

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

# Intervention pharmacologique sur la toxicité systémique des métaux lourds

Soutenu le : \_\_\_\_/\_\_\_\_/2021

Présenté Par : BOUDEBZA Roumaissa et BOULAHBEL Amina

Devant le jury composé de :

Dr. DJELLOUL Radia	MCA	Présidente	UCBET
Mme. LARHEM Aicha Beya	MAA	Examinatrice	UCBET
Dr. TOUMI Mohamed Lamine	MCA	Promoteur	UCBET
Dr. TOUMI-MERZOUG Sameha	MCA	Co-Promoteur	UCBET

Année universitaire 2022 - 2023

## *« Remerciement »*

*Notre reconnaissance et nos vifs remerciements s'adressent :*

*Au bon Dieu, Le Tout Puissant de nous Avoir donné le courage, la force et la volonté pour réaliser ce modeste travail.*

*Nous tenons tout particulièrement à remercier Mr « **TOUMI MOHAMED LAMINE** » et Mme « **TOUMI-MERZOUG SAMEHA** » Nos encadrants, qui n'ont pas ménagé le moindre effort pour assister dans le choix du thème et la réalisation du présent mémoire, l'expression de notre profonde gratitude quant à leur patience, leur générosité scientifique, le temps et l'attention qu'ils nous ont consacrés.*

*Nous remercions ensuite l'ensemble des membres du jury, qui nous ont fait l'honneur de bien vouloir évaluer ce travail, et nous sommes honorées par leur présence également :*

*À Mme **DJELLOUL RADIA**, qui nous honore en tant que présidente de jury.  
Qu'elle trouve ici nos sincères gratitudee et nos sincères remerciements.*

*À Mme **LARHEM AICHA BEYA**, d'avoir accepté et consacré son temps précieux pour examiner notre travail  
Qu'elle soit assurée de nos respectueuses et très sincères gratitudee.*

*Nous remercions aussi chaleureusement la directrice du laboratoire  
« Ecologie Fonctionnelle et Evolutive »*

*Enfin, nous présentons nos gratitudee à ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail*

*A Dieu le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'il m'a  
donné durant toutes ces années d'études.*

*Mon très cher père **Abde Elwaheb**, A ma très chère mère **Fatiha***

*Mon Marie **Adel**, qu'était mon bon assistant tout au long de mon travail, il  
m'a encouragé et m'a soutenu jusqu'au dernier point, que Dieu le préserve et  
paie ses pas.*

*J'espère Que Dieu vous protège et vous garde,*

*A mes chers frères, **Raouf & zino***

*A ma chère sœur, **Safa***

*A mes grands-parents, **Noaura & Abd Elhamid***

*A toute ma famille, **Mes tantes et oncles maternels***

***Assia, Fatima, Mohamed, Ibrahim***

*A mon amie, **Yousra***

*A mon binôme, **Roumaïsa***

*A toutes les étudiantes de la promotion de Master 2 TFA*

*Toute personne qui m'a aidé de loin ou de près dans la réalisation de ce  
mémoire*

*Je dis **Merci**.*

***Amina***

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail  
A Dieu le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'il m'a  
donné durant toutes ces années d'études.  
Mon très cher père "El Bahí " et ma très chère mère "Hayete ", qu'était  
ma bonne assistante tout au long de mon travail, elle m'a encouragé et m'a  
soutenue jusqu'au dernier point, que Dieu la préserve et paie ses pas.*

*J'espère Que Dieu vous protège et vous garde,*

*A mon cher frère "Abed Errahmane".*

*A ma chère sœur "Nesma ".*

*A toute ma famille,*

*A toutes mes amies.*

*A ma binôme "Boulaḥbal Amína".*

*A toutes les étudiantes de la promotion de Master 2 TFA*

*A Toute personne qui m'a aidé de loin ou de près dans la réalisation de ce  
mémoire*

