

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIC 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 biologique
Spécialité: biochimie appliqué
Intitulé :

Evaluation de l'effet hépatoprotecteur de *Salvia officinalis L* sur des rats intoxiqués par l'oxyde d'aluminium

Présenté Par : M^{elle} Souabni Manel
M^{elle} Alouache Asma
M^{elle} Allouch Manel
M^{elle} Ali Guechi Imene

Membre de Jury:

Mr. Bouzebda.A (MCB) Président Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Mr. Basli.A (MCA) Promoteur Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Me. Bendjedid.M (MAA) Examinatrice Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2022/2023

Remerciement

Nos remerciements s'adressent tout d'abord à "Allah", le tout puissant qui nous a tracé le chemin de notre vie et nous a accordé la volonté, la santé, le courage, la force et la patience nécessaire à la réalisation de ce mémoire.

*Nous profite de l'occasion pour remercier notre encadreur **Dr. Basli Abdelkader** pour l'intérêt qu'il m'a apporté malgré ses nombreuses charges, ses conseils, ses encouragements, sa confiance, son attention et son aide qui ont contribué au bon déroulement de ce mémoire.*

*Nous tenons également mes vifs remerciements aux membres de jury: **Dr. Bouzebda**, d'avoir accepté de présider ce travail. **Dr. Bendjedid**, d'avoir examiné ce travail. Nous remercions également tous les membres de laboratoire d l'université 20 Aout 1955-Skikda. Merci pour le soutient et pour vos efforts avec nous.*

Nous voulons dire merci à tous les enseignants et les administrateurs du département des Sciences de la Nature et de la Vie, pour l'aide pendant notre formation d'étude

Remerciements spéciaux aux:

-Propriétaire de la pépinière « jardin d'Alger » qui nous a aidés à fournir gratuitement la sauge.

- Propriétaire de laboratoire d'analyses médicales El-Harrouch "Dr Bouhdjila".

-L'équipe du service de l'anapath de l'hôpital les martyrs Saad Guermeche de Skikda.

Enfin nos remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin pour la réalisation de cette mémoire.



Merci

Dédicace

Je remercie Allah qui m'a donné la santé, la patience et la volonté pour arriver à ce stade et réaliser ce travail

Il m'est très agréable de le dédier ce modeste travail à :

A ma très chère mère : BOUCHENENE NADJET

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit.

Mon exemple idéal dans la vie, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur, et qui a toujours été la source de ma force pour affronter les différents obstacles. Que dieu vous protège et vous offre une longue vie.

A mon cher père: MOURAD

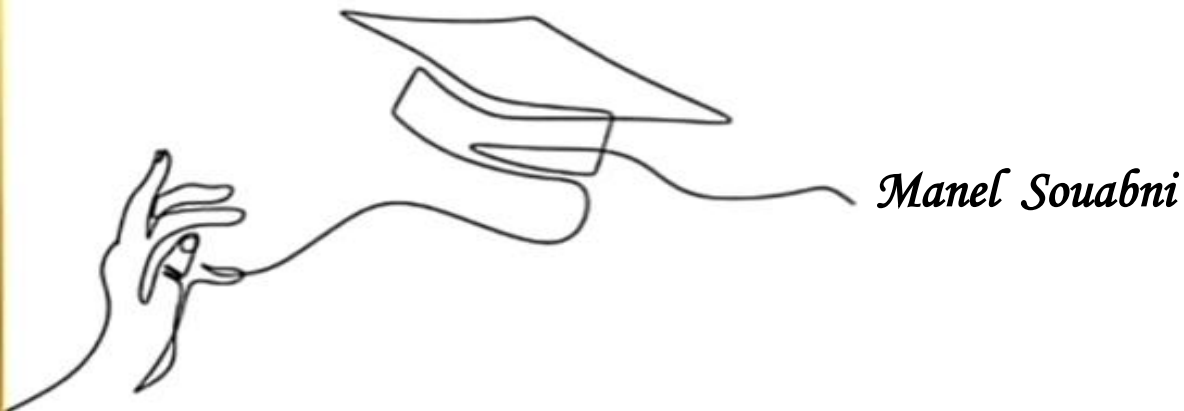
Qui a toujours été là pour moi, qui m'ai donné sa confiance, ses encouragements et ses sacrifices durant toute ma vie, Je suis fière d'être ta fille.

A ceux qui j'aime la vie avec eux

Mes chers frères : ABDERRAHMANE et ABDERRAOUF

Mes chères sœurs : MAROUA et HIBA

A tous mes amis qui ont rendu ma vie agréable et pleine de bons souvenirs



Dédicace

En premier lieu et avant tout, je prie ALLAH, Le Tout Puissant et Le Miséricordieux, de m'avoir donné la santé, la volonté, la patience et le courage pour mener à terme ce travail.

Je dédie ce modeste travail à :

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, la source de mes efforts, celui que j'aime beaucoup, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi papa **Azzedine** mon espoir dans ma vie.*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon Cœur, ma vie et mon bonheur, la plus belle sur terre ; ma mère **Zohra**, A vous cher maman, maman que j'adore qui m'a offert plus que le nécessaire pour que je puisse mener mes études dans les meilleures conditions possible.*

*À ma belle et adorable sœur **Roumaila**.*

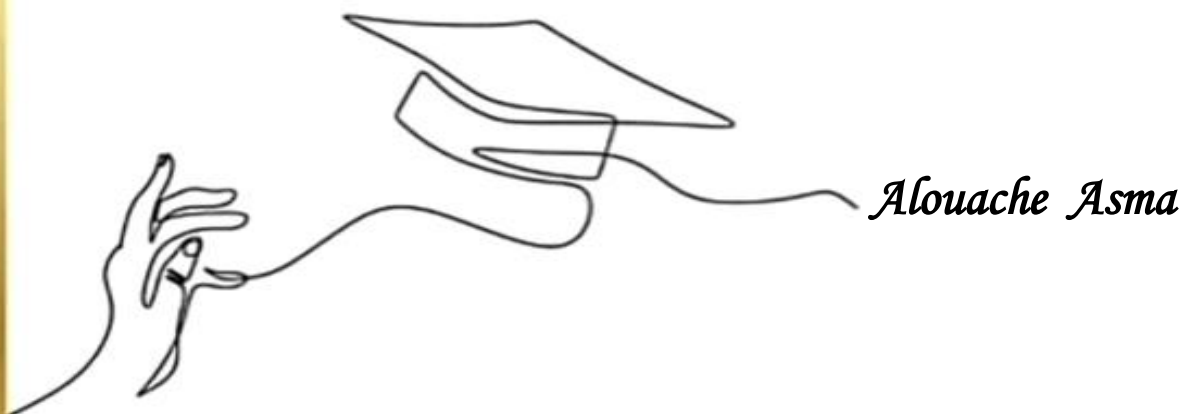
*A mes frères **Housseem, Mohamed Abderraouf et Chouaibe**.*

*À ma proche amie **Lina**.*

À chaque membre de ma famille du plus grand au plus petit.

Pour leurs compréhensions et leurs encouragements

A toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicace

Dieu merci de m'avoir donné la capacité d'écrire bout de rêve et de bonheur de lever mes mains Vers le ciel et de dire " ya kayoum "

Avec tout mon amour éternel et avec l'intensité de mes émotions je dédie ce travail:

À la fleur qui rehausse et aromatise mes jours et la lumière de mes yeux, ma chère mère **SAMIRA**. Ta prière, ton sacrifice m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

À la chose la plus précieuse que j'ai, mon cher père **ABDELWAHEB** celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, rien ne peut exprimer l'amour, l'estime, et le respect que j'ai pour toi.

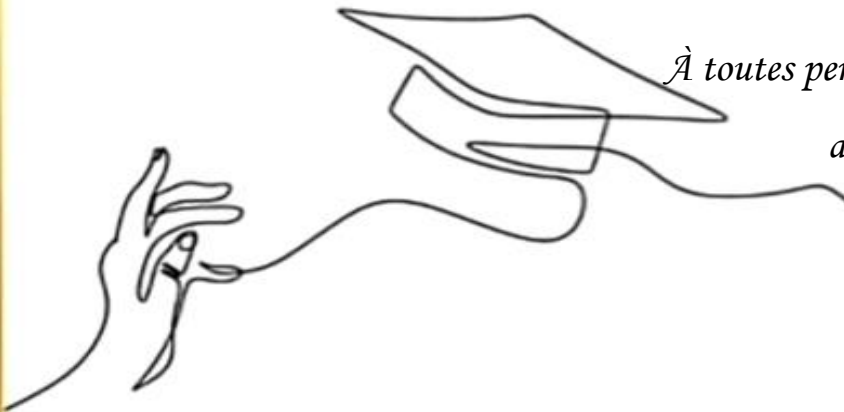
À mes chères sœurs **ROUFAIDA** et **MARWA** et mon cher frère **SEIF**, Qu'est-ce que j'ai fait de bien pour mériter des sœurs et frère tels que vous! Vous êtes incroyables ! Tous les mots me manquent sauf un : Merci.

À mes proches amies **SOULEF** et **IMENE**

Merci d'être à mes côtés, chaque mot apaisant, chaque geste amical a changé mon monde pour le rendre plus doux, plus paisible.

À toutes personnes qui connaissent et aiment **MANEL** ♥

ALLOUCH MANEL



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. C'est avec profonde gratitude et sincères mots que je dédie ce modeste travail :

*À mon père **ABD ELHAMID** pour ses encouragements incessants et son soutien moral aux Moments difficiles qui furent pour moi les meilleurs gages de réussite.*

*À ma mère **NADIA** 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. Que Dieu les protège et que ce travail soit la preuve modeste d'une reconnaissance infinie et d'un profond amour pour eux,*

*À Ma belle Sœur **Safa** et mes chers frères
RACHID et **WAFI**.*

*À mes proches amies **AMEL** et **MANEL**.*

À tous ceux que j'aime.



ALI GUECHI IMENE

Résumé :

L'objectif principale de ce travail est d'évaluer l'hépatotoxicité de l'oxyde d'aluminium sous les aspects : biochimique et histologique chez les rats *Wistar* et détoxification de l'oxyde d'aluminium par la plante médicinale *salvia officinalis L.*

Dans la partie expérimentale, 42 rats ont été étudiés et répartis en six groupes : G1 (témoin), G2 (traité avec la plante *S.O* dose 1), G3 (traité avec plante *S.O* dose 2), G4 (traité avec l'oxyde d'aluminium), G5 (traitement avec l'oxyde d'aluminium et plante *S.O* dose 1) et G6 (traitement avec l'oxyde d'aluminium et plante *S.O* dose 2). Les animaux ont été pesés tous les 3 jours. Après 28 jours consécutifs de traitement, des prélèvements de sang (pour l'étude biochimiques) et d'organes (pour les études histologiques) ont été recueillis.

Les résultats des lots des rats traités a l'oxyde d'aluminium ont montré que : le rapport des paramètres biochimiques (triglycérides, protéines, albumine, PAL, TGO et TGP) était significativement augmenté, et l'évaluation histologique a révélé des anomalies structurelles dans le foie en faveur des perturbations des paramètres biochimiques. Par ailleurs, l'application de la plante médicinale *salvia officinalis* induit une amélioration de ces paramètres.

Mots-clés : oxyde d'aluminium, *salvia officinalis*, Triglycéride, TGO et TGP, protéine, étude biochimique, histologie.

Abstract

Abstract:

The main objective of this work is to evaluate the hepatotoxicity of aluminum oxide under the aspects: biochemical and histological in *Wistar* rats and detoxification of aluminum oxide by the medicinal plant *salvia officinalis L.*

In the experimental part, 42 rats were studied and divided into six groups: G1 (control), G2 (treated with plant *S.O* dose 1), G3 (treated with plant *S.O* dose 2), G4 (treated with oxide of aluminum), G5 (treatment with aluminum oxide and plant dose 1) and G6 (treatment with aluminum oxide and plant dose 2). The animals were weighed every 3 days. After 28 consecutive days of treatment, samples of blood (for the biochemical study) and organs (for the histological studies) were taken.

The results of the aluminum oxide treated rats showed that: the ratio of biochemical parameters (triglycerides, proteins, albumin, PAL, TGO and TGP) was significantly increased, and histological evaluation revealed structural abnormalities in the liver. Furthermore, the application of the medicinal plant *salvia officinalis* induces an improvement in these parameters.

Keywords: aluminum oxide, *salvia officinalis*, triglyceride, TGO and TGP, protein, biochemical study, histology.

ملخص:

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو تقييم السمية الكبدية لأكسيد الألومنيوم تحت الجوانب: الكيمياء الحيوية والنسجية عند الفئران من سلالة *wistar* و محاولة إزالة سمية أكسيد الألومنيوم بواسطة نبات طبي *salvia officinalis*.

في الجزء التجريبي، تمت دراسة 42 فأراً وقسمت إلى ست مجموعات: G1 (مجموعة شاهدة)، G2 (تمت معالجتها بجرعة S.O النباتية 1)، G3 (تمت معالجتها بجرعة S.O النباتية 2)، G4 (تمت معالجتها بأكسيد الألومنيوم)، G5 (المعالجة بأكسيد الألومنيوم و الجرعة النباتية 1) و G6 (المعالجة بأكسيد الألومنيوم و الجرعة النباتية 2). تم وزن الحيوانات كل 3 أيام. بعد 28 يوماً متتاليًا من العلاج، تم أخذ عينات من الدم (للداسة البيو كيميائية) والأعضاء (للداسات النسيجية).

أظهرت نتائج الفئران المعالجة بأكسيد الألومنيوم: زيادة معنوية في نسبة المتغيرات الكيميائية الحيوية (الدهون الثلاثية، البروتينات، الالبومين PAL، TGO و TGP)، وأظهر التقييم النسيجي وجود خلل بنيوي في الكبد. بينما المعالجة بالنبات الطبي *salvia officinalis* يؤدي إلى تحسين هذه المعايير.

الكلمات المفتاحية: أكسيد الألومنيوم، الميرامية، الدهون الثلاثية، TGO و TGP، البروتين، الالبومين دراسة الكيمياء الحيوية، علم الأنسجة.

Liste des abréviations

- **%**: Pourcentage.
- **°C**: Degrée Celsius.
- **µg**: Microgramme.
- **µm**: Micromètre.
- **Abs**: Absorbance
- **ADN**: Acide Désoxyribonucléique.
- **ADP**: Adénosine diphosphate.
- **Al₂O₃**: Aluminium oxydé.
- **AlCl₃**: Trichlorure d'aluminium.
- **ALT**: L'Alanine-Amino-transférase.
- **AST**: L'Aspartate-Amino-transférase.
- **ATP**: Adénosine triphosphate.
- **BBC**: Bleu brillant de coomassie.
- **Ca⁺²**: Calcium
- **CPs**: Composés phénoliques.
- **Cu²⁺**: Cuivre.
- **DPPH**: 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl.
- **ES**: Extrait sec.
- **EQ**: Equivalant.
- **ERO**: Espèces réactives de l'oxygène.
- **g**: Gramme.
- **G1**: Groupe témoin.
- **G2**: Groupe traité par la plante dose 1.
- **G3**: Groupe traité par la plante dose 2.
- **G4**: Groupe traité par l'oxyde d'aluminium.
- **G5**: Groupe traité par l'oxyde d'aluminium + plante dose1.
- **G6**: Groupe traité par l'oxyde d'aluminium + plante dose2.
- **h**: Heure.
- **H₂O**: L'eau.
- **H₂O₂**: Le peroxyde d'hydrogène.
- **HE**: Huile essentielles.

Liste des abréviations

- **IC50**: Concentration inhibitrice de 50% des radicaux.
- **Kg**: kilo gramme.
- **l**: Litre.
- **LDH**: Lactate déshydrogénase.
- **LDL**: Cholestérol (low-density lipoproteins).
- **MDH**: Malate déshydrogénase.
- **mg**: Milligramme.
- **min**: Minute.
- **ml**: Millilitre.
- **mm**: Millimètre.
- **n**: Nombre.
- **Na₂CO₃**: Carbonate de sodium.
- **NaCl**: Chlorure de sodium.
- **NAD⁺**: Nicotinamide Adénine Dinucléotide.
- **NADH**: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Réduite.
- **NADPH**: Nicotinamide Adénine Dinucleotide Phosphate.
- **NaOH**: L'hydroxyde de sodium.
- **NASH**: Steato hépatite non alcoolique.
- **nm**: Nanomètre.
- **NO**: Monoxyde d'azote.
- **NP**: Nanoparticule.
- **NPA**: Les nanoparticules accidentelles.
- **NPM**: Les nanoparticules manufacturées.
- **NPs**: Les nanoparticules.
- **OH**: Radical hydroxyle.
- **OONO⁻**: Peroxynitrites.
- **p**: Risque d'erreur.
- **PAL**: Phosphatase alcaline.
- **R²**: Coefficient de corrélation.
- **S.O**: *Saliva officinalis*.
- **TG**: Triglycérides.
- **TGO**: Transaminase glutamo oxaloacétique.

Liste des abréviations

- **TGP**: Transaminase glutamo pyruvique.
- **UI** : Unité internationale
- **UV**: Ultra-violet.
- **Zn⁺²**: Zinc.
- **µl**: Microlitre.

Liste des figures

FIGURE	TITRE	PAGES
01	Carte de distribution géographique mondiale de la famille des Lamiaceae	03
02	<i>Salvia officinalis</i>	04
03	Structure du noyau phénol	08
04	Structures chimiques des acides hydroxybenzoïques	09
05	Structure de base des flavonoïdes	10
06	Structure de base des tanins hydrolysables	11
07	Structure chimique de quelques tanins hydrolysables	11
08	Structure chimique des tanins condensés	11
09	Structures chimiques de quelques stilbènes	11
10	Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celles des principales structures chimiques et biologiques	15
11	Anatomie du foie	18
12	Balance radicaux libres / antioxydants	20
13	L'animalerie de l'université de 20 Aout 1955 Skikda	21
14	Les conditions d'élevage des rats	22
15	Etapes du séchage et broyage de <i>salvia officinalis</i>	23
16	L'extraction méthanolique de <i>salvia officinalis</i>	23
17	Réactif de Folin-Ciocalteu (A), solution de Na ₂ CO ₃ (B), la Détection Chimique des polyphénols (C)	24
18	La détection chimique des flavonoïdes	25
19	Solution de DPPH	26
20	La sonde spécifique (A), Préparation de l'oxyde d'aluminium (B)	28
21	Préparation de l'extrait	29
22	Les doses de l'extrait et la sonde de gavage (A), technique de gavage (B)	29
23	Dissection d'un rat	30
24	Prélèvement du sang au niveau cardiaque ouvert	30
25	La centrifugeuse eppendorf centrifuge 5702	30

Liste des figures

26	L'automate des analyses biochimiques modèle Snibe Biossays 240 plus	31
27	Prélèvement du foie	32
28	La détection chimique des protéines	33
29	Photographie montrant l'étape de préparation des cassettes	33
30	Automate pour la circulation	34
31	Etapes de confection d'un bloc de paraffine	34
32	Photographie récapitulant les étapes de la coupe (bain marie (A) microtome (B) l'étuve (C))	35
33	Photographie récapitulant l'étape de coloration	35
34	Les lames montées et prêtes pour l'observation	36
35	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.	37
36	Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes	37
37	Pourcentage d'activité antioxydant de l'extrait méthanolique de la plante	38
38	L'évaluation du poids corporel durant 28 jours du traitement	39
39	L'évaluation du gain de poids corporel durant 28 jours du traitement (n=4)	39
40	La variation de poids relatif du foie (n=4)	40
41	La variation de la concentration des protéines dans le foie (n=4)	40
42	La variation de la concentration de triglycéride (g/l) (n=4)	41
43	La variation de la concentration d'albumine (g/l) (n=4)	42
44	La variation de la concentration du TGO (u/l) (n=4).	42
45	La variation de la concentration de TGP (u/l) (n=4)	43
46	La variation de la concentration de PAL (u/l) (n=4)	43
47	La variation de la concentration de la protéine totale (g/l) (n=4)	44
48	Les coupes histologiques du foie des rats	45

Liste des tableaux

<i>N°</i>	<i>TITRE</i>	<i>PAGES</i>
01	Classification des rats	21
02	Répartition et traitement des rats	28

TABLE DES MATIERES

Remerciement

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des Abréviations

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Sommaire

Introduction

Partie bibliographique

Chapitre I : *Salvia officinalis*

I	<i>Salvia officinalis</i>	2
I.1	La famille des lamiacées	2
I.1.1	Définition	2
I.1.2	Distribution géographique :	2
I.2	Genre <i>Salvia</i>	3
I.3	Espèce <i>Salvia officinalis</i>	3
I.3.1	Définition	3
I.3.2	Noms vernaculaire	4
I.3.3	Distribution géographique.....	4
I.3.4	Description morphologique.....	5
I.3.5	Classification.....	5
I.3.6	Echophysiologie.....	5
I.3.7	Composés chimique	5
I.3.7.1	Composés phénoliques	5
I.3.7.2	Terpènes.....	5
I.3.7.3	Huiles essentielles.....	6
I.3.8	Usages	6
I.3.8.1	Usages traditionnelle	6

Sommaire

I.3.8.2 Usages Pharmaceutique	6
I.3.8.3 Usages alimentaires	7
I.3.8.4 Usages Cosmétologique	7
I.3.9 Toxicité	7

Chapitre II :Généralités Les polyphénols

II Les polyphénols	8
II.1 Généralités sur les polyphénols	8
II.2 Biosynthèse des composés phénoliques	8
II.3 Structure et classification des composés phénoliques	9
II.3.1 Les acides phénoliques	9
II.3.1.1 Les acides hydroxybenzoïques	9
II.3.1.2 Les acides hydroxycinnamiques	10
II.3.1.3 Les flavonoïdes	10
II.3.1.4 Les tanins	10
II.3.1.5 Les stilbénes	11
II.3.1.6 Les lignanes ou lignanes	12
II.4 Les polyphénols dans la plante : localisation et rôle	12
II.5 Propriétés médicinales des composés phénoliques	13
II.5.1 Activité anti-inflammatoire	13
II.5.2 Activité antimicrobienne	13
II.5.3 Activité anticancéreuse	13
II.5.4 Activité antioxydants	14

Chapitre III: Généralités sur les nanoparticules

III Généralités sur les nanoparticules	15
III.1 Les nanoparticules (NPS).....	15
III.1.1 Définition	15
III.1.2 Origine des nanoparticules	15
III.1.2.1 Les nanoparticules naturelles.....	15
III.1.2.2 Les nanoparticules artificielles	15
III.2 Nanoparticules d'oxyde d'aluminium Al₂O₃ (Alumine)	16
III.2.1 Définition d'Al ₂ O ₃	16

