

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur
et de la recherche scientifique
Université Chadli Bendjedid
El Tarf



جامعة الشاذلي بن جديد
UNIVERSITE CHADLI BENDJEDID

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الشاذلي بن جديد
الطارف

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

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم العلوم البيولوجية



Mémoire de Fin d'Études

Présenté en vue de l'obtention d'un Diplôme de Master 2 Recherche

« Toxicologie Fondamentale et Appliquée »

THÈME

**Phytothérapie pulmonaire chez un modèle animal
exposé à un aérosol toxique**

Soutenu le : 06/06/2024

Présenté Par : CHELOUFI Narimane

Devant le jury composé de :

Dr. HACINI Nesrine	Pr.	Présidente	UCBET
Mme. LARHEM Aicha Beya	MAA	Examinatrice	UCBET
Dr. TOUMI-MERZOUG Sameha	MCA	Promotrice	UCBET
Dr. TOUMI Mohamed Lamine	MCA	Co-Promoteur	UCBET

Année universitaire 2023 - 2024

« Remerciements »

Merci au **Dieu Miséricordieux**, Tout-Puissant de nous avoir donné le courage, la force et la volonté afin de compléter ce travail.

Je tiens à remercier tout particulièrement Mme « **TOUMI-MERZOUG SAMEHA** » et Monsieur « **TOUMI MOHAMED LAMINE** », qui m'ont aidé dans la sélection des sujets et la réalisation de ce mémoire. Je tiens à leur exprimer ma profonde gratitude pour leur patience, leurs efforts considérables, leur encouragement, leur générosité envers la science, ainsi que pour tous les conseils et orientations qu'ils m'ont accordé.

Je remercie amplement tous les membres du jury qui nous ont honoré par leur présence afin d'évaluer ce travail.

À Mme **HACINI NESRINE**, présidente de jury. Qu'elle trouve ici mes sincères grâces et mes sincères remerciements.

À Mme **LARHEM AICHA BEYA**, membre examinatrice. Qu'elle soit assurée de mes respectueuses et très sincères grâces.

Je remercie très chaleureusement les ingénieurs de laboratoires pédagogiques pour leur encouragement et leur aide:

HAYETTE, WALID, AISSA et ZOUHIR.

Finalement, je présente mes grâces à ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

الإهداء

لم تكن الرحلة قصيرة ولا ينبغي لها أن تكون لم يكن الحلم قريبا لا الطريق كان محفوفًا بالتسهيلات لكنني فعلتها فالحمد لله الذي يسر البدايات وبلغنا النهايات

أهدي ثمرة جهدي المتواضعة الى الغالية التي كانت أملى، الى القلب الحنون والشمعة التي كانت نورا لي في الليالي المظلمة التي ساندتني طوال مسيرتي وهونت علي الطريق، الى حبيبة قلبي أُمي الغالية

يا من احمل اسمه بكل فخر الذي ساندني وعلمني أن الحياة صراع وسلاحها العلم، الذي علمني الصبر والاستمرار رغم الصعاب الذي لطالما حفنتني دعواته، أبي الغالي حبيب قلبي

إلى من علموني أن أرتقي سلم الحياة بحكمة وصبر إلى من وهبوني الحياة والأمل الى من وهبني الله نعمة وجودهم في حياتي برا وإحسانا لهما أبي وأمي

إلى إخوتي، سندي وضلعي الثابت؛ سيف الدين وعبد الرزاق

إلى كل عائلتي كبيرها وصغيرها وأصدقاء السنين

إلى أطبائي الأعمام الذين أنقذوا حياتي؛ فنغور رضوان، بوطرفة نورالدين، وادريسي أمينة، أدامكم الله في خدمة صحة الانسان وأدام صحتكم عليكم

ألف رحمة على روح أجدادي؛ شلوفي مهدي وحماوي يوسف
وجدة أبي جراي ربح

البنزين مذيّب عضوي يستخدم في تخفيف العديد من المواد ويستخدم في صناعة مستحضرات التجميل والطلاء وازالة الشحوم وصناعة الحبر. يتسبب استخدامه في إلحاق أضرار بيئية كبيرة على الانسان والحيوان، مما يؤدي إلى أمراض جسدية ووظيفية للأعضاء. في هذه الدراسة، قمنا بتقييم السمية الرئوية التي يسببها البنزين. وفي سياق اخر، اختبرنا التأثير الوقائي للمستخلص المائي لنبات الاوكالبتوس غلوبيلوس لابليل الطبي على قواقع هليكس اسبيرسا كنموذج حيواني تجريبي. لقد أجرينا تقنيات تجريبية مختلفة فحص الجلوتاثيون المختزل وفحص الكاتلاز وقياس الخصائص الفيزيائية والكيميائية للمستخلص.

تشير نتائجنا إلى انخفاض كبير في مستويات الجلوتاثيون المختزل وكذلك الكاتلاز في الرئتين، مما يؤكد وجود تأثير للبنزين (اكسدة). كما تم إثبات الفعالية الوقائية لنبات الاوكالبتوس غلوبوليس لابليل على الرئتين. اظهر التحليل الطيفي الوظيفي بالأشعة فوق البنفسجية ان المستخلص يتكون من جزيئات تتميز بوجود عدد كبير من نطاقات الامتصاص ولكنها شديدة الكثافة مع وجود أكبر قمة عند 412 نانومتر.

الكلمات المفتاحية: السمية الرئوية ; البنزين ; نبات الاوكالبتوس غلوبيلوس لابليل ; مضادات الاكسدة ; قواقع هليكس اسبيرسا.

Abstract

Benzene is an organic solvent used in the dilution of many substances. It is used in the cosmetics, paint, degreasing, and ink manufacturing industries. Its use causes considerable environmental damage to humans and animals, resulting in structural and functional organ diseases. In this study, we assessed the pneumotoxicity caused by benzene. In parallel, we tested the preventive effect of the aqueous extract of the medicinal plant *Eucalyptus globulus labill* in the gastropod *Helix aspersa* as an experimental animal model. We performed various experimental techniques: reduced glutathione (GSH) assay, catalase assay, and physicochemical parameters of the extract. Our results indicate a significant decrease in GSH levels and catalase activity in the lungs. This, in turn, suggests a prooxidant action of benzene. Nevertheless, the preventive efficacy of the plant *Eucalyptus globulus labill* on the organ exposed to benzene has been confirmed. UV spectrophotometric analysis shows that the extract comprises molecules characterized by a large number of absorbance peaks of low intensity, with the largest at 412 nm.

Keywords: Pneumotoxicity ; Benzene ; *Eucalyptus Globulus Labill* ; Antioxidants ; *Helix aspersa*.

Résumé

Le benzène est un solvant organique utilisé dans la dilution de plusieurs substances. Il est utilisé dans les industries cosmétiques, de peinture, de dégraissage et la fabrication des encres. Son utilisation résulte de grands dégâts environnementaux pour l'homme et les animaux, se traduisant par des maladies structurelles et fonctionnelles des organes. Dans cette étude, nous avons évalué la pneumotoxicité causée par le benzène. En parallèle, nous avons testé l'effet préventif de l'extrait aqueux de la plante médicinale *Eucalyptus globulus labill* chez le gastéropode *Helix aspersa* comme un modèle animal d'expérimentation. Nous avons pratiqué diverses techniques expérimentales: Le dosage du glutathion réduit (GSH), le dosage de la catalase, et la mesure des paramètres physicochimiques de l'extrait.

Nos résultats indiquent une diminution significative du taux de GSH et de l'activité de la catalase dans les poumons. Tandis que, ce qui signifie une action prooxydante du benzène. Néanmoins, l'efficacité préventive de la plante *Eucalyptus globulus labill* sur l'organe exposé au benzène a été confirmée. L'analyse spectrophotométrique à l'UV montre que l'extrait est composé de molécules caractérisées par la présence des pics d'absorbance en grand nombre mais peu intense en indiquant la plus importante à 412 nm.

Mots clés: Pneumotoxicité ; Benzène ; *Eucalyptus Globulus Labill* ; Antioxydants ; *Helix aspersa*.

LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre du tableau	Page
01	Équipement et dispositifs utilisés	17
02	Réactifs chimiques utilisés	17
03	Classification de <i>Helix aspers</i>	18
04	Protocole du dosage de l'activité de la catalase	24
05	Comparaison des moyennes du poids corporel des escargots	26
06	Analyse de variance du poids corporel des escargots	26
07	Comparaison multiple (Post-Hoc) du poids corporel des escargots	27
08	Comparaison des moyennes du poids du poumon des escargots	27
09	Analyse de variance du poids du poumon des escargots	27
10	Comparaison des moyennes du taux de GSH dans le poumon	28
11	Analyse de variance du taux de GSH dans le poumon	28
12	Comparaison multiple (Post-Hoc) du taux de GSH dans le poumon	29
13	Comparaison des moyennes de l'activité de catalase dans le poumon	30
14	Analyse de variance de l'activité de catalase dans le poumon	30
15	Indice de réfraction et viscosité de l'extrait aqueux d' <i>Eucalyptus globulus labill</i>	31

LISTE DES FIGURES

N°	Titre de la figure	Page
1	La formule du benzène	03
2	Étiquettes ajoutées sur le flacon du benzène	08
3	Aire de répartition d' <i>E. globulus</i> en rouge sur la carte	12
4	Feuilles d' <i>E. globulus</i> sur des rameaux agés	14
5	Photographie des fleurs d' <i>E. globulus</i> . A : boutons floraux d' <i>E. globulus</i> ; B : fleurs d' <i>E. globulus</i> avec des étamines blanc crème	14
6	Photographie du fruit d' <i>E. globulus</i> . A : capsules d' <i>E. globulus</i> ; B : capsules d' <i>E. globulus</i> avec trois, quatre ou cinq fentes (Giboin, 2016) ; C : capsule d' <i>E. globulus</i> jeune (C1) et à maturité (C2)	15
7	Planche récapitulative d' <i>E. globulus</i> (1: Feuille sur un rameau jeune ; 2 : rameau agé en fleurs ; 3 : bouton floral ; 4 : fruit	15
8	Anatomie externe de l'escargot <i>Helix aspersa</i>	18
9	Anatomie interne de l'escargot <i>Helix aspersa</i>	18
10	La plante <i>Eucalyptus globulus</i> et illustration géographique de sa récolte	19
11	Élevage des escargots <i>Helix aspersa</i>	19
12	Montage de l'hydro-distillateur	20
13	Lotissement des groupes des escargots (1: Extrait Eucalyptus «E», 2: Extrait Eucalyptus+Benzène «E+B», 3: Benzène «B»	21
14	Le matériel utilisé pour les mesures et la dissection	21
15	Variation du poids corporel des escargots témoins et traités.	26
16	Variation du poids des poumons des escargots témoins et traités.	28
17	Variation du Taux de glutathion réduit (GSH) pulmonaire chez les escargots témoins et traités.	29
18	Variation de l'activité catalasique (CAT) pulmonaire chez les escargots témoins et traités.	30
19	Profil spectral UV de l'extrait aqueux d' <i>Eucalyptus globulus labill</i>	31

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AFNOR: Association Française de Normalisation

°C : degré Celsius

CAT : Catalase

CIRC : le Centre international de recherche sur le cancer

CLP: classification, labing, pacaging

DPPH: 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl

DTBN : acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque

EPA : L'Agence américaine de protection de l'environnement

E. Globulus : *Eucalyptus globulus*

GSH : glutathion réduit

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène

HAM : hydrocarbure aromatique monocyclique

HE : Huile Essentielle

IC50: Concentration inhibitrice de 50%

INRS : Institut national de recherche et de sécurité

Iv : intraveineuse

mg/l : milligramme/litre

PAD : polluants atmosphériques dangereux

Ppm : partie par million

SBTEX : Le styrène, le benzène, le toluène, l'éthylbenzène et les xylènes

SGH: système général harmonisé

SSA : acide sulfosalysilique

Table des Matières

1. Introduction	1
2. Lumière bibliographique	3
2.1. Le Benzène.....	3
2.1.1. Définition.....	3
2.1.2. Utilisations.....	3
2.1.3. Pathologie - Toxicologie.....	4
2.1.3.1. Toxicocinétique - Métabolisme.....	4
2.1.3.2. Absorption.....	4
2.1.3.3. Distribution.....	4
2.1.3.4. Métabolisme.....	4
2.1.3.5. Elimination.....	5
2.1.4. Données toxicologiques et épidémiologiques.....	6
2.1.4.1. Toxicité aiguë.....	6
2.1.4.2. Toxicité chronique.....	6
2.1.4.2.1. Toxicité non hématologique.....	6
2.1.4.2.2. Troubles hématologiques non malins.....	6
2.1.5. Classification et étiquetage.....	7
2.2. La Phytothérapie.....	9
2.2.1. Définition de la phytothérapie.....	9
2.2.2. Les Plantes médicinales.....	9
2.2.2.1. Principe actif des plantes médicinales.....	9
2.2.2.2. Les huiles essentielles.....	10
2.3. La phytothérapie par Eucalyptus globulus Labill.....	11
2.3.1. Découverte et historique des Eucalyptus.....	11
2.3.2. Description de l'espèce Eucalyptus globulus.....	11
2.3.2.1. Carte d'identité.....	11
2.3.2.1.1. Nom scientifique (nom latin).....	11
2.3.2.1.2. Noms vernaculaires.....	12
2.3.2.2. Étymologie de l'espèce.....	12
2.3.2.3. Origine.....	12
2.3.2.4. La classification botanique d'Eucalyptus globulus.....	13
2.3.2.5. Description botanique.....	13
2.3.2.6. Composition de l'huile essentielle d'eucalyptus globulus.....	16
3. Matériel et méthodes	17
3.1. Lieu et période de travail.....	17
3.2. Matériel.....	17
3.2.1. Équipement et dispositifs.....	17
3.2.2. Réactifs chimiques.....	17
3.2.3. Le modèle animal.....	17
3.2.4. Plante médicinale : Eucalyptus Globulus Labill.....	19
3.3. Méthodes.....	19
3.3.1. Collection et adaptation.....	19