*Je dis, Merci*

*Roumaïssa.*

## الملخص

الألمنيوم عنصر معدني يستخدم في مختلف المجالات الصناعية و الصيدلانية، ينتج عن استخدامه العديد من الأضرار التي تصل إلى كل من الإنسان و البيئة، مما يؤدي إلى أمراض تصيب مختلف الأعضاء. في هذه الدراسة قمنا بتقييم السمية الرئوية و السمية الكبدية الناجمة عن ثلاثي كلوريد الألمنيوم. في الوقت نفسه، قمنا بتقييم التأثير الوقائي للمستخلص المائي للنبات الطبي اكليل الجبل ضد هذه السمية. لقد اخترنا بطني الأقدام كنموذج حيواني تجريبي. استخدمنا العديد من التقنيات التجريبية مثل جرعة الجلوتاثيون المخفض، و النشاط المضاد للأكسدة عن طريق اختبار و قياس المعايير الفيزيائية للمستخلص.

أظهرت نتائجنا انخفاضا على مستوى جلوتاثيون الكبد المعرض للألمنيوم، و نشاطا مضادا للأكسدة لمستخلص نبات اكليل الجبل، و أظهرت الدراسة النسيجية التي أجريت على أجزاء من الرئتين و الكبد للـلزون المعالجة بالألمنيوم أضرارا هيكلية واسعة النطاق، والتي تم منعها الى حد كبير عن طريق المعالجة المسبقة بالمستخلصات النباتية. ومنه نأكد التأثير الوقائي لنبات اكليل الجبل على الأعضاء المعرضة للألمنيوم.

## الكلمات المفتاحية:

ألمنيوم، السمية الرئوية، السمية الكبدية، بطني الأقدام، اكليل الجبل، مضادات الأكسدة.

**Abstract**

Aluminum is a metallic element used in various industrial and pharmaceutical fields. It results from its use many damages reaching both the man and the environment, thus resulting in diseases affecting different organs. In this study, we evaluated pneumotoxicity and hepatotoxicity caused by aluminum trichloride ( $\text{AlCl}_3$ ). At the same time, we evaluated the preventive effect of the aqueous extract of the medicinal plant *Rosmarinus officinalis* L. against this toxicity. We have chosen the gastropod *Helix aspersa* as an experimental animal model. We used several experimental techniques such as the dosage of reduced glutathione (GSH), the antioxidant activity by the DPPH test, the measurement of the physical parameters of the extract, and the histological study of the organs concerned.

Our results show a significant decrease in GSH levels in the hepatopancreas subjected to aluminum, and a significant antioxidant activity of the extract of *Rosmarinus officinalis* L. The histological study carried out on fragments of the lungs and hepatopancreas of snails treated with  $\text{AlCl}_3$  showed extensive structural damage, which was largely prevented by pre-treatment with plant extract. We therefore confirmed the preventive effect of the *Rosmarinus officinalis* L. plant on organs exposed to  $\text{AlCl}_3$ .

**Keywords:** Aluminum; Pneumotoxicity; Hepatotoxicity; *Helix aspersa*; *Rosmarinus officinalis* L.; antioxidant.

## Résumé

L'aluminium est un élément métallique utilisé dans différents domaines industriels et pharmaceutiques. Il résulte de son utilisation de nombreux dégâts atteignant aussi l'homme que l'environnement, se traduisant ainsi par des maladies touchant différents organes. Dans cette étude, nous avons procédé à l'évaluation de la pneumotoxicité et l'hépatotoxicité causées par le trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ). Parallèlement, nous avons évalué l'effet préventif de l'extrait aqueux de la plante médicinale *Rosmarinus officinalis* L. contre cette toxicité. Nous avons choisi le gastéropode *Helix aspersa* comme modèle animal d'expérimentation. Nous avons utilisé plusieurs techniques expérimentales tels que le dosage du glutathion réduit (GSH), l'activité antioxydante par l'essai DPPH, la mesure des paramètres physiques de l'extrait, et l'étude histologique des organes concernés.