Sommaire

III.2.2	Domaine d'utilisation	16
III.2.3	Toxicité d'AL ₂ O ₃	16
III.2.4	Hépatotoxicité	17
III.2.4.1	Généralités sur le foie	17
III.2.4.1.1	Définition	17
III.2.4.1.2	Anatomie du foie.....	17
III.2.4.1.3	Les fonctions hépatiques	18
III.2.5	Pathologies du foie	18
III.2.5.1	Hépatite toxique.....	18
III.2.5.2	Lésion hépatique.....	19
III.3	Le stress oxydatif	19
III.3.1	Définition	19
III.3.2	Pathologie associée au stress oxydant.....	20

Partie expérimentale

Chapitre IV : Matériels et méthodes

I	Matériels.....	21
I.1	Matériel biologique	21
I.1.1	Matériel végétale	21
I.1.2	Matériel animal	21
I.1.2.1	Classification des rats	21
I.1.2.2	Les conditions d'élevage	22
I.2	Matériel chimique.....	22
I.3	Matériels d'étude au laboratoire.....	22
II	Méthode.....	22
II.1	Séchage et broyage de la plante.....	22
II.2	Préparation de l'extrait méthanolique	23
II.3	Détermination du rendement d'extraction.....	23
II.4	Etude quantitative	24
II.4.1	Dosage des polyphénols totaux	24
II.4.1.1	Mode opératoire.....	24
II.4.1.2	Courbe d'étalonnage.....	24

Sommaire

II.4.2	Dosage des flavonoïdes	24
II.4.2.1	Mode opératoire.....	25
II.4.2.2	Courbe d'étalonnage.....	25
II.5	Etude de l'activité antioxydant de l'extrait.....	25
II.5.1	Technique du 2, 2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	25
II.5.1.1	Principe de la réaction	25
II.5.1.2	Mode opératoire.....	26
II.5.1.3	Détermination IC50	26
II.6	Protocole de l'expérimentation.....	27
II.7	Mesure du poids.....	27
II.8	Répartition des rats	27
II.9	Le traitement.....	28
II.9.1	Préparation de nanoparticule	28
II.9.2	Préparation des doses de l'extrait	28
II.10	Dissection et prélèvement.....	29
II.10.1	Prélèvement sanguin	29
II.11	Dosage des paramètres biochimiques.....	31
II.11.1	Le triglycérides	31
II.11.2	L'albumine.....	31
II.11.3	L'Aspartate-Aminotransférase (ASAT/TGO).....	31
II.11.4	L'Alanine-Aminotransférase (ALAT/TGP).....	32
II.11.5	La phosphatase alcaline (PAL).....	32
II.11.6	Les Protéines totales.	32
II.12	Prélèvement des organes	32
II.12.1	Extraction et dosage des métabolites (Protéines)	33
II.12.2	Etude histologiques	33

Chapitre V : Résultats et discussion

I	Résultats	37
I.1	Le rendement de l'extraction méthanolique de <i>Salvia officinalis</i>	37
I.1.1	Evaluation des polyphénols.....	37
I.1.2	Evaluation des flavonoïdes.....	37
I.1.3	Evaluation de l'activité antioxydante.....	38

Sommaire

I.2	Effet de l'oxyde d'aluminium et de l'extrait de <i>S.officinalis</i> sur les paramètres de croissance globale des rats	38
I.2.1	Poids corporel	38
I.2.2	Le gain de poids	39
I.2.3	Poids relatif du foie	39
I.3	Effet de l'Al ₂ O ₃ et de l'extrait de <i>S.officinalis</i> sur les métabolites	40
I.3.1	Protéines	40
I.4	Effet de l'Al ₂ O ₃ et de l'extrait de <i>S.officinalis</i> sur les paramètres biochimiques	41
I.4.1	Triglycéride	41
I.4.2	Albumine	41
I.4.3	TGO	42
I.4.4	TGP	42
I.4.5	PAL	43
I.4.6	Protéine totale	43
I.5	Effet de l'Al ₂ O ₃ et l'extrait de la plante <i>S.officinalis</i> sur l'histologie du foie	44
II	Discussion	46
	Conclusion et Perspective	50
	Référence bibliographique	

Introduction

Introduction :

Au cours de ces dernières années, de nombreuses études et recherche se sont intéressées aux nanomatériaux, et ont reçu une énorme attention en raison de leurs applications dans plusieurs domaines scientifiques (**Cava et al., 2006**). Les nanoparticules d'oxyde métallique ont été largement développées au cours des dernières décennies. Ils ont été largement utilisés dans de nombreuses applications telles que les catalyseurs, les capteurs, les semi-conducteurs, la science médicale, condensateurs et batteries (**Ueda et al., 2008**). Les types de nanoparticules les plus importants sont les oxydes simples, parmi ceux-ci l'oxyde d'aluminium Al_2O_3 , dit alumine (**Cava et al., 2007; Salles, 2014**).

L'hépatotoxicité est le fait que certaines substances dites hépatotoxiques ou hépatotoxines, sont capables d'induire la destruction des hépatocytes (cellules du foie) ou des hépatopathies (dysfonctionnements du foie). En effet, il existe des hépatoprotecteurs qui ont pour rôle de protéger les hépatocytes (**Georges, 2006**).

A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales dans l'objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes (**Iserin, 2001**), sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques, il était difficile de définir les molécules responsables de l'action pharmacologique (**Bendif, 2017**).

L'Algérie possède une végétation riche et variée du fait de sa situation géographique. Un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales y poussent spontanément.

Salvia officinalis L est une plante aromatique et médicinale appartenant à la famille des Lamiacées (**Liang et al., 2020**). Cette plante est parmi les plantes aromatiques les plus utilisées dans le monde entier, et en Algérie en particulier (**Taïba et al., 2017**). *Salvia officinalis L* est riche en constituants biologiquement actifs qui sont principalement représentés par les composés phénoliques et les l'huile essentielle (**Al-Mijalli et al., 2022 ; Bahadoran et al., 2022**).

C'est dans ce contexte que nous avons entrepris ce travail dont l'objectif essentiel est de mettre en valeur l'éventuel effet anti hépatotoxique de la plante médicinale « *Salvia officinalis L* » après intoxication par l'alumine chez des rats de la souche *Wistar*. Notre travail a été divisé en deux parties, lesquelles sont réparties comme suit :

La première partie est consacrée à la synthèse bibliographique, elle comporte trois chapitres: Le premier chapitre est passe en revue une description de la plante médicinale étudiée. Le deuxième chapitre concernant les polyphénols, Le troisième chapitre concernant les nanoparticules.

La deuxième partie est consacrée à la partie expérimentale et est partagée en deux chapitres : Le premier chapitre décrit le matériel et méthode utilisée durant ce travail. Le deuxième chapitre résume les résultats obtenus et discussion et Finalement une conclusion.

Chapitre I

Salvia officinalis

I *Salvia officinalis*:

I.1 La famille des lamiacées :

I.1.1 Définition :

Famille des Lamiacées connue également sous le nom des Labiées, Labiées dérive du nom latin "labium" qui signifie lèvre, en raison de la forme particulière des corolles (**Bouhaddouda, 2016**).

La famille des Lamiaceae est l'une des premières familles à être distinguées par les botanistes, les lamiacées sont des angiospermes dicotylédones appartenant à l'ordre des Lamiales. Ce sont des arbustes, sous arbrisseaux ou plantes herbacées comprennent dans le monde 258 genres et 6970 espèces (**Hennebelle, 2006**).

Près 40 % des espèces de la famille des Lamiaceae sont censés contenir des composés qui possèdent des propriétés aromatiques, la plupart des études se sont concentrées sur leurs composants d'huile essentielle (**Veres, 2007**).

I.1.2 Distribution géographique :

En monde :

Cette famille, très homogène, comprend environ 7000 espèces (**Leplat Marion, 2017**). C'est une famille dont l'aire de répartition est vaste avec une prépondérance dans les régions méditerranéennes. Thym, Lavande, Romarin sont des Lamiacées caractéristiques de la flore des garrigues. Les Lamiacées sont rares dans les montagnes et les régions arctiques. La plus grande diversité et rencontrée dans le bassin méditerranéen, l'Asie centrale, le continent Américain, les îles du pacifique, l'Afrique équatoriale et la Chine (**Figure 1**) (**Walker et al., 2004 ; Naghibi et al., 2005**).

En Algérie :

Dans la flore de l'Algérie, les Lamiaceae sont représentées par 28 genres et 146 espèces, Certains genres sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces (**Quezel et Santa, 1962**). Les labiées sont surtout des plantes méditerranéennes qui au Sahara ne se rencontrent guère que dans la région présaharienne (**Ozanda, 2004/1991**) et dans l'étage supérieur, du Hoggar, sauf les trois espèces *Marrubium deserti*, *Salviaa egyptica* et *Teucrium polium* sont largement répandues dans ces régions (**Ozanda, 1977**).



Figure 01 : Carte de distribution géographique mondiale de la famille des Lamiaceae (Pirani et Prado, 2012).

I.2 Genre *Salvia* :

Le nom *Salvia* vient du mot latin *Salvare* (guérisseur) qui veut dire: Guérir, sauver. La *Salvia* a toujours été considérée comme une plante magique qui sauve des vies humaines (Aouina et Lakhdari, 2019). Les espèces de *Salvia* ont été utilisées à de nombreuses reprises dans le cadre de la médecine traditionnelle et à des fins culinaires, étant l'un des plus grands et des plus importants genres de la famille Lamiacées (anciennement appelée Labiées), elle est représentée par 900 espèces dans le monde (Stanley et Williams, 1973). Bien que les espèces de *Salvia* soient communes dans le monde entier. L'Algérie compte 23 espèces du genre *Salvia* (Quezel et Santa, 1963).

I.3 Espèce *Salvia officinalis* :

I.3.1 Définition :

"Qui a de la sauge dans son jardin, n'a pas besoin d'un médecin" (*dicton provençal*)
La sauge officinale (*salvia officinalis*), appartenant à la famille des labiées (Lamiacees) (Maatoug, 1990), est formée de petits arbustes aux fines feuilles du ventueuses, à l'odeur camphrée caractéristique. C'est une plante aromatique et médicinale assez largement utilisée soit à l'état naturel, soit sous forme d'extrait ou d'huile essentielle. A côté d'une utilisation artisanale (alimentation familiale et médecine populaire), cette plante et surtout ses huiles essentielles sont utilisées par les industries de la parfumerie et de la cosmétologie, par l'industrie alimentaire et enfin par l'industrie pharmaceutique (Fellah *et al.*, 2006).



Figure 02: *Salvia officinalis* (photo originale, 2023).

I.3.2 Noms vernaculaire :

Noms Communs : Herbe sacrée, thé de Grèce, herbe sage (Fabre *et al.*, 1992).

Nom scientifique : *Salvia Officinalis*

Nom français : Calamenthe vulgare

Nom allemand : Salbei, Garten-salbei, Edl-salbei.

Nom vernaculaire : Sâلمييا, Mirameya

Nom français : Sauge

Nom anglais : Common sage, Garden sage (Cabaret, 1986 ; Beloued, 2001).

Nom arabe : الميرمية

Nom targui ou berbère : Tazzourt, Agourim, Imeksaouen

I.3.3 Distribution géographique :

C'est une plante très rependue dans le bassin méditerranéen (sols calcaires) spontanée dans les lieux arides, elle pousse sur les terrains les plus pauvre, même s'ils sont pierreux, car elle est peu exigeante et très généreuse, elle aime l'ensoleillement, elle se cultive dans m'importe quel potager comme plante aromatique et culinaire (Cretti, 1981) .

Les espèces de *salvia officinalis* sont un groupe diversifié d'espèces cosmopolites qui présentent un large éventail de variations (Pistelli, 2006). Cette espèce se trouve dans trois grandes régions du monde: 530 espèces endémiques en Amérique centrale et du Sud, 250 espèces endémiques en Asie centrale et dans les régions méditerranéennes, 30 espèces endémiques en Afrique et 90 espèces endémiques en Asie de l'Est (Walker *et al.*, 2004).

C'est une espèce Euro-méditerranéenne, assez cultivée en Algérie (Khireddine, 2013).

I.3.4 Description morphologique :

Plante vivace à tige ligneuse à la base, formant un buisson dépassant parfois 80cm, rameaux vert-blanchâtre. Feuilles assez grandes, épaisses, vert-blanchâtres, et opposées, fleurs bleu-violacé clair en épis terminaux lâches, disposées par 3 à 6 en verticilles espacés. Calice campanulé à 5 dents longues et corolle bilabée supérieure en casque et lèvre inférieure trilobée, fruits en forme de tétrakènes (Hans, 2007).

I.3.5 Classification :

Règne :Plantae
 Embranchement :.....Spermatophyta
 Sous-embranchement :.....Angiospermae
 Classe :..... Dicotylédones
 Ordre :.....Lamiales
 Famille :.....Lamiaceae
 Genre :.....*Salvia*
 Espèce :.....*Salvia officinalis* (Hippolyte et al., 1993)

I.3.6 Echophysiologie :

La sauge est cultivable jusqu'à 1800 m d'altitude, elle supporte des climats et des sols très variés, au pH allant de 5 à 9. Le plant adulte résiste à la température de -10°C.(Guy, 2005).

I.3.7 Composition chimique :

I.3.7.1 Composés phénoliques :

Les feuilles de *Salvia officinalis* renferment également de nombreux composés polyphénoliques qui sont les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins, qui sont les meilleurs antioxydants (Gérard et François, 2008-2009).

I.3.7.2 Terpènes :

La feuille de *salvia* renferme aussi de nombreux triterpènes (C30) dérivés de l'ursane (l'acide ursolique est majoritaire) et de l'oléanane (acide oléanolique et dérivés hydroxylés en C - 2). Ainsi que des diterpènes(C20) (carnosol , rosmanol , épirosmanol , acide carnos (ol) ique , carnosate de méthyle , acide carnosique - 12 - méthyléther - y - lactone , rosmadial) (Botinau, 2010)

I.3.7.3 Huiles essentielles :

L'huile essentielle de *Salvia officinale* (8-25 ml / kg) est caractérisée par la présence de camphre, de cinéole et d' α - et β - thuyones, des cétones monoterpéniques bicycliques. α - et β - thuyones peuvent représenter jusqu'à 60 % de l'huile essentielle, l' α - thuyone étant presque toujours largement prépondérante. La composition de l'huile essentielle varie en fonction de nombreux facteurs. Le profil de l'HE de Sauge officinale est le suivant : α - thuyone : 18-43 % β thuyone : 3-8,5 %, camphre : 4,5-24,5 % , cinéole : 5,5-13 % , humulène : 0-12 % , α pinène : 1-6,5 % , camphène : 1,5-7 % , limonène : 0,5-3 % , linalol libre et estérifié : 1 % au maximum , acétate de bornyle : 2,5 % au maximum (Botinau, 2010).

I.3.8 Usages :

I.3.8.1 Usages traditionnelle :

La sauge est une des plantes les plus utilisées, vu ses propriétés importantes; La sauge est appliquée en gargarisme contre les inflammations de la bouche (les aphtes, les gingivites, l'amygdalite et l'ulcère ...), les abcès, et aussi pour le nettoyage et la cicatrisation des plaies (Djerroumi et Nacef ,2004). Les infusions de la sauge sont appliquées pour le traitement de plusieurs maladies comme la circulation sanguine. Cette herbe aromatique est employée dans la cuisine, pour son goût puissant, légèrement amer et camphré (Duling *et al*, 2007). Elle est utilisée dans la prise en charge de différents problèmes digestifs : ballonnements épigastriques, digestion lente, renvois et flatulences. Elle est également ajoutée comme désinfectant, cataplasmes et dans certains bains contre les maladies de la peau d'origine mycosique et pour des raisons encore mystérieuse.

I.3.8.2 Usages Pharmacologiques :

La sauge était un composant fréquent des mélanges de tisanes, recommandés pour les patients tuberculeux (Duling *et al.*, 2007). Outre ces utilisations, les feuilles de la sauge (*S. officinalis*), montrent une gamme des activités biologiques: antibactérienne, antifongique, antivirale et astringente (Djerroumi et Nacef, 2013), il y a des résultats pharmacologiques disponibles qui ont été fréquemment signalés pour la plante *Salvia officinalis* sur la base de la preuve de la littérature disponible, cette plante présente des effets anticancéreux, anti-inflammatoires, hypoglycémians, hypo-lipidémiques, anti-nociceptifs, antioxydants, antimicrobiens, et d'amélioration de la mémoire et leur efficacité a été confirmée par des essais cliniques (Ghorbani et Esmaeilzadeh, 2017). Les études in vivo, montrent que les extraits de sauge ont un effet hypotensif et déprimant sur le système nerveux central (Newall *et al.*, 1996), ces extraits entrent souvent dans la constitution des dentifrices (Frag *et al.*, 1986).

I.3.8.3 Usages alimentaires :

Au Mexique et en Amérique latine, les graines de quelques espèces de sauge sont intensivement employées par les Américains indigènes comme source de nourriture et aussi pour préparer ses boissons. La découverte des antioxydants a augmenté l'usage des extraits de sauge officinale connue par son activité antioxydant élevée (**Kupeli Akkol et al., 2007**). De plus, L'huile essentielle de la sauge est encore utilisée en condiments d'assaisonnement, viandes traitées et liqueurs (**Djerroumi et Nacef, 2013**). Quelques feuilles glissées dans les aliments gras tels que les farces et les ragoûts leur donnent une saveur piquante très appréciée (**Radulescu et al., 2004**). Elle est rajoutée aussi dans les bouillons et dans les vinaigres aux fins herbes (**Chaumeton, 1959**). Elle est utilisée encore comme épice dans la cuisine méditerranéenne (**Bouajaj et al., 2013**).

I.3.8.4 Usages Cosmétologique :

En cosmétologie les espèces de *Salvia* ont un grand intérêt, dont les extraits de *S. officinalis* et *S. lavandulaefolia* sont largement introduits dans les produits de beauté et les parfums. En effet, l'utilisation de la sauge comme compresse ou infusion ou même dans les préparations des masques de visage et leurs crèmes sont souvent appliquées sur des blessures froides près de bouches (**Radulescu et al., 2004**). Aussi Peut être utilisée l'HE de sauge dans les préparations de masque pour peaux grasses ou à tendance acnéique. Facial et ses crèmes sont souvent appliquées sur les boutons de fièvre près de la bouche (**Radulescu et al., 2004**). Elle est utilisée dans les soins capillaires car la sauge aide à lutter contre les pellicules et rend les cheveux brillants. La sauge est un fixateur bien connu dans l'industrie du parfum.

I.3.9 Toxicité :

Aucune toxicité aigüe ou chronique n'a été signalée à l'emploi des doses usuelles des feuilles de sauge et de son huile essentielle (jusqu'à 15 gouttes par jours) (**Rayaud, 2006**). Nous vous recommandons de ne pas prendre plus de 3 tasses d'infusion de sauge par jour pour maintenir l'apport de thuyone en dessous de 3 mg. De plus, le traitement ne doit pas dépasser 2 semaines.

Comme toute substance active, la sauge peut avoir des effets indésirables si la posologie recommandée n'est pas respectée : nausées, vomissements, tachycardie, Lésions irréversibles du système nerveux central, dysfonctionnement hépatique, rénal et cardiaque, et aussi peut être dangereuse pour les enfants, elle peut provoquer des convulsions épileptiques, dans la mesure où la quantité de drogue employée à des fins culinaires reste faible, pour les consommateurs (**Bruneton, 1996**). Les feuilles de sauge sont contre-indiquées pendant la grossesse et l'allaitement, ainsi que dans les cancers hormono-dépendants (cancer du sein), en raison de leur capacité à stimuler l'ovulation.

Chapitre II

Généralité sur Les Polyphénols

II Les polyphénols :

II.1 Généralités sur les polyphénols :

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les plus représentés sont les flavonoïdes et les tannins (Boizot et Charpentier, 2006).

L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (Figure 03), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction: éther, ester ou hétéroside (Bruneton, 1999).

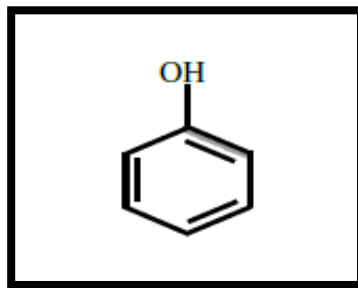


Figure 03 : Structure du noyau phénol (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

II.2 Biosynthèse des composés phénoliques :

La plupart des molécules phénoliques sont formées à partir de deux acides aminés aromatiques, tyrosine et phénylalanine. Ces acides aminés sont formés de façons variables suivant les végétaux, à partir de la voie de l'acide shikimique (Macheix *et al*, 2005) et (Richter, 1993). Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe, d'un tissu particulière (Guignard, 2000 ; Bruneton, 2008).

a. Voie du Shikimate :

C'est la voie de biosynthèse principale des composés aromatique dans les plantes et les micro-organisme, y compris les acides aminés aromatique : la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane (Kening *et al.*, 1995). Ce sont des métabolites primaires qui servent de précurseurs pour de nombreux de produits naturels (secondaire) tel que les flavonoïdes, les acide phénoliques, les coumarines, les alcaloïdes... (Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2001).

b. Voie de l'acétate :

Ce mode de formation plus secondaire consiste à la cyclisation des chaînes polycétonique, elles-mêmes obtenus par condensation de groupement acétates. La condensation des groupements acétates ne se fait qu'après carboxylation de l'acétyl CoA en malonyl CoA (Merghem, 2009).

II.3 Structure et classification des composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont classés selon le nombre d'atome de carbone dans le squelette de base, ces structures peuvent être sous forme libres ou liées à l'ester ou hétérosides (Bruneton, 1999).

II.3.1 Les acides phénoliques :

Le terme d'acide -phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et hydroxyle phénolique (Bruneton, 1999).

- Propriétés physico-chimique :
 - Les phénols sont en principe solubles dans les solvants organiques polaires
 - Ils sont solubles dans les solutions de sodium et de carbonate sodium
 - Les acides -phénols sont solubilisés par les hydrogénocarbonates
 - Ils sont extractibles par les solvants organiques en milieu légèrement acide (Bruneton, 1999).

II.3.1.1 Les acides hydroxybenzoïques :

Ils sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une structure chimique de type (C6-C1). Ils sont présents sous forme d'esters ou de glucosides et sont libérés suite à une hydrolyse basique de la lignine et de certains tannins (Macheixet *al.*, 2005).

Les acides hydroxybenzoïques sont répandus dans les aliments tels que le thé, le vin rouge, pomme de terre et certains fruits comme la fraise (Chanforan, 2010).

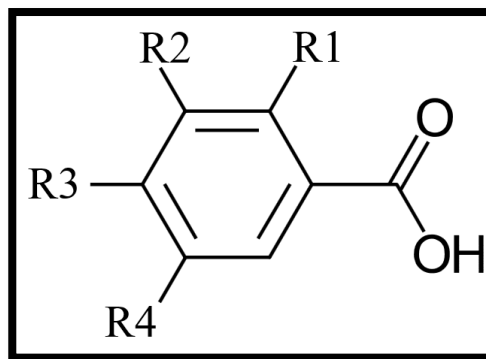


Figure 04: Structures chimiques des acides hydroxybenzoïques (Bruneton, 2008).