Table des matières

3.3.2. Préparation de la plante récoltée	20
3.3.3. Hydrodistillation d'Eucalyptus Globulus	20
3.3.4. Protocole expérimental et dissection des escargots.....	20
3.3.4.1. Préparation des groupes	20
3.3.4.2. Dissection	21
3.3.4.3. Groupes expérimentaux.....	21
3.4. Dosage du glutathion réduit (GSH).....	22
3.5. Dosage de la catalase (CAT)	23
3.6. Détermination des paramètres physiques d'Eucalyptus globulus labill.....	24
3.6.1. Profil spectral à l'ultraviolet.....	24
3.6.2. Indice de réfraction.....	24
3.6.3. Viscosité	24
3.7. Analyses statistiques.....	24
4. Résultats	26
4.1. Paramètres pondéraux	26
4.2. Taux du glutathion réduit (GSH) dans le poumon	28
4.3. Activité de catalase dans le poumon	29
4.4. Paramètres physiques de l'extrait aqueux d'Eucalyptus globulus labill	31
4.4.1. Profil spectral à l'ultraviolet.....	31
4.4.2. Indice de réfraction et viscosité de l'extrait aqueux d'Eucalyptus globulus labill.....	31
5. Discussion.....	32
Conclusion et perspectives.....	35

Références bibliographiques

Annexes (Communication scientifique)

1. Introduction

Le styrène, le benzène, le toluène, l'éthylbenzène et les xylènes (SBTEX) sont répertoriés comme polluants atmosphériques dangereux (PAD) par L'Agence américaine de protection de l'environnement (EPA) (**Declet-Barreto et al., 2020**) et peuvent être détectés en quantités malsaines dans le milieu ambiant. Les SBTEX proviennent principalement de sources d'émissions industrielles et peuvent être trouvés dans les secteurs pétrochimiques, la construction et les industries manufacturières (**Polvara et al., 2021 ; Declet-Barreto et al., 2020**), 98% des émissions de benzène étant attribuées à des sources de charbon et de pétrole (**ATSDR, 2007a, b, 2010a, b, 2017**). Son exceptionnelle qualité de solvant a permis son utilisation dans de nombreuses industries : graisses, caoutchouc, peintures, vernis, matières plastiques, etc.

Le benzène est l'une des molécules courantes les plus toxiques (**Smith, 2010 ; Loomis et al., 2017**), classé par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) comme molécules du groupe 1, cancérigènes pour l'homme. Néanmoins, le benzène constitue aujourd'hui un intermédiaire très pertinent pour la production d'un grand nombre de produits ménagers. D'un autre côté, des quantités dangereuses de cette molécule sont également formées, par exemple lors de la cuisson des aliments (**Dos santos et al., 2015**), ainsi que le tabagisme qui reste la principale source d'exposition humaine au benzène (**Fiebelkorn et Meredith, 2017**).

Selon l'Institut national de recherche et de sécurité (**INRS**), le benzène provoque des troubles digestifs et neurologiques, avec en cas d'ingestion, une pneumopathie d'inhalation. Le benzène est irritant pour la peau et induit des lésions oculaires superficielles. Les expositions répétées peuvent provoquer des troubles neurologiques. La toxicité est avant tout hématologique. Des effets génotoxiques sont observés en cas d'exposition professionnelle (**INRS, 2019**).

Depuis l'antiquité, les plantes sont utilisées comme source de médicaments. À l'heure actuelle, environ la moitié de tous les médicaments sont dérivés de plantes ou de leurs produits dérivés, ce qui suscite l'intérêt pour le monde végétal (**Tuorkey, 2015**).

L'eucalyptus est une plante à feuilles persistantes non indigène en Inde qui est aujourd'hui largement cultivée à des fins diverses, notamment médicinales, phytochimiques,

pharmaceutiques, bois d'œuvre, antioxydants, propriétés antibactériennes et huiles essentielles (Salem et al., 2014).

Il existe environ 700 espèces du genre *Eucalyptus*, dont 300 espèces contiennent de l'huile végétale qui possède des propriétés allélopathiques et protectrices des feuilles d'*eucalyptus* des attaques nuisibles, et agissant donc comme un pesticide naturel (Batish et al., 2008). *Eucalyptus globulus* est une espèce bien connue pour sa haute concentration en composés bioactifs tels que les acides phénoliques, les tanins hydrolysables et les flavonoïdes (Chinnarasu et al., 2015).

De nombreuses études ont démontré que *Eucalyptus globulus* semble avoir des propriétés antibactériennes, astringentes, anti-inflammatoires, antiseptiques et anticancéreuses (Takahashi et al., 2004).

Traditionnellement, l'huile essentielle de *Eucalyptus globulus* a été utilisée comme anesthésique, désinfectant, fumigant, insectifuge, asthme, bronches, arthrite, furoncles, vermifuge, expectorant, abcès, astringent, diaphorétique, industries des déodorants, du maquillage et du savon (Bajaj, 2012). NASCIMENTO et al (2009) ont démontré que la forte quantité de 1,8-cinéole présent dans l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* va lui conférer sa propriété principale : cette huile essentielle est expectorante et mucolytique. Grâce à une stimulation directe des cellules sécrétrices de la muqueuse bronchique, l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* va permettre de fluidifier les sécrétions bronchiques afin qu'elles soient expulsées plus facilement. L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* va également permettre de relâcher les muscles lisses des voies aériennes. Nous attribuons souvent à l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* la propriété de décongestion du nez en cas de rhume. De même, selon ESCOP (2009), les résultats indiquent que l'huile essentielle stimule les récepteurs au froid de la muqueuse nasale ce qui donne l'impression de mieux respirer. L'explication peut aussi résider dans le fait que l'huile essentielle améliore la performance ciliaire.

Dans ce contexte, notre étude tend à évaluer le rôle préventif de l'extrait aqueux d'*eucalyptus globulus* sur la fonction pulmonaire suite à une intoxication par le benzène sur un modèle animal approprié, le gastéropode *Helix aspersa*.

2. Lumière bibliographique

2.1. Le Benzène

2.1.1. Définition

Le benzène (CAS 71-43-2 ; **C₆H₆**) est un hydrocarbure aromatique monocyclique (**HAM**), à température ambiante, est sous forme de liquide incolore, volatil et très inflammable. Il a une odeur aromatique caractéristique ayant un seuil olfactif variant entre 4,7 à 100 ppm dans l'air et de 2 mg/l dans l'eau et un seuil de goût entre 0,5 et 4,5 mg/l (**ATSDR, 2007**). Le benzène est relativement soluble dans l'eau et dans la majorité des solvants organiques. Il se concentre peu dans les organismes aquatiques (coefficient de bioconcentration de 1 à 20) (**HSDB, 2005**). Sa demi-vie dans l'eau varie entre 1 heure et 720 jours selon qu'il s'agit d'eau de surface ou d'eau souterraine ou encore selon certaines conditions environnementales (ex : saisons) (**HSDB, 2005 ; Santé Canada, 2009**). C'est un excellent solvant pour un grand nombre de substances naturelles ou de synthèse tel que les huiles, les graisses et les résines (**INRS, 2019**).

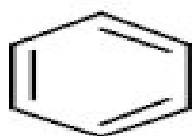


Figure 1 : La formule du benzène.

2.1.2. Utilisations

Le benzène est utilisé dans

- ✓ L'industrie pétrochimique (les raffineries ont des installations automatisées)
- ✓ L'industrie chimique comme intermédiaire de synthèse (ex : synthèse du phénol, du styrène, de l'aniline, du nitrobenzène, du cyclohexane) et pour des produits de base pour la fabrication de matières plastiques, colorants, textiles, colles, détergents... ;
- ✓ L'industrie de la parfumerie en tant que solvant d'extraction ;
- ✓ Les laboratoires de chimie en synthèse (recherche) ;

Le benzène est présent dans les carburants (en particulier l'essence sans plomb qui peut en renfermer jusqu'à 1 % en volume) exposant différentes catégories de salariés : Les garages automobiles ; les utilisateurs et réparateurs de petits matériels à moteur thermique (ex : débroussailleuse...) ; les stations de vente de carburants (**INRS, 2019**).

2.1.3. Pathologie - Toxicologie

2.1.3.1. Toxicocinétique - Métabolisme

Le benzène est absorbé par toutes les voies d'exposition. Il est rapidement distribué, préférentiellement dans les tissus riches en lipides. La métabolisation a principalement lieu dans le foie ainsi que dans la moelle osseuse et le métabolisme oxydatif est nécessaire au développement d'effets toxiques. Une partie du benzène peut être exhalée sous forme non métabolisée, mais la plus grande partie est métabolisée et les métabolites sont excrétés sous forme conjuguée, principalement dans l'urine (INRS, 2019).

2.1.3.2. Absorption

Le benzène est facilement absorbé au niveau du tractus gastro-intestinal puisque plus de 80 % de la dose orale est absorbée chez le lapin et plus de 97 % chez le rat et la souris. Après inhalation, on retrouve chez les rongeurs 10 à 50 % de la dose administrée dans le sang et les tissus et, chez l'homme, plusieurs études évaluent l'absorption par cette voie à 50 %. Le benzène liquide ou les vapeurs de benzène sont également absorbés par voie cutanée mais de façon moindre : chez l'homme, une étude in vitro estime l'absorption cutanée de benzène liquide à 0,2 % et, in vivo, 0,05 % des vapeurs semblent absorbées par la peau. En milieu professionnel, le benzène est absorbé essentiellement par voie pulmonaire et, à un moindre degré, par voie percutanée (INRS, 2019).

2.1.3.3. Distribution

Le benzène se distribue préférentiellement dans les tissus riches en lipides. Des niveaux importants sont observés dans les tissus adipeux, le cerveau, le sang, les reins et le foie par inhalation chez l'homme ainsi que dans la moelle osseuse, les glandes mammaires et les glandes de Zymbal après inhalation ou ingestion chez le rat.

Le benzène peut également traverser le placenta chez l'homme et l'animal et des concentrations comparables sont observées dans le sang maternel et le sang du cordon ombilical (INRS, 2019).

2.1.3.4. Métabolisme

Le benzène est métabolisé essentiellement dans le foie, mais aussi dans les autres tissus où il s'est fixé, notamment la moelle osseuse.

La première réaction, catalysée par le système du cytochrome P450 (CYP2E1), conduit à la formation d'époxybenzène. L'absence d'effets néfastes chez les souris knockout (souris

dépourvue de l'activité enzymatique CYP2E1) montre que cette étape de métabolisation est essentielle dans la toxicité du benzène (Valentine et al., 1996). En effet, les métabolites responsables des effets toxiques sont formés à partir de l'époxybenzène très réactif par différentes voies d'oxydation.

Les mêmes voies métaboliques semblent communes aux différentes espèces mais avec des variations quantitatives. La formation de dérivés conjugués est plus importante chez le rat que chez la souris. Des études d'exposition par voie intraveineuse (iv) indiquent que les primates métabolisent le benzène majoritairement en conjugués phénoliques, et l'oxydation en composés toxiques comme l'hydroquinone et l'acide trans, trans-muconique est moindre que chez la souris. Chez l'homme, les enzymes des cytochromes P450 sont présentes avec une grande variabilité interindividuelle, et *in vitro* l'activité des différentes enzymes du métabolisme du benzène varie d'un facteur 3 selon les individus avec des valeurs comprises entre celles du rat et de la souris (Schlosser et al., 1995).

Divers produits peuvent interférer avec le métabolisme du benzène. L'éthanol et, de façon moins claire, le phénobarbital stimulent le métabolisme du benzène. À l'inverse, le toluène inhibe par compétition la transformation du benzène en phénol. Par ailleurs, l'administration répétée de benzène à faible dose réduit l'activité du CYP2E1.

2.1.3.5. Elimination

Après inhalation, ingestion ou application cutanée, le benzène se retrouve principalement tel que dans l'air expiré et sous forme métabolisée dans les urines. Chez la souris, après ingestion de faibles quantités, 90 % de la dose est excrétée dans les urines alors que pour des doses plus élevées, une proportion plus importante est exhalée sous forme non métabolisée, ce qui indique une saturation du métabolisme du benzène.