Nos résultats montrent une diminution significative de taux de GSH dans l'hépatopancréas soumis à l'aluminium, et une activité antioxydante importante de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* L. L'étude histologique effectuée sur des fragments des poumons et des hépatopancréas d'escargots traités par  $AlCl_3$  a montré de nombreux dommages structuraux, lesquels ont été largement prévenus par le pré-traitement à l'extrait végétal. Nous avons donc confirmé l'effet préventif de la plante *Rosmarinus officinalis* L. au niveau des organes exposés à  $AlCl_3$ .

**Mots clés :** Aluminium ; Pneumotoxicité ; Hépatotoxicité ; *Helix aspersa* ; *Rosmarinus officinalis* L. ; antioxydant.

**LISTE DES TABLEAUX**

<b>N°</b>	<b>Titre du tableau</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Propriétés physiques de l'aluminium	<b>05</b>
<b>02</b>	Classification de <i>Helix aspersa</i>	<b>16</b>
<b>03</b>	Comparaison des moyennes des variables morphométriques et pondéraux	<b>25</b>
<b>04</b>	Analyse de variance des variables morphométriques et pondéraux	<b>26</b>
<b>05</b>	Comparaison multiple (Post-Hoc) de la largeur des escargots	<b>26</b>
<b>06</b>	Comparaison des moyennes du taux de glutathion réduit dans l'hépatopancréas	<b>28</b>
<b>07</b>	Analyse de variance des taux du glutathion réduit dans l'hépatopancréas	<b>28</b>
<b>08</b>	comparaison multiples (Post-Hoc) des taux du glutathion réduit dans l'hépatopancréas	<b>29</b>
<b>09</b>	Comparaison des moyennes du taux de glutathion réduit dans le poumon	<b>29</b>
<b>10</b>	Analyse de variance des taux du glutathion réduit dans le poumon	<b>29</b>
<b>11</b>	Indice de réfraction et viscosité de l'extrait aqueux de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	<b>33</b>

## LISTE DES FIGURES

N°	Titre de la figure	Page
01	Anatomie externe de l'escargot <i>Helix aspersa</i>	17
02	Anatomie interne de l'escargot <i>Helix aspersa</i>	17
03	Elevage des escargots <i>Helix aspersa</i>	18
04	<i>Rosmarinus officinalis</i> L. récolté et utilisé dans notre étude	18
05	Illustration géographique de la zone de Lac des Oiseaux, El Tarf.	19
06	Le matériel utilisé pour les mesures et la dissection	20
07	Longueur et largeur des escargots des groupes expérimentaux	27
08	Poids corporel des escargots des groupes expérimentaux	27
09	Poids des organes des groupes expérimentaux	28
10	Taux du glutathion réduit dans les organes des groupes expérimentaux	30
11	Observations microscopiques des coupes histologiques des glandes digestives (hépatopancréas) des escargots <i>Helix aspersa</i> appartenant aux différents groupes témoins et traités	31
12	Observations microscopiques des coupes histologiques des poumons des escargots <i>Helix aspersa</i> appartenant aux différents groupes témoins et traités	32
13	Profil spectral UV de l'extrait aqueux de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	33
14	Modèle de régression linéaire du ratio d'inhibition de DPPH par l'extrait de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. en fonction de l'ordre de dilution	34
15	Ratio d'inhibition de DPPH par l'acide ascorbique et l'extrait de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. à trois ordres de dilution	35