II.3.1.2 Les acides hydroxycinnamiques :

Ils dérivent de l'acide cinnamique de la formule (C6-C3). Ils sont souvent estérifiés et peuvent être aussi amidifiés ou combinés avec des sucres. Leur réactivité chimique est déterminée par le degré d'hydroxylation et la modification du cycle benzénique par des réactions secondaires (Macheix *et al.*, 2005).

La forme libre des acides hydroxycinnamiques est généralement rare, elle est abondante dans le café, la pomme, les épinards et le chou (Chanforan, 2010).

II.3.1.3 Les flavonoïdes :

Caractérisés par un squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration de type (C6-C3-C6). Les flavonoïdes sont constitués d'un squelette formé de 2 cycles aromatiques (A et B) et un hétérocycle (C) à oxygène (Erdmanet *al.*, 2007).

La distinction entre les différentes classes des flavonoïdes repose sur la structure et le degré d'oxydation de l'hétérocycle central (Macheix *et al.*, 2005). Les flavonoïdes sont considérés comme des pigments naturels des plantes. Ils préviennent les risques de maladies cardio-vasculaires (Erdmanet *al.*, 2007).

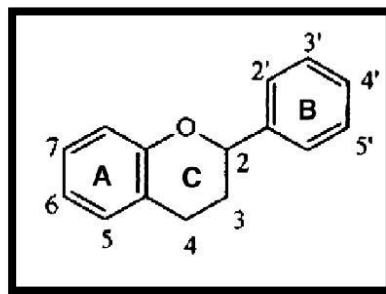


Figure 05: Structure de base des flavonoïdes (Erdmanet *al.*, 2007).

II.3.1.4 Les tanins :

Le terme tanin provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits des plantes pour tanner les peaux d'animaux, autrement dit pour transformer une peau en cuir (Hopkins, 2003).

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Bruneton, 1999).

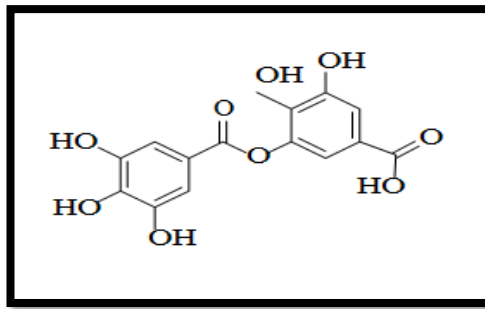
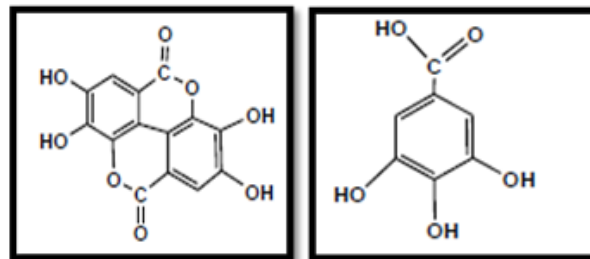


Figure06: Structure de base des tanins hydrolysables (Hartzfeld et al., 2002).



Acide élagallique

Acide gallique

Figure 07: Structure chimique de quelques tanins hydrolysables (Crestini et Lange, 2015).

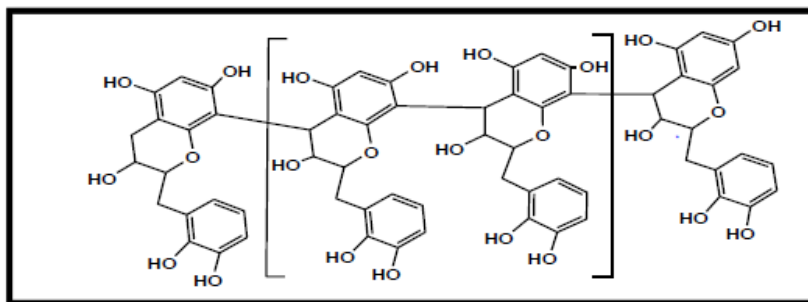


Figure 08: Structure chimique des tanins condensés (Macheix et al., 2005).

II.3.1.5. Les stilbènes :

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

Les stilbènes sont structurellement caractérisés par la présence d'un noyau de 1,2-diphényléthylène hydroxyles substitués sur les anneaux aromatiques, et existent sous forme de monomères ou d'oligomères (**Xiuzhen et al., 2007**).

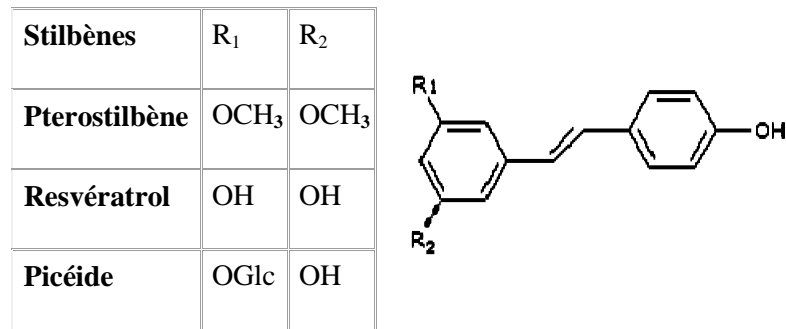


Figure 09: Structures chimiques de quelques stilbènes (Perret, 2001).

II.3.1.6. Les lignanes ou lignanes :

Le terme lignane à l'origine présenté par Haworth en 1936.

La lignine est un polymère très complexe que l'on retrouve dans toutes les plantes vasculaires (Ptéridophytes, Angiospermes et Gymnospermes) (Hofmann, 2003). Ils ont été identifiés dans tous les tissus et dans toutes les parties des plantes (les racines, les feuilles, les fruits et les graines) (Midoun, 2011).

Au niveau des végétaux, ils forment une barrière mécanique, et réduisant la digestibilité des sucres de la paroi et participent à la résistance aux microorganismes et aux herbivores. De plus, la lignification est une réponse courante à l'infection ou la blessure (Murry *et al.*, 1982).

II.4 Les polyphénols dans la plante : localisation et rôle

À l'échelle cellulaire, les CPs synthétisés dans le cytosol s'accumulent principalement dans deux sites: La vacuole où sont stockées les molécules solubles (flavonoïdes, tanins...), conjugués avec des sucres ou des acides organiques, ce qui permet d'augmenter leur solubilité et de limiter leur toxicité pour la cellule. Au niveau de la paroi cellulaire on trouve surtout de la lignine et des flavonoïdes liés aux structures pariétales (Bénard, 2009) pourraient également être présents au niveau du noyau et de la membrane plasmique, mais toujours à très faible concentration (Sarni-Manchado et Cheynier, 2005).

À l'échelle tissulaire, la localisation des polyphénols est liée à leur rôle dans la plante et peut être très caractéristique et très variable (Macheix *et al.*, 2005). Au sein même des feuilles la répartition des composés est variable, par exemple les flavonoïdes sont majoritairement présents dans l'épiderme (Tomas-Barberan et Espin, 2001).

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes parasites...), dans les interactions des plantes avec leur environnement

biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV).

II.5 Propriétés médicinales des composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont absorbés à travers la barrière intestinale et parviennent au niveau de tissu cibles où ils peuvent exercer des effets protecteurs. Donc le rôle des composés phénoliques dans la prévention des maladies cardiovasculaires et cancers est très étudié (**Havsteen, 1993**).

II.5.1 Activité anti-inflammatoire :

De nombreuses études indiquent que les polyphénols notamment les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires, et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation athérosclérotique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires (**González-Gallego et al., 2007**).

II.5.2 Activité antimicrobienne :

Plusieurs preuves ont confirmé l'effet antibactérien de *salvia officinalis*. Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tanins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes (**Williamson et Manach, 2005**). Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrolases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (**Cowan, 1999**).

II.5.3 Activité anticancéreuse :

Les flavonoïdes et autres substances phénoliques peuvent jouer un rôle préventif dans le développement du cancer. Ils agissent comme des pièges de mutagènes électrophiles ou interviennent dans la phase d'initiation en stimulant la réparation de l'ADN muté. Durant les étapes de promotion et de progression, ils agissent comme des agents suppresseurs de tumeurs par différents mécanismes comme l'induction de l'apoptose et l'inhibition de la prolifération cellulaire (**Pincemail et al., 1999**).

Les polyphénols peuvent également déclencher l'apoptose dans les cellules cancéreuses à travers la modulation d'un certain nombre d'éléments principaux en signal cellulaire (**Link et al., 2010**).

II.5.4 Activité antioxydants :

Les antioxydants sont des composés qui protègent les cellules du corps des dommages causés par radicaux libres (**Willcox et al., 2004**). C'est pourquoi l'oxygène considéré comme une source de vie pour les organismes aérobies au même temps comme une source d'agression pour l'organisme (**Ekoumou, 2003**).

Les flavonoïdes sont généralement de puissants antioxydants; certains de ces composés présentent en effet une activité antioxydante jusqu'à 200 fois supérieure à celle de la vitamine E. Les flavonoïdes expriment les propriétés anti-oxydantes par : Le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ERO), La suppression de la formation des ERO par l'inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur production, La protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme (**Boudiaf, 2006**).

Concernant le pouvoir antioxydant des tannins, cette propriété est très remarquable due à leurs noyaux phénols (**Rahman et al., 2006**). Les autres composés phénoliques qui possédant les activités antioxydantes et antiradicalaires sont l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chlorogénique (**Bossokpi, 2002**).

Chapitre III

Généralité sur Les nanoparticules

III Généralités sur les nanoparticules :

Les nanotechnologies ont suscité un grand intérêt ces dernières années. Ferrari définit les nanoparticules comme la science qui consiste à manipuler la matière artificielle à l'échelle nanométrique.

III.1 Les nanoparticules (NPS) :

III.1.1 Définition :

Le préfixe « nano », dérivé du mot grec « nano » signifiant « nain » représente dans le système international un milliardième d'une unité de base (**Buzea et al., 2007**).

Les nanoparticules (NPs) sont des agrégats de petites molécules de taille nanométrique (dimension entre 1 et 100 nm) constitués de quelques centaines à quelques milliers d'atomes. La taille nanométrique augmente la surface de contacts entre les matériaux, ce qui leur confère une plus grande réactivité.

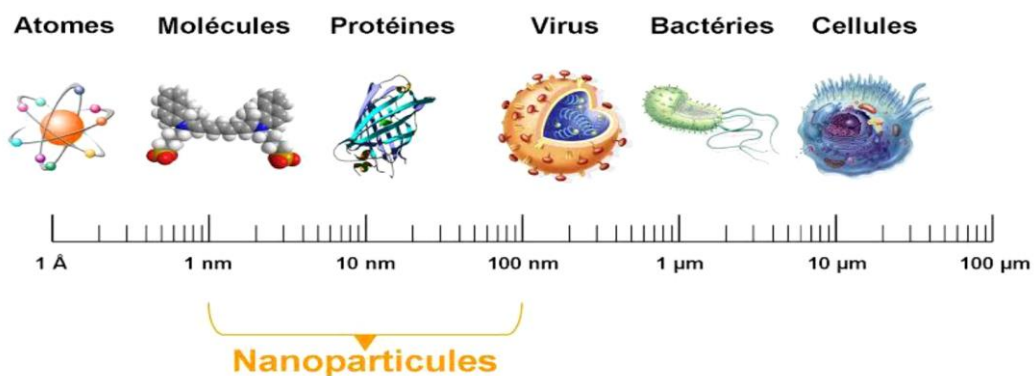


Figure 10: Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celles des principales structures chimiques et biologiques (Goutayer, 2008).

III.1.2 Origine des nanoparticules :

III.1.2.1 Les nanoparticules naturelles :

Les NPs sont abondantes dans la nature, car elles sont formées par de nombreux processus naturels, tels que les réactions photochimiques, les éruptions volcaniques, les incendies de forêt et l'érosion simple, ainsi que par les plantes et les animaux, comme le perdre de la peau et les cheveux (**Buzea et al., 2007**), les nuages, les embruns, et la tempête de poussière (**Naseer, et al., 2018**).

III.1.2.2 Les nanoparticules artificielles :

Les nanoparticules (NPs) d'origine anthropogénique sont divisées en deux sous-familles différentes :

- Les nanoparticules accidentelles (NPA) : Cela est également dû au fait que les humains génèrent des milliards de déchets, en particulier des déchets industriels, les moteurs des automobiles, en particulier les moteurs diesel, sont également une source majeure de particules atmosphériques dans les zones urbaines. Les moteurs d'avion, les pneus, les cigarettes et la destruction de bâtiments sont également des sources de NP.
- Les nanoparticules manufacturées (NPM) : sont des produits synthétisés par l'homme pour des usages spécifiques. Dans la dernière catégorie, les NPs les plus en vue sont : les nanoparticules d'or et de fer ; les oxydes d'argent et de titane ; les nanoparticules à base de polymère (**Ju-Nam et Lead., 2013**).

III.2 Nanoparticules d'oxyde d'aluminium Al_2O_3 (Alumine) :

III.2.1 Définition d' Al_2O_3 :

Al_2O_3 ou alumine se réfère généralement au corindon. C'est un oxyde blanc. 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**).

III.2.2 Domaine d'utilisation :

Les nanoparticules d'oxyde d'aluminium (Al_2O_3 NPs) ont été utilisées dans plusieurs applications industrielles et biomédicales. Cependant, les études sur les nanoparticules d' Al_2O_3 NP se limitent principalement à des rapports sur l'exposition aiguë (**Wanger et al., 2007**). Les nanoparticules d'oxyde d'aluminium peuvent éventuellement entrer dans la chaîne alimentaire et être responsables de la toxicité chez les animaux (**Rastogi et al., 2017**).

III.2.3 Toxicité d' Al_2O_3 :

- **Effets aigus :**

L'ingestion d'oxyde d'aluminium est rare et n'entraîne pas de problèmes toxicologiques; la plupart des expositions se font par inhalation. Aucune caractéristique suite à une inhalation aiguë n'a été signalée. (**Nielsen et al., 1993**).

- **Effets chroniques :**

- **Toxicité cutanée**

Il y a des rapports de sensibilité de contact à l'aluminium mais c'est extrêmement rare. Les manifestations cutanées suivant l'oxyde d'aluminium topique sont rares. (**Kotovirta et al., 1984**).

- **Toxicité osseuse**

l'exposition professionnelle à l'aluminium et à l'oxyde d'aluminium nuire à la densité osseuse (Schmid *et al.*, 1995).

- **Toxicité pulmonaire**

Dans une étude contrôlée des symptômes respiratoires chez 25 aluminiums les soudeurs Nielsen et al (1993) ont signalé une augmentation significative incidence de la pharyngite. Les premiers symptômes comprennent la dyspnée et la toux bien que chez certains patients, le premier indice de maladie respiratoire est la découverte des nodules miliaires répandus sur la radiographie pulmonaire (Sjögren *et al.*, 1996).

III.2.4 Hépatotoxicité :

III.2.4.1 Généralités sur le foie :

III.2.4.1.1 Définition :

Le foie est l'organe le plus grand dans l'organisme, il pèse environ 1.5 à 2 kg chez l'adulte moyen (Tortora et Derrickson, 2007). Il recouvert par le péritoine viscéral, et outre complètement enveloppé d'une couche de tissu conjonctif dense irrégulier se trouve sous le péritoine (Harold, 2011; Naudot, 2013).

III.2.4.1.2 Anatomie du foie :

Le foie est l'organe le plus volumineux, il constitue 2% de la masse corporelle. Il est constitué de deux parties, le lobe gauche (1/3 du volume) et le lobe droit (2/3 du volume), le foie est capable d'une régénération en masse, il possède toutes les caractéristiques d'une glande exocrine d'une part, en étant responsable de la sécrétion de la bile, et d'une glande endocrine d'autre part grâce à sa situation sur le courant sanguin et à la disposition particulière de sa vascularisation (Nakai H, 2011).

Il est composé de différents types cellulaires : les hépatocytes (60 à 65% des cellules hépatiques), les cellules endothéliales sinusoidales (15 à 20 %), les cellules de Kupffer (8 à 12 %), les cellules stellaires (3 à 8 %), les cholangiocytes (cellules épithéliales constituant le canal biliaire, 3 à 5%) et les cellules dendritiques hépatiques (moins de 1 %) (Nakai H, 2011).

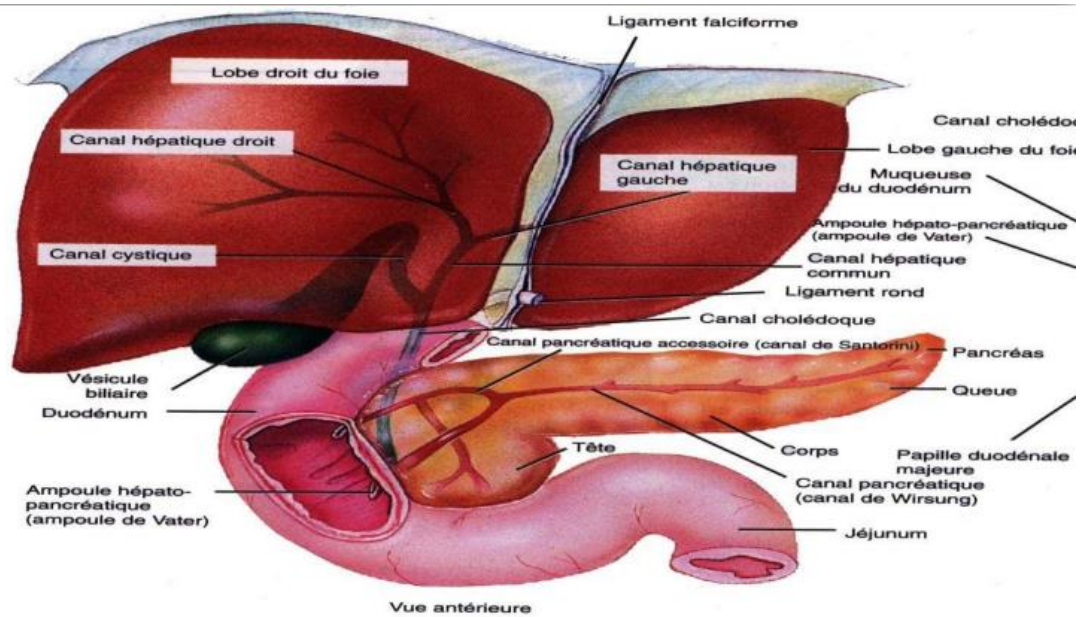


Figure 11: Anatomie du foie (principes d'anatomie et de physiologie, tortora GrabowskiDeBoeck université – Editions français).

III.2.4.1.3 Les fonctions hépatiques :

Le foie joue un éventail étonnant de fonctions vitales dans la maintenance, la performance et réguler l'homéostasie du corps. Il est impliqué avec presque toutes les voies biochimiques, la croissance, la lutte contre les maladies, l'apport de nutriments, la fourniture d'énergie et la reproduction (Aashish *et al.*, 2012).

Le foie possède en effet une fonction exocrine, c'est la sécrétion de la bile et une fonction endocrine en déversant dans le sang un nombre considérable de substances issues de l'activité de ses cellules (Grignon, 1996).

III.2.5 Pathologies du foie :

L'hépatotoxicité est définie comme le pouvoir qu'a une substance de provoquer des dommages au foie (Therrien, 2009). Les composés exogènes qui causent des dommages au foie sont appelés hépatotoxines ou hépatotoxiques (Singh *et al.*, 2011). Alors l'hépatotoxicité se réfère à un dysfonctionnement hépatique ou à une lésion du foie associée à une altération de la fonction hépatique causée par l'exposition à des xénobiotiques (Navarro *et al.*, 2006).

III.2.5.1 Hépatite toxique :

a) **L'hépatite alcoolique** : Correspond à la forme histologique d'inflammation causée par la consommation chronique et excessive d'alcool (Louvet, 2017).

b) **Hépatites médicamenteuses** : Une lésion hépatique induite par un médicament idiosyncrasique ou une réaction hépatique adverse inattendue sur la base de l'action pharmacologique du médicament administré (Oestreicher, 2017).

III.2.5.2 Lésion hépatique :

a) **Stéatose hépatique non alcoolique**: L'accumulation excessive de lipides dans le foie en l'absence de consommation importante d'alcool (NASH) et on la retrouve essentiellement chez les personnes en surpoids ou obèse, souffrant de diabète (Baillargeon, 2015).

b) **Cholestase hépatique**: Diminution d'une fonction hépatique, ou une diminution et disparition de l'écoulement de la bile générant une augmentation du volume de la bile dans les voies biliaires (Valla, 2013).

c) **La fibrose**: Régénération des cellules du foie en formant un tissu cicatriciel fibreux pendant les premiers temps de l'inflammation hépatique (Faivre, 2015).

d) **Nécrose**: La nécrose a été définie comme un type de mort cellulaire qui ne présente pas les caractéristiques de l'apoptose et de l'autophagie, et elle est généralement non contrôlé.

De plus, l'inhibition de protéines spécifiques impliquées dans la régulation de l'apoptose ou de l'autophagie peut changer le type de mort cellulaire en nécrose (Golstein et Kroemer, 2007).

e) **Le cancer du foie**: Des cellules anormales qui se multiplient de manière incontrôlée. La mutation de certains gènes est à l'origine de leur apparition. Certains se développent d'emblée dans le foie, on parle de tumeurs dites primaires. Certaines cellules cancéreuses ont alors migré dans le sang jusque dans le foie, on parle de métastases ou de tumeurs secondaires (Faivre, 2015).

III.3 Le stress oxydatif :

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive des radicaux oxygénés toxiques, situation que les chercheurs impliquent dans la plupart des maladies humaines (Favier, 2003).

III.3.1 Définition :

Le stress oxydant est un déséquilibre de la balance entre les oxydants et les antioxydants en faveur des premiers, ce qui conduit à une hyperproduction des radicaux libres et/ou une défaillance du système antioxydant (Pincemail *et al.*, 2000). Ce déséquilibre induit une altération des systèmes de signalisation cellulaire et des autres fonctions (Azzi, 2007).

L'appellation « espèces réactives à l'oxygène » n'est pas restrictive, elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit radical super oxyde (O_2^-), radical hydroxyle (OH), monoxyde

d'azote (NO), mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et les peroxy-nitrites ($OONO^-$) (Roberts *et al.*, 2010). Si les systèmes antioxydants ne parviennent pas à inactiver l'excès d'ERO, ces espèces réagiront avec les substrats biologiques tels que les lipides, les protéines et les acides nucléiques produisant ainsi des modifications irréversibles. (Andresen *et al.*, 2006).

