**) En raison de leur caractéristiques uniques et de leur petite taille et de leur grande surface.

Malgré la large gamme d'applications, il y a un grave manque d'informations sur l'impact des nanoparticules sur la santé humaine et l'environnement (**Oberdörster et al., 2004**).

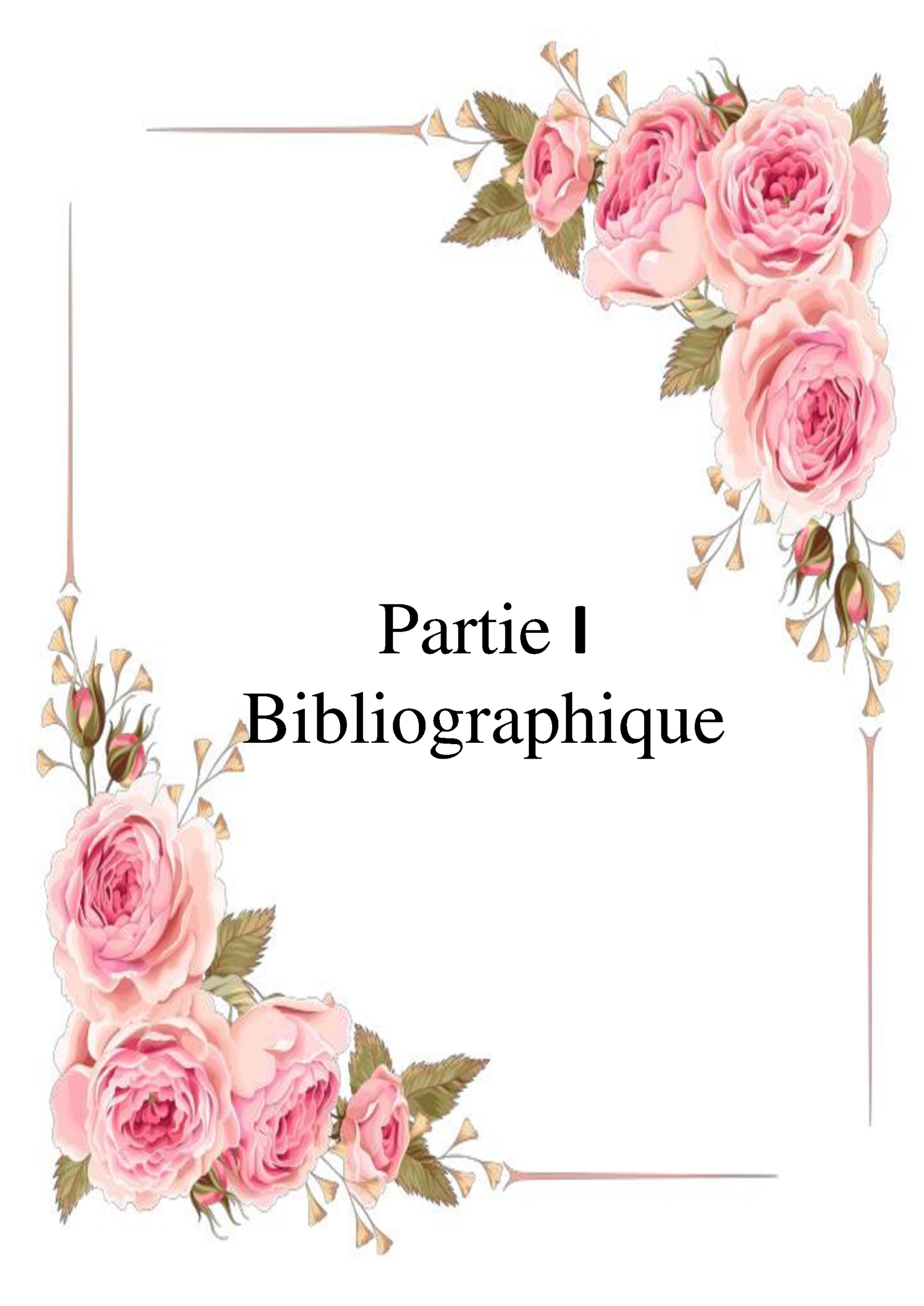
L'oxyde d'aluminium (Al_2O_3) est un biocéramique largement utilisé dans diverses applications médicales, qui est également rentable, biocompatible et a de bonnes propriétés mécaniques, y a compris une forte résistance à la corrosion et à l'usure (**Dong et al., 2012**).

Ce travail a pour objet d'étudier l'effet de la plante médicinale *Rhamnus alaternus* L., vis à vis de la toxicité de l'oxyde d'aluminium (nanoparticules) (Al_2O_3) chez les rats (Wistar albinos).

Le but ultime de cette étude est d'approfondir la valorisation de la phytothérapie qui constitue une véritable alternative surtout dans les pays en voie de développement, également de déceler le poids corporel, certains paramètres biochimiques, hématologiques, les coupes histologiques (foie), les métabolites (glucides et lipides du foie) et les polyphénols, les flavonoïdes, l'activité anti oxydante (DPPH).

Ce manuscrit est subdivisé en quatre chapitres essentiels :

- **Le premier chapitre :** résume des généralités sur les nanoparticules et la toxicité de Al_2O_3 (NPs).
- **Le deuxième chapitre :** présente une vue générale sur *Rhamnus alaternus* L.
- **Le troisième chapitre :** récapitule l'ensemble des informations sur les lipides.
- **Le quatrième chapitre :** décrit le travail expérimental réalisé et trace et traite les résultats obtenus.
- Finalement nous sommes terminés par une conclusion.



Partie I

Bibliographique

Chapitre I

Nanoparticules d'oxyde d'aluminium

Chapitre I : Nanoparticules d'oxyde d'aluminium

1. Définition des nanoparticules

Les nanoparticules (NPs) sont des structures composées de quelques centaines à quelques milliers d'atomes. Du fait de leur taille (1 à 100 nanomètres), les caractéristiques physiques et chimiques de ce dernier sont différentes de celles des matériaux classiques (Chuto, 2010). Les nanoparticules ont une taille qui les place entre la matière macroscopique et l'échelle moléculaire (Djaalali et Gouasmoa, 2018).

Les nanoparticules peuvent représenter un risque pour la santé à cause de leur petite taille. Elles sont dangereuses pour l'organisme, car elles sont capables de traverser notamment sans difficulté la barrière encéphalique chez les humains (Djaalali et Gouasmoa, 2018)

1.2. Les différents types de nanoparticules**1.2.1. Les nanoparticules naturelles**

Un grand nombre de nanoparticules d'origine naturelle sont présentes dans l'environnement (poussières émises par combustion ou par les volcans, produites par érosion).

Parmi elles, on note les imogolites et allophanes, nanoparticules naturelles qui se présentent sous la forme de tubes (imogolites) ou une forme décrite comme sphérique mais dont la structure reste imprécise (allophanes).

Les imogolites et allophanes sont des aluminosilicates structurés à courte distance résultant de l'altération de verres et de cendres volcaniques. (Cheltit, 2021)

1.3. Les principaux facteurs influençant les mécanismes de toxicité

Rapportent que trois principaux facteurs contribuent à la toxicité des nanoparticules absorbées par un organisme.

Un premier facteur de toxicité serait lié à la composition chimique. Par exemple, pour les nanomatériaux peu solubles, l'émission d'ions toxiques liés à la décomposition partielle des nanomatériaux pourrait être favorisée par leur ratio surface / volume élevé.

Deuxièmement, une toxicité cellulaire non liée à la composition chimique, résulte du potentiel d'adhésion des nanoparticules aux cellules ou à leur incorporation cellulaire.

Ceci pourrait être vrai même dans le cas de particules traditionnellement considérées comme biologiquement inertes. (Borm et Kreyling, 2004) attirent alors l'attention sur les effets liés à leurs propriétés de surface (absorption, liaison et transport) et à leurs dimensions.

Finalement, (Kirchner *et al.*, 2005) rapportent une toxicité liée à la forme des nanoparticules, comme le potentiel d'empaler la cellule qu'ont les nanomatériaux de formes longilignes dont les nanotubes de carbone. Pour l'interprétation des effets des particules

nanométriques et ultrafines absorbées par inhalation, (Borm et Kreyling, 2004) postulent qu'on doit s'intéresser aux 5 "D": dose, déposition, dimension, durabilité et mécanismes de défense.

Dans le cas des nanoparticules, cette relation dose-dimension permet de relier la toxicité à la concentration surfacique.

La dose au site pulmonaire détermine la toxicité potentielle et cette dose est déterminée par la concentration et les dimensions des particules. La déposition des nanoparticules dans l'arbre pulmonaire est extrêmement dépendante de la granulométrie des particules comme nous le verrons un peu plus loin.

La durabilité d'un groupe de particules sera plus élevée si elles sont insolubles et ne peuvent être dégradées ou éliminées par le poumon. On assistera alors à une accumulation locale importante, s'il y a une exposition soutenue.

Le système respiratoire comporte différents mécanismes de défense visant à éliminer les particules indésirables et la toxicité sera souvent fonction de l'efficacité de ces mécanismes à prendre charge les nanoparticules. (Kirchner *et al.*, 2005).

2. Nanoparticules d'oxyde d'aluminium

2.1. Définition des nanoparticules d'oxyde d'aluminium

L'oxyde d'aluminium est une nanoparticule atmosphérique, il a la formule chimique $D'Al_2O_3$. Il est utilisé dans diverses applications chimiques, industrielles et commerciales.

Il est considéré comme un additif indirect utilisé dans les substances en contact avec les aliments par la FDA.

L'oxyde d'aluminium est une poudre cristalline blanche inodore. Insoluble dans l'eau, les propriétés varient selon la méthode de préparation; différentes méthodes donnent différentes modifications cristallines, la variété formée à très haute température est chimiquement assez inerte. (Cheltit, 2021)

Tableau 1 : Détails des nanoparticules d' Al_2O_3 (Ahmed *et al.*, 2018)

Objet	Specification
Fabricant	Nanotechcompany Egypt
Nom chimique	Oxyde d'aluminium gama (alumina d' Al_2O_3) Nano poudre, phase gama 99,9%
Taille moyenne des particules	20-50 nm
Superficie(SSA)	>150m ² /g
Aspect	Blanc
Conductivité thermique	~35 W/ m.K
Point de fusion	2045 ⁰ C
Point d'ébullition	2980 ⁰ C
Densité	3,9g/ cm ³

3. Oxyde d'aluminium

3.1. Définition d'oxyde d'aluminium

Al_2O_3 ou alumine se réfère généralement au corindon, L'alumine a plusieurs phases telles que gamma, delta, thêta et alpha. Cependant, la phase alpha-alumine est la phase la plus stable thermodynamiquement. En général, l'alumine possède de nombreuses propriétés intéressantes, par exemple une dureté élevée, une stabilité élevée, une isolation élevée et une transparence (**Hart, 1990**).

L'alumine est également largement utilisée dans l'ignifuge, l'isolant de catalyseur, le revêtement protecteur de surface et les matériaux composites (**Laachachi, 2009; Lach, 2011**).

3.2. Utilisation d'oxyde d'aluminium

L'oxyde d'aluminium ($d'Al_2O_3$) est un biocéramiques largement utilisé dans diverses applications médicales telles que le remplissage et l'implantation des dents, qui est également rentable, biocompatible et a de bonnes propriétés mécaniques, y compris une forte résistance à la corrosion et à l'usure (**Dong et al., 2012**).

3.3. Toxicité de l'oxyde d'aluminium

Il existe des preuves expérimentales que l'oxyde d'aluminium inhibe la minéralisation osseuse en partie par le dépôt d' Al_2O_3 à la limite ostéoïde / os calcifié, inhibant ainsi directement l'afflux de calcium, et en partie par l'accumulation l'oxyde d'aluminium dans les glandes parathyroïdes avec suppression de la sécrétion d'hormone parathyroïde. (**Cheltit, 2021**)

Sur 521 travailleurs exposés à l'oxyde d'aluminium dans une fabrication d'abrasifs usine et suivi entre 1958 et 1983 (**Edling et al., 1987**). Ont trouvé pas d'augmentation significative de la morbidité ou de la mortalité par cancer.

Chapitre II

***Rhamnus alaternus* L.**

Chapitre II : *Rhamnus alaternus* L.1. *Rhamnus alaternus* L.

Rhamnus alaternus L. est une espèce végétale qui appartient à la famille des Rhamnacées selon (Spichiger, 2004), les plantes de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle et en préparation culinaire (Richardson *et al.*, 2000), Cette dernière fait partie des plantes dicotylédones Comprenant environ 900 espèces réparties en 55 genres dont les plus importants sont : *Rhamnus* (150 espèces), *phyllica* (150 espèces), *Zizyphus* (100 espèces), *Goiânia* (60 espèces) et *Ceanothus/s* (50 espèces). (Spichiger, 2004)

Localement connue sous le nom de « **Imlis** » en Algérie, Utilisée en phytothérapie (Naerimane, 2020) et en gastronomie.(Judd *et al.*, 1999).

C'est un arbuste dimoïque distribué le long du bassin méditerranéen, qui fleurit pendant la fin de l'hiver et les débuts du printemps. (Gulias *et al.*, 2004).

À une taille qui varie de 1 à 5m, toujours vert Sa croissance est lente mais sa longévité peut atteindre 100ans (Naerimane, 2020). (Figure 1)



Figure1 : Photographie de l'arbuste de *Rhamnus alaternus* L. (Chancerel, 1920 ; Battandier *et al.*, 1888).

2.Morphologie de l'espèce *Rhamnus alaternus* L.

➤ Les feuilles

Sont ovales, lancéolées, alternes, coriaces, luisantes, persistantes, souvent dentées, d'un vert foncé, elles restent sur l'arbre pendant deux années environ (**Battandier et al., 1888**).

➤ Les fleurs

Jaunâtres, unisexuées, elles sont groupées en petites grappes latérales, le calice possède 5 lobes réfléchis dans les fleurs mâles, et dressés dans les fleurs femelles, il n'a pas de pétales.

La floraison : mars -avril parfois avant.

➤ Les fruits

Sont habituellement porter en deux ou trois graines qui sont couvertes par un endocarpe qui s'ouvre quand la pulpe de fruit est enlevée.(**Gulias et al., 2004**)

La couleur de ce fruit est rouge puis noir comme les fruits de pistachialentisais, et la fructification octobre novembre.

➤ La tige

Est dressée et rameuse ; les rameaux sont alternes, non épineux (**Chancerel, 1920**), la croissance de nerprun alaterne est lente, sa longévité est considérable (100ans).

Son bois est à fibre courte et cassante, très lourd, très homogène, d'un grain fin, blanc jaunâtre à l'état d'aubier, brun clair ou foncé à l'état parfait comme le chêne. Il prend beaucoup de retrait et exhale, quand on le travail, une odeur désagréable (**Mathieu, 1860**).

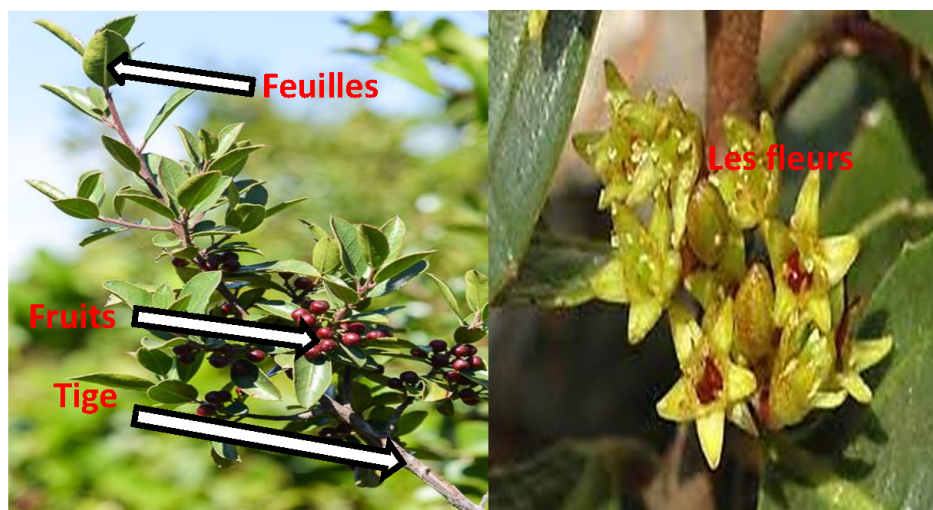


Figure2 : Différents organe végétales de l'espèce de *Rhamnus alaternus* L.(Cliché, 2014)

3. Les parties utilisées

Les feuilles ; les tiges ; l'écorce et les baies de *Rhamnus alaternus* L. sont utilisées en phytothérapie (Halimi, 1997).

4. La multiplication :

Rhamnus alaternus L. se multiplie par voie sexuée, comme il se de multiplier par marcottage, bouturage, greffage d'une espèce sur une autre ou par semis. (Latreche, 2015)

5. Répartition géographique

➤ *Rhamnus alaternus* L. dans le monde

C'est un arbuste dimoïque distribué le long du bassin méditerranéen, l'Asie et Europe (Gulias *et al.*, 2004).