## Table des Matières

<i>Section</i>		<i>Page</i>
<b>1</b>	<b>Introduction</b>	<b>01</b>
<b>2</b>	<b>Lumière bibliographique</b>	<b>03</b>
<b>2.1</b>	Aluminium	03
<b>2.1.1</b>	Historique de l'aluminium	03
<b>2.1.2</b>	Définition	03
<b>2.1.3</b>	Origine	03
<b>2.1.3.1</b>	Origines naturelles	03
<b>2.1.3.2</b>	Origines anthropiques	04
<b>2.1.4</b>	Propriétés de l'aluminium	04
<b>2.1.4.1</b>	Propriétés chimiques	04
<b>2.1.4.2</b>	Propriétés physiques	05
<b>2.1.4.3</b>	Propriétés mécaniques	05
<b>2.1.5</b>	Alliages d'aluminium	05
<b>2.1.6</b>	Utilisation	06
<b>2.1.7</b>	Sources d'exposition	06
<b>2.1.7.1</b>	Exposition par l'air	06
<b>2.1.7.2</b>	Exposition par l'eau	07
<b>2.1.7.3</b>	Exposition alimentaire	07
<b>2.1.7.3.1</b>	Aliments pouvant contenir de l'aluminium	07
<b>2.1.7.3.2</b>	Additifs alimentaires	07
<b>2.1.7.3.3</b>	Objets au contact des aliments	07
<b>2.1.7.4</b>	Exposition par les produits cosmétiques	08
<b>2.1.7.5</b>	Exposition par les produits de santé	08
<b>2.1.7.5.1</b>	Médicaments antiacides et pansements gastro-intestinaux	08
<b>2.1.7.5.2</b>	Nutrition parentérale	08
<b>2.1.7.3.3</b>	Produits de dialyse	08
<b>2.1.7.3.4</b>	Vaccins	08
<b>2.1.8</b>	Voies d'exposition	09
<b>2.1.9</b>	Métabolisme	09
<b>2.1.9.1</b>	Absorption	09
<b>2.1.9.1.1</b>	Absorption pulmonaire	09
<b>2.1.9.1.2</b>	Absorption gastro-intestinale	09
<b>2.1.9.2</b>	Biotransformation	10
<b>2.1.9.3</b>	Élimination	10
<b>2.1.10</b>	Effets pathologiques	10
<b>2.2</b>	Phytothérapie et plantes médicinales	12
<b>2.2.1</b>	Plantes médicinales	12
<b>2.2.1.1</b>	Historique	12
<b>2.2.1.2</b>	Définition	12
<b>2.2.1.3</b>	Origines	12
<b>2.2.1.4</b>	Avantages et inconvénients	13
<b>2.2.1.5</b>	Effet hépato-protecteur	13
<b>2.2.2</b>	Phytothérapie à base de <i>Rosmarinus officinalis</i>	14
<b>2.2.2.1</b>	Classification	14
<b>2.2.2.2</b>	Distribution géographique	15
<b>2.2.2.3</b>	Domaines d'utilisation	15

2.2.2.4	Pouvoir antioxydant	15
<b>3</b>	<b>Matériel et méthodes</b>	<b>16</b>
3.1	Lieu et période de travail	16
3.2	Modèle animal	16
3.3	Collection et adaptation	17
3.4	Plante médicinale : <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	18
3.5	Extraction	19
3.5.1	Préparation de la plante récoltée	19
3.5.2	Protocole d'extraction	19
3.6	Solution-mère de trichlorure d'aluminium	19
3.7	Protocole expérimental	19
3.7.1	Dissection	19
3.7.2	Groupes expérimentaux	20
3.8	Dosage du glutathion réduit (GSH)	21
3.9	Etude histologique	22
3.9.1	Fixation	22
3.9.2	Déshydratation	22
3.9.3	Inclusion	22
3.9.4	Coupes et coloration	22
3.10	Détermination des paramètres physiques de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	23
3.10.1	Profil spectral à l'ultraviolet	23
3.10.2	Indice de réfraction	23
3.10.3	Viscosité	23
3.11	Essai DPPH	23
3.12	Analyses statistiques	24
<b>4</b>	<b>Résultats</b>	<b>25</b>
4.1	Paramètres morphométriques et pondéraux	25
4.2	Taux du glutathion réduit (GSH) dans l'hépatopancréas	28
4.3	Taux du glutathion réduit (GSH) dans le poumon	29
4.4	Examination histopathologique de l'hépatopancréas	30
4.5	Examination histopathologique du poumon	31
4.6	Paramètres physiques de l'extrait aqueux de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	33
4.6.1	Profil spectral à l'ultraviolet	33
4.6.2	Indice de réfraction et viscosité de l'extrait aqueux de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	33
4.7	Pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	33
<b>5</b>	<b>Discussion</b>	<b>36</b>
<b>6</b>	<b>Conclusion et Perspectives</b>	<b>38</b>
	<b>Références bibliographiques</b>	