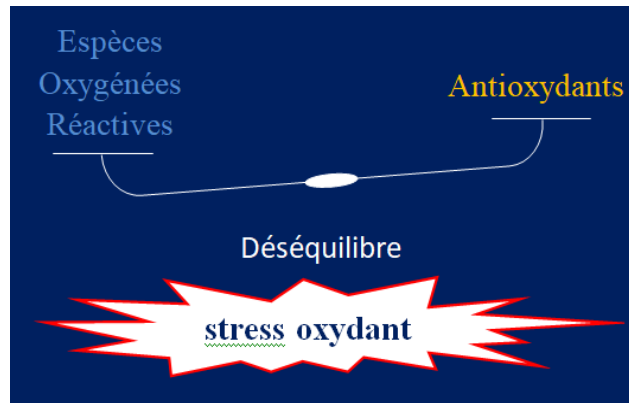


Figure 12 : Balance radicaux libres / antioxydants (Shimizu, 2004).

III.3.2 Pathologie associée au stress oxydant :

Le stress oxydant est un phénomène biologique générique pouvant induire de nombreuses maladies (Guillaume.G, 2013). En entraînant l'apparition de biomolécules anormales et la surexpression de certains gènes, le stress oxydatif va devenir une cause initiale majeure de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aiguë, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré. Il est également admis que le stress oxydant est un facteur potentialisant l'apparition de maladies multifactorielles comme les maladies cardiovasculaires, le diabète, et la maladie d'Alzheimer (Delattre *et al.*, 2005).

Chapitre IV

Matériels et méthodes

I. Matériels :

Notre étude a été réalisée au niveau de l'animalerie du département de biologie de la faculté des sciences de l'université de 20 aout 1955 Skikda.



Figure 13: l'animalerie de l'université de 20 Aout 1955 Skikda (photo originale, 2023).

I.1 Matériel biologique : qui se divise en deux parties :

I.1.1 Matériel végétale :

La plante qui a servi à cette étude est *Salvia officinalis*. La récolte des feuilles a été faite pendant le mois Mars 2023 dans la région de Jeanne d'arc wilaya de Skikda.

I.1.2 Matériel animal :

Notre étude expérimentale a été réalisée sur 42 rats blancs de sexe femelle de la souche Albinos *Wistar*, provenant de l'institut pasteur d'Alger, de poids corporel (100g-150g), âgés de 2 mois. Des animaux qui appartiennent à l'espèce des mammifères nocturnes et à l'ordre des rongeurs, fréquemment utilisé dans les recherches expérimentales. On utilise le rat car son matériel génétique (génome) ressemble beaucoup à celui de l'homme et parce qu'il est facile à élever.

Les rats sont gardés d'élevage dans l'animalerie d'université de 20 aout 1955, Skikda pour une période de 38 jours (10 jours d'adaptation, 28 jours de traitement).

I.1.2.1 Classification des rats :

Tableau 1: classification des rats.

Règne	Animal
Embranchement	Cordés
Classe	Mammifères
Ordre	Rongeurs
Famille	Muridés
Genre	<i>Rattus</i>
Espèce	<i>Rattus</i> (rat noir) <i>norgévicus</i> (rat d'égout)

I.1.2.2 Les conditions d'élevage :

Les rats étaient dans des conditions naturelles (température ambiante, photopériode naturelle). Ils sont logés dans 6 des cages en polyéthylène, grillagées, chaque cage contient 7 rats munis d'étiquettes mentionnant les noms des lots. Ces cages sont tapissées de litière en copeaux de bois, ils sont nettoyées quotidiennement et la litière est changée chaque jours jusqu'à la fin de l'expérimentation. Ils ont libre accès à l'eau et à la nourriture (cette dernière est fournie sous forme de croquettes) et renouvelée quotidiennement.



Figure 14: Les conditions d'élevage des rats (photo originale, 2023).

I.2 Matériel chimique :

Dans cette étude, des nanoparticules, à savoir l'oxyde d'Aluminium (Al_2O_3), ont été utilisées pour traiter des rats à la dose de 50 mg/kg/jour sous forme solution avec l'eau distillée. La solution obtenue a été conservée à une température ambiante dans un flacon en verre à l'abri de la lumière vive pendant toute la durée d'utilisation. La sélection de la dose est basée sur des études précédentes.

I.3 Matériels d'étude au laboratoire :

Tous les matériaux et des produits utilisés dans nos expérimentations sont cités au fur et à mesure de leurs utilisations.

II Méthode :

I.2 Séchage et broyage de la plante :

L'étude phytochimique a été effectuée sur la partie aérienne (feuilles). Après identification des plantes, les feuilles sont nettoyées des impuretés puis elles sont mises à sécher dans un étuve et à température $40^{\circ}C$ pendant 3 jours. Après le séchage, elles sont broyées et tamisées en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique.

Feuilles de *salvia*

Séchage dans l'étuve

Broyage des feuilles

Poudre fine de plante

Figure 15: Etapes du séchage et broyage de *Salvia officinalis* (Photo originale, 2023).

II.2 Préparation de l'extrait méthanolique :

L'extrait méthanolique de *Salvia officinalis* est préparé par macération solide-liquide. Dans un bécher, une quantité de la plante broyée avec de méthanol 70 % puis on laisse le tout sur un agitateur électrique à l'obscurité pendant 3 heures. Après, on filtre le mélange sur papier Wattman (3 MM). Le filtrat est récupéré dans des boîtes de pétrie puis elles sont mises à sécher dans un étuve et à température 35°C.

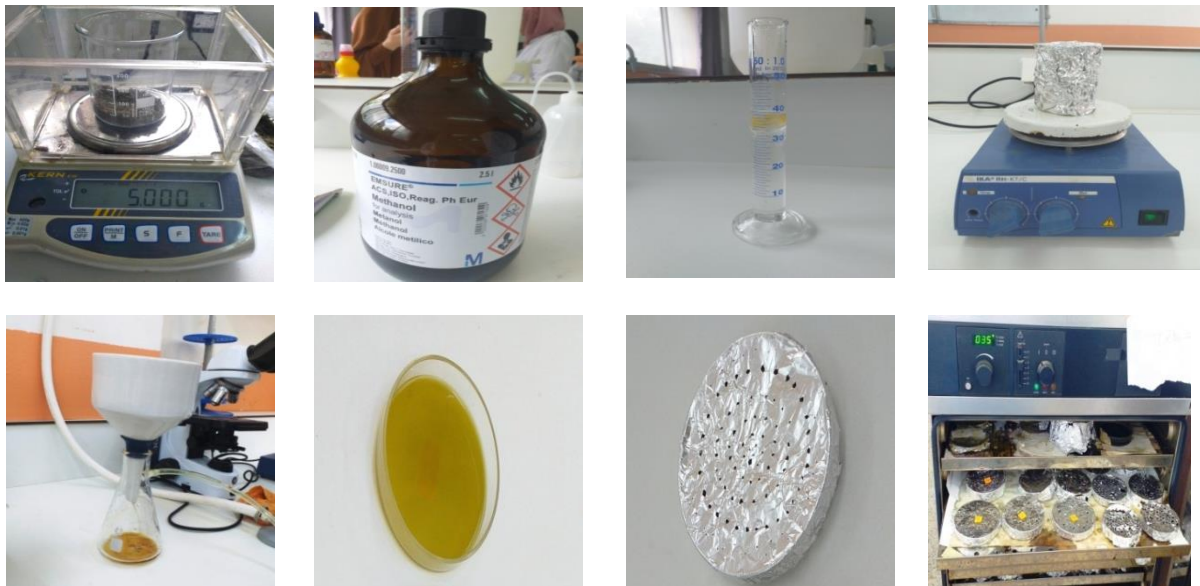


Figure 16 : L'extraction méthanolique de *Salvia officinalis* (photo originale, 2023).

II.3 Détermination du rendement d'extraction :

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

$$R\% = (M/Mt) \times 100$$

R : Rendement exprimé en %.

M : la masse de l'extrait brut (m1-m2) (en g).

m1 : la masse de boîte avec l'extrait après évaporation (en g).

m2 : la masse de boîte vide (en g).

Mt : la masse du matériel végétal à traiter (en g).

II.4 Etude quantitative :

II.4.1 Dosage des polyphénols totaux :

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

II.4.1.1 Mode opératoire :

Il consiste à mélanger 200 μ l de l'extrait (5 mg d'extrait dilué dans 10 ml de Méthanol) avec 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans l'eau distillé). Mélanger Les solutions et incuber pendant 4 minutes. Après cette incubation, 800 μ l de la solution de Na_2CO_3 ont été ajoutés. Après une 2^{ème} incubation dans l'obscurité à température ambiante pendant 2 heures, une couleur bleue est obtenu (La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait analysé (kassemi, 2006). La teneur est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 765 nm.

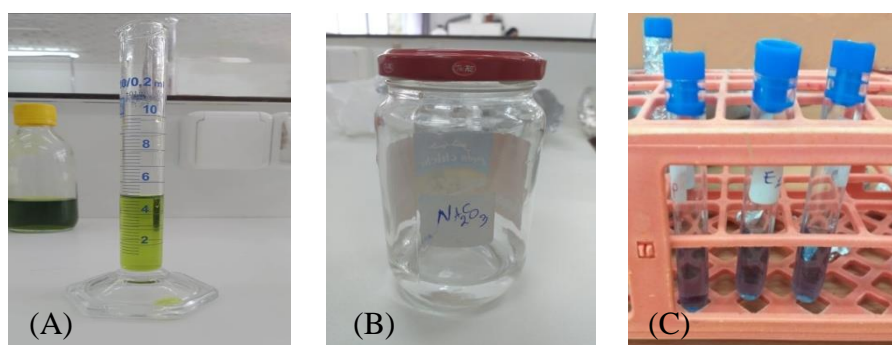


Figure 17: Réactif de Folin-Ciocalteu (A), solution de Na_2CO_3 (B), la Détection chimique des polyphénols (C) (photo originale, 2023).

II.4.1.2 Courbe d'étalonnage :

La teneur 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 (100-12,5 μ g/ml) est exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec.

II.4.2 Dosage des flavonoïdes :

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) citée par (Djeridane *et al.*, 2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes.

II.4.2.1 Mode opératoire :

Pour réaliser l'expérience, 1 ml de l'extrait et du standard, contenant 5 mg d'extrait ou du standard a dissous dans 10 ml de méthanol, ont été combinés. Ce mélange a ensuite été ajouté à une solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol) dosant 1 ml. La solution a été mélangée vigoureusement et laissée à incuber pendant 10 minutes. Après la période d'incubation, l'absorbance a été mesurée à 430 nm.

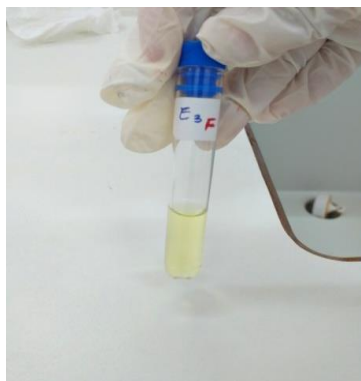


Figure 18: La détection chimique des flavonoïdes (Photo originale, 2023).

II.4.2.2 Courbe d'étalonnage :

La quantification des flavonoïdes a été réalisée sur la base d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = a x + b$) générée à différentes concentrations (20-2.5 µg/ml) de l'étalon de référence "quercétine" dans les mêmes conditions que les échantillons. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent quercétine par gramme d'extrait sec.

II.5 Etude de l'activité antioxydant de l'extrait :

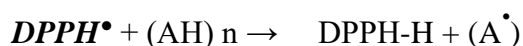
II.5.1 Test du 2, 2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) :

II.5.1.1 Principe de la réaction :

Pour étudier l'activité anti-radicalaire de l'extrait, nous avons choisi la méthode d'utilisation du DPPH comme radical libre relativement stable.

Le DPPH est un radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphenyle picrylhydrazine par un composé à propriété anti-radicalaire, entraînant ainsi une décoloration « l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons » (Sanchez-Moreno, 2002).

La réaction peut être résumée sous la forme de l'équation suivante :



n où (AH) n représente un composé qui peut donner de l'hydrogène au radical DPPH (violet). Convertir en diphenyl picryl hydrazine (jaune). Cela nous permettra de suivre la dynamique de décoloration à 517 nm.

II.5.1.2 Mode opératoire :

Le mélange réactionnel est préparé comme suit : Ajouter 400 µl d'extrait à 1600 µl de DPPH (0.004% préparé dans du méthanol). Dans le même temps, préparer un contrôle négatif en mélangeant 400 µl de méthanol et 1600 µl de solution d'éthanol DPPH. Après incubation pendant 30 minutes dans l'obscurité et à température ambiante, lire l'absorbance à 517 nm contre un blanc préparé pour chaque concentration.

Un témoin positif est une solution antioxydant standard. L'absorbance de l'acide ascorbique (vitamine C) est mesurée dans les mêmes conditions pour chaque concentration d'échantillon sec, et le test est répété trois fois.



Figure 19: Solution de DPPH (photo originale, 2023).

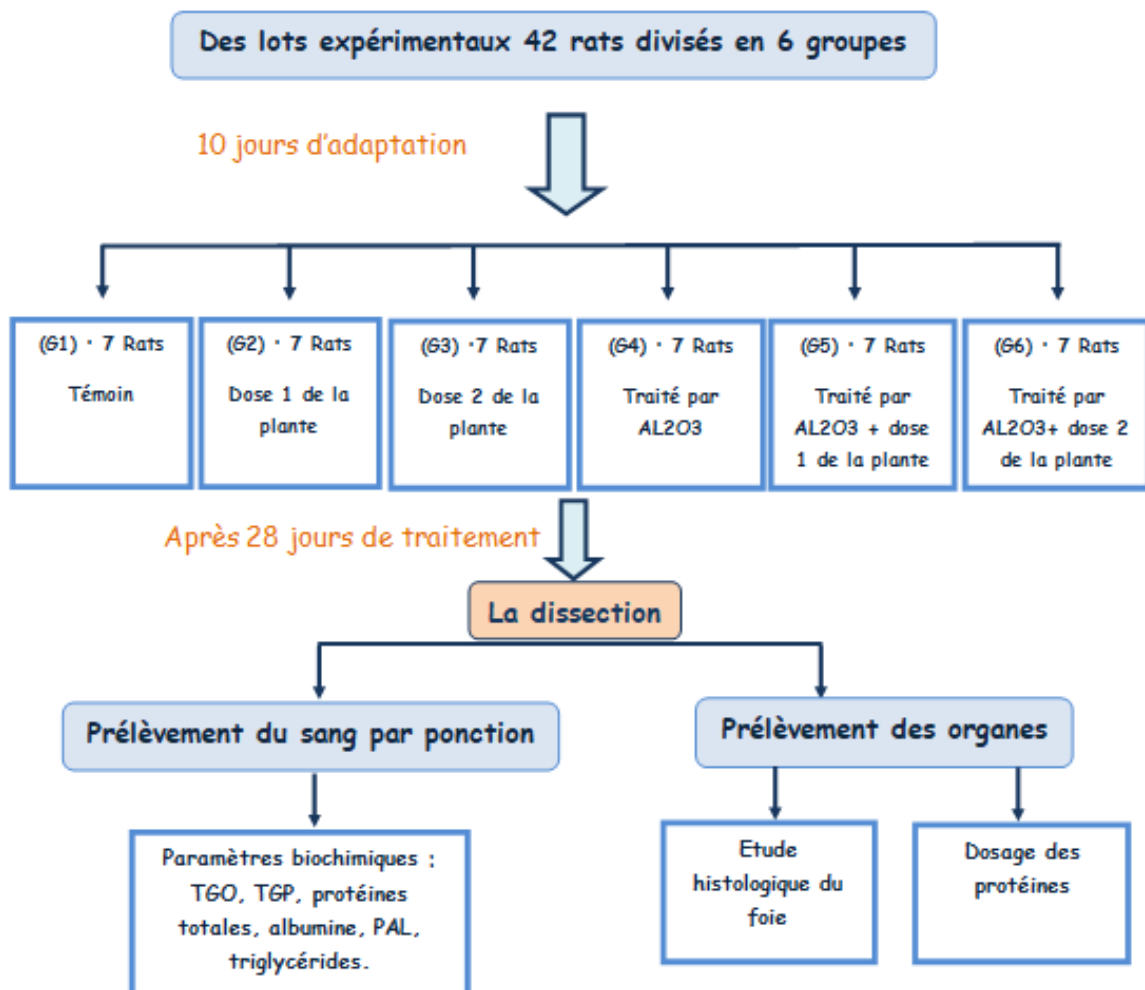
- L'activité anti-radicalaire est donnée par la formule suivante (Yen et Duh, 1994;Belmassous, 2017).

$$\text{Activité anti-radicalaire (\%)} = \frac{\text{Abs contrôle négatif} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle négatif}} \times 100$$

II.5.1.3 Détermination IC50 :

Par définition la valeur IC50 est la concentration de l'acide ascorbique ou de l'extrait qui peut réduire 50% du 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).

II.6 Protocole de l'expérimentation :



II.7 Mesure du poids :

Les rats ont été pesés tous les trois jours pendant la période d'élevage, soit au cours de l'adaptation (pour évaluer d'éventuels changements d'alimentation ou de localisation (facteurs externes)) ou pendant le traitement (pour évaluer les effets des xénobiotiques) avec l'aide d'une petite balance de 500g (marque Aston®).

II.8 Répartition des rats :

Tableau02 : répartition et traitement des rats.

chiffrement des cages	Nombre de Rats	Traitement
G1	07	Les animaux témoins reçoivent quotidiennement les doses suivantes: Eau du robinet et nourriture orale.
G2	07	Animaux traités recevant une dose 1 de la plante administrée par voie orale.
G3	07	Animaux traités recevant une dose 2 de la plante administrée par voie orale.
G4	07	Animaux traités recevant une dose d' Al_2O_3 administrée par voie orale.
G5	07	Animaux traités par une mixture recevant (Al_2O_3 + dose 1 de la plante) administrée par voie orale.
G6	07	Animaux traités par une mixture recevant (Al_2O_3 + dose 2 de la plante) administrée par voie orale.

II.9 Le traitement :

II.9.1 Préparation de nanoparticule :

Après 10 jours d'adaptation, les animaux sont traités par gavage oral spécifique pendant 28 jours avec de l'oxyde d'aluminium « Al_2O_3 » préparée sous forme de solution aqueuse selon le poids corporel (50 mg/kg).

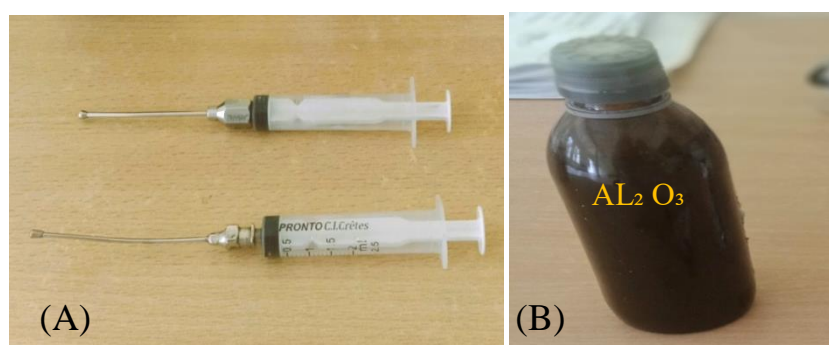


Figure 20: la sonde spécifique (A), Préparation de l'oxyde d'aluminium (B) (photo originale, 2023).

II.9.2 Préparation des doses de l'extrait :

Cette préparation est faite à partir d'extraits de plantes (infusion). Cette étude a utilisé des doses de la plante médicinale *Salvia officinalis*. Administrer la dose 1 (250mg/kg) et la dose 2 (500mg/kg) par voie orale pendant 28 jours pour le traitement prophylactique des animaux contre la toxicité des nanoparticules.

-L'infusion :

Il s'agit d'exposer les plantes fraîches ou séchées à de l'eau bouillante pendant une dizaine de minutes. Ce temps peut varier selon la plante (de 5 à 15 minutes).



Figure 21: Préparation de l'extrait (photo originale, 2023).

L'administration se fait par gavage à l'aide d'une autre sonde en fonction du poids corporel la dose 1 (250mg/kg) et la dose 2 (500mg/kg). Durant 28 jours, l'animal est saisi par la peau dorsale et maintenu dans une position verticale.

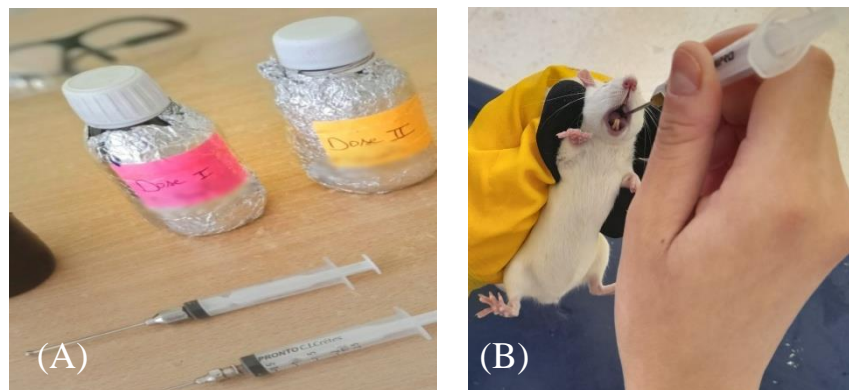


Figure 22: Les doses de l'extrait et la sonde de gavage (A), technique de gavage (B) (Photo originale, 2023).

II.10 Dissection et prélèvement :

À la fin de la période de traitement à l'oxyde d'aluminium et à l'extrait *Salvia officinalis*, les rats à jeun sont anesthésiés au chloroforme puis disséqués ventralement pour recueillir le sang du cœur et prélever le foie.

-L'euthanasie :

Une technique appelée euthanasie ou meurtre d'animaux est utilisée pour mettre fin à la vie d'un animal sans souffrance, stress ou douleur. Nous avons choisi le protocole gaz chloroforme car il existe différents types d'euthanasie.



Figure 23: Dissection d'un rat (photo originale, 2023).

II.10.1 Prélèvement sanguin :

Après la dissection, un prélèvement sanguin a été effectué au niveau cardiaque ouvert.

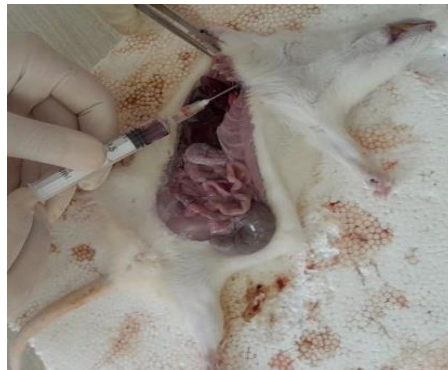


Figure 24 : Prélèvement du sang au niveau cardiaque ouvert (photo originale, 2023).