Il se trouve dans les pays d'Afrique du nord, elle habite les coteaux secs et calcaires du Sud de la France, de la Corse, de l'Algérie, du Nord de la Tunisie (Chancerel, 1920), il s'est naturalisé en Australie et Nouvelle-Zélande. (Figure 3)



Figure 3 : Répartition de *Rhamnus alaternus* L. dans le bassin méditerranéen

(Judd *et al.*, 1999)

➤ *Rhamnus alaternus* L. en Algérie

L'espèce *Rhamnus alaternus* L. pousse dans les forêts, les rocailles de tous les 15 secteurs du nord algérien (Sahels littoraux Oranais, Plaines littorales oranaises, Atlas tellien, oranais et Algérois, Littorale Algérois, la grande et la petite Kabylie, la Numidie, tell constantinois, Haut-plateaux algérois et oranais, Haut-plateaux constantinois, Hodna, Atlas saharien oranais, Algérois, constantinois) et surtout dans les rochers des montagnes (Ait, 2006) alors qu'elle n'existe quasiment pas dans les 5 secteurs du sud algérien (Sahara septentrional occidental et oriental Sahara occidental, central et méridien). (Figure 4)

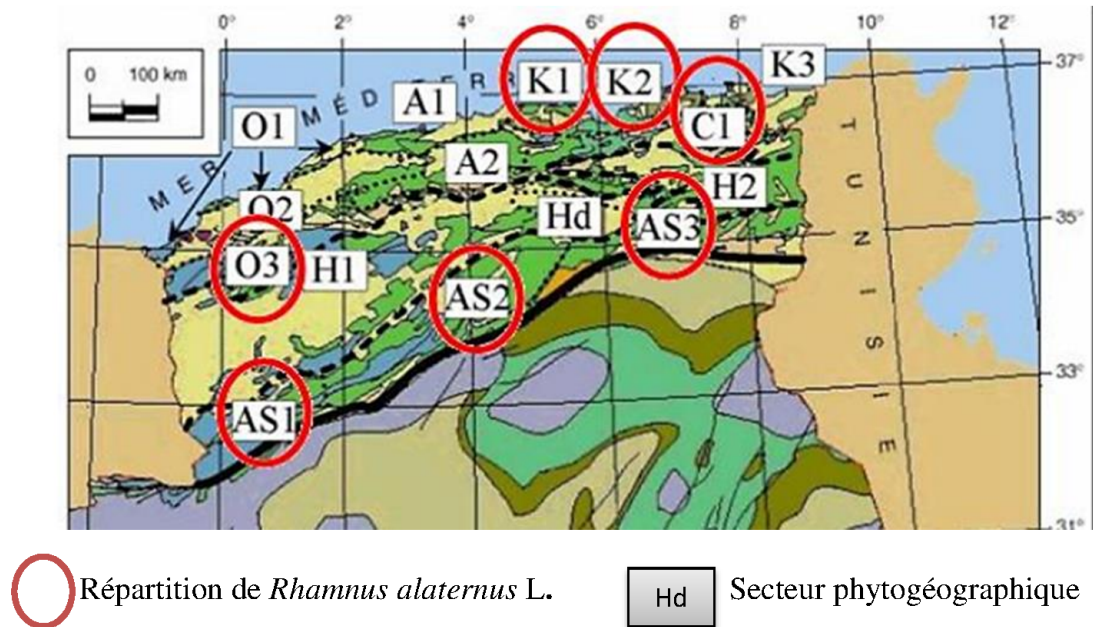


Figure4: Répartition de l'espèce *Rhamnus alaternus* L. en Algérie

(Quézel et Santa, 1963)

6. Taxonomie et nomenclature

➤ Classification du *Rhamnus alaternus* L.

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Rhamnales

Famille: Rhamnaceae

Genre : Reynosia

Sous genre : Rhamnus

Espèce : *Rhamnus alaternus* L. (Quézel et Santa, 1963)

➤ Nomenclature

Le nom de genre *Rhamnus* vient du grec *rabdos* qui signifie baguette, en référence à la flexibilité des rameaux, le nom vernaculaire *Nerprun* correspond au latin populaire *niger prunus* qui veut dire prunier noir, évoquant la couleur des baies (Anonyme, 2012).

Les noms vernaculaires du nerprun sont mentionnés dans le Tableau suivant :

Tableau 2 : Les noms vernaculaires du nerprun

Langues	Nom	Référence
Arabe	Qaced ; aoud el kheir ; ouchbetsafar	(Halimi, 1997)
Kabyle et targuis	Mélilés ;ajroudj, khalis n'imidekh	(beloued, 2001) (bhourri <i>et al.</i> ,2012)
Français	Alaterne, nerprun méditerranéen.	(beloued, 2001) (izhaki <i>et al.</i> , 2002)
Anglais	Buckthorn	(Khengui et Kimfokon, 2022)
Italien	Alaterno, legnopuzzo	(Gubb, 1913)
Allemand	Kreulzdorn	(Khengui et Kimfokon, 2022)
Espagnole	Aladierna, coscounia, sanguino d'andalucia	(Khengui et Kimfokon, 2022)

7.La composition chimique et biochimique

L'étude photochimique sur la partie aérienne et les racines de *Rhamnus alaternus* L. a révélé la présence de diverses quantités des substances phénoliques comme d'anthraquinones (tel que l'émodin, chysophanol, alaternin et physcion), coumarines, de tannins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation et en particulier des flavonoïdes (Ben ammar *et al.*, 2008) glycosylés (tel que kaempferol 3-O-Bisorhamninoside, rhamnocitrin 3-O-B-isorhamninoside et rhamnetin-3-O-B-isorhamninoside) et flavonoïdes aglycones comme le kaempferol, quercétine et l'apigénine (Ben ammar *et al.*, 2008 ; Ben ammar *et al.*, 2009).

La pulpe de *Rahmnus alternus* L. est caractérisée par une richesse d'eau (68%) et une abondance de K (12.90%) Elle contient également des minéraux (Fe, Zn, Mn, K, Na, Ca, Mg, P, Cu), de lipides, protéines et de fibres (cellulose, hémicellulose et lignine).

Les fruits relativement volumineux de *Rhamnus alaternus* L. sont riches en eau et Phosphore, par contre celle de taille intermédiaire sont caractérisés par une abondance de lipides, Magnésium et de calcium et les fruits plus petits contiennent plus de protéines, Potassium et zinc.

7.1. Les composés phénoliques

➤ Les polyphénols

• Définition

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), ce sont des pigments généralement responsable de la teinture des feuilles et les couleurs des fleurs et des fruits. Les principales sources alimentaires des polyphénols sont les fruits les légumes et les céréales (Martin et Tsiotaina, 2002 ; Bruneton, 2009).

• Classification des polyphénols

Les principaux groupes appartenant aux polyphénols sont les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins.

Les acides phénoliques sont les principaux polyphénols alimentaires (Watson *et al.*, 2013). Il existe sous deux formes: les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques (Balasundram *et al.*, 2006).

A. Les acides hydroxybenzoïques

Ils sont dérivés de l'acide benzoïque, et ont une formule de base de type (C₆-C₁) sept acides benzoïques sont connus : acide p-hydroxybenzoïque, protocatéchique, vanillique, gallique, syringique, salicylique et gésisique (Macheix *et al.*, 2005 ; Collin et Crouzet, 2011). (Figure 5)

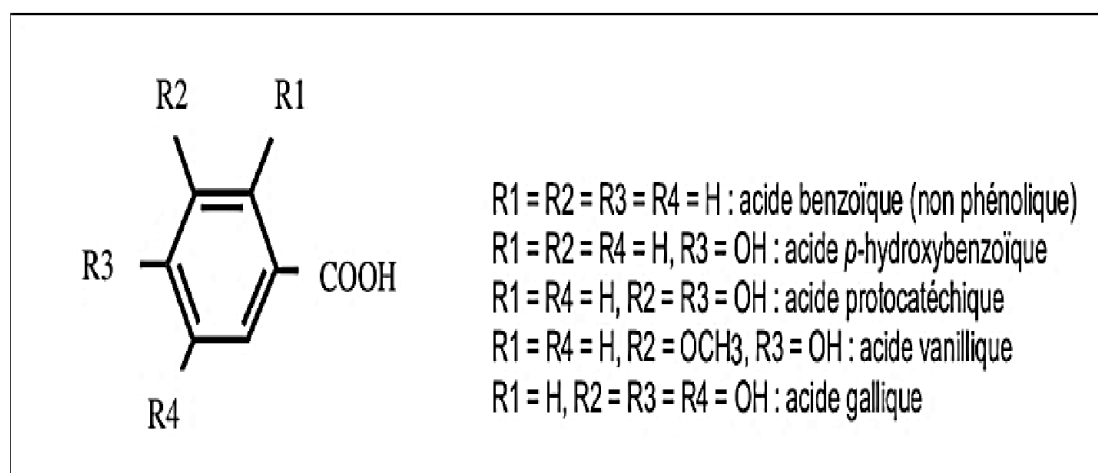


Figure 5 : Structures chimiques des acides hydroxybenzoïques (Bruneton, 2008).

B. Les acides hydroxycinnamiques

Représentent un groupe très important des polyphénols, dont la structure de base (C₆-C₃) dérive de celle de l'acide cinnamique, les molécules de base de la série hydroxycinnamique sont : l'acide p-coumarique, caféique et férulique (Macheix *et al.*, 2005).

➤ Les flavonoïdes

Sont des substances généralement colorées très répandues chez les végétaux, plus de 4000 flavonoïdes ont été répertoriés, ils protègent les plantes terrestres des radiations ultraviolettes (Guignard, 2000).

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base C₆-C₃-C₆, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C₃ en formant ainsi l'hétérocycle (C) (Sarni et Cheynier, 2006).

La structure des différents types de flavonoïdes varie par la nature de l'hétérocycle oxygéné (Ribereau, 1968).

- **Activité antimicrobienne des acides phénoliques**

L'activité antimicrobienne des acides phénoliques a été rapportée dans plusieurs recherches. Les acides phénoliques comme l'acide P-coumarique, acide caféique agissent en tant que des facteurs empêchant la croissance de *Staphylococcus aureus* (Stojković *et al.*, 2013).

L'activité antimicrobienne est liée à la présence des groupements hydroxyles dans leur structure (Cowan, 1999), une étude *in vitro* faite par (Khatkar *et al.*, 2014) a également démontré que les dérivés synthétiques de l'acide P-coumarique possèdent une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli*. (Figure 6)

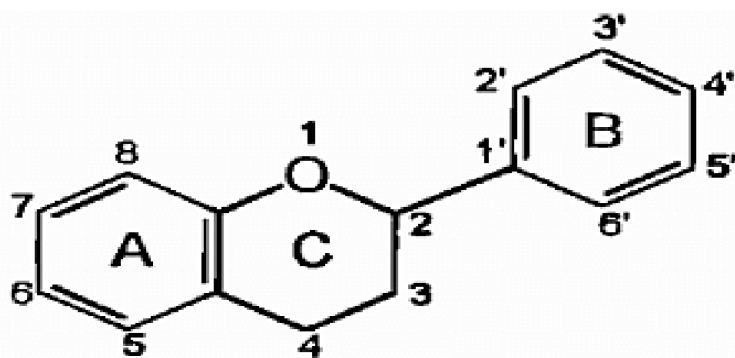


Figure 6: Structure chimique de base des flavonoïdes Structure chimique de base des flavonoïdes (Krishna *et al.*, 2001).

8. Utilisation traditionnelle de *Rhamnus alaternus* L.

En médecine traditionnelle *Rhamnus alaternus* L. a été employé en tant que digestif, diurétique, laxatif, astringent, hypotensif et pour le traitement des complications hépatiques et

dermatologiques (**Bhourietal, 2012**), ainsi que les problèmes cardiovasculaires (**Calvo et Cavero, 2014**).

Les tiges et les feuilles de *Rhamnus alaternus L.* étaient utilisées en Algérie- dans le constantinois, contre la jaunisse et les troubles hépatiques provoqué par le paludisme.

Le fruit était utilisé en Algérie comme purgatif doux ; au Maroc- dans le Haut Atlas et le Moyen Atlas, il est toujours employé comme laxatif (**Ait, 2006**).

Employé aussi en médecine vétérinaire grâce à l'action purgative d'une saveur âpre de leur baie.

9. Activités biologiques

➤ **Activité antimutagène**

L'effort oxydant provoqué par des espèces réactives de l'oxygène induit l'oxydation des biomolécules menant aux dommages cellulaires (**Ben ammar et al., 2008**), l'extrait organique de *Rhamnus alaternus L.* à une propriété antimutagène qui se traduit par l'inhibition des agents mutagène (Aflatoxine B1) qui pourrait être due à l'abondance des flavonoïdes et des tanins (**Ben ammar et al., 2005 ; Ben ammar et al., 2007**).

➤ **Activités antioxydantes**

Le stress oxydatif, causé par les espèces réactives oxygénées (ROS), est connu pour causer l'oxydation de biomolécules conduisant à des dommages cellulaires et à l'oxydation des enzymes importantes (**Ben ammar et al., 2008**).

Les espèces réactives oxygénées ont été reconnus comme jouant un rôle important dans l'initiation et / ou la progression de diverses maladies telles que l'athérosclérose, l'inflammation, le cancer et les maladies cardiovasculaire.

L'activité antioxydantes de l'extrait organique de *Rhamnus alaternus L.* est effectuée en empêchant la formation des radicaux libres, par piégeage des espèces réactives oxygénés (ROS) (**Bhouriet al., 2012**).

Certains extraits de *Rhamnus alaternus L.*, ont un potentiel d'activité antioxydante liée à la composition de la plante en flavonoïdes et polyphénols (**Ben ammar, et al., 2008 ; Bhouriet al., 2012**), les flavonoïdes neutralisent les radicaux libres, en se liant directement à ces derniers.

Les flavonoïdes de *Rhamnus alaternus L.* sont de bon chélateurs de métaux qui jouent un rôle important dans le métabolisme de l'oxygène et l'apparition des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et la réduction du H₂O₂ par génération de quantité importante de radicaux libres hydroxyles (**Aschok, 2001**).

Les travaux de (**Yen, 1995 et Kelly, 2002**) ont démontré que les flavonoïdes, sont de bons donneurs d'électrons et d'hydrogène ce qui leur confère la capacité de terminer la chaîne de

formation des radicaux, en convertissant les radicaux libres et les espèces réactives oxygénés (ROS) en produits stables.

➤ **Activité antigénotoxique**

Les extraits de *Rhamnus alaternus L.* possèdent des propriétés antigénotoxiques qui peuvent contrer ou prévenir les effets indésirables causés par les produits chimiques endommageant l'ADN.

En effet, des recherches ont montré que les composés phénoliques de *Rhamnus alaternus L.* exercent des propriétés antigénotoxique (**Ben ammar *et al.*, 2007**).

➤ **Activités anti-enzymatique**

Des études *in vitro* ont montré que les extraits organiques de *Rhamnus alaternus L.* inhibent significativement l'activité des carboxyl estérases, enzymes largement distribuées dans les tissus animaux, essentiellement impliqués dans le catabolisme du nombreux xénobiotiques, tels que des carboxyl esters, des thio-esters et des amides aromatiques.

Cette propriété inhibitrice est attribuée aux flavonoïdes qui exercent une activité non compétitive (**Stocker *et al.*, 2004**) .

➤ **Activité anti-inflammatoire**

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) ont été reconnus comme jouant un rôle important dans l'initiation et/ou la progression de diverses maladies telles que l'athérosclérose, l'inflammation, le cancer et les maladies cardiovasculaires (**Bhouri *et al.*, 2012**).

Ainsi des études récentes ont montré que l'activité anti-inflammatoire des extraits de *Rhamnus alaternus L.* est corrélées avec la composition en polyphénols, en flavonoïdes, en tannins et en anthraquinones et que cette propriété est due principalement à leurs activités de piégeage des radicaux libres (**Ben ammar *et al.*, 2005**) .

10.Toxicité de *Rhamnus alaternus L.*

Cette espèce est faiblement toxique. Les parties toxiques de la plante sont les fruits murs et l'écorce. Cette plante contient des glycosides qui se transforment par hydrolyse en anthraquinones telles que l'émodine (un tri hydroxy-méthyl-anthraquinone).

La Toxicité est provoquée dès la consommation de 20 drupes chez l'enfant et 30 drupes chez l'adulte. L'ingestion des fruits provoque des coliques, vomissements, diarrhées, éventuellement lésions rénales avec néphrite (oligurie, protéinurie), mydriase, céphalées, vertiges. (**Claude, 2018**).

Chapitre III

Les lipides

Chapitre III : Les lipides

1. Les lipides.**1.1. Définition**

Les lipides constituent un groupe de composés organiques de structures chimiques différentes, qui se caractérisent par leur solubilité dans les solvants organiques apolaires (ex ; hexane, le benzène, le chloroforme) ils sont peu ou pas solubles dans l'eau. (Guimon, 1998)

Les lipides sont soit- hydrophobes, s'ils ne contiennent que des groupements non polaires ou soit amphiphiles, s'ils contiennent à la fois des groupements polaires et non polaires.

Les lipides sont formés d'acides gras, unis à d'autres molécules telles que le glycérol, le cholestérol, et certains alcools particuliers.

1.2. Rôle

Dans l'organisme les lipides jouent un rôle important peuvent être résumées en :

- ✓ **Rôle structural dans les membranes biologiques** (phospholipides, stérols) ces lipides font partie intégrante des structures cellulaires notamment au niveau des membranes.
- ✓ **Stockage de l'énergie** : les lipides de réserve leur quantité dans l'organisme varie avec l'état nutritionnel.
Constitués à plus de 95 % par des triglycérides, ces lipides représentent principalement une réserve d'acides gras.
- ✓ **Importance nutritionnelle** : transport des vitamines liposolubles les vitamines A, D, E, K sont liposolubles et sont absorbées avec les graisses alimentaires.
- ✓ **Lipides à activité métabolique** : les lipides ont un rôle fonctionnel important dans la synthèse des eicosanoïdes (prostaglandines et leucotriènes), des diacylglycérols et inositol-phosphate (messagers hormonaux) et des hormones stéroïdes.. (Bereziat et Benlian, 1999)
- ✓ **Transporteurs d'électrons.**
- ✓ **Pigments qui absorbent la lumière.**

1.3. Classification

Il existe plusieurs classifications des lipides, nous donnons ici celle qui prends en considération. Le rôle des lipides autant que molécules de stockage neutres, et de molécules de structure polaires (Figure7).