Lors d'une exposition chronique, l'élimination pulmonaire varie entre 10 et 50 % de la quantité absorbée ; elle se poursuit au moins 24 heures après l'arrêt de l'exposition. Les phénols urinaires correspondent au métabolisme de 30 à 40 % du benzène et sont à 90 % sous forme sulfoconjuguée. Les métabolites conjugués de l'hydroquinone, du catéchol et l'acide muconique sont également présents dans l'urine. La quantité urinaire de benzène non métabolisé représente moins de 1 % du benzène administré. L'élimination urinaire se poursuit pendant 24 à 36 heures. Une faible quantité de métabolites glucuroconjugués peut également être retrouvée dans les fèces après passage dans la bile (INRS, 2019).

2.1.4. Données toxicologiques et épidémiologiques

2.1.4.1. Toxicité aiguë

Le benzène partage la toxicité aiguë de tous les solvants hydrocarbonés. L'ingestion provoque : des troubles digestifs (douleurs abdominales, nausées, vomissements), des troubles neurologiques (troubles de conscience, ivresse puis somnolence pouvant aller jusqu'au coma, convulsions à très hautes doses) et une pneumopathie d'inhalation, due à l'inondation des voies respiratoires par le produit et aggravée par les vomissements éventuels (**Grant, 1986 ; Garnier, 2000 ; INRS, 2019**).

Lors d'intoxications par inhalation, les mêmes symptômes neurologiques apparaissent pour des concentrations variables selon les individus ; les chiffres suivants sont donnés à titre indicatif : pas d'effet à 25 ppm, céphalées et asthénie de 50 à 100 ppm, symptômes plus accentués à 500 ppm, tolérance seulement pendant 30 à 60 minutes à 3000 ppm, mort en 5 à 15 minutes à 20 000 ppm. Des convulsions sont observées aux plus hautes doses (**Grant, 1986 ; Garnier, 2000 ; INRS, 2019**).

2.1.4.2. Toxicité chronique

2.1.4.2.1. Toxicité non hématologique

L'inhalation de benzène provoque des troubles neuropsychiques communs à ceux observés avec les autres solvants et regroupés sous le terme « syndrome psycho-organique » : irritabilité, diminution des capacités d'attention et de mémorisation, syndrome dépressif, troubles du sommeil... Des troubles digestifs, tels que nausées, vomissements, épigastralgies, peuvent être observés. Par contact cutané prolongé, le benzène entraîne des irritations locales. Aucune étude n'a prouvé la responsabilité du benzène dans la genèse des cancers autres que ceux du système hématopoïétique et lymphopoïétique (**Truhaut, 1977 ; Wright et al., 1964 ; Valentine et al., 1996**).

2.1.4.2.2. Troubles hématologiques non malins

Le rôle du benzène dans la survenue d'hémopathies non malignes est prouvé par de nombreuses études individuelles et épidémiologiques. D'après les résultats de ces dernières, le seuil de toxicité semble pouvoir être fixé, pour des groupes, à 10 ppm ; toutefois cette valeur n'exclut pas la possibilité de survenue d'anomalie pour des expositions plus faibles (**Garnier, 2000**).

La thrombopénie est le signe le plus précoce et le plus fréquent de l'intoxication. Une leucopénie ou parfois une hyperleucocytose, une anémie ou, beaucoup plus rarement, une

polyglobulie peuvent également être notées. La difficulté d'interprétation des anomalies modérées (liée à la variabilité intra-individuelle, inter-individuelle et raciale des paramètres de la numération formule sanguine et à la difficulté d'en définir la normalité) justifie néanmoins une certaine prudence. Les anomalies évoluent dans la grande majorité des cas vers la régression à l'arrêt de l'exposition : elles ne seraient que très rarement le prélude à une hémopathie plus sévère (**Wright et al., 1964**).

L'aplasie médullaire benzénique est devenue exceptionnelle en France depuis l'application des mesures de prévention prévues par la réglementation.

Le délai d'apparition de la maladie par rapport au début de l'exposition varie de quelques mois à plusieurs dizaines d'années. D'après certains, une première atteinte sanguine par le benzène favoriserait la survenue d'une aplasie médullaire après réexposition. Cette aplasie, précédée pendant plus ou moins longtemps d'une hypoplasie, peut débiter sur une seule lignée (plaquettaire ou blanche) avant de se généraliser. Le médullogramme est typiquement pauvre ; mais parfois il est initialement normal ou riche : hyperplasie granuleuse et mégacaryocytaire, augmentation des éléments jeunes et immatures. En cas de guérison, l'évolution peut se faire vers une leucémie dans un délai variable de plusieurs années souvent (**Normand et al., 1997**).

2.1.5. Classification et étiquetage

Selon la fiche toxicologique n°49 de l'INRS 2019

a) *substance* benzène

Le règlement CLP (**règlement (CE) n° 1272/2008** modifié du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2008 (L 353, JOUE du 31 décembre 2008) introduit dans l'Union européenne le système général harmonisé de classification et d'étiquetage ou SGH. La classification et l'étiquetage du benzène harmonisés figurent dans l'annexe VI du règlement CLP. La classification est : selon le règlement (CE) n° 1272/2008 modifié

- ❖ Liquides inflammables, catégorie 2 ; H225
- ❖ Cancérogénicité, catégorie 1A ; H350
- ❖ Mutagénicité sur les cellules germinales, catégorie 1B ; H340
- Toxicité spécifique pour certains organes cibles - Exposition répétée, catégorie 1 ; H372(**)
- ❖ Danger par aspiration, catégorie 1 ; H304
- ❖ Irritation oculaire, catégorie 2 ; H319
- ❖ Irritation cutanée, catégorie 2 ; H315



Figure2: Etiquettes ajoutées sur le flacon du benzène.

b) mélanges contenant du benzène

Règlement (CE) n° 1272/2008 modifié.

Des limites spécifiques figurent à l'annexe VI du règlement CLP.

2.2. La Phytothérapie

2.2.1. Définition de la phytothérapie

Étymologiquement, le terme « phytothérapie » se décompose en deux termes distincts qui sont « *phuton* » et « *thérapeia* » et qui signifient respectivement « plante » et « traitement » de par leur racine grecque.

La phytothérapie est donc une thérapeutique destinée à traiter certains troubles fonctionnels et certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes et de préparations à base de plantes. C'est une thérapeutique inspirée de la médecine traditionnelle basée sur un savoir empirique enrichi au fil des générations. C'est ce qu'on appelle la « phytothérapie traditionnelle », qui est toujours grandement utilisée dans certains pays qui perpétuent les usages de leurs ancêtres (Gruffat, 2017).

2.2.2. Les Plantes médicinales

Selon la définition de la Pharmacopée Française (11ème édition en vigueur) : « Les plantes médicinales sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée Européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Ces plantes médicinales peuvent aussi avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques ».

Pour être reconnue comme « médicinale » une plante doit être inscrite soit à la Pharmacopée Européenne (8e éd.), soit à la Pharmacopée Française (11e éd.).

Il existe 546 plantes médicinales inscrites à la pharmacopée française 11ème édition, dont 148 peuvent être vendues en dehors du monopole pharmaceutique (ANSM, 2013). Le pharmacien a donc le monopole de la délivrance de 398 plantes médicinales (Anne-Sophie, 2018).

Une plante médicinale, contrairement à une plante « classique » possède donc des principes actifs responsables d'une action thérapeutique mais aussi responsables d'effets indésirables appelés toxicité, tout comme les médicaments chimiques.

2.2.2.1. Principe actif des plantes médicinales

Le principe actif est une molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animal. Il est contenu dans une drogue végétale ou une préparation à base de drogue végétale. En fait, dans le langage courant, le terme se substitue à celui de constituant à effet thérapeutique.

Les constituants à effet thérapeutique sont des substances ou groupes de substances, chimiquement définis, dont la contribution à l'effet thérapeutique d'une drogue végétale ou d'une préparation à base de drogue (s) végétale (s) est connue (Herbinet, 2004).

Aujourd'hui, la phytothérapie moderne s'appuie sur des connaissances biochimiques et cherche à soulager des symptômes grâce à des principes actifs identifiés, testés cliniquement et contenus dans les plantes médicinales. Elle a surtout recours à des produits d'origine végétale obtenus par extraction et présentés comme n'importe quelle spécialité pharmaceutique (**Jorite, 2015**).

2.2.2.2. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des essences volatiles que l'on extrait de plantes aromatiques de diverses manières (**Roger, 1990**) :

- Pression mécanique à froid, généralement appliquée aux agrumes
- Extraction par solvant chimique (y compris dioxyde de carbone), et alcool, généralement appliquée aux fleurs
- Distillation par entraînement à la vapeur d'eau, technique inventée vers l'an mille.

Une huile essentielle contient en effet plusieurs familles biochimiques ou « *chémotypes* » (**Rodriguez et Gonzalez, 1995**) : molécules ayant des actions spécifiques : antiseptique, bactéricide, stimulation immunitaire, décongestion, anti-irritation, calmante, anti-spasmodique, anti-inflammatoire, ... Là où ça se complique, c'est que d'un organe à l'autre d'une même plante on a affaire à des chémotypes différents, et que d'une sous-espèce à l'autre on peut obtenir des effets très différents, eux-mêmes sensibles à l'environnement

Les principaux composants des chémotypes sont (**Frédéric, 2022**) :

- Cétones
- Acides gras
- Aldéhydes
- Alcools
- Esters
- Ethers
- Sesquiterpènes
- Monoterpènes
- Oxydes aromatiques
- Hydrocarbures
- Phénols

2.3. La phytothérapie par *Eucalyptus globulus* Labill

2.3.1. Découverte et historique des *Eucalyptus*

Sir Joseph Banks (1743 - 1820) évoque en premier les eucalyptus. En effet, lors du premier voyage du capitaine Cook (1728 - 1779) qui eut lieu de 1768 à 1771, Sir Joseph Banks observa pour la première fois, en Australie, ces géants du monde végétal, qui selon les espèces, peuvent parfois atteindre plus de 100 mètres de haut (**Allain, 2004**). Après ces observations, il faudra attendre encore quelques années avant que le genre *Eucalyptus* n'apparaisse. C'est ainsi qu'en 1788, le botaniste français Charles-Louis L'Héritier de Brutelle (1746 - 1800) baptisa le genre alors que les hommes ne connaissaient que les échantillons rapportés par Sir Joseph Banks en Angleterre (**Brosse, 2000**).

Il inventa le nom « *Eucalyptus* » à partir du grec « *eu* » qui signifie « bien » et « *calypto* » qui signifie « couvert, couvrir » (**Bertrand, 2007**). Ce nom fait allusion au périanthe de l'*Eucalyptus* qui cache la beauté des nombreuses étamines grâce à un capuchon qui s'enlève lors de l'anthes. Ce capuchon est une caractéristique commune à tous les eucalyptus (**Botineau, 2010**).

Un grand nombre d'espèces d'*Eucalyptus* ont été introduites en Algérie, notamment par M. Cordier de 1864 à 1876 (**Trabut, 1914**). Les *Eucalyptus* sont de grands arbres dont certaines espèces peuvent atteindre 100 mètres de hauteur. Originaire d'Australie, l'*Eucalyptus* fut rapidement planté dans les régions subtropicales de l'Asie et du bassin méditerranéen. De nombreux pays ont rapidement intégré les usages médicaux des feuilles de ce genre dans leur pharmacopée : Chine, Inde, Sri Lanka, Afrique du Sud, Île de la Réunion, Europe.

2.3.2. Description de l'espèce *Eucalyptus globulus*

Le genre *Eucalyptus* comprend plus de 700 espèces d'arbres et arbustes aromatiques, la plus commune étant *E. globulus*.

2.3.2.1. Carte d'identité

2.3.2.1.1. Nom scientifique (nom latin)

Eucalyptus globulus Labill. 1800. Le 6 Mai 1792, M. de La Billardière (1755 - 1834), botaniste français faisant partie de l'expédition d'Antoine Bruny d'Entrecasteaux, découvrit en Tasmanie, l'espèce maintenant la plus répandue des *Eucalyptus* : *E. globulus*. Ce fut le premier eucalyptus à être introduit en Europe. Cette expédition avait comme but premier, la recherche du navire perdu de Jean-François de La Pérouse. En effet, M. de La Pérouse avait mené une expédition découverte à partir de 1785 afin d'explorer l'océan Pacifique en vue de

compléter les découvertes de James Cook (1728 - 1779). Cependant, son navire disparut en 1788 (Allain, 2004).

2.3.2.1.2. Noms vernaculaires

Il existe des noms divers et variés dans toutes les langues, nous nous limiterons donc à la langue française, anglaise et allemande avec deux à trois noms par langues :

- dans la langue française, le nom le plus souvent rencontré est : *Eucalyptus globuleux* (Chevalier, 2013). Il existe aussi une multitude de synonymes, en voici quelques-uns :

- **Gommier bleu** : M. de la Billardière le décrit initialement sous ce terme à cause de la présence d'une pruine gris bleuâtre et glauque sur la face inférieure des feuilles et de sa capacité à fournir une gomme lors de l'incision du tronc (Bertrand, 2007).