Le sang prélevé est recueilli dans des tubes à essais héparine pour le dosage des paramètres biochimiques.

Ces tubes sont centrifugés à l'aide d'une centrifugeuse modèle eppendorf centrifuge 5702



Figure 25 : La centrifugeuse eppendorf centrifuge 5702 (photo originale, 2023).

Les analyses biochimiques ont été ensuite effectuées dans le laboratoire d'analyses médicales "BOUHDJILA" El-Harrouch SKIKDA.



II.11 Dosage des paramètres biochimiques :

Le paramètre biochimique est dosé automatiquement sur un automate modèle Snibe Biossays 240 plus.

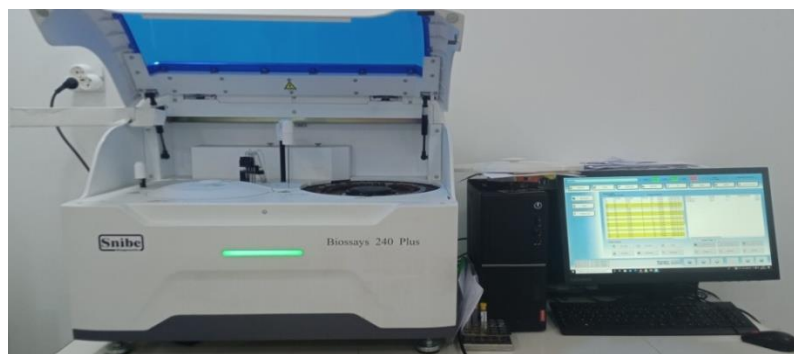
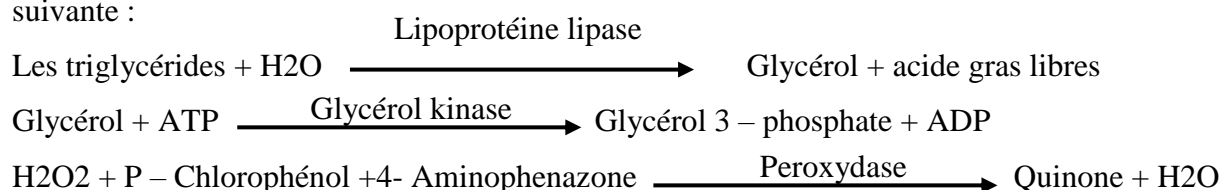


Figure 26 : L'automate des analyses biochimiques modèle Snibe Biossays 240 plus (Photo originale, 2023).

II.11.1 Le triglycéride : Selon la fiche technique Spinreact.

Les triglycérides présents dans l'échantillon forment un complexe coloré selon la réaction suivante :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de triglycérides présents dans l'échantillon testé (**Buccolo *et al.*, 1973 ; Fossati *et al.*, 1982 ; Kaplan *et al.*, 1984**).

II.11.2 L'albumine : Selon la fiche technique Spinreact.

L'albumine se combine au vert de bromocésol, à pH légèrement acide, entraînant un changement de couleur de l'indice, passant du jaune-vert au vert-bleuté, et proportionnel à la concentration d'albumine présente dans l'échantillon testé (**Gendler *et al.*, 1984 ; Rodkey *et al.*, 1965 ; Webster *et al.*, 1974 ; Dumas *et al.*, 1971**).

II.11.3 L'Aspartate-Aminotransférase (ASAT/TGO) : Selon la fiche technique IFcc BIOLABO.

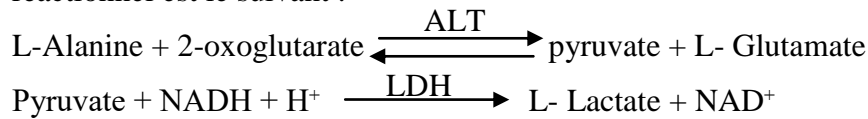
Méthode développée par Karmen *et al.* et optimisée par Henry *et al.* Le schéma réactionnel est le suivant :



La diminution de l'absorbance proportionnelle à l'activité AST dans le spécimen, est mesurée à 340 nm (**Henry *et al.*, 1960 ; J Clin Chem *et al.*, 1986**).

II.11.4 L'Alanine-Aminotransférase (ALAT/TGP): Selon la fiche technique IFcc BIOLABO.

Méthode développée par Wroblewski et La Due, optimisée par Henry et Bergmeyer. Le schéma réactionnel est le suivant :



La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD⁺, et proportionnelle à l'activité ALT dans le spécimen, est mesurée à 340 nm (**Henry *et al.*, 1960 ; Bergmeyer *et al.*, 1978 ; J Clin Chem *et al.*, 1986**).

II.11.5 La phosphatase alcaline (PAL) : Selon la fiche technique (DEA) BIOLABO.

En milieu alcalin, les phosphatases alcalines catalysent l'hydrolyse du p-nitrophénylphosphate en p-nitrophénol et phosphate.

La vitesse d'apparition du p-nitrophénol, suivie par la variation de l'absorbance à 405 nm, est proportionnelle à l'activité PAL dans le spécimen (**Ashwood *et al.*, 1999 ; Klin. Biochem *et al.*, 1972**).

II.11.6 Les Protéines totales : Selon la fiche technique (LP87016) BIOLABO.

Méthode colorimétrique décrite par Gornall *et al.* Les liaisons peptidiques des protéines réagissent avec Cu²⁺ en solution alcaline pour former un complexe coloré dont l'absorbance, proportionnelle à la concentration en protéines dans le spécimen, est mesurée à 550 nm (**Gornall *et al.*, 1949 ; Silverman *et al.*, 1995**).

II.12 Prélèvement des organes :

Les organes ont été prélevés immédiatement après le prélèvement du sang., rincés avec de l'eau physiologique NaCl 0.9% ensuite pesés et conservés dans le formol de 10% pour les coupes histologiques qui a été effectuée au niveau du service d'anatomie pathologique à l'hôpital les martyrs Saad Guermech de Skikda.



Figure27: Prélèvement du foie (photo originale, 2023).

II.12.1 Extraction et dosage des métabolites "protéine" :

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu brillant de coomassie (BBC) (50mg BBC +50ml d'acide orthophosphorique à 85% et on complète à 500ml avec l'eau distillée) comme réactif. Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorants en bleu. On récupère le culot issu de la deuxième centrifugation auquel on a ajouté 1ml du NaOH (0.1N) et on agite énergétiquement pour la dissolution des protéines.

- On prélève, au moyen d'une micropipette, un volume de 100 μ l auquel on ajoute 4ml du réactif BBC
- Ainsi une couleur bleue se développe, les absorbances ont été lues au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm.

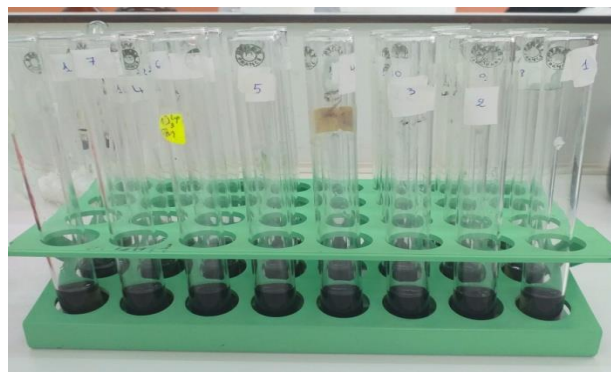


Figure 28: La détection chimique des protéines (photo originale, 2023).

II.12.2 Etude histologiques :

A. Étude macroscopique

Le prélèvement histologique est une biopsie d'une partie extrêmement fine d'un organe.

B. La préparation des cassettes :

- Couper des fragments de 2 mm de l'organe à étudier avec un quêtEUR.
- Les positionner dans des cassettes codées, puis placés dans le formol pendant une période de 24 à 48 heures.



Figure 29: Photographie montrant l'étape de préparation des cassettes (photo originale, 2023).

C. La circulation :

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

- Mettre dans 3 bains successifs d'alcools absolus pour déshydrater l'organe sachant que la paraffine est très hydrophobe (La déshydratation).
- Ensuite mettre dans 2 bains successifs d'acétone pendant 2H.
- Mettre dans 3 bains successifs de xylène
- Enfin, mettre dans de la paraffine liquide pour laver les excès de solvant.



Figure 30: Automate pour la circulation (photo originale, 2023).

D. Inclusion :

Les étapes de l'enrobage sont :

- Dans un moule métallique placé à l'étuve à 56°C , on verse au fond quelques gouttes de paraffine liquide.
- Mettre l'organe en veillant au sens pour obtenir une coupe de tous les tissus.
- Recouvrir la pièce par la cassette, puis rajouter de nouveau de la paraffine liquide
- Après le refroidissement du moule à une température de -2°C , on obtient un bloc de paraffine dur qui contient la pièce prélevée.

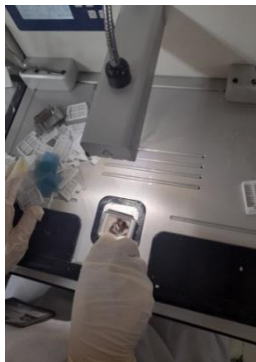


Figure 31: Etapes de confection d'un bloc de paraffine (photo originale, 2023).

E. La coupe :

Les coupes sont effectuées à l'aide d'un microtome et pour obtenir des coupes très fines, l'épaisseur est réglée à 10 μ m.

- Mettre le ruban dans un bain marie à 50°C pour décontracter la paraffine.
- Prendre 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 32: Photographie récapitulant les étapes de la coupe (bain marie (A) microtome (B) l'étuve (C)) (photo originale, 2023).

F. La coloration hématoxyline d'Harris Eosine (HE) :

Cette méthode de coloration dure 45min :

- Bain à l'hématoxyline, permet de colorer les noyaux.
- Rinçage eau du robinet.
- Rinçage eau distillée.
- Bain à l'éosine, permet de colorer le cytoplasme en rose.
- Rinçage eau distillée.
- Bain dans l'alcool.
- Bain dans l'xylène.



Figure 33: Photographie récapitulant l'étape de coloration (photo originale, 2023).

G. Le montage :

Après l'enlèvement des lames d'xylène on fait le montage :

- La lame est humidifiée par l'xylène avant l'application de la colle spécifique (l'EUKIT) qui permet de coller correctement la lame avec la lamelle et aussi de donner une observation très claire et transparente.
- Mettre la lamelle, et presser pour enlever le reste d'air, à la fin, les lames doivent être laissées jusqu'au séchage avant d'être placées dans la porte lame.

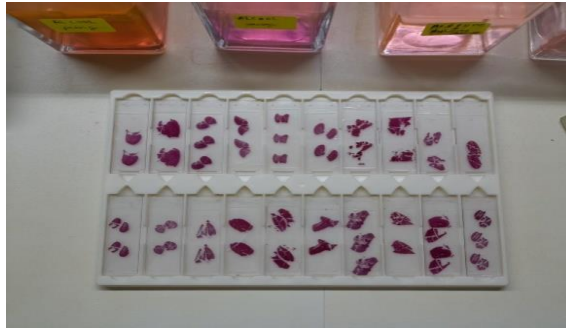


Figure 34 : Les lames montées et prêtes pour l'observation (photo originale, 2023).

H. Observation microscopique:

L'observation des lames se fait dans le service d'anapath, par un grossissement (Gx100 et 40).

Etude statistique :

- Ces calculs ont été effectués à l'aide de logiciel Tuké (IBM SPSS Statistics 25) d'analyse et de traitement statistique des données.
- Les résultats obtenus sont traités sous la forme de (moyenne \pm écartype) et ensuite sont représentés en des graphes à l'aide de Microsoft office Excel 2007.

La valeur trouvée par le calcul du test peut affirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur p tel que :

- $p > 0.05$: la différence n'est pas significative
- $p \leq 0.05$: la différence est significative*
- $p \leq 0.001$: la différence est très significative**
- $p \leq 0.0001$: la différence est hautement significative***

- Nous avons déterminé, grâce aux statistiques élémentaire ; les paramètres statistiques pour chaque lot expérimental. Les données ont été analysées par l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA).

Chapitre V

Résultat et discussion

I Résultats :

I.1 Le rendement de l'extraction méthanolique de *Salvia officinalis* :

Le rendement de l'extraction qui est le rapport entre le poids d'extrait sec et le poids de plante utilisée est 11.66%.

I.1.1 Evaluation des polyphénols :

Après le dosage, la teneur en polyphénol est obtenue à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (figure 35). Sa formule de régression linéaire est $y=0.015x+0.191$ avec un coefficient de détermination $R^2 = 0.961$.

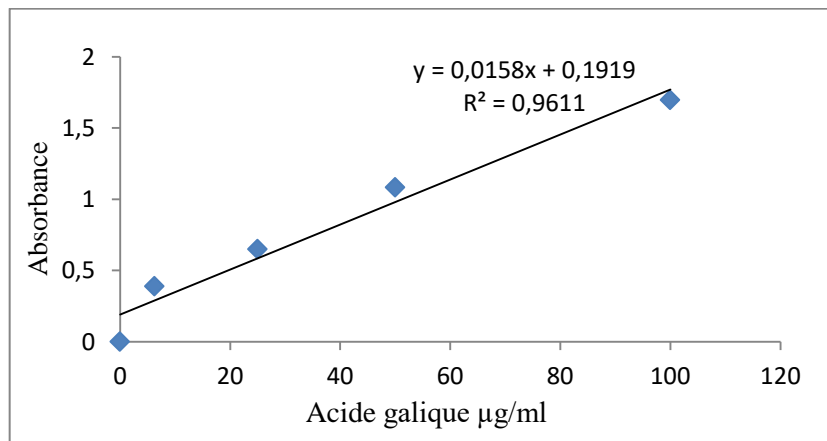


Figure 35 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

Le résultat de dosage montre que l'extrait du *Salvia officinalis* contient une quantité importante de polyphénols ($x=31.53\pm 0.041$ mg EAG/g ES).

I.1.2 Evaluation des flavonoïdes :

Après le dosage, la teneur en flavonoïdes est obtenue à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine (figure 36) ayant l'équation de formule : $y= 0.024x+0.033$ avec un coefficient de corrélation $R^2=0.986$.

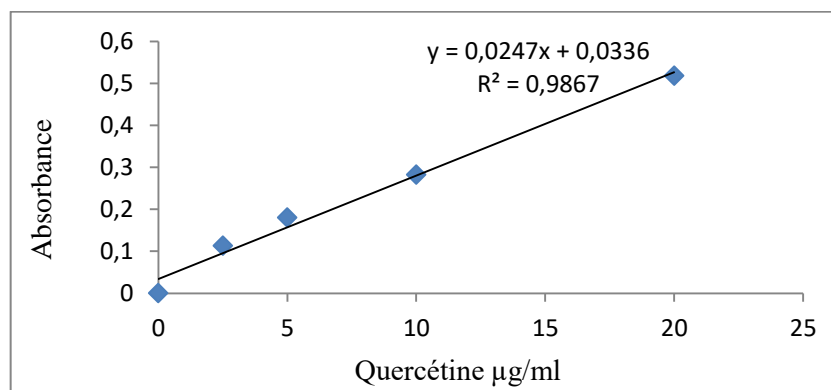


Figure 36: Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

Le résultat de dosage des flavonoïdes a révélé que l'extrait est riche en flavonoïdes ($x=17\pm 0.008\text{mg EQ/g ES}$).

I.1.3 Evaluation de l'activité antioxydante :

La capacité antioxydante de l'extrait est déterminée graphiquement à partir de la courbe d'étalonnage en utilisant l'acide ascorbique comme un antioxydant de référence. D'après les résultats, on remarque que l'extrait de *Salvia officinalis* est capable de piéger les radicaux DPPH avec $IC_{50} = 46 \mu\text{g/ml}$. Cependant, la capacité antioxydante de l'extrait méthanolique reste moindre par rapport à l'antioxydant synthétique de référence, la vitamine C ($IC_{50} = 18 \mu\text{g/ml}$).

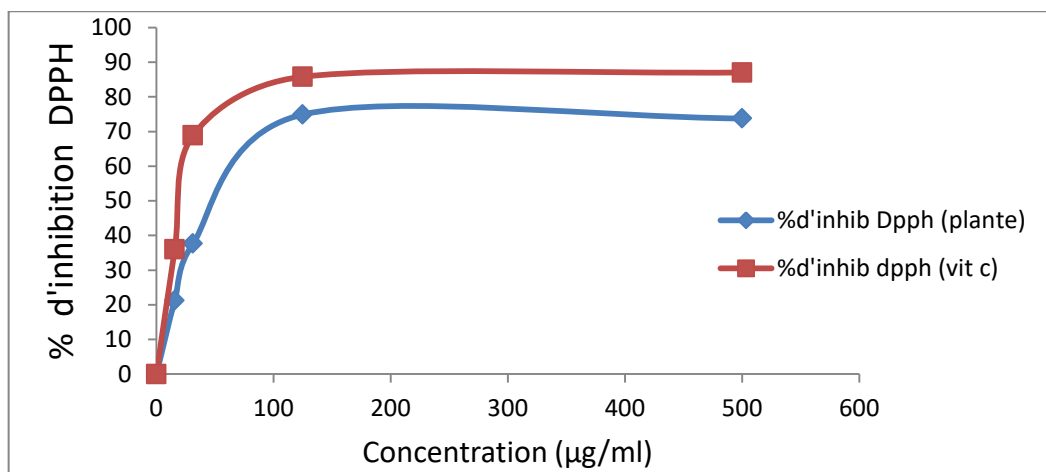


Figure37: Pourcentage d'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *S.officinalis*.

I.2 Effet de l'oxyde d'aluminium et de l'extrait de *S.officinalis* sur les paramètres de croissance globale des rats :

NB: la croissance globale comprend le poids corporel, gain de poids et le poids relatif du foie.

I.2.1 Poids corporel :

Dans ce travail expérimental, les résultats obtenus présentés par la figure 38 montrent les variations des poids entre les six groupes de rats *Wistar*, pendant la période de traitement par l' Al_2O_3 et l'extrait de *Salvia officinalis*.

Chez les lots traités (G5, G6), il a été noté qu'une perturbation de poids par rapport aux rats traités par l' Al_2O_3 (G4) qui a montré une augmentation progressive durant les 10 premiers jours du traitement mais une légère augmentation a suivi les jours d'après.

Dans les premiers jours de traitement par la dose (1 et 2) de l'extrait de plante, on observe une augmentation progressive du poids suivie d'une stabilité et une légère augmentation chez les rats G2 et G3 respectivement à partir du 15ème jour jusqu'au dernier jour par rapport aux témoins.

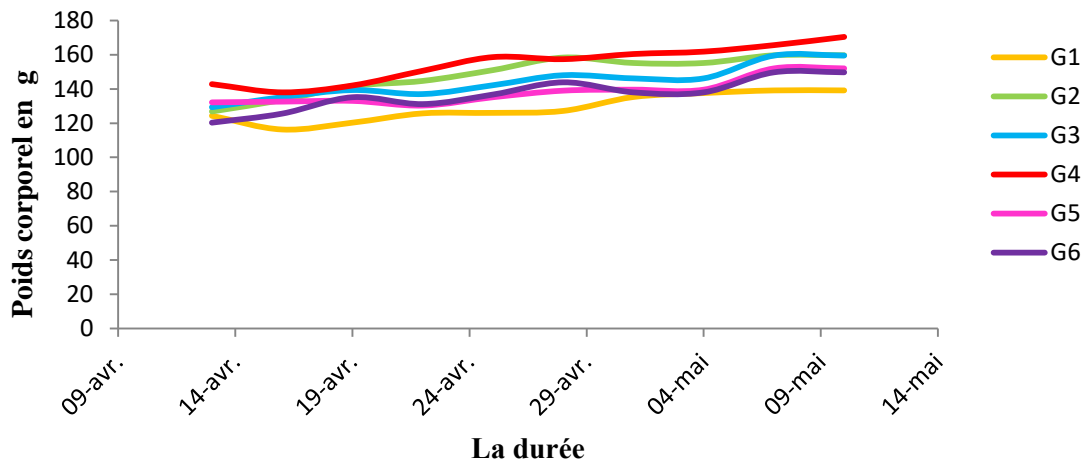


Figure 38 : L'évaluation du poids corporel durant 28 jours du traitement.

I.2.2 Le gain de poids :

Nos résultats présentés dans la figure 39 montrent qu'il y a une différence significative ($P \leq 0.001$) entre les six groupes.

La comparaison entre les groupes traités et le témoin G1 (154 ± 11.2) montre qu'il y a une diminution : non significative avec G2 (146 ± 12.5), G3 (143 ± 8.88) par contre, la différence est significative avec G5 (137 ± 6.62), G6 (135 ± 8.97) et plutôt, très significative avec le groupe G4 (130 ± 9.37). Par ailleurs, une diminution significative entre G4 avec G5 et G6.

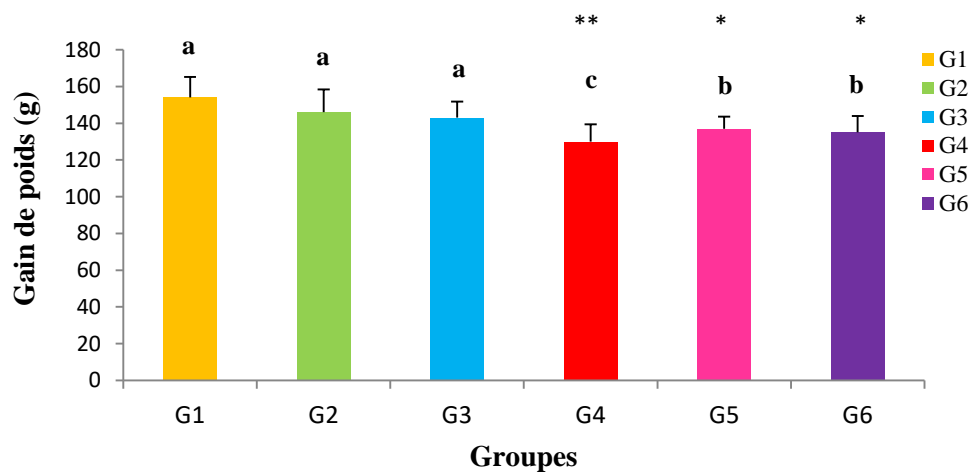


Figure 39: L'évaluation du gain de poids corporel durant 28 jours du traitement (n=4).

I.2.3 Poids relatif du foie :

Nos résultats présentés dans la figure 40 montrent qu'il y a une différence significative ($P \leq 0.0001$) entre les six groupes.

La comparaison entre les groupes traités et le témoin G1 (6.35 ± 0.62) montre qu'il y a une diminution : significative avec G2 (5.40 ± 0.45), G3 (5.49 ± 1.05), G5 (5.23 ± 0.74), G6 (5.4 ± 0.33), alors que la différence est hautement significative entre G1 et G4 (4.53 ± 0.53). De plus, il a été révélé qu'il existe une diminution significative du G4 par rapport G5 et G6. Par ailleurs, aucune différence significative entre (G2 ; G3) et (G5 ; G6).