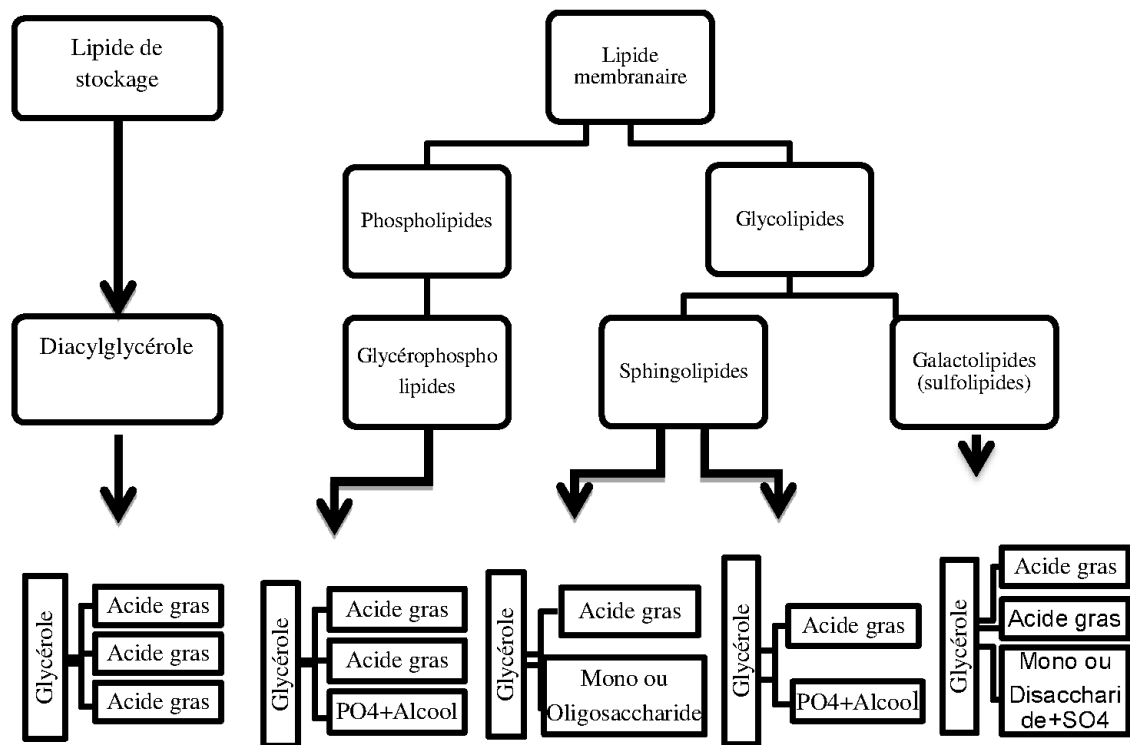


Figure 7 :Classification des lipides. (Nelson *et al.*, 2017)

2. Les acides gras

2.1. Définition

Un acide gras est un acide carboxylique aliphatique à longue chaîne qui est une molécule composée d'une chaîne hydrocarbonée (4C à 36C, pair ou impair) et une fonction carboxylate terminale chaîne hydrocarbonée peut être saturé (pas de double liaison) ; monoinsaturé (une seule double liaison) ou Polyinsaturés (deux ou plusieurs doubles liaisons) les acides gras sont **amphiphiles**, du fait de leur fonction carboxyle hydrophile et de leur chaîne hydrocarbonée hydrophobe. (Zerriouh, 2020)

Les acides gras les plus rencontrés dans la nature possèdent ces propriétés:

- ✓ Une chaîne hydrocarbonée linéaire qui peut être saturée ou insaturée, dans ce dernier cas
- ✓ les doubles liaisons sont non conjuguées et presque toujours de configuration cis
- ✓ La majorité des acides gras se trouvent non libre. (Kessous, 2009)

2.2. Classification des acides gras

➤ Les acides gras saturés

La formule chimique générale des acides gras saturés est la suivante :

$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_n - \text{COOH}$.(Cuvelier *et al.*, 2004)

Exemple : Acide palmitique $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{14} - \text{COOH}$. (Touitou, 2005)

Une série continue d'acides gras de nombre de carbones pair a été isolée des lipides de source animale, végétale et microbienne, par exemple : l'acide palmitique C : 16 qu'est plus abondant dans les graisses animales (Kessous, 2009) autre acides gras saturées sont citées dans le tableau suivant:

Tableau 3 : Des acides gras saturés (Baratti, 2011)

N° d'atomes de Carbone	Nom
4	Butyrique
12	Laurique
14	Myristique
16	Palmitique
18	Stéarique
20	Arachidique

➤ **Les acides gras insaturés**

Un acide gras dit insaturée lorsqu'il possédé une double liaison (Meyerrogge, 2012).

Les acides gras insaturés peuvent contenir entre 1 et 6 doubles liaisons et sont dits, selon le cas, monoinsaturés ou polyinsaturés (Cuvelier *et al.*, 2004)

Les acides gras insaturés représentent plus de la moitié des acides gras des plantes et des animaux, La plupart des acides gras insaturés ont des longueurs de chaînes de 16 à 20 carbones (Kessous, 2009).

A titre d'exemple, il est fréquent de rencontrer les acides gras insaturés suivants en C18 :

- Acide oléique C18 : 1
- Acide linoléique C18 : 2
- Acide linoléique C18 : 3 (Touitou, 2005)

Tableau 4 : Des acides gras insaturés (Baratti, 2011)

N° d'atome de Carbone	N° d'insaturations	Position des insaturations	Série	Nom
16	1	Δ^9	n-7	Palmitoléique
18	1	Δ^9	n-9	Oléique
	2	$\Delta^{9;12}$	n-6	Linoléique
	3	$\Delta^{9;12;15}$	n-3	Linoléique
20	3	$\Delta^{5;8;11;14}$	n-6	Arachidonique

3. Lipides simples

Il s'agit d'un simple lipide, composé ternaire constituée de c ;h ;o., ce sont des esters d'acides gras + Alcool. (3alcools sont ésthérifiés par un acide gras)

- Glycérol \longrightarrow Glycérides
- Stérol (Cholestérol) \longrightarrow Stérides
- Alcool à longue chaine aliphatique \longrightarrow Céride

3.1. Les glycérides

Ce sont des esters d'acides gras + glycérol, si les 3 AG sont identiques, le triglycéride est homogène, s'ils sont différents, il est hétérogène.

Ce sont des lipides naturels les plus abondants, présents dans le tissu adipeux (graisses de réserve) et dans de nombreuses huiles végétales, représentent une réserve énergétique importante chez l'homme. (Mekroud, 2020)

➤ **Nomenclature :**

Celle-ci résulte de la combinaison de deux critères:

La nature des acides gras estérifiant le glycérol nombre et position de ces acides gras

Ainsi, on peut avoir des mono, di ou triglycérides selon le nombre d'acides gras présents:

- Estérifié par des AG de même nature = Homogène
- Estérifié par des AG de nature différentes = Hétérogène

Nom général	structure
α monoglycéride	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{---O---CO---R} \\ \text{CHOH} \\ \text{CH}_2\text{---O---CO---R} \end{array}$
$\alpha\beta$ diglycéride hétérogène	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{---O---CO---R}_1 \\ \text{CH---O---CO---R}_2 \\ \text{CH}_2\text{---O---CO---R}_3 \end{array}$

Un autre système de nomenclature tient compte de la racine de l'acyl estérifiant le glycérol en Définissant clairement sa position, suivi du mot glycérol.

Exemple: 1 AC. Palmitique en C1 = 1 palmitiyl glycérol ou α palmityl glycérol. (Mekroud, 2020)

3.2. Les cérides

Un céride ou une cire est un mono ester d'acide gras saturé ou insaturé et d'alcool gras. Les chaînes carbonées sont en général longues.

Alcoolcérylique = (CH₃ -(CH₂)₂₈-CH₂OH) Alcoolmyricylique = (CH₃ -(CH₂)₂₄-CH₂OH). (Mekroud, 2020) (Figure 8)

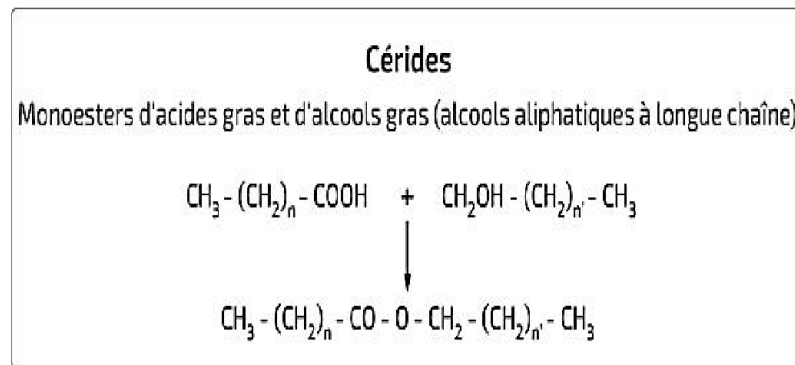


Figure 8 : Structure de Cérides

3.3. Les stérides

Ce sont des esters du stérol (cholestérol), e cholestérol est une structure composée de 3 cycles hexagonaux + un cycle pentagonal correspondant au cyclopentanoperhydrophénanthène, il possède une fonction alcool secondaire en C3 et une double liaison en Δ^5 ,e stéride est formé par estérification d'un AG sur la fonction alcool en 3 du cholestérol, transporté dans le sang dans les lipoprotéines, c'est un constituant des membranes (rôle dans la fluidité).

Le cholestérol sert dans l'organisme à la synthèse de 3 groupes de molécules : Les hormones stéroïdes (cortisol, testostérone...), la vitamine D3 Les acides biliaires. (Mekroud,2020) (Figure9)

4. Les lipides complexes

4.1. Les glycérophospholipides

Ce sont des molécules amphipathiques (ou amphiphiles) car elles présentent 2 pôles :

- L'un hydrophobe dû aux AG.
- L'autre hydrophile dû à l'ester phosphorique.
- Elles ont donc des propriétés identiques à celles des savons (émulsionnants, ...).
- Ce sont des molécules amphotères car elles possèdent à la fois :
 - Une fonction acide apportée par H_3PO_4
 - Une fonction basique apportée par l'AA alcool (sérine, thréonine) ou par la choline et l'éthanolamine.

➤ L'acide phosphatidique

Les deux acides gras ont une chaîne longue, l'acide gras en position 2 est souvent insaturé, l'acidité de la molécule provient des 2 H mobiles libres de l'acide phosphorique.

- ❖ Au pH sanguin (7,35 - 7,45) les 2 fonctions acides sont ionisées.
- ❖ L'acide phosphatidique est un second messenger intracellulaire.

Les glycérophospholipides sont constitués d'acide phosphatidique + alcool. (Mekroud, 2020)

4.2. Les sphingolipides

Ce sont des amides de la sphingosine, classe de lipides membranaires qui se forment par liaison du carboxyle de l'AG sur le –NH₂ de la sphingosine :

➤ Acylsphingosine ou Céramide

Le plus simple des sphingolipides est céramide ou acylsphingosine. (Figure 9)

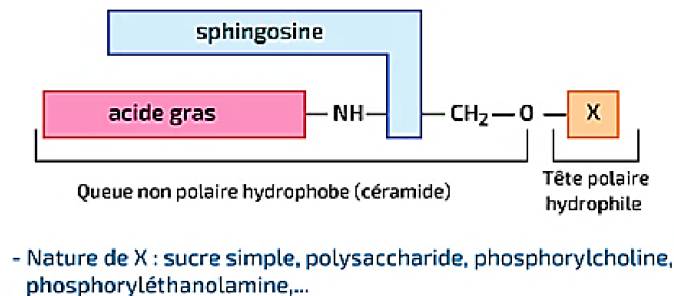


Figure 9: Structure de céramide

➤ Les sphingomyélines

Elles sont constituées de l'association, Sphingosine + AG + Phosphorylcholine

- On les trouve dans le tissu nerveux (gaines de myéline) et dans les membranes.
- La déficience en dans le cerveau la rate et le foie.
- Sphingomyélinase entraîne leur accumulation. (Mekroud, 2020) (Figure 10)

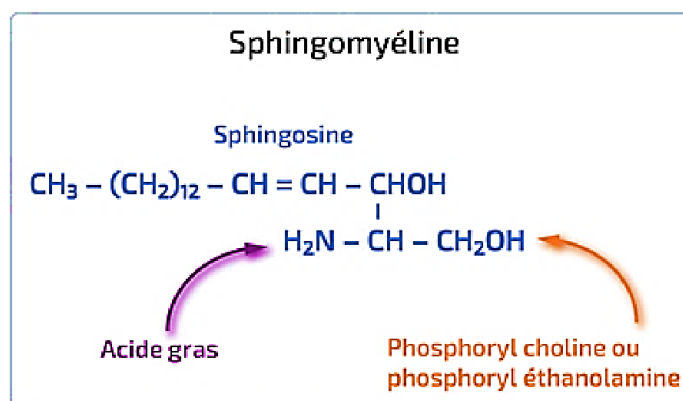


Figure 10 : Structure de Sphingomyéline

5. lipoprotéines

5.1. Définition

Les lipides, molécules hydrophobes, circulent dans le sang en association avec des protéines spécifiques, les apolipoprotéines, sous forme de complexes macromoléculaires solubles en milieu aqueux appelés lipoprotéines. (Moussard, 2008)

Le rôle physiologique principal des lipoprotéines circulantes est donc d'assurer le transport et la distribution des lipides exogènes et endogènes et des substances liposolubles entre les différents tissus impliqués dans leur métabolisme. (Guimon, 1998 ; Vaubourdolle, 2007)

5.2. Structure générale des lipoprotéines

La plupart des lipoprotéines circulantes ont une structure sphérique dans laquelle on distingue une partie centrale qui comprend les lipides apolaires, strictement insolubles dans l'eau : triglycérides et cholestérol estérifié, entourée d'une couche périphérique qui est constituée par les lipides polaires assemblés en une monocouche de phospholipides dans laquelle s'insèrent des molécules de cholestérol non estérifié et par les apolipoprotéines. (Gustafson *et al.*, 1966). (Figure 11)

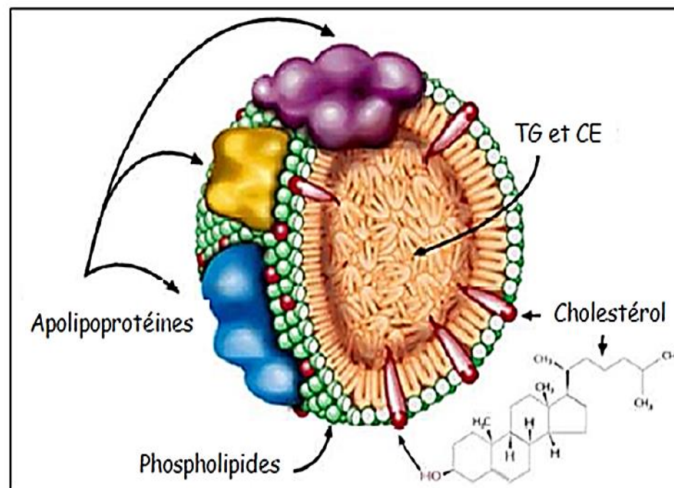


Figure 11: Structure d'une lipoprotéine (Saïle *et al.*, 2007)

5.3. Classification

- **Classification selon la densité hydratée**

Du fait de leurs constituants lipidiques, les lipoprotéines ont une densité inférieure à celle des protéines, et variable selon les fractions.

Cette propriété permet de les séparer des protéines et entre elles par ultra centrifugation de flottation en 4 classes majeures de lipoprotéines :

- Chylomicrons, densité < 0,93.

- Very Low Density Lipoprotein (VLDL), $0,93 < \text{densité} < 1,006$.
- Low Density Lipoprotein (LDL), $1,006 < \text{densité} < 1,063$.
- High Density Lipoprotein (HDL), $\text{densité} > 1,063$.

La tailles et la teneur en lipides des lipoprotéines sont inversement proportionnelle à leurs densité: plus elles sont grasses, plus elles sont grosses, plus elles flottent (Lubetzki *et al.*, 2000). (figure 12).

Hétérogénéité des Lipoprotéines

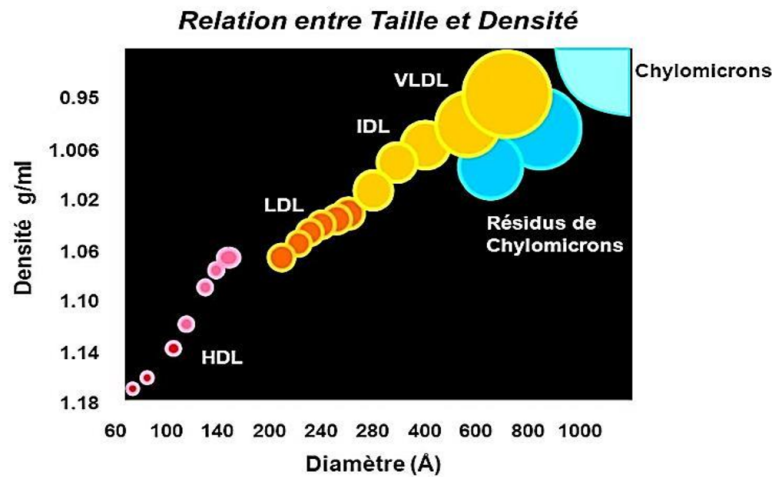


Figure 12: Relation entre la taille et la densité des lipoprotéines (Raaf, 2012)

5.4.VLDL et IDL

Les VLDL (figure 13) sont synthétisés dans le foie, selon un schéma superposable à celui de la synthèse des CM.

Leur TG et cholestérol sont endogènes, leur apoprotéine spécifique est l'apoB100.

Après l'action de la LPL sur les TG des VLDL, les PL, le cholestérol libre et la majorité des apoprotéines des VLDL sont libérés et captés par les HDL (restituent l'apoC et donnent de l'apoA), de sorte que les VLDL se transforment en LP plus denses, les IDL (Intermediary Density Lipoprotein).

Le cholestérol qui a été transféré aux HDL est estérifié par la lécithine-cholestérol-acyl-transférase (LCAT) plasmatique et les esters de cholestérol retournent aux IDL par action de la CETP, en échange de TG. (Wémeaujl, *et al.*,2004)

Deux voies métaboliques peuvent transformer les IDL :

➤ **Voie des récepteurs :**

Permet l'internalisation et la dégradation d'une grande quantité des IDL via les récepteurs B/E (récepteur LDL) assurant la reconnaissance des ApoE et des apoB100.

➤ Voie de la TGLH :

Permet la dégradation dans la circulation, d'une quantité plus faible de particules IDL en les transformant en LDL.

A l'état physiologique, il y a très peu d'IDL dans la circulation en raison de leur captation rapide ou de leur conversion en LDL. (**Andreelli et Jacquier, 2006**)

5.6.LDL

Les LDL (**figure 13**) sont le produit final de la cascade métabolique VLDL-IDL-LDL. Elles sont responsables du transport de 65 à 70% du cholestérol principalement sous sa forme estérifiée du foie vers les tissus périphériques. (**Raisonnier, 2003**)

Les LDL ont une triple destination :

Pour un tiers, elles sont captées dans les tissus périphériques (tissus adipeux, muscles, et myocarde compris) par endocytose grâce à des récepteurs spécifiques reconnaissant l'Apo B100.

Le cholestérol libre des LDL pourra :

- Etre utilisé pour la structure des membranes.
- Etre stockés sous forme de cholestérol estérifié.
- Une enzyme, l'acyl-cholesterol-acyltransferase (ACAT) permet en effet d'estérifier le cholestérol intracellulaire avec des acylcoenzymeA.
- Inhiber la hydroxy-méthyl-glytaryl-coenzyme A réductase (HMG-CoA), enzyme régulatrice de la synthèse du cholestérol.
- Inhiber la synthèse des récepteurs à Apo B/E. (**Guimon, 1998**)
- Pour un autre tiers, elles retournent au foie où elles sont captées par endocytose grâce à des récepteurs spécifiques reconnaissant l'Apo B100 ; le cholestérol libéré subit le même sort que celui provenant des remnants.
- Pour le tiers restant, elles sont captées par les macrophages via les récepteurs scavengers.

Ce processus intervient à concentration normale en LDL, mais il est majoré en cas d'augmentation ou oxydation de ces dernières.