- **Arbre à fièvre** : ce synonyme vient du fait que ces arbres étaient plantés dans des zones marécageuses insalubres afin de les assécher et d'éradiquer la présence de moustiques vecteurs de maladies. De plus, les guérisseurs l'utilisaient contre la fièvre des marais (le paludisme) (Lavedrine, 2000).

Dans la langue allemande, nous pouvons rencontrer les noms suivants : *fieberheilbaum*, *blauer eucalyptusbaum* (Botineau, 2011).

Dans la langue anglaise, voici les différents noms de l'eucalyptus globuleux : *australian fevertree* (Botineau, 2011), *lue gum* (Anton et al., 2003) .

2.3.2.2. Étymologie de l'espèce

« *globulus* » fait référence à la forme de l'opercule du fruit.

2.3.2.3. Origine

L'*E. globulus* est originaire de la Tasmanie et du sud de l'État de Victoria en Australie (Brosse, 2003) (Figure3).



Figure3 : Aire de répartition d'*E. globulus* en rouge sur la carte (HelloMojo, 2007).

2.3.2.4. La classification botanique d'*Eucalyptus globulus*

Selon Ghedira et al., 2008

- ❖ **Règne** : Plante
- ❖ **Division** : Magnoliophyta
- ❖ **Classe** : Magnoliopsida-Dicotylédones
- ❖ **Sous-classe** : Rosidae
- ❖ **Famille** : Myrtaceae
- ❖ **Genre** : *Eucalyptus*
- ❖ **Nom botanique** : *Eucalyptus globulus*, Labill.
- ❖ **Nom vernaculaire** : localement cette plante est connue sous le nom de Kalafulu.

2.3.2.5. Description botanique

Arbre

L'*E. globulus* est un très grand arbre, il fait en moyenne 30 à 60 mètres de haut (**Bertrand, 2007**). Son tronc est droit, lisse, grisâtre et fait jusqu'à 1,5 mètre de diamètre (**Brosse, 2000**). Son écorce est lisse et caduque. Elle se détache du tronc en longue bande comme vu précédemment ce qui laisse le tronc nu et lisse (**Brosse, 2000**). La couleur de l'écorce varie du blanc au bleu-gris (**Burnie et al., 2013**).

Feuille

Les feuilles d'eucalyptus possèdent un dimorphisme foliaire lié à l'âge. Les feuilles d'*E. globulus* sont donc persistantes, simples, entières avec deux sortes de feuilles très différentes d'aspect (**Brosse, 2000 ; Botineau, 2011**) (Figures 4 et 7).

Sur les jeunes rameaux, les feuilles sont opposées, ovales et sessiles. Elles sont couvertes d'une pruine donnant à l'arbre cette couleur bleu-gris à l'origine du nom gommier bleu.

Sur les rameaux plus âgés, les feuilles sont alternes, falciformes, légèrement épaissies, pendantes et pétiolées. La feuille a une odeur en lien avec les nombreuses poches sécrétrices schizogènes. Elles sont de couleur vert moyen à vert-foncé luisant. Les feuilles des rameaux âgés sont officinales et les HE en sont extraites car celles situées sur les rameaux juvéniles sont moins riches en principes actifs.



Figure 4 : Feuilles d'*E. globulus* sur des rameaux âgés (Starr, 2005).

Fleur

Les fleurs hermaphrodites paraissent solitaires et à l'aisselle des feuilles (Burnie et al., 2013). Avant la floraison, les boutons floraux formés par les pétales soudés forment un capuchon qui masque les étamines. Lorsque les étamines grandissent, elles soulèvent l'opercule qui tombe laissant jaillir une multitude d'étamines blanc crème à crème. A la floraison, nous reconnaissons facilement les eucalyptus globuleux aux nombreux opercules bleutés se trouvant au sol. Les boutons floraux sont glauques, pruneux et aussi très décoratifs. Ils sont souvent employés, tout comme les feuilles, par les fleuristes (Brosse, 2000) (Figure 5 et 7). Les fleurs développent un abondant nectar qui va attirer les insectes ainsi que les oiseaux. Cela assure une bonne pollinisation et augmente la production de graine. De plus, ce généreux nectar favorise la production d'un miel très aromatisé, les fleurs de l'*E. globulus* sont donc mellifères (Brosse, 2000).



Figure 5 : Photographie des fleurs d'*E. globulus*. A : boutons floraux d'*E. globulus* (Star, 2005) ; B : fleurs d'*E. globulus* avec des étamines blanc crème (Akulova, 2013).

Fruit

Le fruit d'*E. globulus* est une capsule loculicide, soit une capsule sphérique bombée en forme de toupie (Bertrand, 2007). La capsule prend une teinte marronne à maturité et s'ouvre légèrement par trois, quatre ou cinq fentes qui forment une étoile à son sommet afin de laisser passer les graines (Figures 6 et 7).

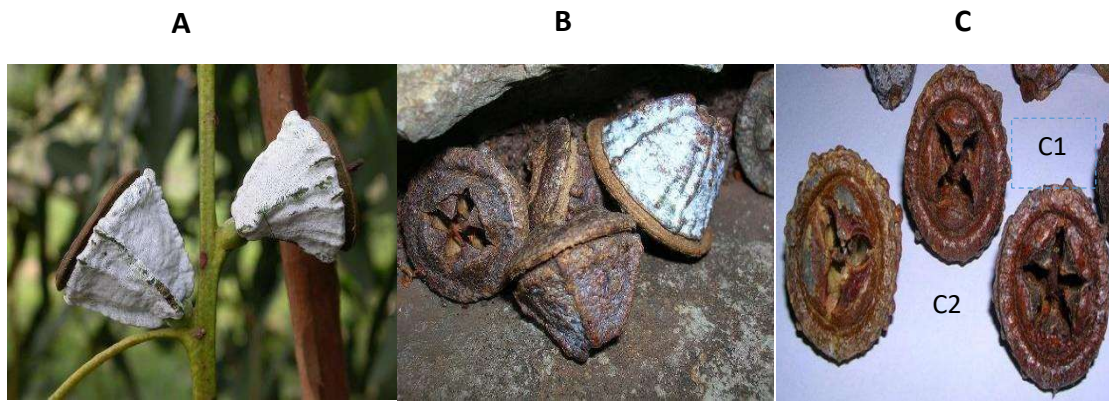


Figure 6 : Photographie du fruit d'*E. globulus*. A : capsules d'*E. globulus* (Sturluson, 2014) ; B : capsules d'*E. globulus* avec trois, quatre ou cinq fentes (Giboin, 2016) ; C : capsule d'*E. globulus* jeune (C1) et à maturité (C2) (Starr, 2005).

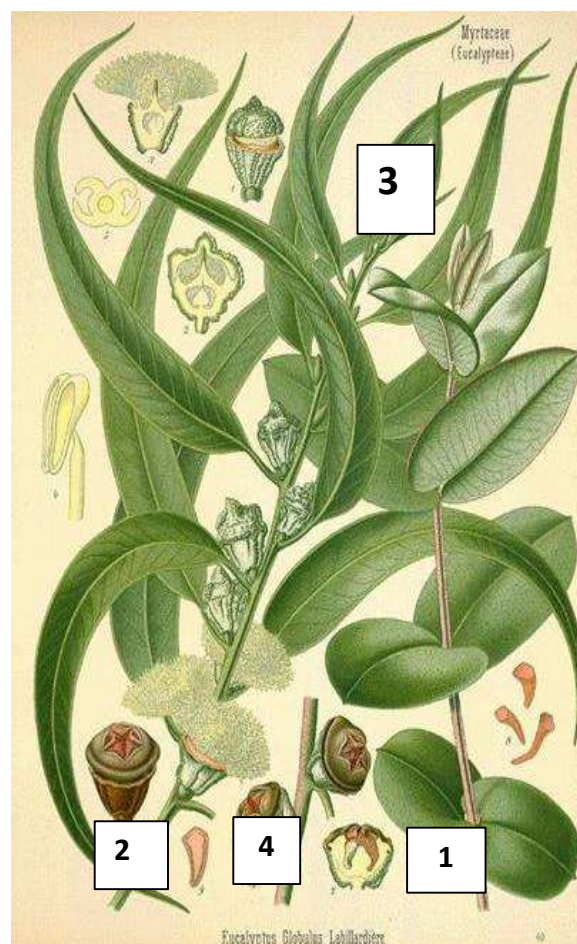


Figure 7 : Planche récapitulative d'*E. globulus* (1 : Feuille sur un rameau jeune ; 2 : rameau agé en fleurs ; 3 : bouton floral ; 4 : fruit (Labillardière)).

2.3.2.6. Composition de l'huile essentielle d'*eucalyptus globulus*

Une norme AFNOR définit l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*. Celle-ci indique qu'il s'agit « d'une huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des feuilles et rameaux, broyés ou non, et récemment récoltés, d'*Eucalyptus globulus* Labillardière de la famille des *Myrtaceae*. On distingue les huiles essentielles crues provenant d'un broyat et celles traditionnellement distillées en vrac dans l'alambic. Cependant, les produits commercialisés sous les appellations : 70% - 75% et 80%. 85% sont des huiles essentielles rectifiées sous vide pour obtenir une teneur en *cinéole-1,8* respectivement supérieure à 70% et 80%. » (Nathalie, 2015).

L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* est également inscrite à la Pharmacopée Européenne.

Selon Nathalie (2015), elle contient :

- α -pinène : 0,05 à 10 %
- β -pinène : 0,05 à 1,5 %
- sabinène : au maximum 0,3%
- α -phellandrène : 0,05 à 1,5%
- limonène : 0,05 à 15%
- 1,8-cinéole : au minimum 70%
- camphre : au maximum 0,1%.

3. Matériel et méthodes

3.1. Lieu et période de travail

Nous avons effectué notre partie expérimentale aux laboratoires pédagogiques (biochimie et analyses biologiques, biologie végétale) de la Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Université Chadli Bendjedid – El-Tarf, pendant une période de 4 mois (de février jusqu'à mai 2024).

3.2. Matériel

3.2.1. Équipement et dispositifs

Tableau 1 : Équipement et dispositifs utilisés dans notre étude.

Hydro-distillateur, spectrophotomètre, réfrigérateur, Microscope, binoculaire, microscope optique, Tubes à essai, Micropipette, ciseaux, Pince, lame Bistouri, boîte de dissection, Papier aluminium, papier film, flacon en verre, cuvette en quartz, Bucher, Pied à coulisse, balance, balance de précision, boîte de pétrie, Nubilisateur, Haute chimique, centrifugeur, agitateur magnétique.

3.2.2. Réactifs chimiques

Tableau 2 : Réactifs chimiques utilisés dans notre étude.

Benzène, Formaldéhyde, Éthanol, tampon phosphate, acide sulfosalysilique (SSA), Tris, EDTA, DTNB, Méthanol,

3.2.3. Le modèle animal

Notre modèle animal est *Helix aspersa*, nommé également *Cantareus aspersus*, *Cornu aspersum* ou *Criptomphalus aspersus* dans la nomenclature scientifique (Labadi, 2021). C'est un escargot appartenant à l'embranchement des mollusques, animaux à corps mou et dépourvus de squelette. Sa masse viscérale présente une torsion de 180° par rapport au pied, d'où une asymétrie de certains de ses organes (Bonnet et al., 1990) : Il fait partie de la classe des Gastéropodes, il possède un poumon (ou cavité palléale), ce qui le situe dans la sous-classe des Pulmonés, il appartient au sous-ordre des Stylomatophores, caractérisé par la

famille des Hélicidés ; sa spirale tourne généralement dans le sens des aiguilles d’une montre, pouvant contenir tout son corps. Sa position systématique est illustrée dans le Tableau :

Tableau 3 : Classification de *Helix aspers* (Bonnet et Vrillon, 1990).

Règne	Animal
Embranchement	Mollusque
Classe	Gastropodes
Sous-classe	Euthyneurs
Super-ordre	pulmonés
Ordre	Stylommatophores
Famille	Helicidae
Genre	<i>Helix</i>
Espèce	<i>helix aspersa</i>

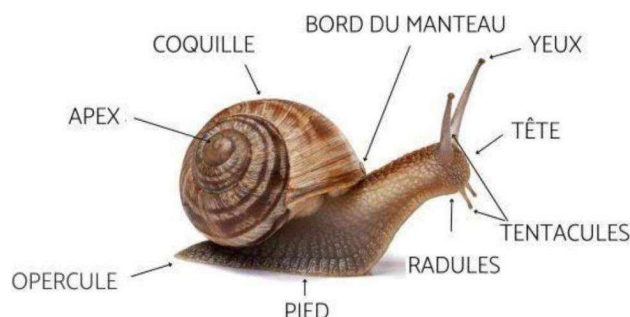


Figure 8 : Anatomie externe de l’escargot *Helix aspersa* (Antoine, 2022).