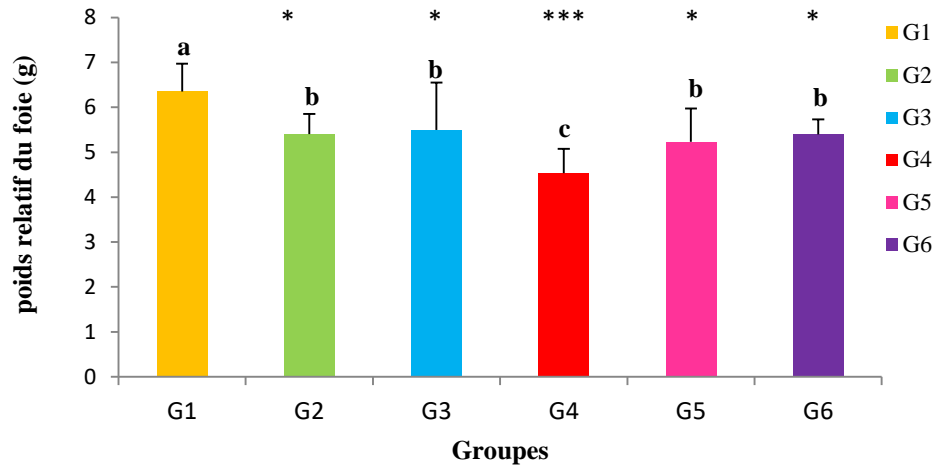


Figure 40: La variation de poids relatif du foie (n=4).

I.3 Effet de l'oxyde d'aluminium et de l'extrait de *S.officinalis* sur les métabolites :

I.3.1 Protéines :

D'après les résultats présentés dans la figure 41, suite à l'analyse statistique des données de dosage de protéine, les résultats montrent une différence significative ($P \leq 0.001$) des protéines aux niveaux des six groupes.

La comparaison entre les groupes traités et le témoin G1 (0.09 ± 0.05) montre qu'il y a une augmentation : très significative avec G6 (0.23 ± 0.02), mais plutôt significative avec G4 (0.15 ± 0.03), G5 (0.17 ± 0.04) également entre le G3 (0.14 ± 0.05) et G2 (0.12 ± 0.04). Il existe une augmentation significative entre le témoin positif G4 avec G5 et G6.

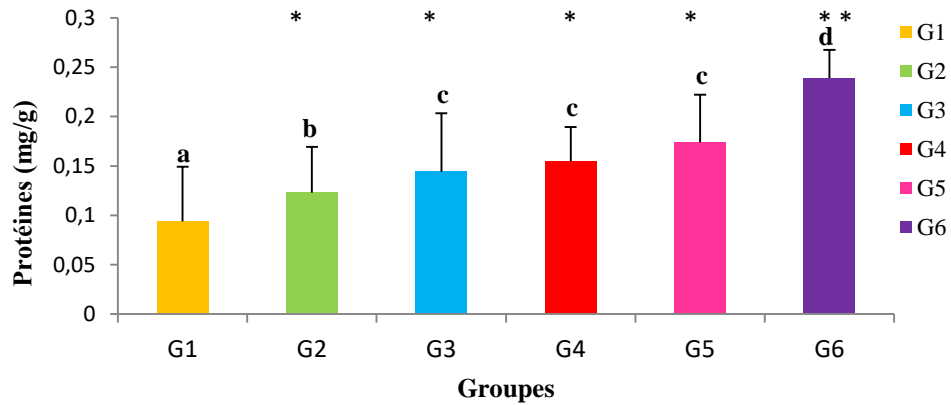


Figure41: La variation de la concentration des protéines dans le foie (n=4).

I.4 Effet de l'oxyde d'aluminium et de l'extrait de *S.officinalis* sur les paramètres biochimiques :

I.4.1 Triglycéride :

Les résultats obtenus présentés par la figure 42 indiquent qu'il existe une différence significative ($P \leq 0.001$) Entre les six groupes.

Les résultats montrent qu'il y a aucune différence significative entre le groupe témoin G1 (0.42 ± 0.05099) et les traités : G3 (0.4325 ± 0.10372), G5 (0.3725 ± 0.01258). En effet, une différence significative avec G2 (0.48 ± 0.00816) et G6 (0.51 ± 0.05715) par rapport au G1. On signale aussi une augmentation très significative chez le témoin positif G4 (0.685 ± 0.02646) avec le reste des groupes.

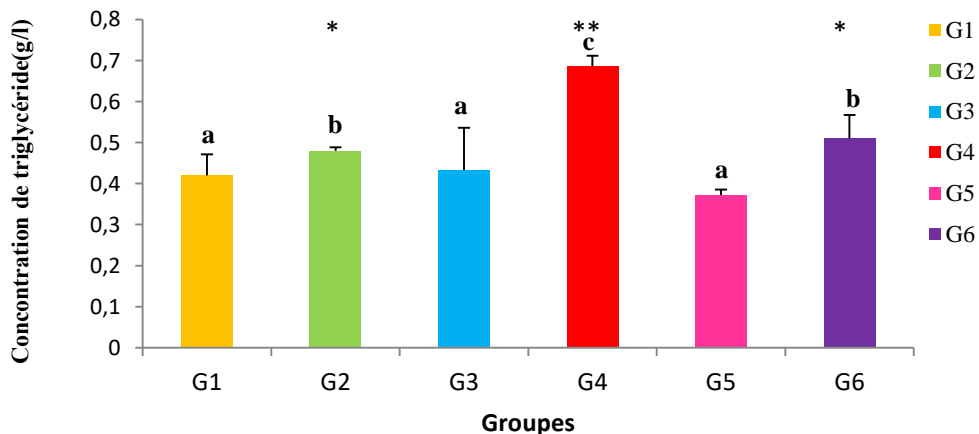


Figure42 : La variation de la concentration de triglycéride (g/l) (n=4).

I.4.2 Albumine :

Les résultats obtenus présentés par la figure 43 indiquent qu'il existe une différence hautement significative ($P \leq 0.0001$) entre les six groupes.

Les résultats obtenus montrent qu'il y a une augmentation significative entre le groupe témoin G1 (19.75±0.69) et les groupes G2 (24±1) et G3 (24±2.71), par contre cette différence est très significative avec G5 (29.18±2.66) et G6 (31.04±2.13). On note une différence hautement significative avec G4 (34.27±1.81). Par ailleurs, une augmentation significative a été signalée entre (G2 ; G5), (G3 ; G6), (G5 ; G6) et aucune différence significative entre (G2 ; G3) et (G5 ; G6).

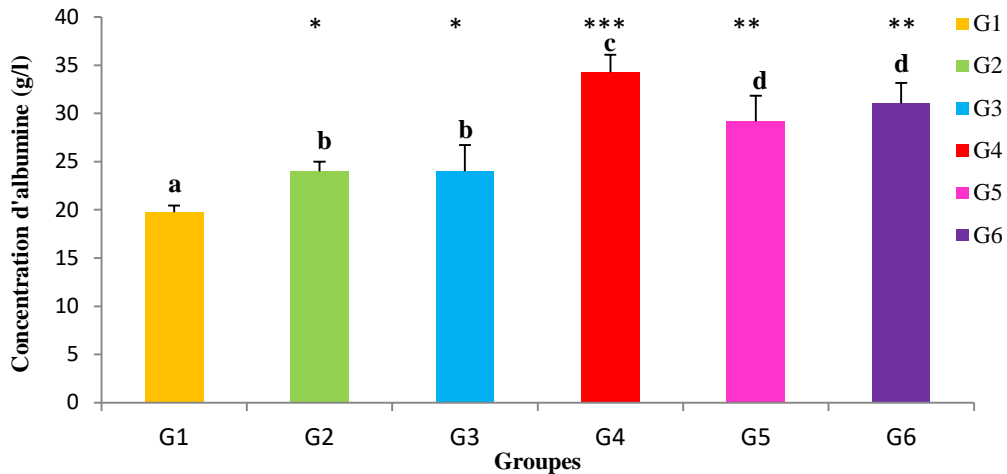


Figure43 : La variation de la concentration d'albumine (g/l) (n=4).

I.4.3 TGO :

D'après les résultats présentés dans la figure 44, suite à l'analyse statistique des données de dosage de TGO dans le tissu hépatique, il a été observé une différence significative (P≤0.05) du TGO entre les six groupes.

La comparaison des groupes traités avec témoins G1 (152.33±19.41) a révélé qu'il y a une diminution non significative par rapport au G2 (113±0.82), G3 (143.25±29.66). Tandis qu'une variation significative a été signalée des lots G5 (203.025±29.05) et G6 (190.43±38.39) par rapport G1 et G4 (220.85±10.21). Alors qu'une différence non significative entre (G2 ; G3), et significative (G2 ; G5) et (G3 ; G6).

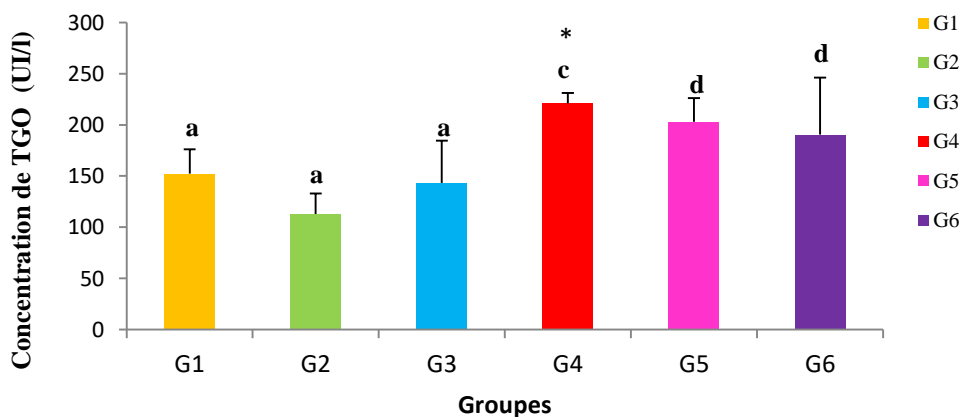


Figure 44 : La variation de la concentration du TGO (UI/l) (n=4).

I.4.4 TGP :

Selon la figure 45, et compte tenu de l'analyse statistique des données de dosage de TGP dans le tissu hépatique, des résultats ont montré qu'il y a une différence significative ($P \leq 0.001$) du TGP entre les six groupes.

La comparaison des groupes traités avec témoin G1 (94.68 ± 18.1) montre qu'il y a une : différence non significative par rapport au G2 (78.325 ± 15.37) et G3 (90.25 ± 29.66), et par contre une augmentation très significative par rapport au G4 (140.85 ± 37.72). On note également un accroissement significatif chez G5 (116.35 ± 29.05) et G6 (128.5 ± 38.39). En addition, on observe une diminution significative du témoin positif G4 avec G5 et G6, et aucune différence entre (G2 ; G3), (G5 ; G6). D'autre part, un accroissement accru significative observé entre (G2 ; G5) et (G3 ; G6).

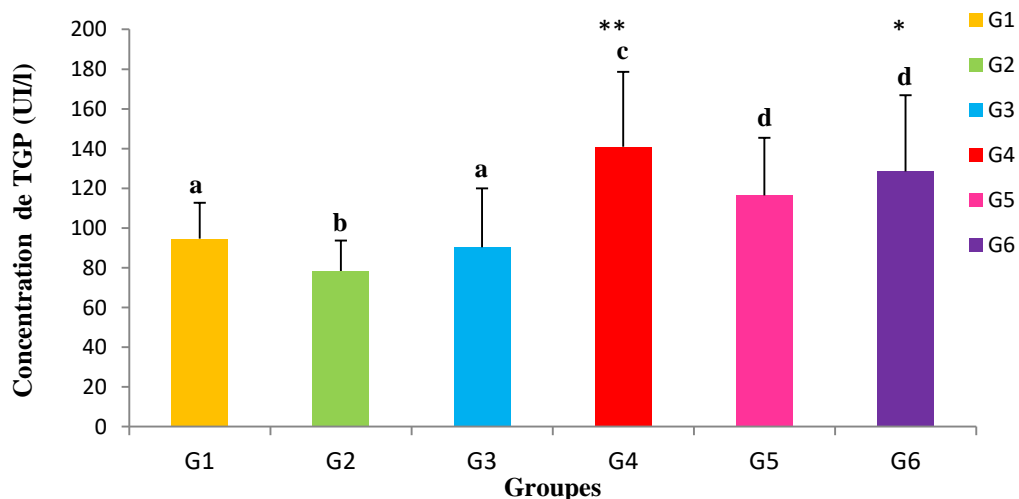


Figure 45 : La variation de la concentration de TGP (UI/l) (n=4).

I.4.5 PAL :

Les résultats des concentrations plasmatiques de la phosphatase alcaline présentée par la figure 46 montrent une différence significative ($P \leq 0.001$) entre les six groupes.

Les résultats obtenus ont révélé qu'il y a une augmentation très significative entre le groupe témoin G1 (315.56 ± 14.05) et G4 (546.6 ± 28.75), mais la variation est significative avec G5 (459.75 ± 160.56), G6 (437.35 ± 123.36), G2 (143.25 ± 21.51) et G3 (157 ± 25.47). De plus, une diminution significative enregistrée entre (G4 ; G5), (G4 ; G6), mais une augmentation hautement significative signalée chez les groupes (G2 ; G5) et (G3 ; G6).

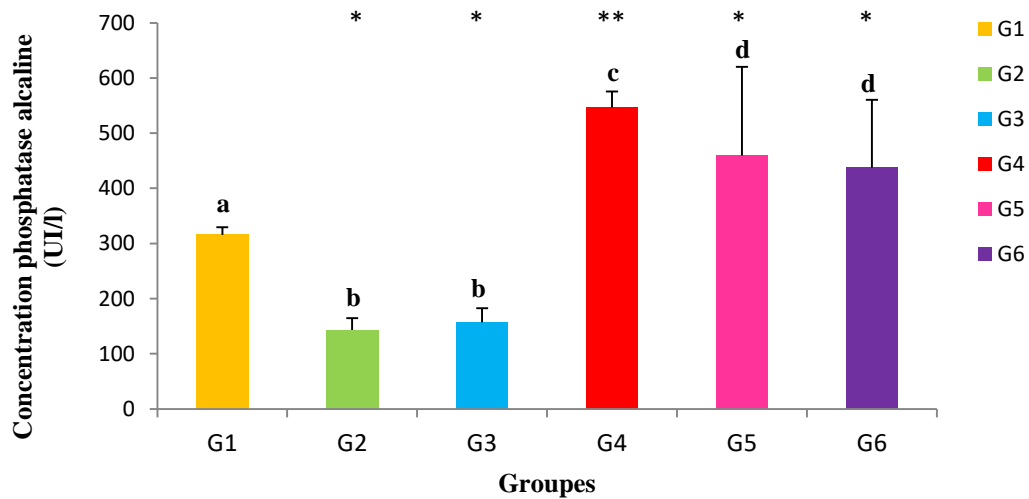


Figure 46 : La variation de la concentration de PAL (UI/l) (n=4).

I.4.6 Protéine totale :

D'après les résultats présentés dans la figure 47, suite à l'analyse statistique des données du dosage de protéine totale, ces résultats montrent qu'il y a une différence significative ($P \leq 0.05$) de la protéine totale entre les six groupes testés.

La comparaison des groupes traités avec témoins G1 (57.14 ± 0.78) justifie aucune différence significative avec G2 (59 ± 2.16), G3 (57.87 ± 2.09) et G6 (59.52 ± 4.28) et une légère diminution par rapport au G5 (55.6 ± 5.43). On remarque une augmentation significative chez le témoin positif G4 (65.91 ± 2.74) avec le reste des groupes. Par contre, aucune différence significative entre (G2; G3; G5; G6).

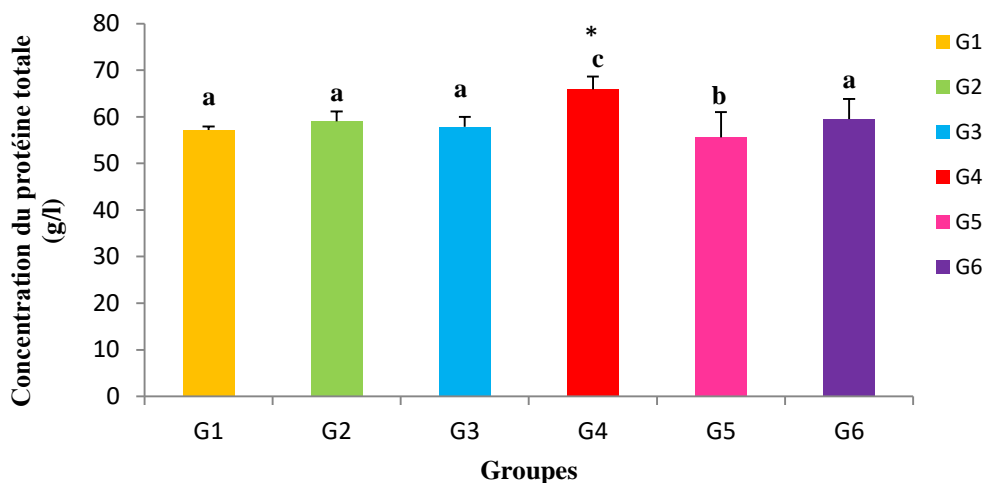


Figure 47 : La variation de la concentration de la protéine totale (g/l) (n=4).

I.5 Effet de l'Al₂O₃ et l'extrait de la plante *S.officinalis* sur l'histologie du foie :

L'étude des coupes histologiques du foie de rat témoin négatif, montrent une architecture normale avec des noyaux hépatocytaires et cellules hépatiques normales organisées et séparées par des sinusoides avec un cytoplasme bien conservé.

Par contre les coupes histologiques obtenues du témoin positif montrent des signes de souffrance et portite, une hépatite aiguë, L'apparition d'une nécrose hépatique autour de la veine centrale à la suite d'un gonflement des hépatocytes et les sinusoides ne sont pas visibles et quelque hépatocytes polynucléaires et l'infiltration de cellules inflammatoires. Et aucune modification histologique n'a été observée dans le foie de groupe traité par la plante. Par contre, ces histo-architectures de foie ont été visiblement réduites chez les groupes traités G5 et G6 sur lesquels un léger signe de portite par rapport au témoin négatif a été observé. De plus, on note une dilatation et une congestion vasculaire.

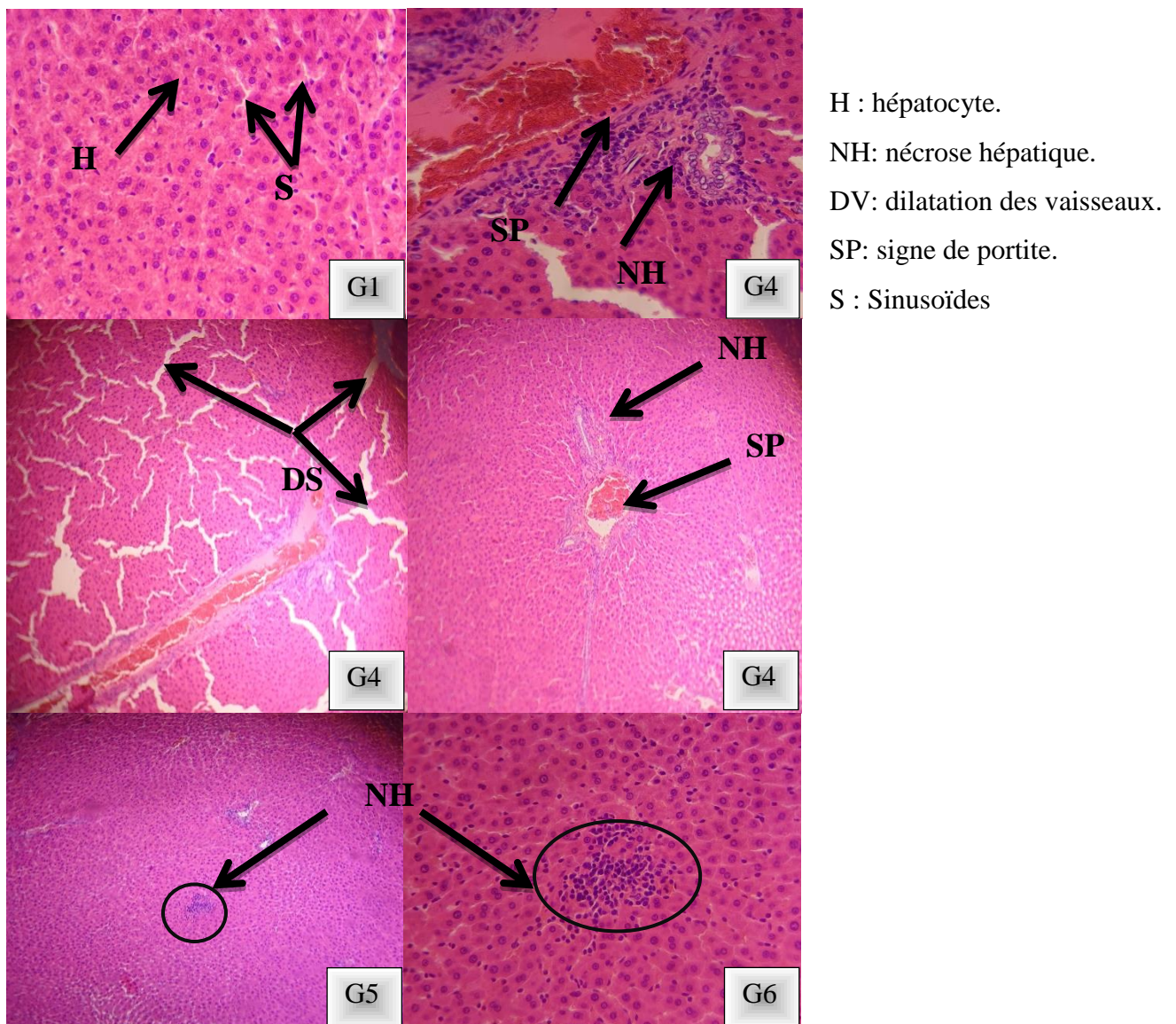


Figure 48 : Les coupes histologiques du foie des rats (photos originale, 2023).

II Discussion :

Le rendement a été déterminé par rapport au poids du matériel végétal sec rendu en poudre, les résultats ont été exprimés en pourcentage. Les résultats obtenus montrent que les rendements en extraits sont variables dans les différentes parties de la plante *Salvia officinalis*.