Quand les macrophages sont surchargés en esters de cholestérol, ils se transforment en cellules spumeuses, constituants des plaques d'athérome (**Raisonnier, 2003 ; Marshall et al., 2005**)

5.7.HDL

Les HDL plasmatiques (**figure 13**) ont plusieurs origines :

Sécrétion par l'intestin et par le foie, formation à partir des CM et des VLDL.

Au cours de la lipolyse, il y a en effet des échanges permanents de lipides et d'apolipoprotéines entre les différentes classes de LP.

Les PL et les Apo A sont détachés de la surface des LP riches en TG lors de la lipolyse et contribuent à la synthèse des HDL.

Les premières HDL libérées dans la circulation sanguine ou HDL naissantes sécrétées par les hépatocytes ne contiennent pas de cholestérol estérifié(CE).

Elles ont une forme de disque. Au fur et à mesure, la particule s'enrichit en cholestérol et PL. Après l'estérification du cholestérol par la LCAT, le cholestérol estérifié hydrophobe se localisera au centre et transformera les disques en sphères : les HDL3.

Ces HDL3 sont des HDL de petite taille et de haute densité qui sont capables de recevoir du cholestérol et de continuer à l'estérifier avec la LCAT.

Elles se transforment en HDL de plus grande taille, les HDL2, de densité plus légère car plus riches en TG et converties de façon permanente en HDL3 par la lipase hépatique (LH).

Les HDL ont plusieurs fonctions :

- Intervenir dans la lipolyse des CM et VLDL en leur transférant l'apo CII activateur de la LPL et récupérer, après la lipolyse, des particules de PL, cholestérol libre et apoprotéines.
- Intervenir dans le transport reverse ou efflux du cholestérol avec 4 étapes :

Récupérer l'excès de cholestérol libre des tissus périphériques avec l'intermédiaire d'un récepteur spécifique à HDL, il s'agit alors de la sous classe HDL3.

Permettre l'estérification du cholestérol libre par la LCAT pour libérer les sites périphériques de la LP, après estérification, étant hydrophobe, il forme le noyau des HDL, échanger ce stéride ainsi formé contre des TG des LDL grâce à la CETP.

Ramener au foie le cholestérol des tissus non échangé avec les TG des LDL. L'HDL2 est donc la vraie lipoprotéine antiathérogène puisqu'elle épure l'excès de cholestérol (20 à 30% des HDL totales), au niveau du foie le cholestérol libre peut alors être éliminé dans la bile ou servir à la synthèse des acides biliaires (Moussard, 2008)

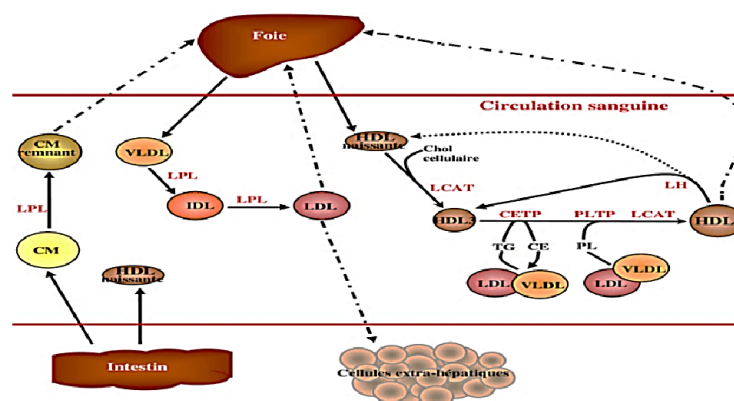


Figure 13: Métabolisme général des lipoprotéines.(Nadège richard, 2006).



Partie II

Expérimentale

I. Matériels et méthode

Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

On a effectué les différentes expérimentations de notre étude au niveau de l'animalerie du département des sciences de la nature et de la vie de l'Université 20 aout 1955 (Skikda) pendant une période de 28 jours, et dans le laboratoire de la biochimie au niveau du hall technologie, Ces différents structures disposent de matériel nécessaire qui nous a permet de réaliser notre recherche dans les meilleures conditions.

1. Matériel:

On a trois types de matériels :

1.1. Matériel chimique

- **L'oxyde d'aluminium (nanoparticules)**

Dans ce travail, on a utilisé l'oxyde d'aluminium Al_2O_3 (nanoparticule) (dose 50mg/kg/jour) sous forme d'une solution aqueuse pour le traitement des rats, qui sont traités après 10 jours d'adaptation.

1.2. Matériel biologique

1.2.1. Matériel végétal

Notre étude a été réalisée sur les feuilles de la plante *Rhamnus alaternus* L., cette plante médicinale a été choisie parmi tant d'autres pour leur caractère médicinal, leurs vertus thérapeutiques intéressantes.

Nous avons récolté les feuilles au mois de février 2023 ; dans la station Zerdeza El-harrouch, wilaya de Skikda Algérie. (**Figure 14**)



Figure 14 : Carte géographique montrant la région ZERDEZA, Skikda (Google earth, 2023)

1.2.2. Matériel animal

- **Rat Wistar :**

L'expérience a été menée sur 42 rats de la souche wistar albinos blanc (femelles), pesants entre 90g à 120g ; provenant de laboratoire de l'institut Pasteur d'Algérie, ce sont des mammifères de l'ordre de rongeur, largement utilisée dans la recherche expérimentale. (**Figure 15**)



Figure15 : Rats Wistar (photo original, 2023)

- ❖ **Classification des rats :**

Règne : Animal

Embranchement : Cordés

Classe : Mammifères

Ordre : Rongeurs

Famille : Muridés

Genre : Rattus

Espèce : Rattus norvegicus (**Bouasla et al., 2022**)

- ❖ **Les conditions d'élevage :**

Des rats en bonne santé ont été adoptés au sein de l'animalerie du département SNV de la faculté des sciences de l'université 20 août 1955 de Skikda.

Les rats ont été mis dans des cages en plastique (7 rats pour chaque cage) qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois, ils sont maintenus dans des conditions standards (température ambiante de 25°C, d'humidité ambiante 40-70%, de la lumière cycle de 12 heures lumière /obscurité).

Les cages ont été nettoyées quotidiennement et la litière a été changée chaque jour jusqu'à la fin d'expérimentation, les animaux ont été nourris par un régime alimentaire standard sous forme de croquette, et on a utilisé l'eau du robinet pour les boire dans les biberons lavés. (**Figure16**).

Matériel et méthodes



Figure16 : Les conditions d'élevage des rats (photo original, 2023)

1.3. Matériel et produits de laboratoire utilisés

L'ensemble des matériels et des produits chimiques utilisés, dans notre expérimentation seront cités au fur et à mesure de leurs utilisations.

2. Méthodes

2.1. Préparation d'oxyde d'aluminium

Dans ce travail, la dose 50mg/kg/jour de l'oxyde d'aluminium (nanoparticules) a été préparé sous forme d'une solution, par l'application des étapes suivantes :

On a ajouté 3750mg de la poudre de l'oxyde avec 750ml de l'eau distillé dans un bicher avec une agitation pendant 2h. (Figure 17)



Figure 17 : Préparation d'oxyde d'aluminium (photo originale, 2023)

2.2. Séchage et broyage de la plante

Les feuilles fraîches de *Rhamnus alaternus* L., ont été séchées naturellement dans un endroit sec et airées, à l'abri de la lumière et de l'humidité, cette opération a duré jusqu'à 30 jours. (Figure 18)



Figure 18 : Le séchage de la partie aérienne sèche de *Rhamnus alaternus* L. (photo originale, 2023)

Matériel et méthodes

Lorsqu'elle a séché, le 08/03/2023 ces feuilles ont été broyées avec du moulin à café jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine.

La poudre obtenue a été conservé dans des sacs de papier et placée dans un endroit clos, à l'abri de la lumière et de la chaleur jusqu'à sa utilisation. (Figure 19)



Figure 19: A :Le broyage des feuilles sèches de *Rhamnus alaternus* L., B :La poudre (photo originale, 2023)

2.3.Préparation de l'extrait par :

- **Macération**

Une quantité de 100g de poudre (la partie aérienne de *Rhamnus alaternus* L.), a été macérée dans 400ml de méthanol 70%.

La préparation est subite à une agitation pendant 24h.

Après la filtration des solutions méthanoliques de la partie aérienne du *Rhamnus alaternus* L. (filtration 1), le culot est macéré dans 200ml de méthanol 70% et agité pendant 24h, après on a filtré la solution (filtration 2) et on a répété la méthode jusqu'à l'obtention du 3eme filtrat.

Finalement le mélange des trois filtrats a été récupéré dans un ballon et évaporé sous pression réduite dans un évaporateur rotative à 65°C et 160tour/minutes, les résidus sont récupérés dans des boites de pétries ensuite on les a mis au séchage dans l'étuve 37°C jusqu'à la stabilisation de son poids. (Figure 20)

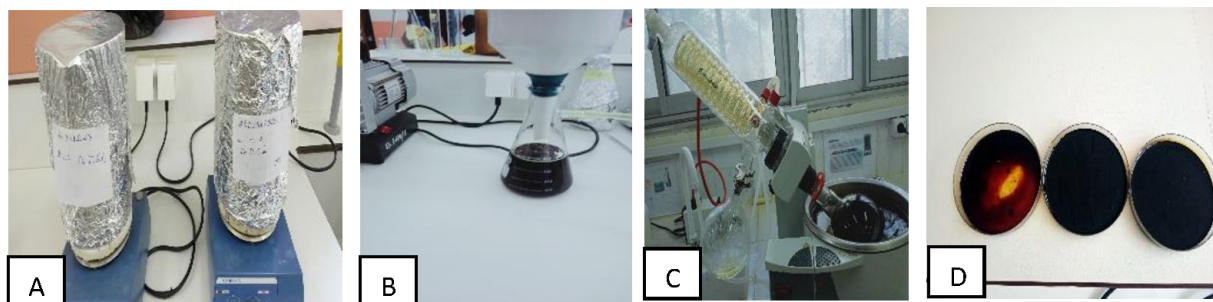


Figure 20 : Les différentes étapes de l'extraction ; A- Macération dans une solution méthanolique, B- Filtration, C- Evaporation à base de pression dans un évaporateur rotatif, D- L'extrait méthanolique (photos originales, 2023)

Matériel et méthodes

• Infusion

Dans cette expérience, La préparation est faite par l'extrait de la plante, on a utilisé deux doses de la plante médicinale *Rhamnus alaternus* L. (250 et 500 mg/kg/j).

- ✓ Pour la première dose on a pris 7.5g de poudre végétale (*Rhamnus alaternus* L.) dans un 300ml de l'eau distillé bouillie.
- ✓ Pour la deuxième dose on a pris 15g de poudre végétale (*Rhamnus alaternus* L.) dans un 300ml de l'eau distillé bouillie.
- ✓ On a agité les mélanges pendant 24h.
- ✓ On a fait une filtration puis une conservation des doses préparées dans un flacon propre.

(Figure21)



Figure 21 : Préparation de l'extrait et les dose(A), agitation (B), Filtration (C) (photo personnelle, 2023)

2.4.Etude quantitative

2.4.1.Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par (Wong *et al.*, 2006)

➤ Principe de la réaction

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols dans un milieu basique, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_{23}) (Robbins, 2003). La coloration bleue ainsi produite est proportionnelle aux taux de composés phénoliques et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

➤ Mode opératoire

Il consiste à mélanger 200 μ l de chaque extrait (0.5mg d'extrait dilué dans 1ml Méthanol) avec 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois diluée dans l'eau distillé). Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 4 minutes. Après l'incubation, 800 μ l de la solution carbonate de sodium $Na_2 CO_3$ (75g /l) a été ajoutée dans l'eau distillée.

Matériel et méthodes

Le développement d'une couleur bleue est obtenu après incubation à l'obscurité et à température ambiante pendant 2 heures. Après incubation, l'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre à 765 nm.

Le blanc de la réaction ne contenant pas de polyphénols est réalisé comme le point 0 en mg/ml.

Note : Le blanc = control négatif : contient tout le mélange réactionnel sauf l'extrait de la plante.

➤ Expression des résultats

La concentration en polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression linéaire de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon l'acide gallique (10-200 µg/ml) et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µgEAG/mE).

2.4.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) citée par (Djeridane *et al.*, 2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes.

➤ Principe de la réaction

Cette technique est basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (Lagnika, 2005).

➤ Mode opératoire

Brièvement, 1 ml de chaque extrait et du standard (0.5mg d'extrait ou standard dissous dans 1ml Méthanol) a été ajouté à 1ml de solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol).

Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

Note: Le blanc = control négatif : contient tout le mélange réactionnel sauf l'extrait de la Plante.

➤ Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = a x + b$) réalisée par un standard étalon "la quercétine" à différentes concentrations (2.5-30 µg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon.

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µgEQ/mg E).

2.4.3. L'activité anti- oxydante DPPH radical libre

➤ Principe de la réaction :

L'activité anti-radicalaire libre est déterminée par spectrophotométrie par le dosage du DPPH (Blois, 1958), le α -tocophérol, BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants.

➤ Instruments utilisés :

Un lecteur de microplaque à 96 puits de volume 200 µl pour chaque puits.

➤ Mode opératoire

➤ Préparation de la DPPH :

Dissoudre 4 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et gardé à -20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5 nm (517 nm) dans le spectrophotomètre.

• Procédure :

Dans notre étude on a suivi la procédure comme elle est décrite en dessous :

400µl de chaque solution méthanolique des extraits à mélangé à 1600µl d'une solution méthanolique du DPPH.

Après agitation, les tubes ont été placés à l'obscurité à une température ambiante, et incubés pendant 30 minutes, puis on a mesuré l'absorbance à 517 nm. Le banc contient 400ul du méthanol et 1600ul de DPPH et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon (**Blois, 1958**).

2.4.4.Détermination d'IC50

Par définition la valeur IC50 est la concentration de l'acide ascorbique ou de l'extrait qui peut réduire 50% de DPPH cette dernière est déterminée graphiquement.

Les IC50 sont calculées graphiquement par la formule de la régression des pourcentages d'inhibition en fonction de différente concentration de l'extrait testé. (**Belmassous, 2017**)

3.Traitement des rats

Pour l'expérience les 42 rats utilisé sont été répartis selon leur poids corporal en six lots, après une adaptation de dix jours un traitement par gavage à l'aide d'une sonde spécifique a été effectué pendant 28 jours. (Figure 23)

•**Groupe 1:**(G1) c'est le témoin, n= 7 rats qui n'ont pris aucun traitement

•**Groupe 2 :**(G2) c'est le groupe traité par la dose (1) 250mg/kg/jour de l'extrait de la plante, n= 7.

•**Groupe 3:** (G3) c'est le groupe traité par la dose (2) 500mg/kg/jour de l'extrait de la plante étudiée, n= 7.

•**Groupe 4:**(G4) c'est le groupe qui ont administré par une dose de 50 mg/kg/jour d'oxyde d'aluminium(AL_3O_2)(nanoparticule), ce groupe n= 7 rats

•**Groupe 5:** (G5) c'est le groupe traité par l'oxyde d'aluminium (nanoparticule) de dose 50 mg/kg/jour, et la dose 01 de l'extrait de la plante étudiée, n= 7 rats.

Matériel et méthodes

•**Groupe 6:** (G6) c'est le groupe traité par l'oxyde d'aluminium (nanoparticule) de dose 50mg/kg/jour, et la dose 2 de l'extrait de la plante étudiée, n= 7 rats. (**Figure22 et 24**)

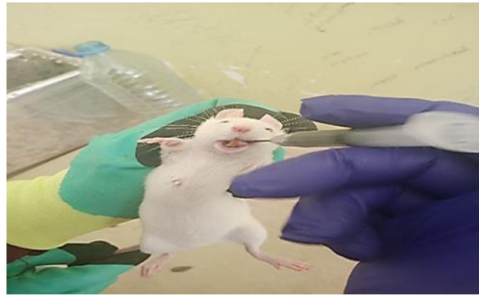


Figure 22 : Technique de gavage (**Photo originale, 2023**)

- **Mesure du poids :**

La mesure du poids est effectuée à l'aide d'une balance sur les rats chaque deux jour au cours de l'adaptation (pour l'évaluation des changements possibles dues à la nourriture ou les facteurs externes) et cours de traitement. (**Figure23**)



Figure 23 : Mesure du poids de rat (**photo originale, 2023**)

Matériel et méthodes

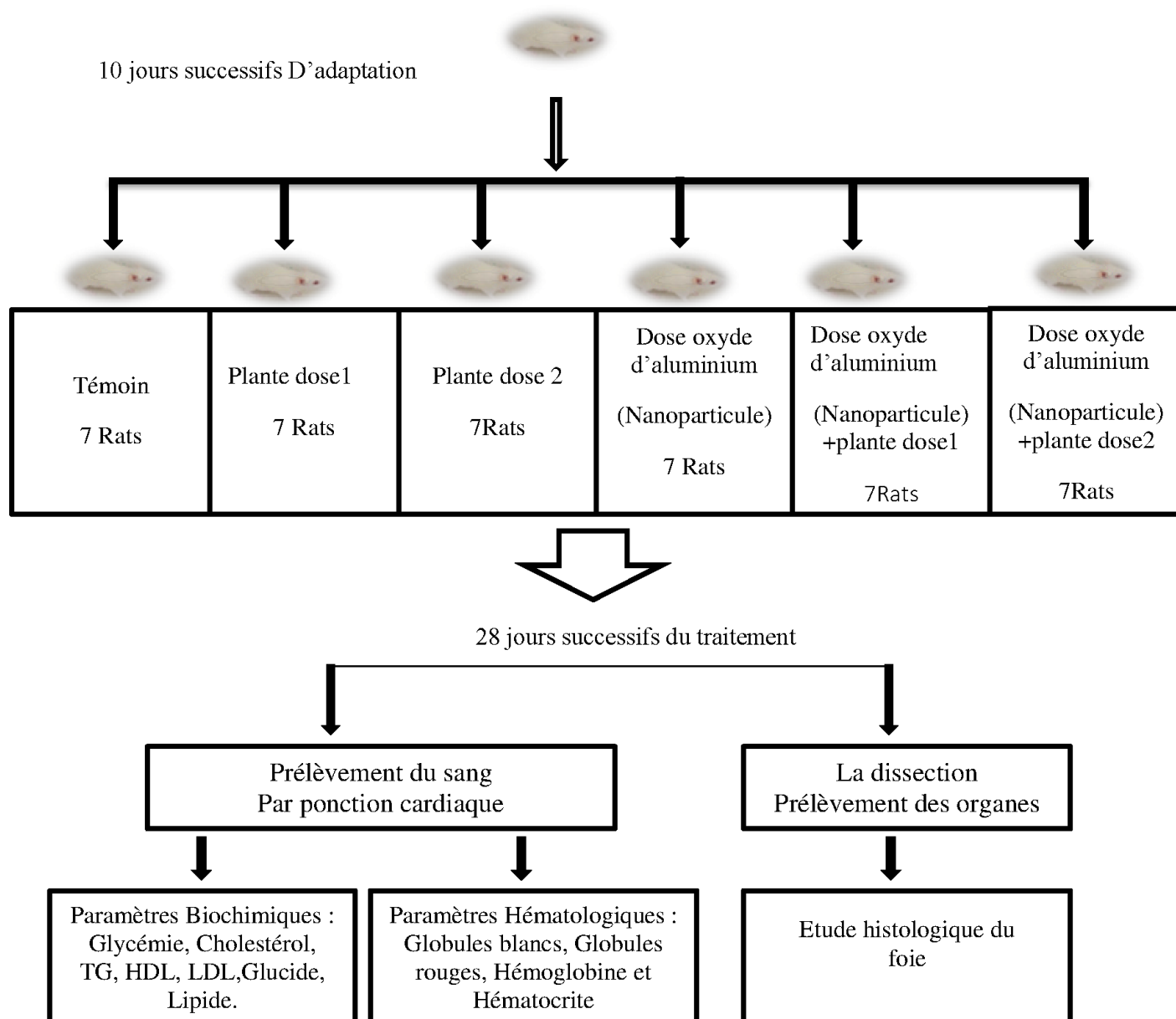


Figure 24 : Schéma récapitulatif du protocole.