## 1. Introduction

Les métaux lourds sont les éléments métalliques naturels situés à partir de la quatrième période du tableau périodique — c'est-à-dire à partir du potassium **(Sirven et al., 2006)**. Ceux-ci sont présents le plus souvent dans l'environnement sous forme de traces et peuvent se trouver dans l'air, dans l'eau, et dans le sol **(Slimani A, 2012)**. L'essentiel des métaux lourds provient des apports d'origines industrielles, qu'il s'agisse des exploitations minières, des activités industrielles anciennes, ou des activités actuelles. Ils sont principalement rencontrés dans les effluents de traitement de surface, les lixiviats d'hydrométallurgie, les eaux de lavage de gaz de combustion de charbon et d'incinération des ordures ménagères **(Brahimi M, 2017)**.

L'aluminium (Al) est un élément du troisième groupe de la classification de Mendeleïev dont le nombre atomique est 13, la masse atomique est 26,98 uma, et la température de fusion est 660 °C. Il se cristallise dans le système cubique à faces centrées, avec un paramètre de Maille de 0,404 nm. Sa masse volumique est 2,7 g/cm<sup>3</sup> **(Aya L et al., 2020)**. L'aluminium, troisième élément constitutif de l'écorce terrestre, se retrouve naturellement d'une manière abondante dans l'environnement. Les pluies acides augmentent sa concentration dans les sols ; par conséquent, il se rencontre de plus dans les végétaux et les aliments, les ressources d'eau souterraines y compris l'eau destinée à la consommation. C'est un métal très utilisé dans diverses applications, notamment les produits industriels, agroalimentaires et cosmétiques **(El Daouk S, 2022)**. L'aluminium perturbe les processus métaboliques dans les hépatocytes en perturbant l'homéostasie du Fe et/ou en induisant un stress oxydatif **(Mailloux RJ, 2011)**.

L'aluminium conduit à une déplétion en fer dans les mitochondries, un stress oxydatif et une respiration anaérobie. Cette situation entraîne une augmentation de la synthèse du récepteur de la transferrine et la suppression de la production de ferritine. L'augmentation des concentrations d'aluminium supprime le cytochrome P450 (CYP450), le cytochrome B5 (B5), les protéines microsomales, la cytochrome C réductase (CR), l'aminopyrine N-déméthylase (AND), l'érythromycine N-déméthylase (ERND) et l'aniline-4-hydroxylase (AH), jouant un rôle majeur dans l'anabolisme des composés endogènes et la biotransformation de nombreux composés exogènes. Ces événements ont un impact majeur sur les maladies du foie, y compris l'obésité, le diabète de type 2, et la stéatose hépatique **(Rahimzadeh MR, 2022)**. Des fibroses pulmonaires ont été observées chez les professionnels de l'industrie de l'aluminium lors d'expositions massives à de l'aluminium pulvérulent sous formes de vapeurs. Des symptômes (asthme et bronchite de types irritatifs) peuvent être observés dans les fonderies d'aluminium. Cependant, d'autres produits utilisés peuvent également être responsables de ces symptômes **(Berthomier M, 2019)**.

Le mot « phytothérapie » vient du grec ‘photon’ qui signifie « plante » et ‘thérapie’ qui signifie « traitement ». C’est donc une technique de traitement qui utilise les plantes pour surmonter des causes et symptômes de diverses maladies. C’est l’une des plus anciennes thérapeutiques. C’est l’utilisation des plantes dans le but de traiter ou prévenir les maladies. On utilise les feuilles, fleurs et sommités fleuries, racines ou plantes entières, de même que les plantes spontanées ou cultivées. Les plantes sont utilisées par ingestion interne ou par application externe sous forme de tisanes, gélules, alcool, teintures et extraits **(Chaalal S et al., 2021)**.