D'une étude entreprise par **Kanyonga et al. (2011)** un rendement de 39.2% de l'extrait brut méthanolique a été obtenu à partir de la partie aérienne de la plante *Salvia officinalis*, C'est un pourcentage nettement supérieur à celui obtenu dans notre cas 11.66%. Alors que nos résultats s'accordent avec ceux obtenus par **Kerkoub, (2021)** qui ont noté une valeur 11.17 % pour le rendement d'extrait méthanolique du *salvia officinalis*.

D'une manière générale, les rendements en extraits secs varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille mais également en fonction des paramètres de l'extraction solide-liquide des polyphénols : la température, le solvant d'extraction, la taille des particules, le coefficient de diffusion de solvant et également en fonction de la période de récolte de la plante (**Ben amor, 2008 ; Penchev, 2010 ; Michel, 2011**).

Les résultats de dosage de polyphénols ont montré que l'extrait méthanolique des feuilles de *Salvia officinalis* contient (31.53 mg EAG/g ES) de polyphénols. Ces résultats obtenus concordent légèrement avec ceux de **Khiya et al. (2018)** ont mis en évidence la présence de polyphénols dans l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis* d'origine Maroc avec des teneurs de (51.044±0.044 mg EAG/g ES). La teneur de 15.6 mg EAG/g ES de matière sèche pour l'extraction de polyphénols totaux dans la plante *salvia officinalis* a été obtenue également par **Baskan et al. (2007)**, qui est nettement inférieure par rapport aux résultats que nous avons obtenus.

Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques. Des études récentes ont montré que les facteurs géographiques et climatiques, le degré de maturation de la plante, la période de la récolte, la durée du stockage, la nature des solvants et la méthode d'extraction utilisée ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (**Aganga, 2001**).

Les flavonoïdes constituent la classe la plus importante des composés phénoliques, leur large distribution et abondance chez les Lamiacées, en particulier chez les espèces du genre *Salvia*, (**Wu et al., 2012**).

Les résultats de dosage de flavonoïdes montrent que l'extrait méthanolique est largement riche en flavonoïdes (17 mg EQ /g ES), ces résultats s'accordent avec ceux obtenus par **Dif et al. (2015)** qui ont noté que l'extrait méthanolique de *S. officinalis* d'originaire Algérie est riche en flavonoïdes avec un teneur de (19.37 mg EQ/ g ES). La concentration des flavonoïdes dans les extraits de la plante est liée à la solubilité qui dépend non seulement de la polarité du solvant d'extraction mais

aussi du nombre et de la position des groupements hydroxyles libres, au poids moléculaire (Mohammedi et Atik, 2011 ; Iloki-Assanga *et al.*, 2015).

L'activité antioxydante de l'extrait de plante et le standard a été évaluée par leur effet de piégeage des radicaux libres DPPH. Il a été utilisé pour évaluer la capacité des composés phénoliques à donner des atomes d'hydrogène labiles aux radicaux libres. Il faut également savoir que l'IC50 est la concentration nécessaire pour piéger 50% des radicaux libres et est un paramètre utilisé pour mesurer l'activité de piégeage des radicaux libres des extraits (Cuvelier *et al.*, 1992). La valeur IC50 est inversement proportionnelle au pouvoir antioxydant du composé, car des valeurs IC50 inférieures indiquent un pouvoir antioxydant plus élevé de l'extrait (Babovic *et al.*, 2010).

L'analyse des résultats de IC50 de l'extrait méthanolique de *S.officinalis* testé a exercé une capacité antiradicalaire avec une valeur IC50= 46 µg/mL. En effet, Miliuskas *et al.* (2004) ont montré que les extraits méthanolique, de *S.officinalis* d'origine Lituanie exercent une activité antiradicalaire avec des valeurs IC50 = 92.3 µg / mL. D'autre part, Et- Touys *et al.* (2016) ont noté que l'extrait méthanolique de *S.O* de Maroc a une capacité antiradicalaire (IC50 = 65.655 µg / mL) légèrement en rapport avec nos résultats. L'étude de Hadjila (2016), a montré par contre une nette différence confirmée par les valeurs d'IC50 (130.6 µg/ml) pour l'extrait des feuilles de *S.officinalis*. Ces résultats sont nettement supérieurs à ceux enregistrés dans notre étude. Alors que, Petrova *et al.* (2015) ont noté une valeur IC50= 22.18 µg / mL pour l'extrait méthanolique.

Les résultats d'analyse des TG, nous révèlent une augmentation du taux de TG chez les rats traités par Al₂O₃ par rapport aux témoins G1, qui peut être expliqué par l'excès de la synthèse des triglycérides hépatiques ou bien par la réduction de l'hydrolyse des triglycérides suite à une inhibition de l'enzyme lipolytique. Ces résultats sont en relation avec ceux de El-Hussainy *et al.* (2016).

Les rats traités par la plante dose (G5 et G6) montrent une diminution du taux du TG comparativement aux G4. Ceci pourrait être expliqué par la diminution de la synthèse des acides gras, donc l'augmentation du catabolisme des LDL suivi par l'activation de la LCAT des lipases tissulaires (Khanna *et al.*, 2002) et l'inhibition de l'acétyl-CoA carboxylase (Carty, 2001) suivie par la production des précurseurs de triglycérides tels que l'acétyl-CoA et le glycérol phosphate (Eddouks *et al.*, 2005). Par contre, il a été observé chez la plante dose (G2, G3) aucun effet sur le taux du triglycéride.

L'ASAT et l'ALAT sont deux enzymes hépatiques et cardiovasculaires et leur rôle est de transférer un groupe amine lors des nombreux processus chimiques qui se déroulent au niveau hépatique (Rye, 2009). Leur augmentation est due principalement à leur fuite à travers le cytosol hépatique et cardiaque et leur déversement dans le flot sanguin (Saba, 2010; Najafi *et al.*, 2012). Leur activité est proportionnelle au degré de dommages hépatiques (Sacoti, 2012). Ils sont donc

deux bons indicateurs de l'hépatotoxicité et cardiotoxicité surtout pour l'ASAT (**Shen, 2009; Song et al., 2007**).

On a pu observer que les valeurs moyennes des enzymes sériques TGO, TGP, PAL dans le groupe témoin positif G4 ont augmenté par rapport au groupe témoin sain. À cet égard, des changements moléculaires tels que des dommages à l'ADN et suppression ou l'expression de gènes peuvent se produire dans les cellules hépatiques lorsque l'animal modèle est exposé à des matières toxiques (**Burham, 2006**).

D'une manière générale, le traitement par la plante permet de diminuer et de normaliser le taux de TGO, TGP et PAL. Ces changements montrent qu'il y'a une stabilisation de la membrane plasmique, une régénération des hépatocytes endommagés et un maintien de la physiologie hépatique normale.

Ainsi, *S.officinalis* pourrait exercer une diminution sur le taux du PAL chez (G5, G6) avec témoin positif G4, car elle a des propriétés protectrices contre les lésions hépatiques induites par les hépatotoxines, dues à la présence des polyphénols essentiellement les flavonoïdes, qui sont connus par leurs potentiel antioxydant puissant, et leurs utilisation dans le traitement des maladies du foie. Ces résultats sont en accord avec ceux apportés par **Boussadia et al. (2020)** qui ont trouvé la même observation chez *Rosmarinus officinalis* appartenant à la famille (Lamiacées).

Les protéines totales comprennent surtout l'albumine, sa fabrication est au niveau du foie est très sensible à toute atteinte de cet organe, donc en cas d'insuffisance hépatique, la concentration sanguine d'Albumine chute (**Mira, 2008**). L'albumine possède une fonction importante de transporter en particulier pour les acides aminés libres, les acides gras, certaines hormones et quelques ions (Cu^{+2} , Zn^{+2} , Ca^{+2}) (**Bach-Ngouhou et al., 2004**).

Lors de l'utilisation de l' Al_2O_3 on a observé une augmentation importante du taux des protéines et en particulier l'albumine.

Dans notre travail, l'extrait de *S. officinalis* a exercé une augmentation de taux des protéines totales et l'albumine (observé chez G2, G3) par rapport au témoin négatif G1 ce qui confirme que cette plante a un effet anti inflammatoire significatif. Ces résultats sont similaires à ceux signalés par **Perez et al. (2004)** et **Benmendas et al. (2017)**.

Notre étude est réalisée par une expérimentation sur les rats pour voir l'effet d' Al_2O_3 comme agent oxydant stressant, cette étude suggère alors que l'administration d' Al_2O_3 montre une diminution significative du poids corporel chez le groupe traité comparant aux rats témoins négatifs G1, qui corrobore avec les résultats de **Berroukche et al. (2014)**.

Le suivi de la masse corporelle chez les rats traités par l' Al_2O_3 et l'extrait de la plante *S. officinalis* montre un gain du poids corporel comparativement aux témoins positifs G4.

D'autre part, les résultats obtenus concernant le poids relatif du foie, révèlent qu'il y a une diminution chez le groupe traité G4 par l' Al_2O_3 par rapport au témoin négatif G1, cette baisse du poids est probablement due à la dégradation des cellules hépatiques et l'activation de l'excrétion des lipides ceci a été confirmé par **Jinyuan et al. (2011)**.

Ainsi, une augmentation du poids du foie chez les rats traités par l'association d' Al_2O_3 et *S.officinalis* comparé avec le témoin positif G4, justifie le maintien du poids du foie après l'administration du traitement par les antioxydants de la plante qui jouent un rôle hépatoprotecteur et piègeur des radicaux libres. Notre étude est cohérente avec celle de **Jamroz et al. (2006)**.

L'analyse des résultats concernant les protéines obtenues du dosage du foie, a signalé une augmentation de ces protéines hépatiques chez les rats traités G4 par l'oxyde d'aluminium par rapport aux témoins sain. Ceci pourrait expliquer cette augmentation par le fait que l'oxyde d'aluminium a stimulé l'apparition des protéines de stress (ou protéines de résistances). Ce résultat concorde significativement à ceux de **Ghellab, (2021)**, et **Chelttit, (2021)**, qui ont exposé les rats *Wistar* à deux doses par de nanoparticules d'oxyde d'aluminium (Al_2O_3). Par ailleurs, l'administration de la plante *S.O* provoque une augmentation des protéines chez les rats de (G2, G3) et (G5, G6).

Plusieurs recherches ont suggéré que le foie pourrait être le principal organe cible des nanomatériaux et que ces matériaux à l'échelle nanométrique peuvent être hépatotoxiques lorsqu'ils entrent directement dans la circulation sanguine (**Liu et al., 2012**). L'examen microscopique des sections colorées du foie des rats traités par l' Al_2O_3 a révélé un changement structural grave par rapport au témoin sain qui présente une architecture normale. L' Al_2O_3 a induit une hépatite aiguë à cause de sa toxicité entraînant un dysfonctionnement hépatique, L'apparition d'une nécrose hépatique, l'infiltration de cellules inflammatoires et les signes de portite représentent des principales causes des lésions hépatiques. Cependant, la recombinaison de l' Al_2O_3 et l'extrait de la plante étudiée induit une amélioration partielle et montre des hépatocytes normales grâce à l'effet hépatoprotecteur de *salvia officinalis*.

Conclusion
et
Perspective

Conclusion :

La présente étude réalisée dans le cadre de l'évaluation de l'hépatotoxicité des nanoparticules (NPs) d'oxyde d'aluminium et l'effet hépatoprotecteur de l'extrait de feuille de *salvia officinalis* administré à des rats (*Rattus Rattus wistar*) pendant 28 jours, nous a porté une attention particulière sur l'étude des paramètres biochimiques, poids corporel, et l'étude histologique du foie.

L'ensemble des résultats obtenus a permis de souligner que l'administration par voie orale d'oxyde d'aluminium chez des rats femelles de la souche *Wistar albinos*, provoque une hépatotoxicité qui s'est traduit par une augmentation des taux sérique de protéines totales, triglycérides, TGO, TGP, PAL, albumine, une diminution du poids corporel et poids relatif de foie durant la période du traitement. Par ailleurs, l'étude histologique du foie a montré clairement un dysfonctionnement hépatique.

D'autre part, nos résultats montrent que la combinaison concomitante de l'extrait de *salvia officinalis* avec l' AL_2O_3 provoque une amélioration progressive des paramètres biochimique étudiés, à l'origine d'une structure partiellement hépatique normale.

Nos résultats ont permis d'affirmer que l'extrait de la plante *S.officinalis* a un effet hépatoprotecteur contre la toxicité induite par l' AL_2O_3 .

Ce travail peut être considéré comme un de départ pour d'autres axes de recherche sur les effets des extraits du *salvia officinalis*.

En perspectives, Il serait intéressant de confirmer nos résultats par d'autres dosages essentiellement sur les enzymes du stress oxydatif (GSH-Px, SOD,.....). D'autre part, il serait judicieux de caractériser la phytochimie moléculaire des composés bioactifs impliquées dans l'hépatoprotection par LC-MS et LC-RMN et aussi rechercher les mécanismes moléculaires intervenant dans cet effet hépatoprotecteur.

Référence
bibliographique

A

- **A.J. Wagner, C.A. Bleckmann, R.C. Murdock, A.M. Schrand, J.J. Schlager, S.M. Hussain,** Cellular interaction of different forms of aluminum nanoparticles in rat alveolar macrophages, *J. Phys. Chem. B* 111 (25) (2007) 7353–7359.
- **Aashish Pandit; Tarun Sachadeva et Pallavi Bafana,(2012).** Drug-induced hepatotoxicity;*J*ournal of Applied Pharmaceutical Science, vol 02 (05): 233-243.
- **Aganga, A.A., Mosase, K.W. (2001).** Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capussa*, *Ziziphus mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds, *Animal Feed Science and Technology*.91, p.107- 113.
- **Al-Mijalli, SH, Assaggaf H, Qasem A, El-Shemi AG, Abdallah EM, Mrabti HN, Bouyahya A. (2022).** Antioxidant, Antidiabetic, and Antibacterial Potentials and Chemical Composition of *Salvia officinalis* and *Mentha suaveolens* Grown Wild in Morocco. *Adv Pharmacol Pharm Sci*. Jun 15; 2022:2844880.
- **Andresen M, Regueira T, Bruhn, 2008,** Lipoperoxidation and protein oxidative damage exhibit different kinetics during septic shock, *Mediators Inflamm*, 168652.
- **AOUINA, M. LAKHDARI. S. (2019).** Biologie des huiles essentielles de la famille des Lamiaceae (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).
- **Azzi A, 2007,** Oxidative stress: a dead end or a laboratory hypothesis *Biochem Biophys Res Commun*, 362; 230-2.

B

- **Babovic, N., Djilas, S., Jadranin, M., Vajs, V., Ivanovic, J., Petrovic, S., Zizovic, I. (2010).** Supercritical carbon dioxide extraction of antioxidant fractions from selected Lamiaceae herbs and their antioxidant capacity. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11: 98–107.
- **Bach-Ngohou K, Bettembourg A, Le Carrer D, Masson D, Denis M 2004.** Évaluation clinico-biologique de la dénutrition. *Ann Biol Clin*; 62/4 : 395-403.
- **Bahadoran, S, Teymouri Y, Hassanpour H, Mohebbi A, Akbari MR. (2022).** Effect of sage (*Salvia officinalis* L.) extract in antioxidant status and intestinal morphology of pulmonary hypertensive chickens. *Vet Med Sci*.11. doi: 10.1002/vms3.804.
- **Baillargeon Jean-Daniel, (2015).** La stéatose hépatique pas que du foie gras!, le médecin du québec , 2015, vol50, n 4 ,51.

- **Baskan S., Oztekin N. et Erim B. (2007).** Determination of carnosic acid and rosmarinic acids in sage by capillary electrophoresis. *Food Chemistry*, 101, 1748 - 1752.
- **Belmassous N. (2017) :** Etude phytochimique comparative des trois plantes cones antidiabétique issue de la région de Batna. Université Mohamed Khider de Biskra, Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie, Département des sciences de la nature et de la vie.
- **Beloued A.E.K., 2001.** Plantes médicinales d'Algérie. O.P.U. Alger, 277p.
- **Ben amor, B. (2008).** Maitrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs ; texturation par détente instantanée contrôlée dic. Thèse de doctorat. Université de la rochelle.207p
- **Bénard C (2009)** .étude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate. *Biothechnology and Molecular Biology Review* (9) : 24-39.
- **Bendif.H., (2017).** Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae. Thèse de doctorat présentée a l'école normale superieure de Kouba-Alger.
- **Benmendas M, Mamoun K. (2017).** Effets biologiques de *Salvia officinalis*. Mémoire de master, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.
- **Bergmeyer HU., et al.** *Clin. Chem.* (1978), 24, p.58-73
- **Berroukche A, Slimani M, Kahloula K, Kafi H, Cheikh A. 2014.** Evaluation de l'activité du cadmium, en présence du zinc, sur les structures des tissus régulateurs du métabolisme chez le rat Wistar. *International Journal of Biological and Chemical Sciences.* (8). p: 4.
- **Boizot, N. & Charpentier, J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, *Le Cahier des Techniques de l'INRA*, pp : 79-82
- **Bossokpi, I.P.L. (2002).** Etude des activités biologiques de *Fagara xanthoxyloïdes* LAM (Rutaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, 133p.
- **Botineau, M. (2010).** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed : Lavoisier.
- **Bouajaj S.,Benyamna A., Bouamama H., Romane A., Falconieri D., Piras A. & Marongiu B. (2013).** Antibacterial, allelopathic and antioxidant activities of essential oil of *Salvia officinalis* L. growing wild in the Atlas Mountains of Morocco. *Natural Product Research*, **27(18)**: 1673–1676.

- **Boudiaf K (2006)** .Etude des effets anti-xanthine oxydoréductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Thèse de magistère. Département de biologie. Université Ferhat abbas. (Sétif) Algérie.
- **Bouhaddouda, N. (2016)**. Activités antioxydants et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*.thèse doctorat, univ. Annaba, p.24
- **Boussadia, N, Bouzerdoun. Y. (2020)**. Effet antioxydant et hépatoprotecteur de *Rosmarinus officinalis* (revue systématique). Mémoire de master, Université de Mohammed Seddik BenYahia – Jijel.
- **Bruneton, J. (1999)**. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Edition : Tec & Doc Lavoisier. Paris. 1120 p.
- **Bruneton, J. (2008)**. Acides phénols. In: Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris. pp 198-260.
- **Buccolo G et al.**Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. Clin Chem 1973 ; 19 (5) : 476-482.
- **Burham. (2006)**. Molecular basis for adaptive responses during chemically induced hepatotoxicity. Toxicol. Sci., 89: 349-351.
- **Buzea, C., Pacheco, I.I. and Robbie, K., 2007**. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. Biointerphases, 2(4), pp.MR17-MR71.

C

- **Cabaret J., (1986)** : « 167 plantes pour soigner les animaux, phytothérapie vétérinaire, point vétérinaire ».1eme Ed., Paris, 209 p.
- **Cava, S., et al., (2007)**. Structural characterization of phase transition of Al₂O₃ nanopowders obtained by polymeric precursor method. 103(2-3): p. 394-399.
- **Cava, S., et al., (2006)**.Structural and spectroscopic analysis of -Al₂O₃ to -Al₂O₃-CoAl₂O₄ phase transition. Materials Chemistry and Physics,. 97(1): p. 102-108.
- **Chanforan C. (2010)**. Stabilité de microconstituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate. Thèse de Doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Avignon, France.
- **Chaumeton H., (1959)**. Les plants aromatiques, comment les reconnaître.Paris.Solar.355-358p
- **Cheltit W. (2021)**. Etude de toxicite d'Al₂O₃-NPs et leur impact sur le système cardiovasculaire. Mémoire de master. Université de Larbi Tébéssi –Tébessa.

- **Crestini, C. & Lange, H. (2015).**A novel and efficient immobilized tannase coated by the layer-by-layer technique in the hydrolysis of gallotannins and ellagitannins. *Microchemical Journal*, 123, 139–147.
- **Cretti., (1981) :** « Les plantes aromatiques et médicinales, comment les reconnaître et les utiliser ». Ed., ATLAS, 197 p.
- **Cuvelier, M. E., Richard, H., Berset, C. (1992).**Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: Structure–activity relationship. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 56: 324–327.

D

- **Delattre J., Therond P. & Bonnefont-Rousselot D. (2005).** Espèces réactives l’oxygène, antioxydants et vieillissement. In : Radicaux libres et stress oxydants. Aspects biologiques et pathologiques. chap, 10 : 281-309.
- **Dif S., Stella M., Abdul H., Saidi F., Khali M. (2015).**Activité antimicrobienne des huiles essentielles et l’extrait méthanolique de *Salvia officinalis* L. *Afrique Science* 11(4).ISSN 1813-548.
- **Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouma, D., Stocker, P. and Vidal, N. (2006):** Antioxidant Activity of Some Algerian Medicinal Plants Extracts Containing Phenolic Compounds. *Food Chemistry*, 97, 654-660.
- **Djerroumi A., et Nacef M. (2004).** 100 plantes médicinales d’Algérie. Ed Palais du livre. P 135 -131.
- **Djerroumi, A, et Nacef, M. (2013).** 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed Houma
- **Doumas BT Clin Chem. 1971: Acta 31 : 87-96.**
- **Duling E.N., Owen J.C., John B.G., Rosmary F.W., Kevin A.M., Yeap L.F., & Nigel B.P.2007 -** Extraction of phenolic and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol- water mixture. *Food chemistry*. Vol.101, app. 1417- 1424.

E

- **Eddouks M., Maghrani M., Zeggwagh N.A., Michel J.B., (2005) :** Study of the hypoglycemic activity of *Lepidium sativum* L. aqueous extract in normal and diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.*; 97: 391-395.
- **Ekoumou C. (2003).**Etude phytochimique et pharmacologique de cinq recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et la cystite ;Ed.Bamako pp-145.

- **EL-Hussainy M A EL-Hussainy, Abdelaziz M Hussein, Azza Abdzl-aziz, Ibrahim ELMehsseb(2016).** Effects of aluminium oxide (Al₃O₂) nanoparticules on ECG , and connexin 43 and lipid profile in rats : possible cardioprotective effect of gallic acid . *Can J Physiol.* Aug ; 94(8) : 868-78. doi : 10.1193/cjpp-2015-0446. Epub 2016 Mars 5.
- **Erdman W.J., Balentine D., Arab L., Beecher G., Dwyer J.T., Folts J., Harnly J.,Hollman P., Keen C.L., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson G. et Burrowes J. (2007).** Flavonoids and Heart Health: Proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop, May 31-June 1, 2005, Washington, DC1–4. *The Journal of Nutrition*, 137(3), 718S-737S.
- **Et- Touys A., Fellah H., Mniouil M., Bouyahya A., Dakka N., Abdennebi E. H., Sadak,A., Bakri Y. (2016).**Screening of the antioxidant, antibacterial and antileishmania activities of *Salvia officinalis* L. extracts from Morocco16 (5):1-10.