4. Dissection et prélèvement :

A la fin de la période du traitement par l'oxyde d'aluminium et l'extrait de *Rhamnus alaternus* L. les rats à jeûn sont anesthésiés par le chloroforme puis disséqués ventralement pour le prélèvement du sang au niveau cardiaque (ponction cardiaque) et de certains organes (foie).

Matériel et méthodes

4.1. Prélèvement sanguin

Après la dissection, un prélèvement sanguin a été effectué au niveau cardiaque ouvert. (Figure 25)



Figure 25 : Prélèvement du sang au niveau cardiaque ouvert (photo originale, 2022)

Le sang prélevé est recueilli dans deux tubes à essais différents.

A. Tube EDTA : pour les paramètres hématologiques.

- **Etude hématologique**

La numérotation de la formule sanguine (GB, GR, HT, HB) est réalisée à l'aide d'un analyseur électronique modèle mindray. (Figure 26)



Figure 26 : L'automate de FNS modèle mindray. (photo originale)

B. Tube Hépariné : pour le dosage des paramètres biochimiques, les tubes sont centrifugés à l'aide d'une centrifugeuse modèle ROTOFIX 32 A.

- **Dosage des paramètres biochimiques :**

(Glycémie, Cholestérol, HDL, LDL, Triglycéride, Lipase) sont dosés automatiquement sur un automate modèle snibebiossay 240 plus. (Figure 27)



Figure 27 : L'automate des analyses biochimiques modèle snibebiossay 240 plus. (Photo originale, 2023)

Matériel et méthodes

Les analyses biochimiques et hématologiques ont été ensuite effectuées dans le laboratoire d'analyses médicales Dr. Bouhdjila f "El harrouch Skikda "

4.2. Prélèvement des organes :

Les organes ont été rapidement prélevés, après on prend des petits fragments qui pèsent moins de 1mg et on a ajouté 1ml de TCA (20%) pour le dosage des métabolites.

Puis les organes restés sont rincés dans le sérum physiologique (NaCl 0.9%), et conservés dans le formol de 10%, pour réaliser l'étude histologique qui a été effectuée au niveau du service d'anatomie pathologique à l'hôpital des martyrs Saad Guermech à Skikda. **(Figure 28)**

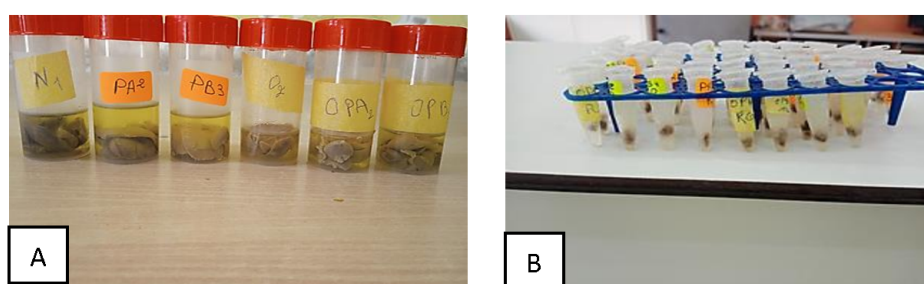


Figure 28 : A :Les organes conservés dans le formol de10%, **B :** Fragments d'organe dans le TCA(20%) **(photo originale, 2023)**

4.3. Dosage des métabolites :

A. Extraction des métabolites :

L'extraction des métabolites des échantillons (le foie) a été réalisée selon le procédé de **(Shibkoet *et al.*, 1966)**, les fragments du foie prélevés sur les rats témoins et traités avec l'oxyde d'aluminium et les doses plante pendant 28j, du traitement.

Les échantillons ont été conservés dans 1ml d'acide trichloro acétique (TCA) à 20%, après broyage. Les broyats subissent une première centrifugation (5000 tours /min, 10 min) et le surnageant I obtenu sert au dosage des glucides.

Au culot I, on a ajouté 1ml du mélange méthanol/chloroforme (1v/1v) et après une seconde centrifugation (5000 tours/min, 10min) permet de récupérer le surnageant II, qui servira au dosage des lipides, le culot II est ensuite repris dans 1ml de NaOH et après 1 nuit à 4°C, permettra la solubilisation et la quantification des protéines totale. **(Figure 29)**

Matériel et méthodes

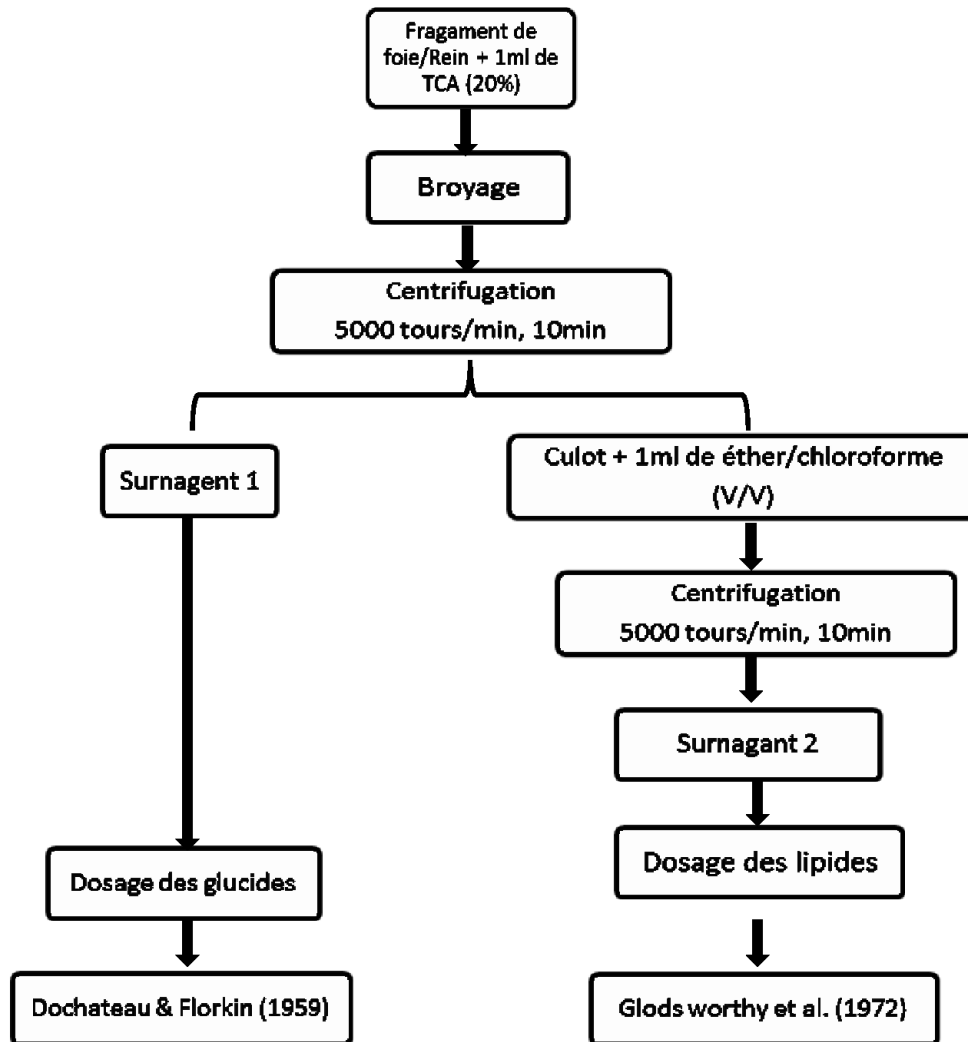


Figure 29 : Principales étapes d'extraction des métabolites : glucides, lipides

B. Dosage des glucides :

Le dosage des glucides a été réalisé selon (Duchateau et Florkin, 1959).

Cette méthode utilise l'anthrone comme réactif (150mg d'anthrone, 75ml d'acide sulfurique et 25ml d'eau distillée) et le glucose comme standard. La gamme d'étalonnage a été réalisée à partir d'une solution mère de glucose (1g/l).

Après l'addition du réactif, un chauffage au bain marie à 80°C pendant 10 mn permet l'obtention d'une coloration verte, le dosage des glucides a été effectué dans une fraction aliquote (100µl).

Les absorbances ont été obtenues grâce à un spectrophotomètre et la lecture a été réalisée à une longueur d'onde de 620 nm contre un blanc de gamme. (Tableau 5)

Matériel et méthodes

Tableau 5: Dosage des glucides: réalisation de la gamme d'étalonnage

Tubes	1	2	3	4	5	6
Glucose (μl)	0	100	200	300	400	500
Eau distillée (μl)	500	400	300	200	100	0
Anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4

C. Dosage des lipides :

La concentration des lipides totaux a été estimée selon **Goldsworthy *et al.*,1972)** en utilisant le réactif sulfophosphanillinique (0,38 g de vanilline, 55ml d'eau distillée et 195ml d'acide orthophosphorique à 85%).

La solution mère des lipides est préparée en utilisant l'huile de table (Cevital) selon la procédure suivante: 25mg d'huile de table pesés dans un tube eppendorf; cette quantité est ensuite reprise dans 10ml du mélange (éther / chloroforme) (1V/1V) (**Tableau 06**).

Tableau 6 : Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des lipides.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipides (μl)	0	20	40	60	80	100
Solvant Ether/Chloroforme (μl)	100	80	60	40	20	0
Vanilline (ml)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5

Après évaporation des prises aliquotes de 100 μl de surnageant II dans un bain à sec à 40°C, on additionne 1ml d'acide sulfurique concentré (96%), les tubes fermés sont agités et chauffés dans un bain à sec à 100°C pendant 10 minutes, après refroidissement, on prélève 200 μl de chaque tube auxquels on ajoute 2,5 ml de réactif sulfophosphanillinique et on agite.

Après 30 minutes à l'obscurité, le complexe se colore en rose, la densité optique est lue dans un spectrophotomètre (Jenway 6300) à une longueur d'onde de 530 nm.

Matériel et méthodes

4.4. Etude histologiques :

- **Étude macroscopique**

Le prélèvement histologique est une biopsie d'un très petit morceau d'un organe.

- **La préparation des cassettes :** contient les morceaux des organes

1- Les organes sont coupés avec un quêtteur en des pièces de 2 mm.

2- On les met dans les cassettes codées et on les place dans le formol pendant 24h-48h.

(Figure 30)



Figure 30 : Préparation des cassettes (photo originale)

- **La circulation :**

Elle est réalisée à l'aide d'un automate pendant 17h qui contient une série du solvant selon les étapes suivantes :

La poste-fixation : permet le passage des fixateurs aqueux aux alcools (La déshydratation).

La substitution : consiste à remplacer l'éthanol qui n'est pas miscible à la paraffine par xylène.

L'imprégnation : correspond à la substitution du solvant par la paraffine.

A la fin du cycle, les paniers contenant les cassettes se trouvent dans un bain de paraffine chaude (liquide). (Carson *et al.*, 2009). (Figure 31)



Figure 31 : Automate pour la circulation (photo originale, 2023).

Matériel et méthodes

➤ Inclusion :

Consiste à un enrobage des pièces par la paraffine liquide qui permet ainsi de conserver les rapports architecturaux des structures les unes par rapport aux autres et de lui fournir un support externe à la fois pendant et après la coupe.

Les étapes de l'enrobage sont :

- On verse la paraffine liquide (T° entre 56-60) dans le moule.
- On met le morceau de tissu dans le moule et on le pousse.
- On recouvre la pièce par la cassette.
- On verse la paraffine.

Après le refroidissement du moule à une température de -2°C , on obtient un bloc de paraffine dur qui contient la pièce prélevée. **(Figure 32)**



Figure 32 : Les blocs après le refroidissement (photo originale, 2023).

➤ La coupe :

A l'aide d'un microtome on fait les coupes :

- On règle l'épaisseur à $10\mu\text{m}$ pour avoir des coupes très fines.
- On met le ruban dans un bain marie à 50°C pour décontracter la paraffine.
- On prend la section de l'eau à l'aide d'une lame nommée par le code de blocs.
- L'adhérence des coupes sur les lames est faite par une étuve à une température de 110 à 130°C pendant 7 min (élimination des particules d'eau par évaporation et le déparaffinage). **(Figure 33)**

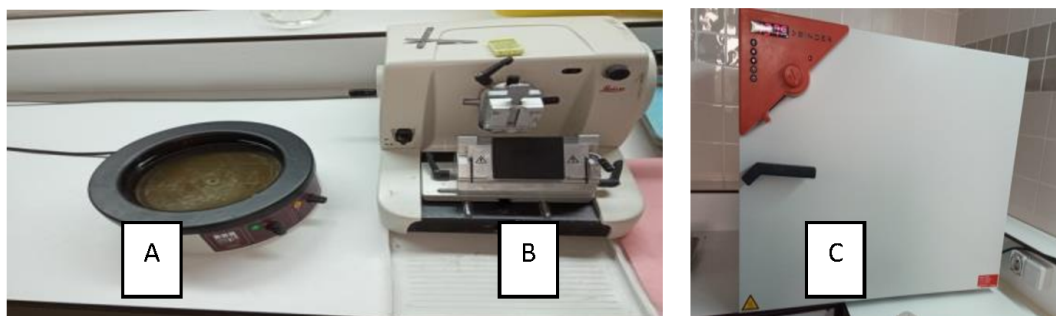


Figure 33 : Bain marie(A), Microtome(B), L'étuve (C). (photo originale, 2023)

Matériel et méthodes

➤ La coloration hématoxyline d'Harris Eosine (HE) :

La coloration est basée principalement sur l'utilisation d'hématoxyline d'Harris qui colore le noyau en une couleur mauve foncé presque noir et l'éosine qui colore le cytoplasme en rose ou rouge, cette méthode de coloration dure 45min. (Figure 34)

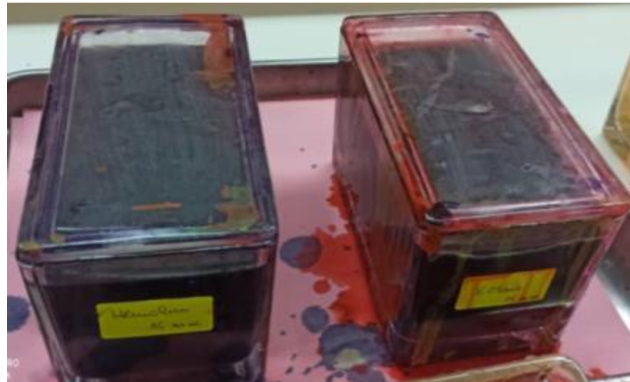


Figure 34 : Coloration hématoxyline d'Harris Eosine (HE) (photo originale, 2023)

➤ Le montage :

Après l'enlèvement des lames d'xylène on fait le montage : on humidifie un peu la lame par l'xylène puis on met une petite quantité de colle spécifique (l'EUKITT) qui permet de coller bien la lame avec la lamelle et aussi de donner une observation très claire et transparente. On met la lamelle, et on presse un peu pour enlever le reste d'air, on n'oublie pas de mettre la dénomination de chaque lame, à la fin on laisse les lames jusqu'au séchage puis on les met dans le porte lame. (Figure 35)



Figure 35 : Matériel utilisés pour le montage des lames. (photo originale, 2023)

➤ La lecture :

L'observation des lames se fait dans le service d'anapath, elles ont été observées à l'aide d'un microscope optique Leica, les agrandissements utilisés sont X 10 et X 40. (Figure 36)



Figure 36 : le microscope optique (photo originale, 2023)

➤ **Les analyses statistiques :**

Les données obtenues à partir des mesures des analyses biochimique et hématologique ont été exprimées en moyenne avec l'écartype (moy±écart-type) les résultats représentés sous forme des histogrammes l'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel aminitab®17.

La comparaison de plusieurs moyennes et effectuée par une analyse de variance (ANOVA).

Et la comparaison de deux moyennes qui est effectué par un test Tukey.

La différence entre deux moyennes comparées est significative si la probabilité P est inférieur a 0.05 ainsi le degré de signification est comme suite :

- Si $p \leq 0.05$ la différence est significative. (*G2, G3, G4, G5, G6 Par rapport au G1), (# G5, G6 Par rapport au G4), (+ G3 par rapport au G2), (& G6 par apport au G5).
- Si $p \leq 0.01$ la différence est hautement significative. (** G2, G3, G4, G5, G6 Par rapport au G1), (## G5, G6 Par rapport au G4), (++ G3 par rapport au G2), (&& G5 par apport au G6).
- Si $p \leq 0.001$ la différence est très hautement significative. (***) G2, G3, G4, G5, G6 Par rapport au G1), (### G5, G6 Par rapport au G4), (+++ G3 par rapport au G2), (&&& G5 par apport au G6).

Résultats et discussion

II. Résultats et discussion

L'objectif de notre étude est l'évaluation de l'effet protecteur de la plante médicinale *Rhamnus alaternus* L. sur le bilan lipidique chez les rats intoxiqués par l'oxyde d'aluminium, et ainsi d'évaluer la teneur de certains composés phénoliques et aussi la détermination de l'activité antioxydant (DPPH) de la plante étudiée.

Des paramètres biochimique (la glycémie, triglycérides, cholestérol, HDL, LDL, Lipase) et hématologique (les globules blancs, les globules rouges, l'hémoglobine et l'hématocrite) et les métabolites (glucides et lipides du foie) l'étude histologique du foie.