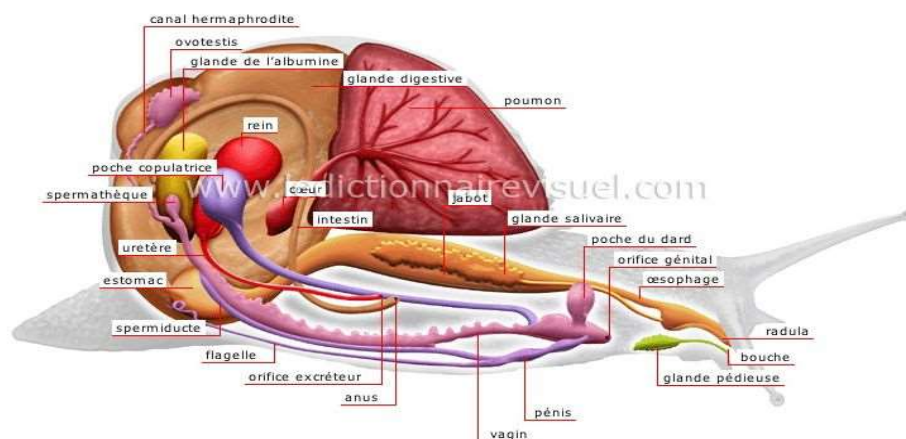


Figure 9 : Anatomie interne de l’escargot *Helix aspersa* (Bendokhane et al., 2013).

3.2.4. Plante médicinale : *Eucalyptus Globulus Labill*

Nous avons étudié une plante médicinale de l'espèce *Eucalyptus Globulus* (Figure 10). Cette plante a été récoltée en novembre 2023, séchée pendant 15 jours près de chauffage léger. Elle a été récoltée dans la région de Raml el Souk, El Tarf.

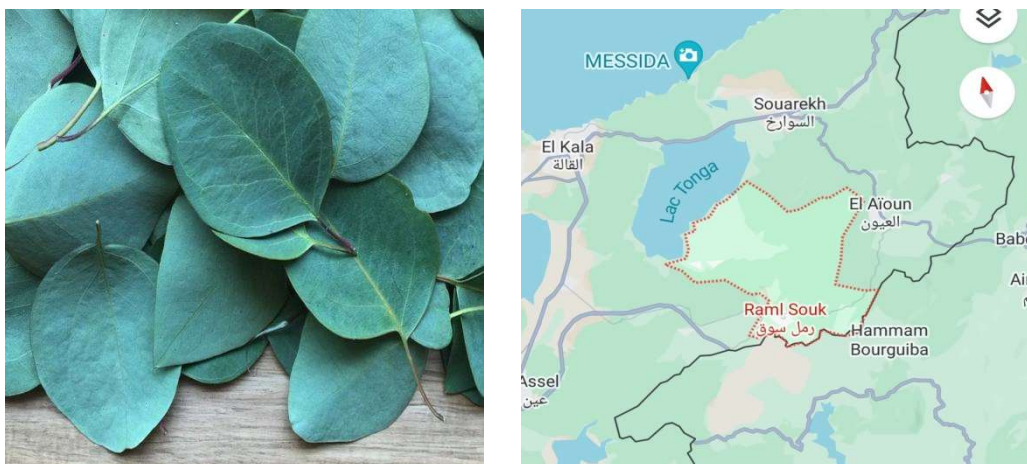


Figure 10 : La plante *Eucalyptus globulus* et illustration géographique de sa récolte.

3.3. Méthodes

3.3.1. Collection et adaptation

Les escargots ont été collectés en mois de février 2024, depuis la zone de Zitouna, wilaya d'El Tarf. Les escargots ont été mis dans une boîte en plastique transparente et perforée pour l'aération. Le nettoyage a été effectué quotidiennement avant de fournir la nourriture chaque deux jours. Les escargots sont nourris de la salade. La période d'adaptation avant le recours à la dissection est d'environ 25 jours.



Figure 11: Élevage des escargots *Helix aspersa*.

3.3.2. Préparation de la plante récoltée

Après la récolte, la plante a été nettoyée et séchée pendant quelques jours, puis conservée dans du papier kraft avec une étiquette d'identification (genre, espèce, date de récolte).

3.3.3. Hydrodistillation d'*Eucalyptus Globulus*

L'extraction a été réalisée par l'Hydrodistillation. Dans le ballon de l'hydro-distillateur (Electrothermal, UK), on introduit 700 ml d'eau distillée et 100 g des feuilles séchées d'*Eucalyptus Globulus Labill.* On réalise le montage d'hydro-distillateur qui porte le mélange jusqu'à l'ébullition. Après 3 heures, l'extrait obtenu a été récupéré dans un flacon protégé par du papier aluminium et conservé au réfrigérateur.

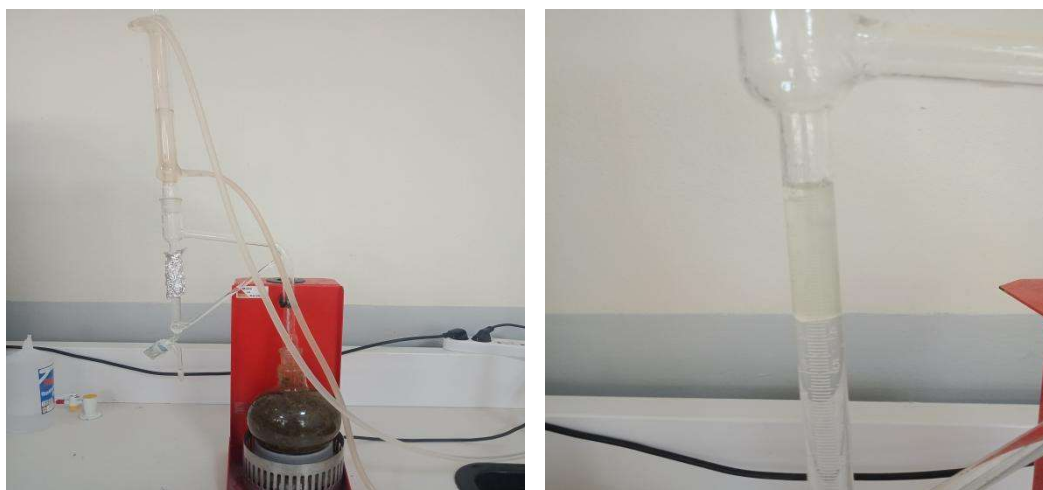


Figure 12 : Montage de l'hydro-distillateur .

3.3.4. Protocole expérimental et dissection des escargots

3.3.4.1. Préparation des groupes

Les escargots acclimatés ont été aléatoirement assignés à quatre groupes expérimentaux (7 escargots par groupe), chaque escargot est isolé dans une boîte bien perforée et illustrée selon leur groupe (figure 13).

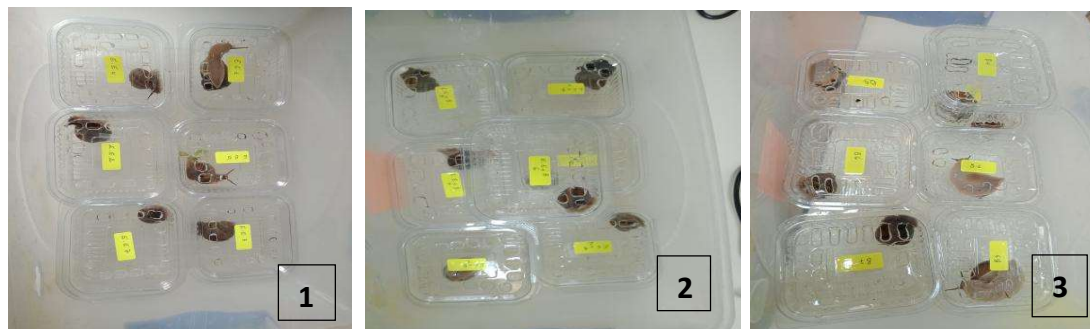


Figure 13 : Lotissement des groupes des escargots (1: Extrait *Eucalyptus* «E», 2: Extrait *Eucalyptus*+Benzène «E+B», 3: Benzène «B»).

3.3.4.2. Dissection

Après 14 jours du traitement des escargots, l’anesthésie est faite au froid (-9 à -10 °C) pendant 30 à 45 min. Nous avons mesuré le poids corporel de chaque escargot et pris la longueur et la largeur de la coquille. Sur une plaque de dissection, on a disséqué les escargots à l’aide de ciseaux et lames Bistouri en découpant la coquille puis la séparant du reste de l’organisme à l’aide d’une pince pour éviter d’endommager les organes internes. À l’aide d’une loupe binoculaire (Zeiss Stemi 508, Germany), nous avons isolé l’hépatopancréas, le poumon, les ganglions et le pied qui sont pesés par une balance de précision.



Figure 14 : Le matériel utilisé pour les mesures et la dissection.

3.3.4.3. Groupes expérimentaux

Les escargots acclimatés (pendant 15 à 20 jours) ont été aléatoirement assignés à quatre groupes expérimentaux (7 escargots par groupe) :

- Groupe 1 (Témoin, T) : les escargots concernés sont traités chaque 3 jours par l'eau distillée à travers l'aérosol afin de fournir l'humidité jusqu'à 14e jours
- Groupe 2 (traité par l'extrait *Eucalyptus*, E) : les escargots concernés sont traités par 50 µl d'extrait jusqu'à 5 ml eau distillée par le nébuliseur (vernebler compressor system CN-1134) pendant 14 jours.
- Groupe 3 (Benzène, B) : ce groupe est traité chaque 3 jours par l'eau distillée à travers l'aérosol afin de fournir l'humidité, à partir du 12e jours, les escargots sont exposés au benzène pendant 30 minutes chaque jour jusqu'au 14e jours sous la haute chimique.
- Groupe 4 (extrait *Eucalyptus* + Benzène, E+B) : les escargots concernés sont traités par 50 µl d'extrait jusqu'à 5 ml eau distillée par le nébuliseur pendant 14 jours, du 12e jour les escargots sont exposés au benzène pendant 30 minutes chaque jour jusqu'au 14ème jours sous la haute chimique.

Après la durée du traitement et la dissection. Les poumons ont été mis dans un mortier et broyé dans du tampon phosphate à Ph=7. L'homogénat a été récupéré dans un tube Eppendorf et centrifugé pendant 10 min à 4200 rpm. Le surnageant obtenu a été conservé au congélateur (-9 à -10 °C) pour le dosage ultérieur du glutathion réduit (GSH) et l'activité de la catalase.

3.4. Dosage du glutathion réduit (GSH)

Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique par un spectrophotomètre de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman) par les groupements thiols (-SH) du glutathion. Une fois préparé, le surnageant doit subir une déprotéinisation (par l'acide sulfosalicylique 0,25 %) afin de protéger les groupements -SH du glutathion (**Weckbecker et Cory, 1988**).

La procédure expérimentale du dosage du GSH est la suivante :

- ✧ Prélever 0,8 ml du surnageant.
- ✧ Ajouter 0,2 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) 0,25 %.
- ✧ Agiter et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- ✧ Centrifuger à 1000 tours / min pendant 5 minutes.
- ✧ Prélever 0,5 ml du surnageant.

- ✧ Ajouter 1 ml du tampon Tris-EDTA, pH = 9,6.
- ✧ Mélanger et ajouter 0,025 ml de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTBN) à 0,01 M (dissous dans le méthanol absolu 99%).
- ✧ Laisser pendant 5 minutes dans la température ambiante pour la stabilisation de la couleur. La réaction colorimétrique se développe instantanément.
- ✧ Mesurer l'absorbance optique à 412 nm par le spectrophotomètre (Specord 210 Plus, Germany).

La concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante :

$$GSH \left(\frac{nM}{mg} \text{ de tissu} \right) = \frac{DO \times 1 \times 1,525}{13100 \times 0,8 \times 0,5}$$

DO : La densité optique.

1 : Le volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0,8 ml homogénat + 0,2 ml SSA).

1,525 : Le volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0,5 ml surnageant + 1 ml Tris EDTA + 0,025 ml DTNB).

13100 : Le coefficient d'absorbance (concernant le groupement -SH à 412 nm).

0,8 : Le volume de l'homogénat trouvé dans 1 ml.

0,5 : Le volume du surnageant trouvé dans 1,525 ml.

3.5. Dosage de la catalase (CAT)

- **Principe de dosage**

L'activité de la catalase a été mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (UVmini 1240 shimadzu) par la diminution de la densité optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en faisant réagir dans 150mM de tampon phosphate pendant une minute à pH 7, 500µl de H₂O₂ (20mM) sur 10µl du surnageant, à une température d'incubation de 25°C, le Tableau X ci-dessous représente les concentrations et les quantités des réactifs nécessaires au dosage de l'activité de la catalase (Aebi, 1973 ; Ogura et Yamazaki, 1983).

Tableau 4 : Protocole du dosage de l'activité de la catalase.