F

- **Fabre Marie-Claude., Genin Aimé., Merigoux Jacques et Moget Elisabeth. (1992).** Herboristerie Familiale, Des Recettes Simples, Pour Résoudre Les Problèmes Simples, p93.
- **Faivre Jean, (2015).** Les cancers du foie, fondation arc pour la recherche sur le cancer - centr'imprim, conception éditoriale & création graphique, ELSEVIER Masson.
- **Farag, R. S., Salem, H., Badei, A.Z.M.A. and Hassanein, D. E. (1986).** Biochemical studies on the essential oil of some medicinal plants. *Fette Seifen Anstrichmittel* [en ligne], 88 (2), 69-72. Disponible sur : <https://doi.org/10.1002/lipi.19860880210>
- **Favier A, 2003,** Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, l'actualité chimique; 108- 115.
- **Fellah, S., Romdhane, M., Abderraba, M. (2006).** Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie, *Journal de la Société Algérienne de Chimie*, 16(2) :193-202
- **Fossati P et al.** *Clin. Chem* 1980 ; 26 :227-231.
- **Fossati P et al.** *Clin. Chem* 1982 ; 28 (10) : 2077-2080.

G

- **Gendler S.** Uric acid. Kaplan A et al. *Clin Chem The C.V. Mosby Co.* St Louis. Toronto. Princeton 1984 ; 1268-1273 and 425.
- **Georges Grignon ,(1996).** Les cours du psem : cours histologie, ellipses, p 236, 237, 239, 241.

- **Georges,D(2006)**. Hépatoprotecteur. Dictionnaire médicale, Medicopedia .En ligne [http://www.dictionnaire -Medical.net/terme/39036.1.xhtml](http://www.dictionnaire-Medical.net/terme/39036.1.xhtml).
- **Gérard Debuigne & François Couplan. (2008-2009)**. PETIT LAROUSSE des plantes médicinales. faculté libre des sciences et technologies L3 environnementaliste Monographie *Salvia officinalis*, 352, 6.
- **Ghellab. M. (2021)**. Nanotoxicité et réponse hépatique au nanoparticule d'oxyde d'aluminium (Al₂O₃). Mémoire de master, université de Larbi Tébessi –Tébessa.
- **Ghasemzadeh A., Ghasemzadeh N. (2001)**. Flavonoids and phenolic acids: rôle and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicine Plants Research* 5 (31): 6697–6703.
- **Ghorbani, A., Esmailizadeh, M. (2017)**. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 7(4): 433–440. DOI: 10.1016/j.jtcme.2016.12.014
- **Golstein Pierre et Guidokroemer, (2007)**. Cell death by necrosis: towards a molecular definition, *Trends in Biochemical Sciences*; vol 32:p37-43.
- **González-Gallego, J., Sanchez-Campos, S., & Tunon, M. J. (2007)**.Anti-inflammatory Propertes of dietary flavonoids. *Nutrition Hospitalaria*, 22 (3), pp : 287 – 229
- **Gornall A. C., Bardawill C. J., David M. M., J. Biol. Chem. 1949, 177, 751**
- **Goutayer, M. (2008)** nano-émulsions pour la vectirisation d'agents thérapeutiques ou diagnostiques: étude de la bio distribution par imagerie de fluorescence in vivo. *Biotechnologie*. These de doctorat de l'Université Pierre et Marie Curie.
- **Guignard, J.L. (2000)**. Les composés aromatiques In : *Biochimie végétal*. Ed : Dunod. 161-217.
- **Guillaume, G. (2013)**. Modification de surfaces électrochimiques par des nanoparticules pour la détection de molécules impliquées dans le stress oxydant. Thèse de doctorat, l'Université Toulouse III Paul Sabatier, p35-36-38.
- **Guy Gilly. (2005)**. *Plantes aromatiques et huiles essentielles à Grasse*, Edition L'Harmattan.

H

- **Hadjila, A. (2016)**. Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'extrait de *Salvia officinalis* (Sauge), Option : En Technologie des industries Agro-Alimentaire Université De Tlemcen. Master en Agronomie.
- **Hans W.K. (2007)**. 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition.

- **Harold Ellis, (2011).** Anatomy of the liver, ELSEVIER, 582 -592.
- **Hart L, (1990).** Alumina chemicals: science and technology handbook. American Ceramic Society, Columbus.
- **Hartzfeld, P.W., Forkner, R., Hunter, M .D. & Hagerman, A .E. (2002).** Determination of Hydrolyzable Tannins (Gallotannins and Ellagitannins) after Reaction with Potassium Iodate. J.Agric. Food Chem, 50, 1785-1790.
- **Havsteen, B. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacology and therapeutics, 96(2-3), 67-202.
- **Hennebelle T. (2006).** Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de lamiales productrices d'antioxydants : Marrubium peregrinum, Ballota larendana, Ballota seudodictamnus (Lamiacées) et Lippia alba (Verbénacées). These de Doctorat Universite des sciences et technologies de lille 1, lille, Pp 304.
- **Henry R, J, et al., Am J clin Path (1960), 34, 381-398**
- **Hippolyte. I., Allain. P., Pellecier. J.,** Variation de la teneur de certains composés de l'huile essentielle de la sauge (*salvia officinalis* L.) en fonction de divers états physiologiques. huile essentielle, biochimie, *salvia officinalis*, micropropagation, vitroplant, terpène, société botanique de France. Acta Bot. gall. Bull. Soc. Bot. Fr (1904). Tome 140- Fascicule 2, p 225-225, 1993.
- **Hoffman, L. (2003).** Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes, Thèse de doctorat. Strasbourg. 245p.
- **Hopkins, W. (2003).** Physiologie végétale, 3ème édition, boeck, Université rue des Minimes 39-B-1000 Bruxelles, p : 138-139-267.

I

- **IFCC Method for L-Alanine aminotransferase, J Clin, Chem, Clin, Biochem, (1986), 24, p.481-495.**
- **IFCC Method for L-Aspartate aminotransferase, J Clin, Chem, Clin, Biochem, (1986), 24, p.497-510.**
- **Illiamson, G., & Manach, C. (2005).** Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies—. The American journal of clinical nutrition, 81(1), 243S-255S.
- **Iloki-Assanga, S.B., Lewis-luján, L.M., Lara-Espinoza, C.L., Gil-Salido, A.A., Fernandez-Angulo, D., Rubio-Pino, J.L. & Haines, D.D. (2015).** Solvent effects on phytochemical

constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of *Bucida buceros* L. and *Phoradendron californicum*. BMC Res. Notes, 8: 396.pp.1-14.

- **Iserin P. (2001).** Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Identification, Préparations, soins. 2nd edition, Dorling Kindersley Limited, Londres.

J

- **Jamroz, T. Wartelecki, M. Houszka, C. Kamel. (2006).** Influence of diet type on the inclusion of plant origin active substances on morphological and histochemical characteristics of the stomach and jejunum walls in chicken. Journal of Animal Physiology and Nutrition.
- **Jinyuan C.XiaDongY, XinMeirong Z. 2011.** Effects of titanium dioxide nano-particles on growth and some histological parameters of zebrafish (*Danio rerio*) after a long-term exposure. Aquatic Toxicology. (101). p: 493- 499
- **Ju-Nam et Lead., (2013).** Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gramnegative bacterial infections. Lancet Infect Dis; 6 : 589–601.

K

- **Kanyonga, P.M., Faouzi, M.A., Meddah, B., Mpona, M., Essassi, E.M., Cherrah, Y. (2011).** Assessment of methanolic extract of *Marrubium vulgare* for anti-inflammatory, analgesic and anti-microbiologic activities. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 3,199-204.
- **Kaplan A et al.** Triglycerides. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984 ; 437 and Lipids 1194-1206.
- **Kening Y., Vincenzo D.L., Normand B. (1995).** Création of a metabolic sink for tryptophan alters the phenylpropanoid pathway and the susceptibility of potato to phytophthora infestans. The Plant Cell 7 (11): 1787 – 1799.
- **Kerkoub. N, (2021).** Etude physico-chimique et ethnopharmacologique du genre *Salvia*. Thèse doctorat, université chadli Bendjedid-el Tarf.
- **Kessemi N. (2006).** Relation entre un insecte phytophage et sa principale plante hôte : cas de la bruche du haricot (*Acanthoscelides obtectus*), (Coleoptera Bruchidae). Thèse de Magistère de l'université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen.
- **Khiredine Hamida. (2013).** Comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelque plantes médicinales d'Algérie, Mémoire de Magister, option : Technologie Alimentaire, université Bougara-Boumerdes

- **Khiya Z., Hayani M., Gamar A., Kharchouf S., Amine S., Berrekhis F., Bouzoubae A., Zair T., Elhilali F. (2018).** Valorization of the *Salvia officinalis* L of the Morocco bioactive extracts: Phytochemistry, antioxidant and anticorrosive activities, Journal of King Saud University – Science 31(3): 322-335.
- **Kotovirta ML, Salo OP, Visa-Tolvanen K, (1984).** Contact sensitivity to aluminum. Contact Dermatitis. Aug; 11(2):135. doi: 10.1111/j.1600-0536.1984.tb00955.x. PMID: 6488779.
- **KupeliAkkol. E., Goger F., Kosar M. & Baser H. C. (2008).** Phenolic composition and biological activity of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey. *Foodchemistry*, 108, pp. 942-949

L

- **LEPLAT Marion. (2017).** Le romarin, *romarinus officinalis* L., une lamiacée médicinale de la garrigue provençale. Thèse de Doctorat, Université d'Aix-Marseille, Faculté de Pharmacie, p.45
- **Li A, Han L, Han C.(2012).** Antioxidant and neuroprotective activities of essential oil isolated from Chinese herb pairs of *Angelica sinensis* and *Sophoraflavescens*. *J Appl Pharm Sci*; 2(5):1–4.
- **Liang Y.Y., Wan X.H., Niu F.J., Xie S.M., Guo H., Yang Y.Y., Guo L.Y., Zhou C.Z. (2020).** *Salvia plebeia* R. Br.: an overview about its traditional uses, chemical constituents, pharmacology and modern applications. *Biomed. Pharmacother.* 121:109589.
- **Link. A, Francesc Balaguer, Ajay Goel. (2010).** Cancer chemoprevention by dietary polyphenols: Promising role for epigenetics. *Biochemical Pharmacology*. Pages 1771-1792
- **Louvet Alexandre, (2017).** Hépatite alcoolique aiguë. *Hépatologie post'u* , p179-184.
- **Lu, Y., Zhang, C., Bucheli, P. & Wei, D. (2006).** Citrus Flavonoïds in Fruit and Traditional Chinese Medicinal Food Ingredients in China. *Journal of Plant Foods for Human Nutrition*. 61(2):57-65.

M

- **Maatoug « Nos plantes médicinales ».** Lexiques cliniques des plantes médicinales non toxiques employées en Tunisie, Février 1990.
- **Macheix, Jj., Christian, Ja. & Allemand, J. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Collection biologique, press polytechniques et universitaires, Romandes, 1-192.
- **Marouf, A., Reynaud, J. (2007).** La botanique de A à Z. DUNOD ,paris, p :9-114-151-167-176-177-295-298.

- **Mekhaldi A., Bouznad A., Djibaoui R., Hamoum H. (2014).** Phytochemical Study and Biological Activity of Sage (*Salvia officinalis* L.). International Journal of Bioengineering and Life Sciences 8(11): 1253-1257.
- **Merghem R. (2009).** Eléments de biochimie végétale. Editions Bahaeddine Algérie. p 111, 123.
- **Michel, T.(2011).**Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification. Application aux molécules bioactives de l'argousier (Hippophaerhamnoides) .Thèse de doctorat en chimie Analytique Phytochimie. Université d'Orléans.288p
- **Midoun, T., 2011.** Extraction Des Composés Phenoliques Et Etude Leurs Activités Anti oxydantes Par La Voltamétrie Cyclique. Mémoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Master, Spécialité : chimie appliquée. Université Kasdi Merbah Ouargla. 53p
- **Miliauskas G., Venskutonis P.R., Van Beek T.A. (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry 85(2):231–237
- **Mira, J.P. (2008).** L'albumine endogène un pouvoir anti-oxydant majeur. Hôpital Cochin. France, Paris. Elsevier Masson. P : 7-9.
- **Mohammedi, Z. & Atik, F. (2011).** Impact of solvent extraction type on total polyphénols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) Karst. International Journal of Pharmacy and Bio Sciences, 2(1): 609-615.
- **Murry, R. D. H., Mendez, J. & Brown, S. A. (1982).** The natural coumarins Occurrence Chemistry and Biochemistry. Ed. Chichester John Wiley and Sons, UK. New York. England. 702 p.

N

- **Naghibi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi Motamed S. & Ghorbani, A. (2005).** Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 2(1) : 63-79.
- **Najafi L., Babadi Y., Najafi A., Gholami H., Beigi m., Golzadeh J., Amraie E., Shirband A., (2012).** Evaluation of iron oxide nanoparticles effects on tissue and enzymes of liver in rats. Annale de JPBMS. vol. 23(4) : 1-5.
- **Nakai H, (2011).** Hepatic gene therapy. In: Monga Satdarshan P S, editor. Molecular pathology of liver diseases. . pp. 343-371.
- **Naseer, B., Srivastava, G., Qadri, O. S., Faridi, S. A., Islam, R., & Younis, K., 2018.** Importance and Health Hazards of Nanoparticles Used in the Food Industry. Nanotechnology Reviews, 7(6), pp. 623-641.

- **Naudot Marie, (2013).** Caractérisation par imagerie en temps réel de cultures cellulaires hépatiques en biopuces mic rofluidiques, 33, 34.
- **Navarro Victor, John R Senior, (2006).** Drug-related hepatotoxicity, the New England Journal of Medicine, Vol 16, 731-739.
- **Newall, C. A., Anderson, L. A., and Phillipson, J. D. (1996).** Herbal Medicines: A Guide for Health Care Professionals. London: Pharmaceutical Press, 312P. ISBN: 978-0853692898.
- **Nielsen, J, Dahqvist, M, Welinder, H, (1993).** Small airways function in aluminium and stainless steel welders. Int. Arch Occup Environ Heath 65, 101–105

O

- **Oestreicher Kondo, (2017).** Hépatites médicamenteuses, remed, genève.
- **Ozenda, P. (1977).** Flore du Sahara. 2ème ED. CNRS. Paris.622.
- **Ozenda, P. (1991 ,2004).** Flore et végétation du Sahara. 3èmeEd.CNRSedition, Paris.P.399.

P

- **Penchev, P. (2010).**Etude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de doctorat. Université de Toulouse. 1-239 p.
- **Perez-Garcia, F. Tissir, A. Goffinet and G. Meyer. (2004).** Short communication Reelin receptors in eveloping laminated brain structures of mouse and human. European Journal of Neuroscience, Vol. 20, pp. 2827–2832, 2004
- **Perret, C. (2001).** Analyse de tanins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par *Botrytis cinerea*. Thèse de Doctorat .Université de Neuchâtel. Suisse. 184 p.
- **Petrova M., M. Nikolova, L. Dimitrova, E. Zayova. (2015).** Micropropagation and evaluation of flavonoid content and antioxidant activity of *Salvia Officinalis* L. Institute of Plant Physiology and Genetics, Acad. G. Bonchev Street, Bldg. 21, 1113 Sofia, Bulgaria Institute of Biodiversity and Ecosystem Research, Gagarin Street 2, 1113 Sofia, Bulgaria.
- **Pincemail J, Siquet J, Chappelle JP (2000).** Evaluation des concentrations plasmatiques en antioxydants anticorps contre les LDL oxydées et homocysteine dans un échantillon de la population liégeoise. Annales de Biology Clinique. 58 : 178-185.
- **Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., & Defraigne, J. (1999).** Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer. Medi-Sphere, 97, 29-33.
- **Pirani J. R. et Prado J. (2012).** Embryopsida, a new name for the class of land plants. Taxon, 61(5) : 1096-1098.

- **Pistelli. L. (2006, February 22-25).** Photochemicals from lamiaceae: from nutraceuticals to Hallucinogens. International symposium The Labiatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilization.

Q

- **Quezel P., Santa S. (1962-1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Vol. 1-2. Ed. Centre National de la Recherche Scientifique CNRS. Paris, 1170 p.
- **Quezel, P. et Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, France. P 603,781-793.

R

- **Radulescu, V., Silvia, C. and Eliza, O. (2004).** Capillary gas chromatography-mass Spectrometry of volatile and semi volatile compound of *Salvia officinalis*. Journal of Chromatography A. Vol.1027,121-126.
- **Rahman, I., Biswas, S.K. & Kirkham, P.A. (2006).** Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. Biochem Pharmacol, 72, 1439-1452.
- **Rastogi, M. Zivcak, O. Sytar, H.M. Kalaji, X. He, S. Mbarki, M. Brestic,** Impact of metal and metal oxide nanoparticles on plant: a critical review, Front. Chem. 5 (2017) 78, <https://doi.org/10.3389/fchem.2017.00078>
- **Rayaud J.,(2006).** Prescription et conseils en aromathérapie. Ed. Lavoisier. Paris, 400 p.
- **Richter G. (1993).** Métabolisme des végétaux : Physiologie et biochimie. Edition Presses Polytechniques et Universitaires Romandes : 318-338.
- **Roberts RA, Smith RA, Safe S, et al., (2010),** Toxicological and pathophysiological roles of reactive oxygen and nitrogen species. Toxicolog, 276; 285-94.
- **Rodkey F L.** Clin Chem 1965; 11: 478-487.
- **Rye S., (2009).** Nanomatériaux : Préoccupations sur la Santé et l'Environnement. Annale de BBE. vol. 7 (10) : 1-15.

S

- **Saba N., (2010).** Concentration-dependent toxicity of iron oxide nanoparticles mediated by increased oxidative stress. Annale de l'IJN. vol. 5 (4) : 1-7.
- **Sacoti H., (2012).** Lésions élémentaires des cellules, tissus et organes. Annale de COPATH. vol. 3(1) : 1-29.

- **Sanchez-Moreno, C. (2002):** Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Food and Biological Systems. *International Journal Of Food Science and Technology*, 3, 121-137.
- **Sarni-Manchado P, Cheynier V (2005),** Collectif. Les polyphénols en agroalimentaire. Paris : Tec & Doc Lavoisier ; 2005. 398p.
- **Schmid-Hempel, P et König, C (1995).** Foraging activity and immunocompetence in workers of the bumble bee, *Bombus terrestris* L. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 260(1358), 225-227.
- **Shen E, et al. (2009).** Identification and characterization of INMAP, a novel interphase nucleus and mitotic apparatus protein that is involved in spindle formation and cell cycle progression. *Exp Cell Res* 315(7):1100-16
- **Shen Y., (2009).** Preparation and application of magnetic Fe₃O₄ nanoparticles for wastewater purification. *Annale de SPT*. vol. 68(3) : 1-8.
- **Shimizu, H. (2004).** Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population :the Hisayama study, *Stroke*,35 (9) : 2072-2077.
- **Singh Saket Chandel, Ram Kumar Sahu, (2017).** Protective effect of dietary inclusion of baegle marmelos fruit on gentamicin induced hepatotoxicity in rats, 578-603.
- **Sjögren B, Iregren A, Frech W, (1996).** Effects on the nervous system among welders exposed to aluminium and manganese. *Occupational and Environmental Medicine*;53:32-40.
- **Song M., Moon K., Kim y., Lim D., Song C., Yoon W., (2007).** Labeling efficacy of superparamagnetic iron oxide nanoparticles to human neural stem cells: Comparison of ferumoxides, monocrystalline iron oxide, cross-linked iron oxide (CLIO)-NH₂ and tat-CLIO. *Annale de KJR*. vol. 8(5) : 1-24.
- **Standley, P. and Williams, L. (1973).** Flora of Guatemala. *Fieldiana Bot.* 24:237–317.

T

- **Taiba I, Boumahart M, Boulifa A. (2017).** Evaluation de l'activité anti inflammatoire, analgésique, antioxydante et antipurétique de la plante médicinale Algérienne *Salvia officinalis* L. Université des Frères Mentouri Constantine, (99). Thèse de doctorat université Toulouse iii Paul Sabatier faculté des sciences pharmaceutiques.
- **Therrien Rachel, (2009).** Hépatotoxicité, tibotec, une division de janssen-ortho inc.

- **TIETZ N.W.** Text book of clinical chemistry, 3^d Ed. C.A. Curtis, E.R. Silverman L. M., Christensen R. H. (1995) p. 523-524
- **TIETZ N.W.** Text book of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p.676-684 et p.1429-1431.
- **Tomas F, Barberan A (2010).** Ellagitannins, ellagic acid and vascular health. Molecular Aspects of Medicine, 31: 513-539.
- **Tortora Gerard et Bryan Derrickson, (2007).** Principe d'anatomie et de physiologie ; 4^{ème} édition de boeck, page 993.

V

- **Valla Charles, (2013).** Interpretation des anomalies biologiques autour de cas cliniques /cholestase, hepato-gastro et oncologie digestive, vol20 n 8.
Végétaux : Un Exemple de Métabolites Secondaires D'importance Economique. Editions Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne.192 p.
Végétaux : Un Exemple de Métabolites Secondaires D'importance Economique. Edition Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne.192 p.
- **Veres K. (2007).** Variability and biologically active components of some Lamiaceae species. Ph.D. Thesis, Department of Pharmacognosy, University of Szeged, Hungary.

W

- **W. Ueda, M. Sadakane, et H. Ogihara. (2008).** "Nano-structuring of complex metal oxides for catalytic oxidation," Catalysis Today, vol. 132, no. 1-4, pp. 2-8, 2008.
- **Walker J. B Kenneth J Treutlein. J & Wink. M. (2004).** *Salvia* (lamiaceae) is not monophyletic: Implications for the systmatics, radiation, and ecological pecializations of *Salvia* and tribe Mentheae. American Journal of Botany, 91 (7), 111.
- **Webster D.** Clin Chem. 1974: Acta 53: 109-115.
- **Willcox Joye. K, Sarah. ASH, George L. Catignani. (2004).** Antioxidants and Prevention of Chronic Disease. Paper No. FSR 03-28 of the Journal Series of the Department of Food Science, North Carolina State University, Raleigh, NC 27695-7624.
- **Wong, S.P., Leong, L.P. and Koh, J.H.W. (2006):** Antioxidant Activities of Aqueous Extracts of Selected Plants. Food Chemistry, 99, 775-783
- **Wu, W., Zhu, Y., Zhang, L., Yang, R., Zhou, Y. (2012).**Extraction, preliminary structural characterization, and antioxidant activities of polysaccharides from *Salvia miltiorrhiza* Bunge. Carbohydr. Polym. 87(2):1348-1353.

X

- **Xiuzhen H., Tao S., Hongxiang L. (2007).** Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *International Journal of Molecular Sciences* 8(9): 950-988.

Y

- **Yen, G., &Duh., P. (1994):**Scavenging effect of methanolic extract of peanut hullson free radical and active oxygen speacies. *J. Agri, Food Tech*, 42, 629 -632