1. Teneur en composés phénoliques :

1.1. Teneur en polyphénols totaux

Les polyphénols sont des molécules organiques hydrosolubles largement retrouvés dans la règne végétal (Hoffman, 2003).

La couleur bleue après 30 minutes d'incubation confirme la présence des polyphénols qui ont réduit le réactif Folin-ciocalteu, l'intensité de la couleur qui varie entre bleu clair et bleu foncé est en fonction de la teneur en polyphénols.

La teneur en polyphénols totaux obtenue est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisé avec l'acide gallique, selon l'équation de type : $y = 0,0112x + 0,3746$ sachant que $R^2 = 0.9765$ (Figure37).

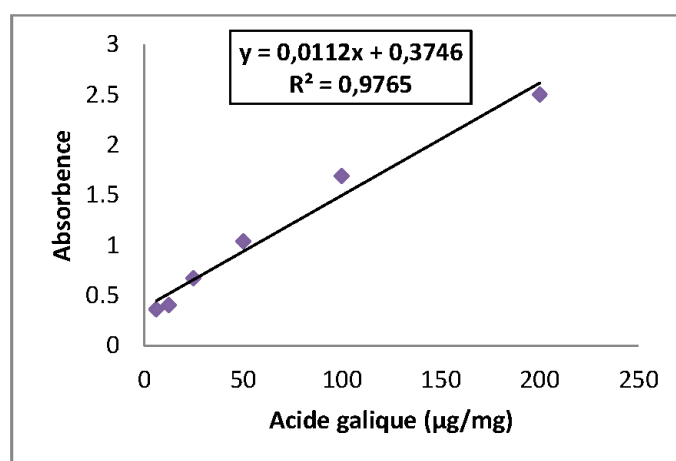


Figure 37 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

La teneur en polyphénols totaux dans l'extrait méthanolique de *Rhamnus alaternus* L. est 8.339 µgEAG/mgES.

La teneur en polyphénols obtenu par (Harar, 2012) est un peu inférieure de notre résultat et elle est de 7 mg EAG/g de matière fraîche des extraits méthanoliques de *Rhamnus alaternus* L.

On a obtenu une résultat plus faible en polyphénol par apport aux (Kosalec *et al.*, 2013) ont eu une quantité des polyphénols totaux égale à 38,4 mg EAG/g d'extrait.

Ainsi, (Boussahel *et al.*, 2013) ont obtenu 33,65 mg EAG/g d'extrait.

1.2.Teneur en flavonoïdes

La raison principale pour laquelle on a choisi cette classe des polyphénols, réside dans le fait que les flavonoïdes constituent la classe polyphénolique la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrits (Gomez-caravaca *et al.*, 2006).

Une couleur jaunâtre est formée après l'addition de la solution de chlorure de l'aluminium (AlCl_3).

Cette coloration relèvera présence des flavonoïdes dans l'extrait analysé, la teneur en flavonoïdes obtenues est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine $\mu\text{g/ml}$, selon l'équation de type : $y = 0,0136 x + 0,1096$ sachant que $R^2 = 0,9782$ (Figure 38).

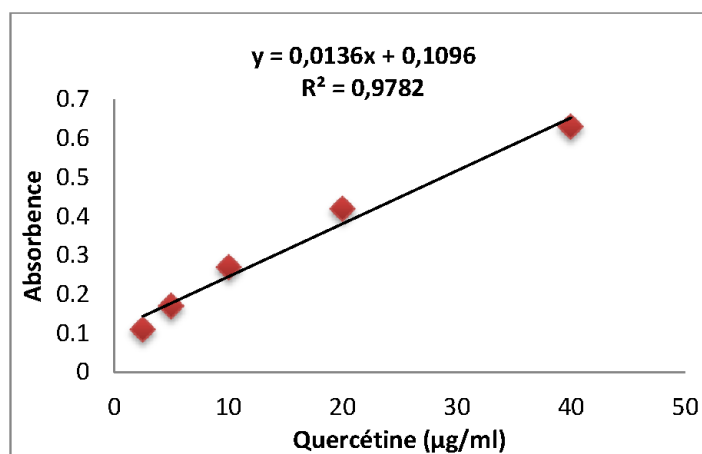


Figure 38: Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique de *Rhamnus alaternus* L. 26.81 $\mu\text{gEQ/mgES}$. Nos résultats est identique à ceux trouvés par Krimat *et al.*, [101] dont le taux de 26.84EQ/g extrait.

Par contre on a des résultats plus faible en flavonoïdes par rapport aux Boussahel *et al.*, 2013) qui ont confirmé la présence des flavonoïdes chez cette espèce de teneurs de 61.12 mg EQ/g d'extrait fraiche pour l'extrait méthanolique des feuilles de la même espèce .

La différence entre les résultats concernant la teneur en polyphénols et la teneur en flavonoïdes peut être due aux conditions climatiques, les conditions d'extraction, les conditions de dosage, la saison de la récolte (Ravel *et al.*, 2005).

Ainsi la diversité structurale des composés phénoliques conduit à la variabilité des propriétés physico-chimiques, la différence des standards utilisés, les méthodes de conservation et d'exposition des plantes à la lumière peuvent affecter la teneur en composés phénoliques (Mateus *et al.*, 2003 ; Athamena *et al.*, 2010), lié à la distribution des métabolites secondaires et la solubilité des composés phénoliques . (Rezagui *et al.*, 2020).

1.3.L'activité anti oxydante :

1.3.1.Détermination de l'activité anti-radicalaire au radical DPPH :

Le test au DPPH (1,1 -diphényle-2-picrylhydrazyle) choisi dans cette étude est basé sur le piégeage du radical libre stable DPPH par une molécule antiradicalaire, ce qui entraîne la décoloration de ce dernier (Molyneux, 2004).

La couleur violet foncé de DPPH se transforme en jaune, ce qui est remarqué au cours de la réalisation de ce teste. La méthode est rapide et commode à mettre en œuvre, elle s'effectue à température ambiante, permettant d'éliminer tout risque de dégradation thermique de moléculestestées.

L'activité anti-oxydante de l'extrait a été évaluée par le calcul de la valeur IC 50 qui indique la concentration nécessaire de l'extrait qui inhibe 50% du radical libre DPPH. Il est à noter que plus la concentration de l'extrait est petite plus l'extrait est un bon antioxydant (Mghezzih *et al.*, 2016). Sa permet d'évaluer et de comparer l'efficacité de notre échantillon par rapport à la vitamine C. (Figure 39)

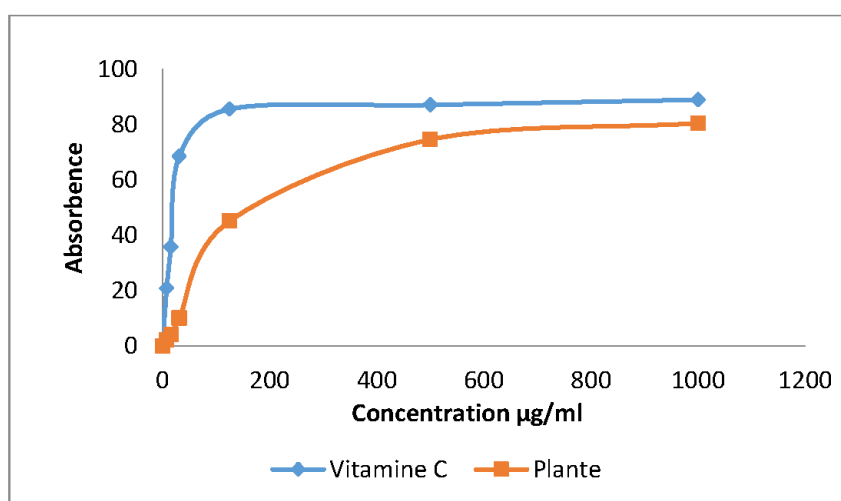


Figure 39: évaluation de l'activité antioxydante

Nos résultats montrent que l'extrait méthanolique de la partie aérienne des *Rhamnus alaternus* L. possède une activité oxydante différente à celle de la vitamine C (standard) (IC 50= 20µg/ml) et (IC50 de la plante est 146µg/ml) donc la plante à une activité anti-oxydante faible par rapport aux vitamine C.

Quelques auteurs ont démontré que cette activité antioxydante n'est pas uniquement dépendante de contenu des polyphénols mais peut être dû à d'autres phytoconstituants comme les triterpénoïdes ou à un effet combiné entre eux.

Différents types de composés phénoliques ont une activité antioxydante différente qui dépend principalement de leur structure chimique.

2. Gain du poids

Les résultats de la variation du gain du poids sont représentés dans la (figure 40)

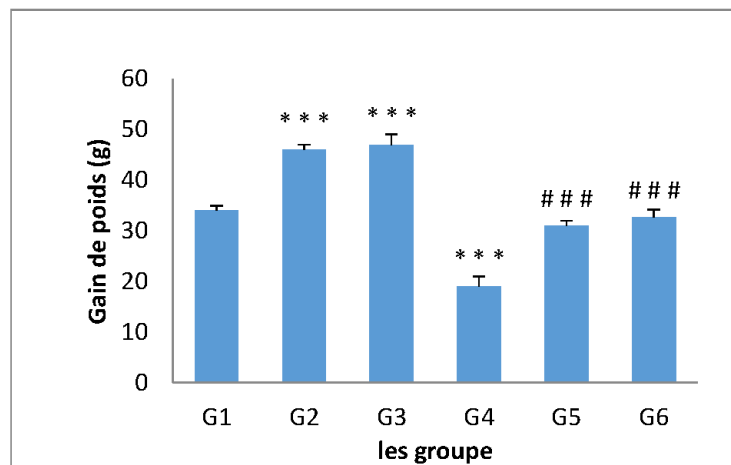


Figure 40 : L'évaluation du gain de poids corporel chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours de traitement.

Révéler une diminution significative ($p < 0.001$) chez les rats traités par l'oxyde d'aluminium par rapport aux rats témoins, nos résultats sont conformes avec les résultats de (Cheltit, 2021) Par contre une augmentation significative ($p < 0.001$) du poids des rats traité par les deux doses de la plante (250 et 500mg/kg/jour) par rapport aux rats témoins.

Nos résultats sont non compatibles avec les résultats de (khattal *et al.*, 2014) qui montrent une diminution du poids des rats traitées par la plante par rapport aux rats témoins.

On remarque une augmentation significative du gain du poids des rats traité par l'oxyde d'aluminium et par les deux doses de la plante (250 et 500mg/kg/jour) par rapport aux rats témoins (G4).

Les résultats de la présente étude suggèrent que ce ralentissement de la croissance corporelle des rats traités par l'oxyde d'aluminium peut être traduit par la perturbation du métabolisme cellulaire sous l'effet du stress oxydatif engendré par les « réactif oxygène species »

3. Les paramètres biochimiques

➤ Glycémie :

Les résultats des variations de la concentration du glucose présenté dans la (**figure 41**) montrent

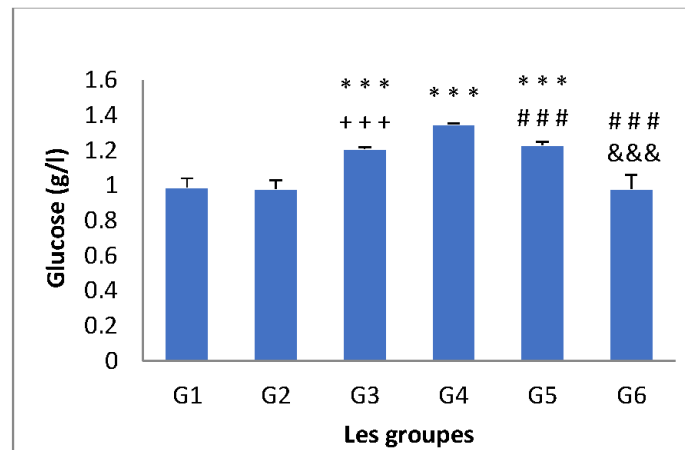


Figure 41 : La variation de la concentration de la glycémie (g/l) chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours de traitement.

Une augmentation significative ($p < 0.001$) de la concentration du glucose chez les rats traités par l'oxyde d'aluminium par rapport aux rats témoins. Nos résultats sont compatibles avec les résultats de (**Merrouche et Belgharbi, 2022**)

Aussi une diminution significative ($p < 0.001$) de la concentration du glucose chez les rats intoxiqués par l'oxyde d'aluminium (50mg/kg/j) et traitées par les deux doses de la plante (250 et 500mg/kg/j) par rapport au groupe traitée par l'oxyde d'aluminium uniquement.

Une augmentation significative ($p < 0.001$) de la concentration chez les rats traités par la dose (500mg/kg/jour) de la plante par rapport aux rats témoins, par contre on observe aucune différence significative chez les rats traités par la dose de la plante (250 mg/kg/jour) par rapport aux groupe témoin.

Le résultat concernons les rats traitées par la dose de la plante 500mg/kg/j est identique avec les résultats de (**Aoughlis et Mazari, 2014**) mais non compatible concernons les rats traitées par la dose de la plante 250mg/kg/jour qui se trouve aucune différence significative chez les rats traitées par les deux doses de la plante (200 et 400mg/kg/jour) par rapport aux groupe témoin.

Pour l'oxyde d'aluminium, les mesures prises après sacrifice des rats traités ont montré une hyperglycémie, il y a eu donc un effet de l'oxyde d'aluminium sur ce paramètre.

Cette augmentation peut être due aux dysfonctionnements des cellules pancréatiques chez les rats.

➤ Triglycérides

D'après les résultats du taux des triglycérides illustrés dans la (Figure 42) on remarque :

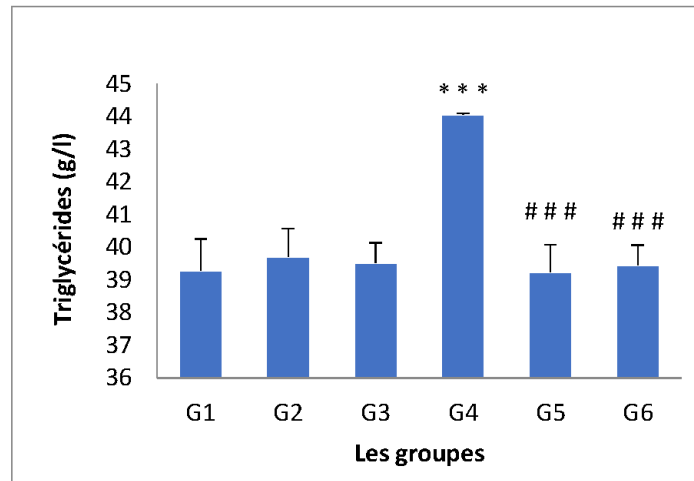


Figure 42 : La variation de la concentration de triglycéride (g/l) chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours de traitement.

Une augmentation significative ($p < 0.001$) du taux des triglycérides chez les rats traités par l'oxyde d'aluminium par rapport au groupe témoin. Nos résultats sont identiques avec les résultats de (Oumelkheir et Rouissi, 2015)

En outre, chez les rats traités par l'oxyde d'aluminium et les deux doses (250 et 500 mg/kg/jour) de la plante on observe une diminution significative ($p < 0.001$) par rapport aux rats traités par l'oxyde d'aluminium uniquement.

Par contre il y a aucune différence significative chez les rats traités par les deux doses de la plante 250 et 500 mg/kg/jour par rapport aux rats témoins.

Nos résultats sont compatibles avec les résultats (Khettal *et al.*, 2014).

L'augmentation du taux des triglycérides chez les rats traités par l'oxyde d'aluminium peut être due à la dégradation des lipides.

La diminution du taux des triglycérides chez les rats traités par les deux doses de la plante 250 et 500 mg/kg/jour plus l'oxyde d'aluminium, cette amélioration remarquable du taux des triglycérides peut être en raison de l'effet protecteur de *Rhamnus alaternus* L.

➤ Cholestérol

Les résultats du taux de cholestérol présentés dans la (Figure 43) montrent :

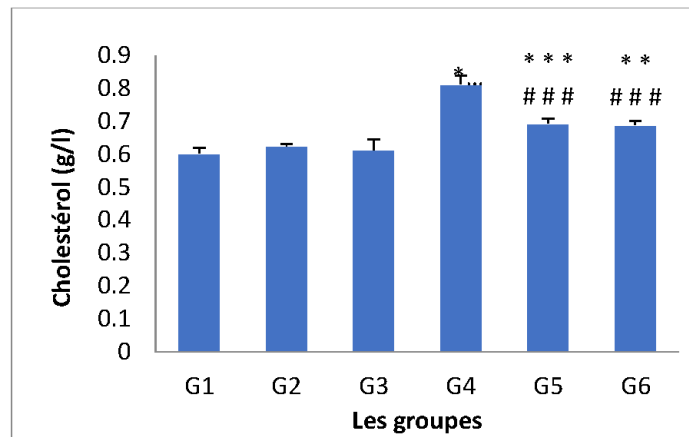


Figure 43 : La variation de la concentration de cholestérol (g/l) chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours de traitement.

Une augmentation significative ($p < 0.001$) du taux du cholestérol chez les rats traités par l'oxyde d'aluminium par rapport aux rats témoins. Nos résultats ne sont pas similaire avec les résultats de (Oum elkheir et Rouissi, 2015)

En outre, chez les rats traités par l'oxyde d'aluminium (50mg/kg/jour) et les deux doses (250 et 500mg/kg/jour) de la plante on observe une diminution significative ($p < 0.001$) par rapport aux rats traités par l'oxyde d'aluminium uniquement.

Et aucune différence significative chez les rats traités par les deux doses de la plante 250 et 500 mg/kg par rapport au groupe témoin.

Nos résultats ont compatibles avec les résultats (Khettal *et al.*, 2014)

➤ HDL :

Les variations de la concentration de HDL affichée dans la (figure 44) montre :

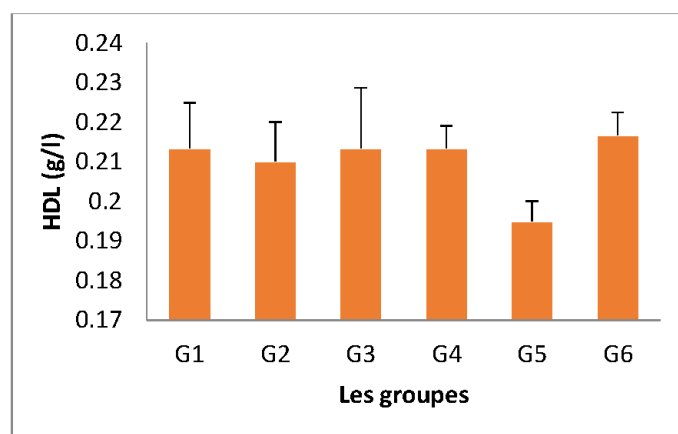


Figure 44 : La variation de la concentration de HDL (g/l) chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours de traitement.