	Essai (µl)	Blanc (µl)
Tampon phosphate (150mM ; pH 7)	490	500
H₂O₂ (20mM)	500	500
Surnageant	10	-

La lecture de l'absorption se fait instantanément chaque 5 secondes et durant 30 secondes de mesure, l'activité de la catalase peut être calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité CAT (unités/ml)} = \frac{\left[\frac{\Delta\text{ABS}(\text{Blanc})}{\text{min}} - \frac{\Delta\text{ABS}(\text{Essai})}{\text{min}} \right] \times 1}{V \times \varepsilon}$$

ABS : Absorbance

l : Le volume de la réaction (1ml)

V : Le volume de l'échantillon dans la réaction (10µl=0.01ml)

ε : Coefficient d'extinction (0,0436 mM)

Définition de l'unité : Une unité de catalase décomposera 1,0 micromole de peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau par minute à pH 7,0 à 25 °C à une concentration de substrat de 10 mM de peroxyde d'hydrogène.

3.6. Détermination des paramètres physiques d'*Eucalyptus globulus labill.*

3.6.1. Profil spectral à l'ultraviolet

Un balayage spectrophotométrique (Specord 210 Plus, Germany) de l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus labill* a été fait dans le spectre UV (190 à 390 nm) pour déterminer les plages et pics d'absorption.

3.6.2. Indice de réfraction

Quelques gouttes de l'extrait ont été déposées sur le réceptacle du réfractomètre (r2i300, USA) pour savoir l'indice de réfraction (nD).

3.6.3. Viscosité

Un certain volume de l'extrait a été mis au contact de la sonde mobile du viscosimètre (Fungilab, Spain) pour connaître la viscosité.

3.7. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de SPSS (version 24) et Excel (version 2016). Une comparaison des moyennes suivie d'une analyse de variance (ANOVA) ont été appliquées sur les mesures pondérales et les taux de GSH et l'activité catalasique. Un test Post-Hoc a été fait lorsque l'ANOVA indique une différence significative entre les groupes expérimentaux. Les résultats sont présentés dans des tableaux sous forme de moyennes \pm écart-type.

4. Résultats

4.1. Paramètres pondéraux

Le poids corporel : le tableau 5 illustre la variation pondérale des escargots. Le poids corporel des escargots appartenant aux groupes (T) et (E) sont respectivement $12,50 \pm 2,67$ g et $10,06 \pm 2,03$ g. Les animaux des groupes (B) et (E+B) pèsent respectivement $18,11 \pm 2,01$ g et $14,90 \pm 1,33$ g. L'analyse de la variance à un critère de classification montre une différence très hautement significative entre les différents groupes ($p < 0,001$; Tab. 6 et 7).

Tableau 5 : Comparaison des moyennes du poids corporel des escargots (en gramme).

PoidsCorporel			
Groupes	Moyenne	Ecart type	Erreur standard de la moyenne
B	18.1114	2.01156	.76030
E	10.0614	2.03798	.77028
E+B	14.9000	1.33888	.50605
T	12.5057	2.67099	1.00954
Total	13.8946	3.60381	.68106

Tableau 6 : Analyse de variance du poids corporel des escargots.

		Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
PoidsCorporel* Groupes	Inter-groupes (Combinée)	247.903	3	82.634	19.300	.000
	Intra-groupes	102.759	24	4.282		
	Total	350.662	27			

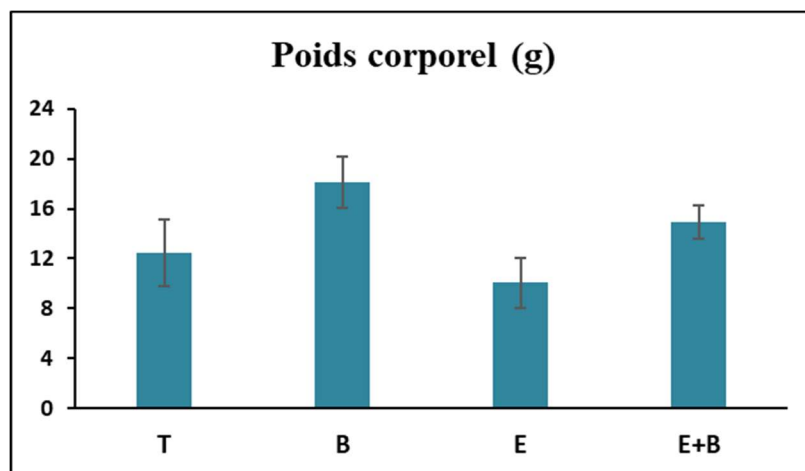


Figure 15 : Variation du poids corporel des escargots témoins et traités.

Tableau 7 : Comparaison multiple (Post-Hoc) du poids corporel des escargots.

Variable dépendante: PoidsCorporel
Différence significative de Tukey

(I) Groupes	(J) Groupes	Différence moyenne (I-J)	Erreur standard	Signification	Intervalle de confiance à 95 %	
					Borne inférieure	Borne supérieure
B	E	8.0500*	1.10604	.000	4.9989	11.1011
	E+B	3.2114*	1.10604	.037	.1603	6.2626
	T	5.6057*	1.10604	.000	2.5546	8.6568
E	B	-8.0500*	1.10604	.000	-11.1011	-4.9989
	E+B	-4.8386*	1.10604	.001	-7.8897	-1.7874
	T	-2.4443	1.10604	.149	-5.4954	.6068
E+B	B	-3.2114*	1.10604	.037	-6.2626	-.1603
	E	4.8386*	1.10604	.001	1.7874	7.8897
	T	2.3943	1.10604	.162	-.6568	5.4454
T	B	-5.6057*	1.10604	.000	-8.6568	-2.5546
	E	2.4443	1.10604	.149	-.6068	5.4954
	E+B	-2.3943	1.10604	.162	-5.4454	.6568

* La différence moyenne est significative au niveau de 0,05.

Le poids du poumon : Chez les groupes (T) et (E), les résultats sont respectivement $0,51 \pm 0,16$ g et $0,34 \pm 0,11$ g. Chez le groupe (B), cet organe pèse $0,40 \pm 0,88$ g. Cette mesure se situe chez le groupe (E+B) à $0,40 \pm 0,10$ g (pas de différence significative $P \geq 0,05$; Tab. 8 et 9).

Tableau 8 : Comparaison des moyennes du poids du poumon des escargots (en gramme).

PoidsPoumon			
Groupes	Moyenne	Ecart type	Erreur standard de la moyenne
B	.404517	.0883435	.0360661
E	.347267	.1162852	.0474732
E+B	.402750	.1005863	.0410642
T	.519733	.1627173	.0664290
Total	.418567	.1292457	.0263822

Tableau 9 : Analyse de variance du poids du poumon des escargots.

		Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
PoidsPoumon * Groupes	Inter-groupes (Combinée)	.095	3	.032	2.178	.122
	Intra-groupes	.290	20	.014		
	Total	.384	23			

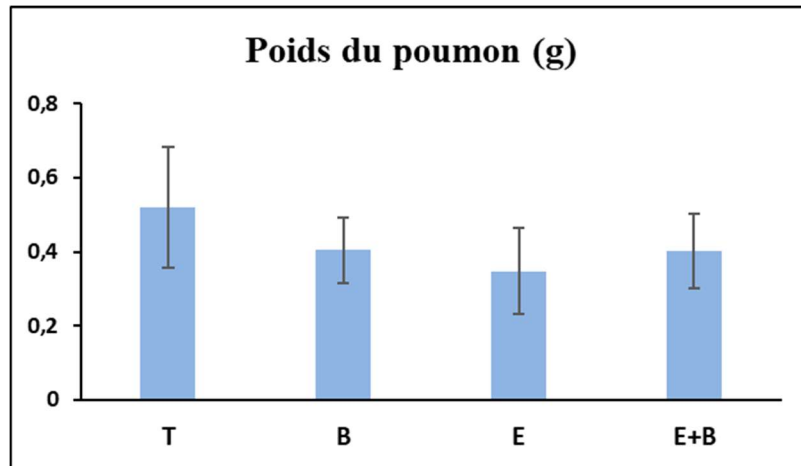


Figure 16 : Variation du poids des poumons des escargots témoins et traités.

4.2. Taux du glutathion réduit (GSH) dans le poumon

Les tableaux 10, 11 et 12 montrent les variations des taux du GSH au niveau du poumon chez les différents groupes expérimentaux. L'application du benzène mène à une diminution hautement significative de la teneur du GSH ($P = 0,006$) par rapport aux autres groupes. Chez les groupes (E) et (E+B), une diminution significative de la teneur du GSH ($P=0,004$ et $p=0,029$ respectivement) par rapport au témoin a été enregistrée.

Tableau 10 : Comparaison des moyennes du taux de GSH dans le poumon (en nM/mg de tissu).

GSH Pulmonaire			
Groupes	Moyenne	Ecart type	Erreur standard de la moyenne
B	.0002350	.00008361	.00003413
E	.0001533	.00004179	.00001706
E+B	.0001983	.00006306	.00002574
T	.0003617	.00014634	.00005974
Total	.0002371	.00011701	.00002388

Tableau 11: Analyse de variance du taux de GSH dans le poumon.

		Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
GSH Pulmonaire * Groupes	Inter-groupes (Combinée)	.000	3	.000	5.635	.006
	Intra-groupes	.000	20	.000		
	Total	.000	23			

Tableau 12 : Comparaison multiple (Post-Hoc) du taux de GSH dans le poumon.

Variable dépendante: GSHPulmonaire

Différence significative de Tukey

(I) Groupes	(J) Groupes	Différence moyenne (I-J)	Erreur standard	Signification	Intervalle de confiance à 95 %	
					Borne inférieure	Borne supérieure
B	E	.0000817	.00005333	.438	-.0000676	.0002309
	E+B	.0000367	.00005333	.901	-.0001126	.0001859
	T	-.0001267	.00005333	.115	-.0002759	.0000226
E	B	-.0000817	.00005333	.438	-.0002309	.0000676
	E+B	-.0000450	.00005333	.833	-.0001943	.0001043
	T	-.0002083*	.00005333	.004	-.0003576	-.0000591
E+B	B	-.0000367	.00005333	.901	-.0001859	.0001126
	E	.0000450	.00005333	.833	-.0001043	.0001943
	T	-.0001633*	.00005333	.029	-.0003126	-.0000141
T	B	.0001267	.00005333	.115	-.0000226	.0002759
	E	.0002083*	.00005333	.004	.0000591	.0003576
	E+B	.0001633*	.00005333	.029	.0000141	.0003126

* La différence moyenne est significative au niveau de 0,05.

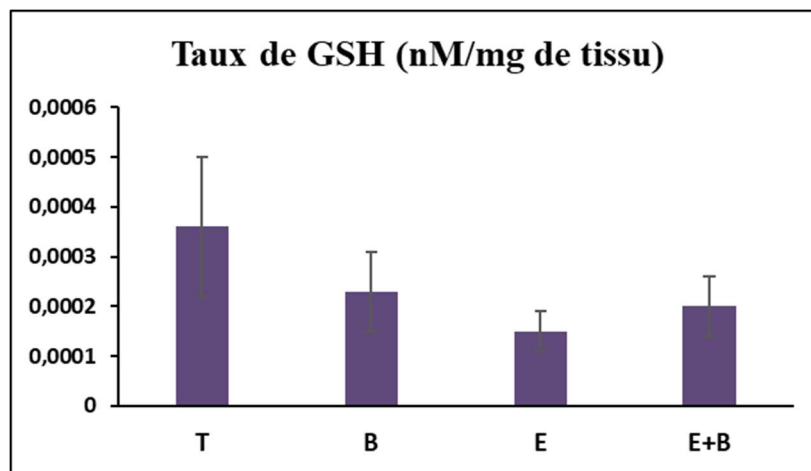


Figure 17 : Variation du Taux de glutathion réduit (GSH) pulmonaire chez les escargots témoins et traités.

4.3. Activité de catalase dans le poumon

Les tableaux 13 et 14 montrent les variations des taux de catalase au niveau du poumon chez les différents groupes expérimentaux. L'application du benzène mène à une diminution de l'activité de la catalase chez les groupes (E+B) et (B) par rapport au groupe (T). Chez le groupe

(E), une augmentation de l'activité enzymatique par rapport aux autres groupes a été signalée (pas de différence significative $P \geq 0,05$).

Tableau 13 : Comparaison des moyennes de l'activité de la catalase dans le poumon (en Unités/ml).

CATPulmonaire			
Groupes	Moyenne	Ecart type	Erreur standard de la moyenne
B	113.2217	24.60229	10.04384
E	119.7783	18.60466	7.59532
E+B	115.1350	10.82929	4.42104
T	117.8067	18.04157	7.36544
Total	116.4854	17.59604	3.59178

Tableau 14 : Analyse de variance de l'activité de catalase dans le poumon.

		Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
CATPulmonaire * Groupes	Inter-groupes (Combinée)	150.388	3	50.129	.144	.932
	Intra-groupes	6970.890	20	348.544		
	Total	7121.278	23			

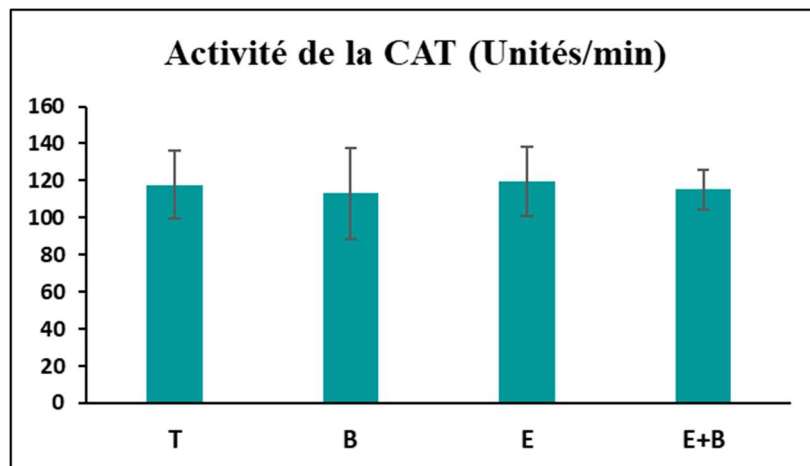


Figure 18 : Variation de l'activité catalasique (CAT) pulmonaire chez les escargots témoins et traités.

4.4. Paramètres physiques de l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus labill*

4.4.1. Profil spectral à l'ultraviolet

Le balayage spectral UV de l'extrait de *Eucalyptus globulus labill.* permet d'élucider la présence des pics d'absorbances en grand nombre mais peu intense entre 391nm et 438 nm. Nous avons remarqué aussi un pic très important à 412 nm (Fig. 19).

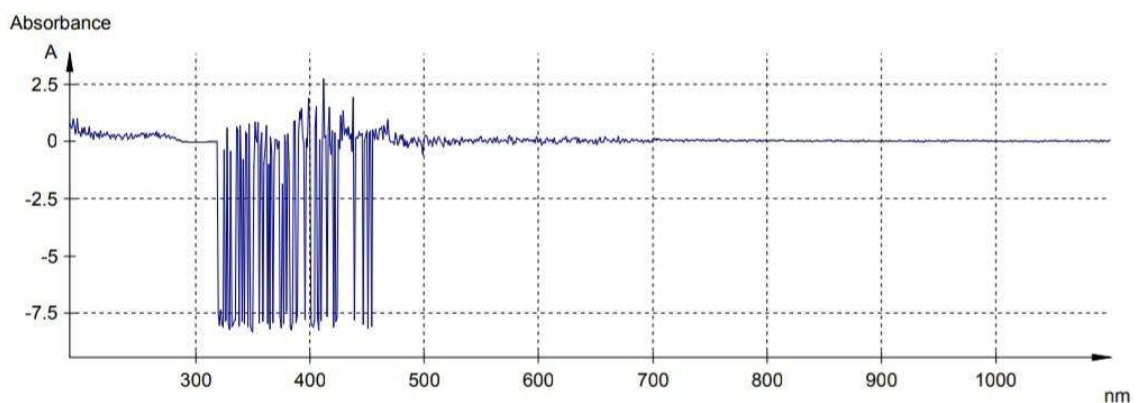


Figure 19 : Profil spectral UV de l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus labill.*

4.4.2. Indice de réfraction et viscosité de l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus labill.*

Le Tableau 15 montre les mesures relatives à la réfraction et la viscosité de l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus labill.*

Tableau 15 : Indice de réfraction et viscosité de l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus labill.*

Indice de réfraction (à 17,5°C)	1.3346nD
Viscosité (à 17,5°C)	2.2Pa.S

5. Discussion

Nous avons étudié les effets toxiques d'un solvant organique, le benzène, sur le poumon d'un modèle animal, le gastéropode *Helix aspersa*, ainsi que la capacité thérapeutique de l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus labill* à lutter contre cette toxicité. Les facteurs étudiés sont les paramètres morphométriques et pondéraux, le dosage du glutathion réduit (GSH), le dosage de la catalase, le profil spectral UV d'*Eucalyptus globulus labill*, l'indice de réfraction et la viscosité.

Les résultats de l'analyse statistique ont montré une perturbation importante du poids corporel des escargots, sans qu'il y ait de changement remarquable concernant le poids des poumons. Les solvants organiques provoquent généralement des variations pondérables diverses. Le styrène, étant un solvant organique fréquemment utilisé dans l'industrie des plastiques et des résines, provoque une toxicité respiratoire pour atteindre la circulation sanguine et être métabolisé dans le foie. L'exposition au styrène pendant 6 jours/semaine, 4 heures/jour pendant 3 semaines chez des rats n'a pas eu de changements significatifs dans le poids corporel et le poids des poumons de ces animaux (Arab et al., 2015).

Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les capacités de défense antioxydante de l'organisme. Les ERO sont à l'origine d'un stress oxydant avec modifications irréversibles de lipides, de protéines et d'acides nucléiques. Le stress oxydant a été incriminé dans le vieillissement et la physiopathologie de nombreuses maladies. Pour se protéger du stress oxydant, les organismes ont développé un arsenal d'antioxydants, avec des enzymes (superoxyde-dismutase, catalase et glutathion-peroxydase), des vitamines (A, E et C) ainsi que certaines molécules dont ce n'est pas la fonction principale (acide urique, bilirubine et mélatonine) (Bruno, 2020).

Le Glutathion (8-glutamyl-cystéinyl-glycine) est très abondant dans tous les compartiments cellulaires et représente le principal antioxydant soluble. Il est considéré comme le cofacteur de nombreuses enzymes antioxydantes car il permet la réduction des protéines oxydées (Birben et al., 2012; Bensakhria, 2018). D'après nos résultats, une diminution significative de la teneur du GSH dans les poumons des escargots traités par le benzène a été signalée.

La catalase (H₂O₂ oxydoréductase) est composée de quatre chaînes polypeptidiques, chaque chaîne est composée de plus de 500 acides aminés et contient quatre groupes porphyrine hème (fer) permettant de réduire le peroxyde d'hydrogène en libérant l'oxygène et l'eau, elle est localisée surtout dans les peroxysomes et les hématies (**Bensakhria, 2018 ; Adwas et al., 2019**). L'activité enzymatique de la catalase dans les poumons se diffère entre les groupes, elle augmente dans le groupe traité par l'extrait aqueux de *Eucalyptus* par rapport au groupe témoin, tandis qu'elle diminue dans les groupes B et E+B.

Des études antérieures ont montré une pneumotoxicité exacerbée chez les souris knock-out exposées au benzène par inhalation (300 ppm de benzène 6 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 26 semaines au total), caractérisée par une pneumonie interstitielle granulomateuse diffuse, une augmentation marquée de la sécrétion de mucine par les cellules épithéliales bronchiques/bronchiolaires et alvéolaires, et des cellules épithéliales alvéolaires hyperplasiques positives pour le CYP2E1 (**Byung-II et al., 2004**).

L'Eucalyptus globulus est une espèce bien connue qui fournit des huiles essentielles. Ces huiles sont très demandées sur le marché. En outre, sa composition chimique a été évaluée et l'activité synergique potentielle avec les antibiotiques conventionnels contre les souches d'*Acinetobacter baumannii*. Le principal composant de l'huile d'*E. globulus* était le 1,8-cinéole, également connu sous le nom d'eucalyptol (63,81 %). De plus, les huiles présentaient des propriétés de piégeage des radicaux pertinentes et avaient également la capacité d'inhiber la peroxydation des lipides (**Luís et al., 2016**).

Il a été démontré que le 1,8 -cinéol (eucalyptol) supprime le métabolisme de l'acide arachidonique et la production de cytokines dans les monocytes humains. Le 1,8 -cinéol a un effet significatif d'économie de stéroïdes dans l'asthme dépendant des stéroïdes. Il s'agit de la première preuve suggérant un effet anti-inflammatoire dans l'asthme (**Juergens et al., 2003**). Par ailleurs, le 1,8-cinéole, administré *in vivo*, a diminué la résistance bronchique du rat avec une efficacité similaire à celle du phénotérol (66,5 %). D'autre part, la réponse relaxante maximale au 1,8-cinéole a été plus faible que celle du phénotérol (**Nascimento et al., 2009**).

Plus récemment, les extraits méthanoliques d'*E. globulus* possèdent une capacité intéressante dans la prévention du processus d'oxydation associée à une formation accrue d'espèces réactives d'oxygène (ROS) et à des dommages oxydatifs aux composés tissulaires. De plus, les tanins hydrolysables dans les feuilles d'eucalyptus seraient des antioxydants

Discussion

naturels prometteurs dans les produits pharmaceutiques, alimentaires et des suppléments industriels (**Dhakad et al., 2017**).

La concentration inhibitrice de 50% (IC50) est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande. L'huile essentielle (HE) et l'hydrolat de l'*Eucalyptus globulus* pouvait ramener le radical libre stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) au diphenylpicrylhydrazine jaune-coloré avec une valeur de IC50 de 99.51 µg/ml pour l'HE et de 257.34 µg/ml pour l'hydrolat, montrant une activité antioxydante très supérieure à celle de la vitamine C (512.97 µg/ml). Il semble, d'après ces résultats, que l'HE de l'*Eucalyptus globulus* est l'antioxydant le plus efficace avec un IC50 de 99.51 µg/ml par rapport à l'hydrolat et la vitamine C (**Menmadala et al., 2021**).

Le profil spectral UV de *Eucalyptus globulus labill.* est caractérisé par la présence des pics d'absorbance en grand nombre mais peu intense. Nous pouvons conclure qu'elles représentent des molécules supposées être le 1,8-cinéol. Une étude récente indique que la longueur d'onde maximale de eucalyptus est 230 nm à laquelle correspond l'absorbance maximale (**Chibah et al., 2018**).

Conclusion et perspectives

Dans le cadre de ce mémoire, nous avons étudié les effets protecteurs d'une plante médicinale, *Eucalyptus globulus labill.*, et les dommages causés par le benzène chez un modèle animal, le gastéropode *Helix aspersa*.

Sur la base des résultats obtenus, nous concluons que la plante médicinale *Eucalyptus globulus labill.* exerce un pouvoir antioxydant important, ce qui le rend utile en médecine et en pharmacothérapie. L'extrait de cette plante montre des plages d'absorbance en grand nombre, dues aux molécules bioactives qu'il contient. D'une part, une diminution significative du taux de GSH dans les poumons a été trouvée chez le groupe traité par le benzène et *Eucalyptus*. D'autre part, nous avons remarqué une diminution de l'activité de la catalase chez le groupe exposé au benzène par rapport au témoin et une augmentation de cette activité après administration de notre extrait, ce qui suggère que *l'Eucalyptus* possède de puissantes capacités antioxydantes.

A la lumière de nos résultats, nous pouvons dégager ces recommandations et perspectives:

- ✓ La gestion de la pneumopathie due à l'inhalation accidentelle de benzène requiert des soins intensifs et une surveillance étroite, car les lésions pulmonaires peuvent se développer rapidement.
- ✓ Réaliser des analyses plus approfondies sur les huiles essentielles en utilisant diverses techniques performantes.
- ✓ Rechercher les effets oxydants de la plante et déterminer ainsi son intervalle thérapeutique.

Références bibliographiques



Adwas A.A ., Elsayed A.S.I., Azab A.E and Quwaydi F.A .2019. Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. Journal of Applied Biotechnology and Bioengineering. 6(1): 43-47.

Aebi, H., in Methods of Enzymatic Analysis, Bergmeyer, H.U., ed., Verlag Chemie (Weinheim: 1973), pp 673-684.

Agence du registre des substances toxiques et des maladies (ATSDR). (2007) Toxicological profile for Benzene, U.S.Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA, (PB2008-100004), Accessible au : www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=40&tid=14. Consulté le 11 juin 2015.

Agence du registre des substances toxiques et des maladies (ATSDR). Toxicological Profile for benzene, <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp3.pdf> (last access: 25 Novembre 2023), **2007a.**

Agence du registre des substances toxiques et des maladies (ATSDR). Toxicological Profile for ethylbenzene.

Agence du registre des substances toxiques et des maladies (ATSDR). Toxicological Profile for styrene, <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp53.pdf> (last access: 25 November 2023), 2010b.

Agence du registre des substances toxiques et des maladies (ATSDR). Toxicological Profile for toluene, <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp56.pdf>(last access: 25 November 2023), **2017.**

Agence du registre des substances toxiques et des maladies (ATSDR). Toxicological Profile for xylene, <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp71.pdf>(last access: 25 November 2023), **2007b.**

Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé (ANSM).

Liste des Akulova A. (2013) . Tasmanian blue gum .

Allain YM. (2004).D’ou viennent nos plantes. Calmann-Levy. 224 p

Anne-Sophie Limonier. La phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la pharmacie. Sciences pharmaceutiques. **2018.** ffdumas-01840619f .