Aucune différence significative concernant tous les groupes étudiés, nos résultats sont identiques avec les résultats de (Khettal *et al.*, 2014)

➤ LDL

La variation de la concentration de HDL obtenus dans la (figure 45) révèlent :

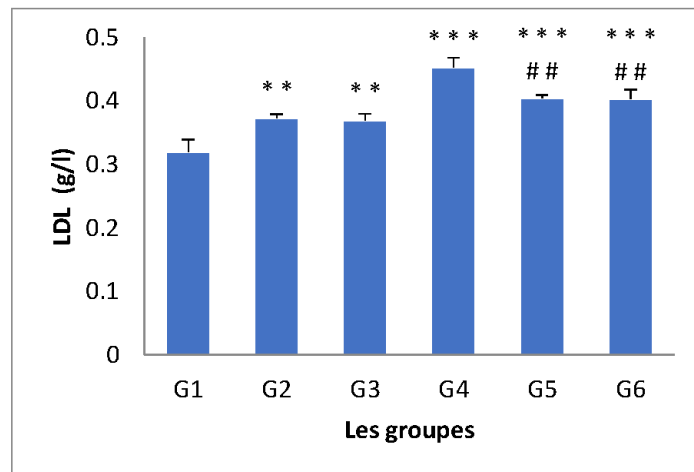


Figure 45 : La variation de la concentration de LDL (g/l) chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours de traitement.

Une augmentation significative ($p < 0.001$) de la concentration de LDL chez les rats traités par l'oxyde d'aluminium par rapport aux rats témoins.

En outre, chez les rats traités par l'oxyde d'aluminium et les deux doses (250 et 500mg/kg/jour) de la plante on observe une diminution significative ($p < 0.01$) par rapport aux rats traités par l'oxyde d'aluminium uniquement.

Aussi une augmentation significative ($p < 0.01$) de la concentration de LDL chez les rats traités par les deux doses (250 et 500mg/kg/jour) de la plante et par rapport aux rats témoins.

Nos résultats sont non compatibles avec les résultats de (Khettal *et al.*, 2014) qui montrent aucune différence significative chez des rats traités par différentes doses de l'extrait de *Rhamnus alaternus* L.

L'augmentation de la concentration de LDL chez les rats traitées par l'oxyde d'aluminium peut-être due à l'élévation de la concentration du cholestérol ou triglycérides selon cette relation :

$LDL = \text{cholestérol} - (\text{Triglycéride}/5) - HDL$. ou l'activité physique insuffisante, peut-être que l'effet toxique de l'oxyde d'aluminium a entraîné cette augmentation, les maladies du foie et du rein

La diminution de la concentration de LDL chez les rats traités par les deux doses de la plante 250 et 500mg/kg/jour plus l'oxyde d'aluminium, cette amélioration remarquable de la valeur de LDL peut être en raison de l'effet protecteur de *Rhamnus alaternus* L.

➤ Lipase :

Les variations du taux de lipase dans la (figure 46) présentent :

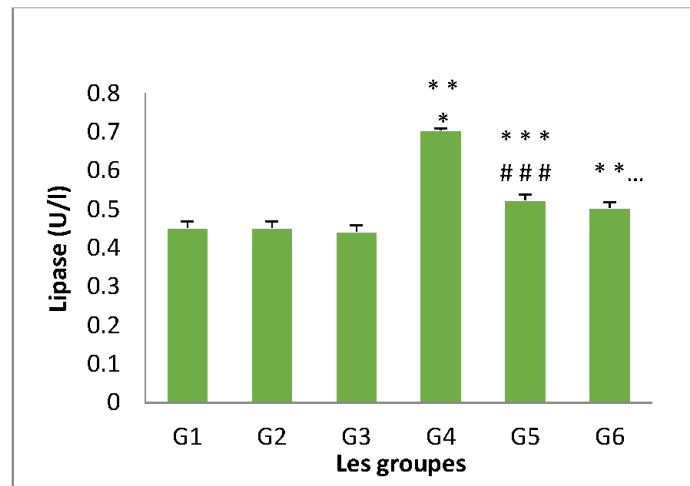


Figure 46 : La variation de l'activité du de lipase (U/l) chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours de traitement.

Une augmentation significative ($p < 0.001$) de l'activité de lipase chez les rats traités par l'oxyde d'aluminium par rapport aux rats témoins.

Une diminution significative ($p < 0.001$) de l'activité de lipase chez les rats traités par l'oxyde d'aluminium et la dose 250mg/kg/jour de la plante et ($p < 0.01$) chez les rats traités par l'oxyde d'aluminium et la dose 500mg/kg/jour de la plante par rapport les rats traités par l'oxyde d'aluminium uniquement.

Et pour les rats traités par les deux doses de la plante (250 et 500mg /kg/jour) il y a aucune différence significative par rapport aux rats témoins.

On peut supposer que l'effet toxique d'oxyde d'aluminium au niveau du pancréas cause l'augmentation de l'activité du lipase chez les rats traités par l'oxyde d'aluminium uniquement, ou à cause de maladies comme l'insuffisance pancréatique, la pancréatite et d'autres maladies des nausées. Ce qui conforme avec l'augmentation de la glycémie.

4.Paramètres hématologiques :

Les résultats de la variation des paramètres hématologiques sont représentés dans la (Féfigure 47) qui montre :

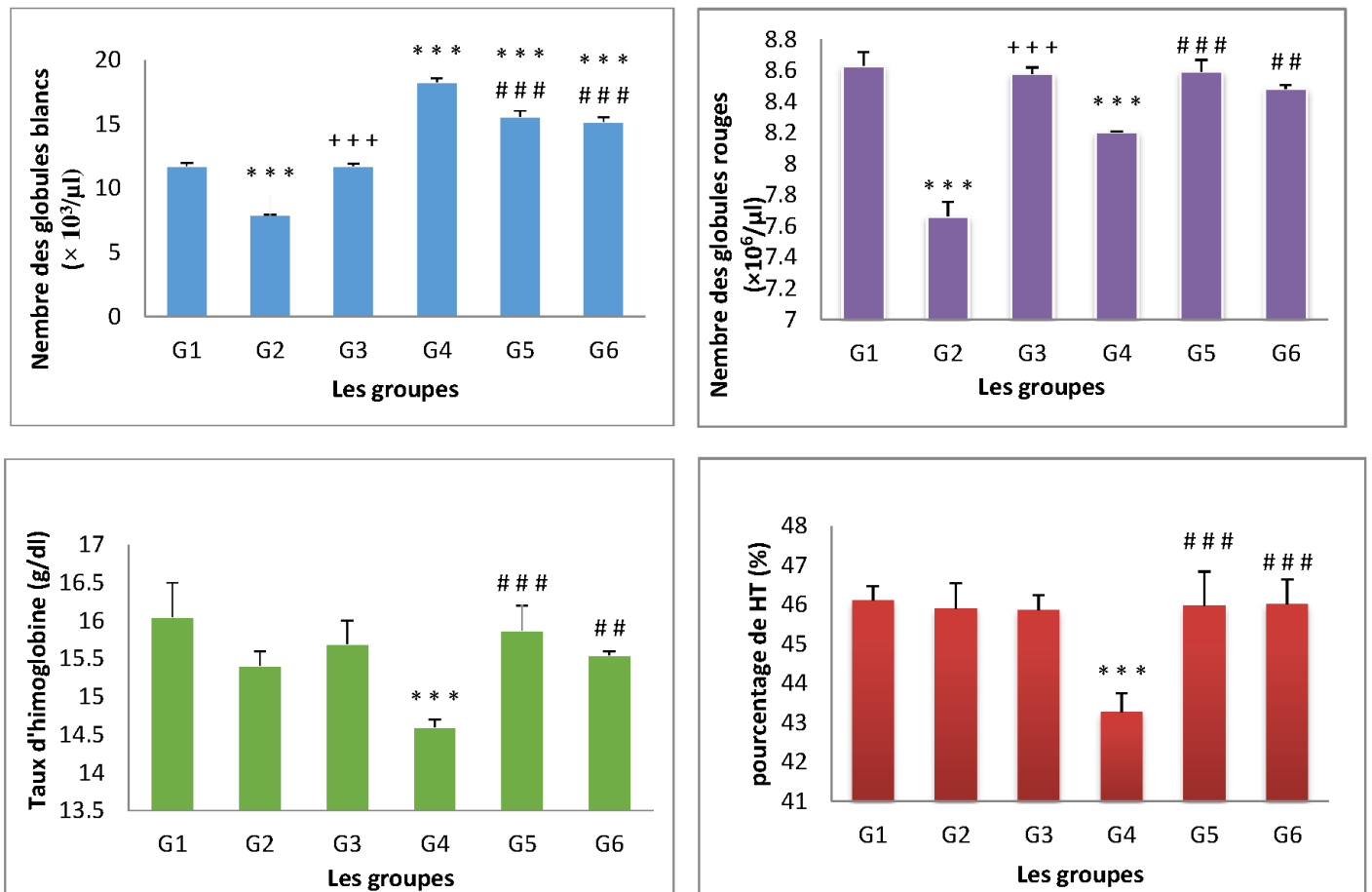


Figure 47 : La variation de nombre des globules rouges ($\times 10^6/\mu\text{L}$) et globules blancs ($\times 10^3/\mu\text{L}$) et le taux d'hémoglobine (g/dl) et le pourcentage d'hématocrites% et chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours de traitement.

L'exposition des rats traitée à l'oxyde d'aluminium induit des changements au niveau des paramètres hématologiques.

Une augmentation de nombre des globules blancs ($p < 0.001$) et une diminution du nombre des globules rouges et imoglobine et HT ($p < 0.001$) chez les rats traitées par l'oxyde d'aluminium par rapport aux rats témoins.

Une augmentation significative du nombre de globules blancs (GB) ($P < 0.001$) et une diminution significative du pourcentage de HT ($p < 0.001$) chez les rats traitées par les deux doses de la plante 250 et 500mg/kg/jour plus l'oxyde d'aluminium et du nombres des globules rouges (GR) et HB ($P < 0.01$)chez les rats traitées par la dose 250mg//kg/jour plus l'oxyde d'aluminium et ($p < 0.001$) chez les rats traitées par la dose 500mg//kg/jour plus l'oxyde d'aluminium par rapport aux rats traitées par l'oxyde.

Et une diminution significative du nombre des globules rouges($P < 0.001$) et des globules blancs (GB) ($P < 0.001$) chez les rats traitées par la dose 250mg/kg/jour de la plante par contre y a

aucune différence significative de nombre des globules rouges (GR) ($P < 0.01$) et des globules blanc (GB) ($P < 0.001$) chez les rats traités par la dose 500mg/kg/jour et le pourcentage de HT ($p < 0.001$) chez les rats traités par les deux doses de la plante 250 et 500mg/kg/jour et du taux d'hémoglobine (HB) ($p < 0.001$) chez les rats traités par la dose 250mg/kg/jour de la plante, ($p < 0.01$) chez les rats traités par la dose 500mg/kg/jour de la plante.

- L'administration du chlorure d'aluminium aux rats provoque une hépatotoxicité, il s'agit d'une diminution du nombre des globules rouges, du taux des hémoglobines et hématocrite, hémolyse des érythrocytes
- En outre l'augmentation du taux de globule blanc reflète la présence œdème et d'inflammation au niveau tissulaire, (Farina *et al.*, 2005) ont montré que l'exposition chronique au nitrate d'aluminium altéré les paramètres hématologique et provoque par conséquent l'apparition d'une anémie.

5. Les glucides et lipides

➤ Glucide du foie

Les résultats obtenus (figure 48) révèlent :

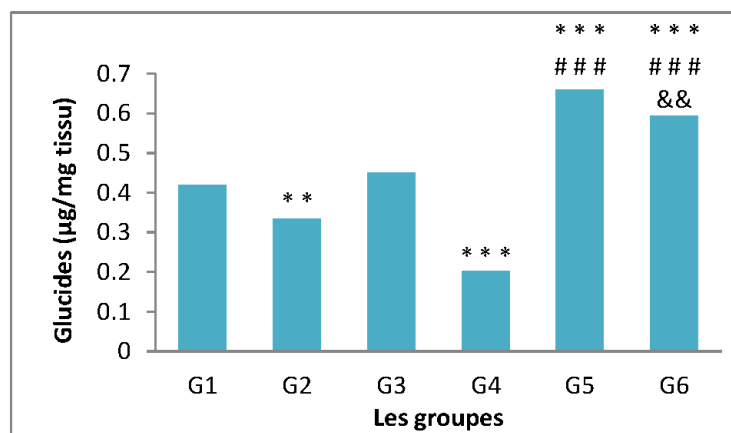


Figure 48 : La variation de la concentration des glucides du foie ($\mu\text{g}/\text{mg}$ tissu) chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours de traitement.

Une diminution significative ($p < 0.001$) du taux des glucides du foie chez les rats traités par l'oxyde aluminium par rapport aux rats témoins.

Nos résultats sont non compatibles avec les résultats de (Ghellab, 2021) qui montrent une augmentation de la teneur hépatique en glucide avec une différence très hautement significative ($p < 0,001$) chez les rats traités par rapport aux témoins.

Ainsi, chez les rats traités par l'oxyde aluminium et les deux doses (250 et 500mg/kg/jour) de la plante on observe une augmentation significative ($p < 0.001$) par rapport aux rats traités par l'oxyde d'aluminium.

Et on observe une diminution significative ($p < 0.01$) du taux des glucides de foie chez les rats traités par la dose (250mg/kg/jour) de la plante et aucune différence significative chez les rats traités par la dose (500mg/kg/jour) de la plante par rapport aux rats témoins.

Les glucides sont présents dans l'organisme sous différentes formes, la forme la plus courante est le glucose, obtenu à partir des sucres simples ou complexes apportés par l'alimentation, ils servent de carburant rapidement utilisable par les organes (Esterbauer *et al.*, 1992). De plus, les glucides sont une source primaire et immédiate d'énergie (Albert *et al.*, 1986).

► Lipides du foie :

D'après les résultats du taux des lipides illustrés dans la (Figure 49)

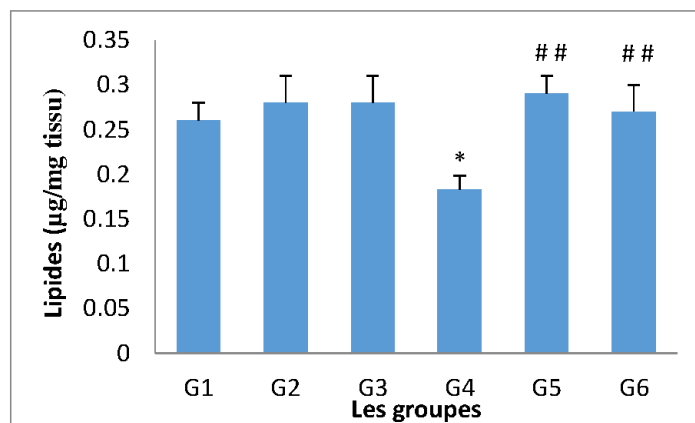


Figure 49 : La variation de la concentration des lipides du foie ($\mu\text{g}/\text{mg}$ tissu) chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours de traitement.

On observe une diminution significative ($p < 0.05$) du taux des lipides de foies chez les rats traités par l'oxyde d'aluminium par rapport aux rats témoins. Nos résultats sont compatibles avec (Ghellab, 2021)

Ainsi chez les rats traités par l'oxyde d'aluminium et les deux doses de la plante (250 et 500mg/kg/jour) on observe une augmentation significative ($p < 0.01$) par rapport aux rats traités par l'oxyde d'aluminium uniquement.

Et pour les rats traités par les deux doses de la plantes 250et 500mg/kg/jour il y a aucune différence significative par rapport au groupe témoin.

Nos résultats révèlent une diminution des lipides hépatiques chez les rats traités par l'oxyde d'aluminium par rapport aux témoins, cette diminution peut s'expliquer par la dégradation des lipides hépatiques par l'activation de la peroxydation lipidique, cette voie stimulé par des radicaux libres en cas de stress oxydative générée par l'oxyde d'aluminium notre résultat confirmé par le résultat de dosage du MDA dans le foie (augmentation très hautement significative) chez le groupe traité par l'oxyde d'aluminium (Al₂O₃) et cela a été démontré par celui de (Grara, 2011). Qui a rapporté la diminution du taux de lipide en fonction des concentrations croissantes de cadmium. Selon (Arousseau, 2002). Les radicaux oxygénés libres sont toxiques via la dégradation des lipides

6.L'étude histologique :

Pour confirmer les résultats biochimiques obtenus, on a réalisé des coupes histologiques (au niveau de tissu du foie), qui permette d'avoir une idée générale sur le pouvoir des substances actives de L'espèce *rhamnus alaternus* L. vis-à-vis de l'intoxication provoquée par les l'oxyde d'aluminium.

➤ Les résultats illustrés dans la **Figure 50** montrent que :

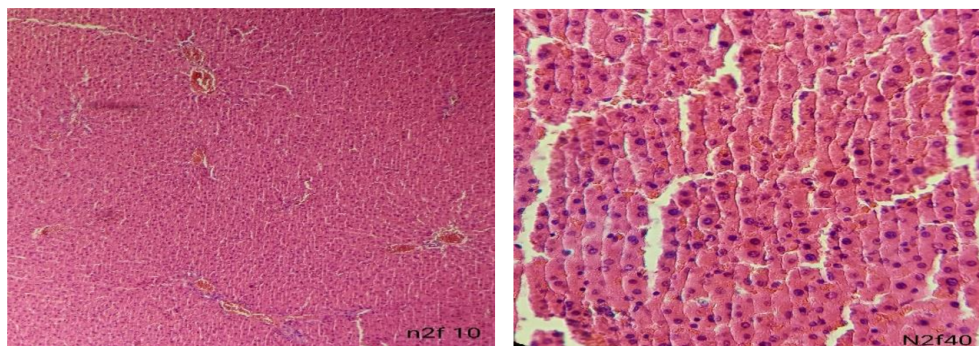


Figure 50 : Coupes histologiques de fois du groupe témoin A (×10), B (×40)

Le foie des rats témoins présente un aspect normal sans modification hépatique, avec un parenchyme d'architecture lobée.

Chaque lobe est constitué d'hépatocytes agencés en travées de Remak disposé autour d'une veine centrale appelée veine centro-lobulaire qui reçoit le sang à partir du parenchyme hépatique au contact des sinusoides.

Les travées de Remak sont constituées d'hépatocytes empilés en lames épithéliales d'une seule cellule d'épaisseur alors que les sinusoides occupent les espaces entre les travées.

- L'observation des coupes du groupe témoin ayant consommé l'oxyde aluminium seulement, est présenté dans la **figure 51**

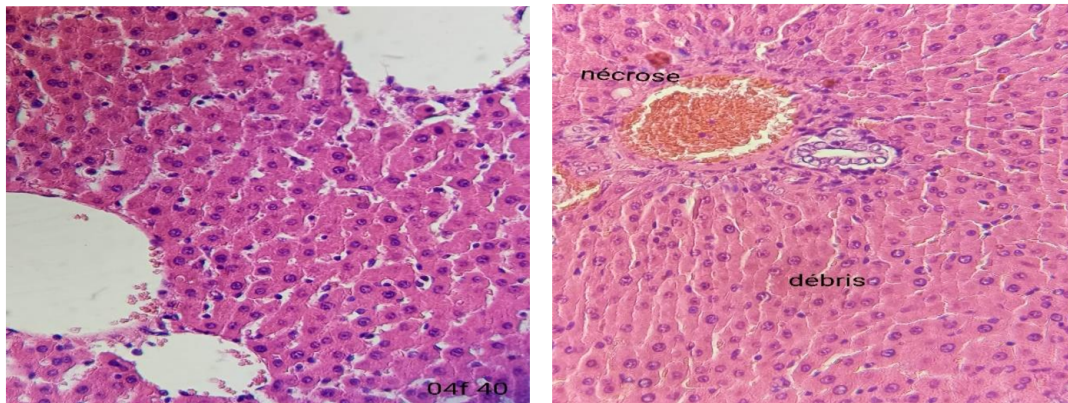


Figure 51 : Coupes histologiques du foie du groupe témoin oxyde aluminium À ($\times 40$)

On observe des hépatocytes nécrosés, les veins centro-lobulaires sont dilatées avec des formes irrégulières.

L'analyse histologique du foie affirme nos résultats, où on note que l'oxyde d'aluminium a induit des modifications structurales remarquables, qui ont mené à des perturbations des paramètres biochimiques les veins.

Donc on peut expliquer ces résultats par une inflammation des lymphocytes c'est-à dire la présence d'une hépatite hémorragique légère.

- Les résultats illustrés dans la **figure 52** montrent :

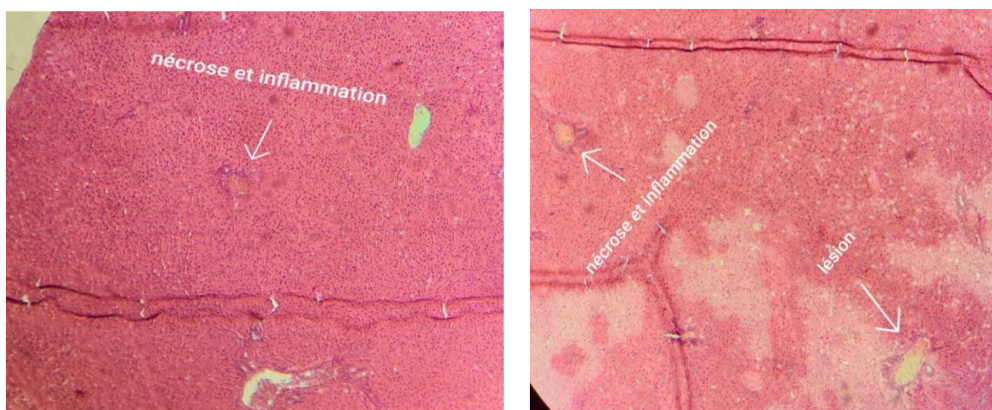


Figure 52 : Coupes histologiques du foie des rats traitées par l'oxyde aluminium (50mg/kg/jour) plus les doses (250 et 500mg/kg/jour) de l'de *Rhamnus alaternus* L. A ($\times 40$)

Des nécroses au niveau du tissu hépatique chez les rats traitées par la dose 250mg/kg/jour de la plante et l'oxyde d'aluminium aussi des lésions seulement au niveau des tissus chez les rats traités par la dose 500mg/kg/jour de la plante et l'oxyde d'aluminium.

Le traitement par *Ramnus alaternus* L. a été significativement efficace dans l'inversion du nécrose dans le tissu hépatique. En particulier on détermine que la dose de 250 ou 500 mg/kg de la plante était plus efficace dans la réduction du nécrose.

➤ On observe dans la **figure 53** les résultats suivants

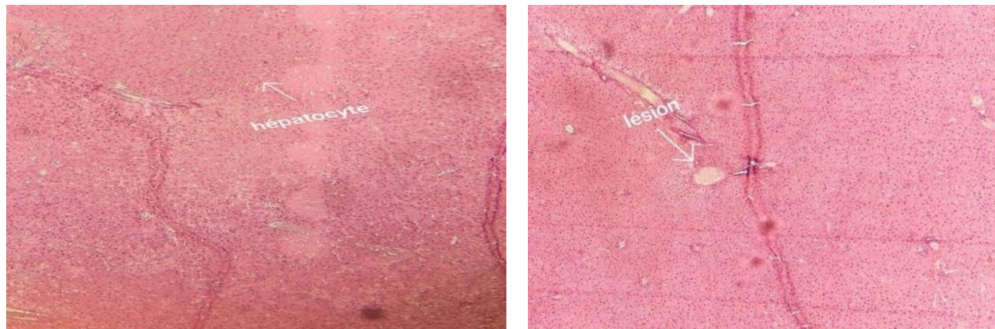


Figure 53 : Coupes histologiques du foie des rats traitées par les doses 250 et 500mg/kg/jour de *Rhamnus alaternus* L. G X10

Des cellules hépatiques bien définies avec des noyaux basophiles donc les coupes ne montrent aucun changement significatif chez les rats traités par les doses 250 et 500mg/kg/jour, et présentent un parenchyme hépatique normal. Néanmoins, certaines lésions hépatocytaires ont été observées chez le groupe traité par la dose 500mg/kg/jour, cependant ces dernières restent minimales.

Nos résultats sont conformes avec (Aoughlis et Mazari, 2014).

Conclusion

Conclusion

Cette étude rentre dans le cadre de contribution à l'étude de l'effet protecteur de la plante médicinale *Rhamnus alaternus L.* sur le bilan lipidique chez les rats intoxiqués par l'oxyde d'aluminium nanoparticule Al_2O_3 .

Notre travail a été divisé en deux volets :

Dans le premier volet, on a procédé à la préparation de l'extrait brut par la méthode de macération hydrométhanolique à 70%, à partir des feuilles récoltées dans la région de Zerdaza- El - harrouch- Skikda après avoir été nettoyées, séchées et broyées.

Dans le deuxième volet, des expériences sur les rats Wistar albinos (femelles) ont été menées pour évaluer l'effet de l'extrait brut de l'espèce *Rhamnus alaternus L.* sur le bilan lipidique. Pour cela les animaux, repartis en différents groupes, ont été traités par l'oxyde d'aluminium nanoparticule (50mg/kg/jour), ainsi que les dose (250/500mg/kg/jour) de la plante.

L'étude a été réalisée sur une période de 28 jours. Au dernier jour, tous les animaux ont été sacrifiés et les prélèvements sanguins et d'organes ont été effectués et ont été analysés au laboratoire d'analyses médicales Dr. Bouhdjila f "El harrouch Skikda "

L' Al_2O_3 nanoparticule a provoqué des effets toxiques sur les paramètres hématologiques, biochimiques, sur l'aspect histologique et le poids corporel indiqués par les résultats suivants :

Le poids corporel : les résultats montrent :

- Une augmentation chez les rats traités par la plante.
- Une diminution chez les rats traités par l' Al_2O_3 nanoparticule.
- Une augmentation chez les rats traités (Al_2O_3 + plante).

La fonction hématologique : l'administration d' Al_2O_3 nanoparticule provoque :

- Une augmentation au niveau des GB.
- Une diminution au niveau des GR, HT, HB.

Les paramètres biochimiques : l'administration d' Al_2O_3 nanoparticule induit :

- Une augmentation du taux de glycémie, cholestérol, triglycéride, lipase et LDL.
- Aucune différence du taux de HDL.

L'étude histologique montre :

- une structure anormale du foie.
- Cependant l'administration de la plante de *Rhamnus alaternus* qui est une plante médicinale utilisée pour la détoxification chez les rats intoxiqués par voie orale pendant une durée de 28 jours, induit une amélioration dans les expériences au niveau biochimiques, hématologiques et histologique. Cette plante peut être considérée comme un bon protecteur et régulateur suit au dommage causé par les effets d'oxyde d'aluminium nanoparticule.

Sachant que notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches, de cet effet, et comme perspectives on propose de :

- ✓ Faire une étude biochimique sur les fruits de *Rhamnus alaternus*L.
- ✓ Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.
- ✓ Développer des médicaments antiradicalaires à base de plantes, doués d'une activité antioxydante.

Références

Référence

- Ahmed, I., Ali, M. A., Attia H. M.** (2014). The effect of Aluminum oxyde nanoparticle's addition with Jojoba methyl ester-diesel fuel blend on a diesel engineperformance, combustion and emissioncharacteristics.
- Ait, Y. M.** (2006). Plantes médicinales de Kabylie. Edition Ibis Press. ISBN: 978 9961-57-259-7 Paris.18
- Anonyme,** (2012). Guide illustré de la flore algérienne, presse de l'imprimerie de l'est Ternes, Paris. 76 p.
- Ben, A. et al.,** (2009). Antioxidant activity and inhibition of aflatoxin B1-, nifuroxazide-, and sodium azide-induced mutagenicity by extracts from Rhamnus alaternus L. *Chemico-Biological Interactions*, 174:1-10
- Ben, A. R., Sghaier, M., Boubaker, J., Bhour, W., Naffeti, A., Skandrani, I., Bouhlel, I., Kilani, S., Ghedira, K. et Chekir, G. L.** (2008). Antioxidant activity and inhibition of aflatoxin B1-, nifuroxazide-, and sodium azide-induced mutagenicity by extracts from Rhamnus alaternus L. *Chemico-Biological Interactions*, 174:1-10
- Ben ammar, R., Bhour, W., Ben sghaier, M., Boubaker, J., Skandrani, I., Neffati, A., Bouhlel, I., kilani, S., Mariotte, A. M., Chekir, G. L., Dijoux, F. M. G., Ghedira, K.** (2009). Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of Rhamnus alaternus L (Rhamnaceae): A structureactivity relationship study. *Food Chemistry*. 116: 258-264
- Bereziat, G., Benlian, P.** (1999). Lipides : leur exploration chez l'homme. Encyclopédie Médico-Chirurgicale (Elsevier, Paris), Endocrinologie-Nutrition.
- Bhour et al.,** (2010). Evaluation of antioxidant and antigenotoxic activity of two flavonoids from Rhamnus alaternus L.(Rhamnaceae): Kaempferol 3-O-B -isorhamninoside and rhamnocitrin 3-O-B-isorhamninoside. *S. Afr. J. Boot.* 80: 57-62
- Bhour, W., Boubaker, J., Kilani, S., Ghedira, K., Chekir, G. L.** (2012). Evaluation of antioxidant and antigenotoxic activity of two flavonoids from Rhamnus alaternus L.(Rhamnaceae): Kaempferol 3-O-B -isorhamninoside and rhamnocitrin 3-O-B-isorhamninoside. *S. Afr. J. Boot.* 80: 57-62
- Battandier, J. A., et al.,** (1888). Flore de l'Algérie. Ed. A. Jourdan. Alger. 189 p.
- Chuto, G., & Chaumet, R. P.** (2010). Les nanoparticules. *Médecine Nucléaire*, 34(6), 370–376. doi:10.1016/j.mednuc.2010.03.003.

- Cheltit, W.**, (2021). Etude de toxicité d'AL₂O₃ – NPs et leur impact sur le système cardiovasculaire
- Chancerel, L.** (1920). Flore forestière du globe. Ed. Gauthier-Villars, Paris. 561-562.
- Claude, H.**, (2018). Les Plantes Toxiques Vol 4. 1617-620
- Calvo, M. I. et Caverro,** (2014). & Medicinal plants used for cardiovascular diseases in Navarra and their validation from Official sources. Journal of Ethnopharmacology 157, 268- 273.
- Djaalali, G.** (2018). Néphrotoxicité d'oxyde de titane (TiO₂) sous forme des nanoparticules chez les rats et l'effet opposé de diféruoyl-méthane. Université de Larbi Tébessi –Tébessa- Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie Département : Biologie Appliquée. P 5;6.
- Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stacker, P., Vidal, N.** (2006). Antioxydant activity is some Algerian medicinal plants extracts containing, phenolic compounds. Food chemistry, vol .97, pp 653-660.
- Edling, C., Anjou, C. G., Axelson, O.** (1987). Mortalityamong personnel exposed to diesel exhaust. Int. Arch Occup Environ Heath 59, 559–565.
- Guimon, M. C.** (1998). lalipoproteineLp(a) : son intérêt dans l'interprétation du bilan lipidique [Thèse]. Paris : Université paris V, Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques.
- Gulias, J., Traveset, A., Riera, N., Mus, M.** (2004). Critical Stages in theRecruitment process of Rhamnus alaternus L. Annals of Botany, 93: 723-731.
- Gomez, G.** (2006). Advances in the analysis of phenolics compounds in productsderivedfrom Bees. J. Pharmaceutical and BiomedicalAnalysis, (41) :1220-1234.
- Hart, L. D.** (1990). Alumina Chemicals: Science and TechnologyHandbook, American Ceramic Society, Columbus, Ohio, USA.
- Hoffman, E. M.** (2003). Etude du métabolisme des phenylpropanoïdes ; analysé de l'interaction de la caféoyl-coenzyme A 3 -O-methyltransferase(CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelled'unenouvelleacyltransféraseHydroxyCinnamoyl-CoA : shikimate/quinatehydroxycinnamoyl Transférase (HCT). Biologie cellulaire. Université Louis PasteurStrasbourg I, Français
- Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., Stevens, P. F., & Donoghue, M. J.** (1999). Plant systematics: a phylogenetic approach. Ecología mediterránea, 25(2)
- Duchateau, G., Florkin, M.** (1959). For trehalosemie of insects and its signification. Arch Insect Physiol Biochem. 67:306 -314.
- Halimi, A. K.** (1997). 220 النباتات الطبية للدكتور صفحة

- Kotovirta, M. L., Salo, O. P., Visa T. K.** (1984). Contact sensitivity to aluminum. Contact Dermatitis. Aug;11(2):135. doi: 10.1111/j.1600-0536.1984.tb00955.x. PMID: 6488779.
- Laachachi, M., Ferriol, M., Cochez, J. M., Lopez, C., and Ruch, D.** (2009). “A comparison of the role of boehmite (AlOOH) and alumina (Al₂O₃) in the thermal stability and flammability of poly (methylmethacrylate).” *Polymer Degradation and Stability*, vol. 94, no. 9, pp. 1373–1378.
- Lubetzki, J., Chanson, P., Guillausseau, P. J.** (2000). *Endocrinologie et maladies métaboliques*. Edition : Flammarion Médecine science. Paris.
- Lanone, S., & Boczkowski, J.** (2010). *Les sources de nanoparticules. Revue Française d'Allergologie*, 50(3), 211–213. doi:10.1016/j.reval.2010.01.039
- Lanone, S., Boczkowski, J.,** (2010). Applications utilisant les nanotechnologies, par secteur d'activité *Questions de santé publique*, France, pp. 1-4.
- Lubetzki, J., Chanson, P., Guillausseau, P. J.** (2000). *Endocrinologie et maladies métaboliques*. Edition : Flammarion Médecine science. Paris.
- Moussard, C.** (2010). *Biochimie et biologie moléculaire*. Boeck Supérieur. Belgique 365 pages.
- Marshall, W. J., Bangert, S. K., Raynaud, E.** (2005). *Biochimie médicale: physiopathologie et diagnostic* 244-248.
- Moussard, C.** (2008). *Biochimie structurale et métabolique*. 3ème édition, 4ème tirage.
- Mathieu, A.** (1860). *Flore forestière; description et histoire des végétaux ligneux qui croissent spontanément en France et des essences importantes de l'Algérie. Suivies d'une méthode analytique pour en déterminer les principales espèces*. Ed. Ancienne maison Grimblot et cie, N. Grosjean, successeur, Nancy. 52-53.
- Molyneux, P. Songklanakarin, J.** (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, 26(2): 211-219.
- MEKROUD, A.** (2020). Cours de biochimie A1 DV.
- Naerimane** (2020). Screening phytochimique et Analyse bibliographique de l'activité Biologique de *Rhamnus alaternus* L.
- Oberdörster, G., Sharp, Z., Atudorei, V., Elder, A., Gelein, R., Kreyling, W., & Cox, C.** (2004). Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain. *Inhalation toxicology*, 16(6), 437-445. doi: 10.1080/08958370490439597.
- Quezel, P., Santa, S.** (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Ed. Centre nationale de la recherche scientifique, Paris.
- Raisonnier, A.** (2003). Structures fonctions. Faculté de médecine Pierre et Marie Curie, Université Paris-VI. 34-40.

- Raaf, N.** (2012) Exploration du métabolisme des lipides. Faculté de médecine d'Alger.
- Spichiger,** (2004). Botanique systématique des plantes à fleurs. Ed. Presse Polytechniques et Universitaires Romandes, 372 P.
- Spichiger, R. E., Savolainen, V. V. et Figeat, M.,** (2000). Botanique systématique des plantes à fleurs. Ed. Presse Polytechniques et Universitaires Romandes, 372 P.
- Shibko, S., Koivistoinen, P., Tratnyeck, C., Newhall, A., Freidman, L. A.** (1966). method for the sequential quantitative separation and glycogen from a single rat liver homogenate or from a sub cellular fraction. *Analyt Biochem.* 19:415-428.
- Thériault, G., Cordier, S., Harvey, R.** (1980). Skin telangiectases in workers at an aluminum plant. *N Engl J Med.* Nov 27;303 (22):1278-81. doi: 10.1056/NEJM198011273032206. PMID: 7421964.
- Touitou, Y.** (2006). Biochimie : structure des glucides et lipides.
- Valdiquie, P.** Biochimie clinique. Editions Médicales Internationales. 2^{ème} Ed. 332 Pages.
- Vaubourdolle, M.** (2007). Biochimie hématologie. 3^{ème} édition, tome 2. Paris.
- Wong, C. C. L. H. B., Cheng, K. W., Chen, F.** (2006). A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power *Food Chem,* 97:705:711.