Antoine Decrouy. Novembre 2022. Anatomie de l’escargot. Doi : <https://www.projetecolo.com/anatomie-de-l-escargot-919.html>.

Anton R, Bernard M, Wichtl M. Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, sciences et thérapeutiques. Médicales internationales. Paris; **(2003).** 692 p.

Arab MR, Mirzaei R, Aval FS. The Protective Effects of Gadolinium Chloride on Pneumotoxic Effects of Styrene in Rat. Cell J. **2015** Fall;17(3):422-8.



Bajaj YPS. (2012). Transgenic Trees. Springer Science & Business Media.

Batish DR, Singh HP, Kohli RK, Kaur S. (2008). Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. For Ecol Manag 256(12):2166–2174.

BENDOKHANE, W., GOUNACHE, S., MEZRICHE S. (Juin 2013). Evaluation de la toxicité de certaines nanoparticules métalliques (ZnO, Fe₂O₃ et Al₂O₃) sur un animal bioindicateur de pollution (Helix aspersa). Mémoire de master. Université 8 Mai 1945 Guelma. p15.

Bensakhria A. 2018. Toxicologie Générale. Universidad Católica San Antonio de Murcia. Spain. Chapter 9: 82-83.

Bertrand B. (2007) .L’herbier boise : histoires et légendes des arbres et arbustes. Plume de carotte.. 195 p

Birben E., Sahiner U.M., Sackesen C., Erzurum S and Kalayci O. 2012. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. World Allergy Organization Journal. 5(1): 9–19.

Références bibliographiques

Bonnet, J.C., Aupinel, P. et Vrillon, J.L. (1990). L'escargot *Helix aspersa*, biologie, élevage. INRA, Quae, Paris.

Botineau M. (2011) .Guide des plantes médicinales. Belin. 240 p.

Botineau M.(2010) . Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Tec&Doc. Paris; 1335 p.

Botineau M.(2011). Guide des plantes médicinales. Belin. 240 p.

Botineau, M. (2010). *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*. Tec & doc.

Brosse J. Larousse des arbres et des arbustes. Larousse. Paris; 2000. 576 p.

Brosse, J. (2000). Larousse des arbres et des arbustes. Larousse.

Bruno Baudin. (2020). Stress oxydant et protections antioxydantes. (522):22-30

Burnie G, Forrester S, Greig D, Guest S. (2013).Botanica : encyclopédie de botanique et

Burnie G, Forrester S, Greig D, Guest S.(2013) . Botanica : encyclopédie de botanique

Byung-Il Yoon, Yoko Hirabayashi, Yasushi Kawasaki, Tohru Inoue. (2004). Exacerbation of benzene pneumotoxicity in connexin 32 knockout mice: Enhanced proliferation of CYP2E1-immunoreactive alveolar epithelial cells. 195(1):19-29. DOI: 10.1016/j.tox.2003.08.014



Chevalier A.(2013). Larousse des plantes médicinales. Larousse. 336 p.

CHIBAH S et DJOUAHER F. (2018). Activité antibactérienne, antioxydante et anti-insectes des huiles essentielles d'eucalyptus, laurier de la région d'Ain Defla. Mémoire de fin d'étude En vue de l'obtention d'un diplôme de Master. Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana.

Chinnarasu C, Montes A, Fernandez-Ponce MT, Casas L, Mantell C, Pereyra C et al (2015). Natural antioxidant fine particles recovery from *Eucalyptus globulus* leaves using supercritical carbon dioxide assisted processes. *J Supercrit Fluids* 101:161–169.

D

Declet-Barreto, J., Goldman, G. T., Desikan, A., Berman, E., Goldman, J., Johnson, C., Montenegro, L., and Rosenberg, A. A. Hazardous air pollutant emissions implications under 2018 guidance on US Clean Air Act requirements for major sources, *J. Air Waste Manag. A.*, 70, 481–490, **2020**.

Dhakad A.K., Pandey V.V., Beg S and Rawat J.M. 2017. Biological, medicinal and toxicological significance of Eucalyptus leaf essential oil: a review. *Journal of the science of food and Agriculture.* 98(3) :833-848.

Dos Santos, V.P.S.; Salgado, A.M.; Torres, A.G.; Pereira, K.S. Benzene as a Chemical Hazard in Processed Foods. *Int. J. Food Sci.* **2015**, 2015, 1–7. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

E

EUROPEAN SCIENTIFIC COOPERATIVE ON PHYTOTHERAPY. ESCOP Monographs Second Edition. Second Edition 2009. ESCOP, 2009.

F

Fiebelkorn, S.; Meredith, C. Estimation of the Leukemia Risk in Human Populations Exposed to Benzene from Tobacco Smoke Using Epidemiological Data. *Risk Anal.* **2017**, 38, 1490–1501. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]

Française. Doi:<https://ansm.sante.fr/documents/reference/pharmacopee/la-pharmacopee-francaise>

Frédéric Élie . décembre 2022: Notions sur les glucides .Doi: <http://fred.elie.free.fr>

G

Garnier R - Hydrocarbures aromatiques. In : Bismuth Cet al. - Toxicologie clinique. Paris : Flammarion Médecine-sciences ; **2000** : 760-764.

Ghedira, K., Goetz, P., & Le Jeune, R. (2008). Eucalyptus globulus Labill. *Phytothérapie*,6(3), 197-200.

Références bibliographiques

Giboin MJ. 2016 .*Eucalyptus globulus* fruit. Doi :
https://fr.wikipedia.org/wiki/Eucalyptus_globulus

Grant M - Toxicology of the eye, 3 th ed. Springfield : Charles C. Thomas ; **1986** : 140-141.

Gruffat X. (2017).Définition de la phytothérapie. Doi :
<https://www.creapharma.ch/phytotherapie.htm>



H

Hazardous Substances Data Bank: HSDB (2005). Benzène (71-43-2). Accessible au:
toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB. Consulté le 6-1-2009.

HelloMojo. 2007. Répartition de l'*Eucalyptus globulus*. Doi :
https://fr.wikipedia.org/wiki/Eucalyptus_globulus

Herbinet C. Les compléments alimentaires en phytothérapie . [Thèse d'exercice].
[Nancy]: Henri Poincaré; **2004**. Doi:
http://docnum.univlorraine.fr/public/SCDPHA_T_2004_HERBINET_CAROLINE.pdf

I

Institut national de recherche et de sécurité: INRS (2019). fiche toxicologique n°49
du Benzène.

J

Jorite S. (2015). La Phytothérapie, une discipline entre passé et futur : de l'herboristerie
aux pharmacies dédiées au naturel. Université de Bordeaux; Doi:
<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01188820>

Juergens UR, Dethlefsen U, Steinkamp G, Gillissen A, Reppes R, Vetter H. Anti-inflammatory activity of 1,8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial. *Respir Med.* 2003 Mar;97(3):250-6.

L

Labadi W, Mazouzi I (2021). Etude de la bio écologie de l'escargot *Helix aspersa* et l'intérêt de sabave. Mémoire de master académique, Université Ibn Khaldoun –Tiaret,70.

Labillardière. Planche d'*Eucalyptus globulus*. DOI: <https://www.botanical.com/botanical/mgmh/e/eucaly14.html>

Lavedrine A.(2000). Les vertus des tisanes. Michel Lafon. 305 p.

Loomis, D.; Guyton, K.Z.; Grosse, Y.; El Ghissassi, F.; Bouvard, V.; Benbrahim-Tallaa, L.; Guha, N.; Vilahur, N.; Mattock, H.; Straif, K. Carcinogenicity of benzene. *Lancet Oncol.* 2017, 18, 1574–1575.

Luís, Â., Duarte, A., Gominho, J., Domingues, F., & Duarte, A. P. (2016). Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus radiata* essential oils. *Industrial Crops and Products*, 79, 274–282

M

MENMADALA C, MERAH S. 2021. Activité antioxydante des extraits des feuilles de l'*Eucalyptus* « *Eucalyptus globulus* L. ».Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique. UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA.

N

NASCIMENTO, Nilberto Robson Falcão, REFOSCO, Rafael Mohana De Carvalho, VASCONCELOS, Elaine Cristine Félix, KERNTOPF, Marta Regina, SANTOS, Cláudia Ferreira, BATISTA, Francisco José Arnaud, DE SOUSA, Clauber Mota et FONTELES, Manassés Claudino. 1,8-Cineole induces relaxation in rat and guinea-pig

airway smooth muscle. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2009. Vol. 61, n° 3, pp. 361-366.

Nathalie KOZIOL.(2015). Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbia citriodora* : qualité, efficacité et toxicité. Thèse pour obtenir le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie.UNIVERSITE DE LORRAINE.p51-52

Normand J-C, BergeretA, Prost G - Benzène. Paris : Encyclopédie médico-chirurgicale, Toxicologie, Pathologie professionnelle, 16046-B-10 ; **1997** : 7p



Ogura, Y., and Yamazaki, I., J. Biochem., 94, 403- 408 (1983).



Polvara, E., Roveda, L., Invernizzi, M., Capelli, L., and Sironi, S.: Estimation of Emission Factors for Hazardous Air Pollutants from Petroleum Refineries, Atmosphere, 12, 1531, **2021.** <https://doi.org/10.3390/atmos12111531>,



Rodriguez Nozal R., Gonzalez Bueno A. *La répercussion des formes pharmaceutiques d'origine française à l'aube de l'industrialisation pharmaceutique espagnole.* In: Revue d'histoire de la pharmacie, 84^e année, n°312, 1996. Actes du XXXIe Congrès International d'Histoire de la Pharmacie (Paris, **25-29 septembre 1995**) pp. 292-296.

Roger Jollois, Pierre Franchomme (direction scientifique) et **Daniel Pénéol** (direction médicale), *L'Aromathérapie exactement*, éd. Roger Jollois, 1990, rééditée, revue et améliorée 2001



Salem N, Salem S, Azaeiz S, Slimene I, Hammami M, Selmi S et al (2014). Investigation of in vitro antimicrobial activity of essential oil of *Eucalyptus globulus* growing wild in Tunisia. Microbiol Hyg Alim.; 26.

Références bibliographiques

Santé Canada (2009) Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada : Document technique. Benzène, Préparé par le Comité fédéral-provincial-territorial sur l'eau potable, Ottawa, Ontario, 47. Accessible au : www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/benzene/index-fra.php. Consulté le 11 juin 2015.

Schlosser P-M, Kenyon E-M, Seaton M-J et al.1995. Determinants of benzene metabolism and disposition. *CIIT Activities* ; ; 15 (6) : 1-9.

Smith, M.T. Advances in understanding benzene health effects and susceptibility. *Annu. Rev. Public Health* **2010**, 31, 133–148. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]

Starr FK. (2005) .*Eucalyptus globulus* green .

Starr FK. (2005).*Eucalyptus globulus* flowering branch .

Starr FK. 2005 . *Eucalyptus globulus* fruit. .

Sturluson T. 2014. *Eucalyptus globulus* Fruits. The Herbal Resource. Doi : <https://www.herbal-supplement-resource.com/eucalyptus-globulus.html> .

T

Takahashi T, Kokubo R, Sakaino M. (2004). Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from *Eucalyptus maculata*. *Lett Appl Microbiol* 39(1):60–64.

Trab. Bulletin de la Société Botanique de France, 61(5), XIII-XIV.

Trabut, M. L. (1914). Naturalisation d'un *Eucalyptus* en Algérie: *Eucalyptus algeriensis*

Truhaut R - Compte rendu et résolutions finales du « Workshop » international sur la toxicologie du benzène. *Arch. Mal. Prof.*, **1977** ; 38 : 967-968.

Tuorkey MJ (2015). Cancer Therapy with Phytochemicals: Present and Future Perspectives. *Biomed Environ Sci* 28(11):808–819.

V

Valentine J-L, Lee S-S, Seaton M-J et al. - Reduction of benzene metabolism and toxicity in mice that lack CYP2E1 expression. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **1996** ; 141 : 205-213.

Références bibliographiques

Valentine J-L, Lee S-S, Seaton M-J et al. 1996. Reduction of benzene metabolism and toxicity in mice that lack CYP2E1 expression. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 141 : 205-213.

W°

Weckbecker et Cory. (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. 40(3):257-64. Doi: 10.1016/0304-3835(88)90084-5.

Wright A-P et al . Une revue de littérature récente sur la toxicologie du benzène. Bruxelles : European Chemical Industry Ecotoxicology & Toxicology Centre, rapport technique n° 16, décembre 1964 (traduction française réalisée par Chimie et Ecologie, Paris, juin 1987).



University of Chadli Bendjedid - El Tarf
Faculty of Natural and Life Sciences
Laboratory of Functional and Evolutionary Ecology

National Conference on *Phytobiotechnology*

17 & 18 December 2023

Certificate of Attendance

This certificate is proudly presented to

CHELOUFI Narimane

MERZOUG Sameha, TOUMI Mohamed Lamine &
DJELLOUL Radia

For their *e-Poster communication* entitled : [Analyse
spectrophotométrique de l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus*]

President of Organizing Committee

Director of Laboratory

Dean of Faculty