Le romarin (*Rosmarinus officinalis L.*) appartient à la famille des Lamiaceae ou Labiatae. C’est un arbrisseau vivement rameux, touffu, toujours vert (feuilles persistantes), très aromatique, de cinquante centimètres à deux mètres de haut. Il possède des tiges ligneuses arrondies à écorce brun foncé, avec des feuilles sessiles opposées, étroites et entières **(Nouiri N et al., 2020)**. Le romarin possède de nombreuses vertus phytothérapeutiques et est aussi une herbe condimentaire, ainsi qu’un produit utilisé en parfumerie **(Saouli S et al., 2020)**. Les scientifiques semblent être particulièrement intéressés par trois acides présents dans le romarin (*Rosmarinus officinalis L.*) : l’acide carnosique, l’acide caféique et l’acide rosmarinique. Tous ces composés ont des effets antioxydants. L’acide carnosique favorise la perte de poids. L’acide caféique présent dans la plupart des plantes peut contribuer à la prévention des maladies cardiovasculaires. L’acide rosmarinique est capable d’augmenter la prostaglandine E2, réduire la production de leucotriène B4 et inhibe le système du complément. Ces trois constituants sont également capables d’inhiber la peroxydation lipidique, pouvant alors alléger l’hépatotoxicité, l’athérosclérose et les maladies inflammatoires. Ils empêchent aussi la formation de l’adduit carcinogène-ADN qui donne au romarin ses propriétés anticancérigènes **(Hammad L et al., 2020)**.

Le romarin est également bienfaisant dans les cas de digestion difficile due à l’atonie des organes digestifs, qu’il tonifie tout en augmentant la sécrétion de la bile et en favorisant son évacuation. On l’utilise également en fumigation, dans les cas d’asthme. En usage externe, on utilisera une préparation de romarin (*Rosmarinus officinalis L.*) cuite dans du vin et appliquée en cataplasme sur les gonflements douloureux des entorses, sur les contusions ou les rhumatismes articulaires, et on soignera les aphtes et l’amygdalite avec des bains de bouche d’une décoction de feuilles. Pour soulager les rhumatismes, on prendra un bain auquel on ajoutera une décoction de feuilles de romarin **(Bachene L et al., 2020)**.

L’objectif de notre étude est d’explorer la capacité de l’extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis L.* à prévenir les effets toxiques de l’aluminium sur l’hépatopancréas et le poumon chez un modèle animal convenable, le gastéropode *Helix aspersa*.

## 2. Lumière bibliographique

### 2.1. Aluminium

#### 2.1.1. Historique de l'aluminium

L'aluminium n'existe pas dans la nature à l'état métallique, puisqu'il s'associe à d'autres substances chimiques au sein de différents minerais. Le principal minerai d'aluminium est la bauxite qui contient 40 à 60 % d'oxyde d'aluminium ou aluminium mélangé à de la silice et à de l'oxyde de fer.

En 1821 : Ce minerai a été découvert dans le village des Baux-de-Provence par le minéralogiste français Pierre Berthier, on l'appela bauxite.

En 1825 : La découverte de l'aluminium date quand Hans Christian Oersted obtient une poudre d'aluminium grise très impure ; après deux ans, le scientifique allemand Friedrich Wöhler obtient la même poudre mais contenant moins d'impuretés.

En 1854 : Le chimiste français Sainte Claire Deville a obtenu un lingot d'aluminium, réalisé par voie chimique.

En 1886 : L'invention du procédé d'électrolyse a été découverte par le français Paul Héroult et l'américain Charles Martin Hall. Aujourd'hui, c'est le seul procédé utilisé dans le monde (**Belghit H, 2020**).

#### 2.1.2. Définition

L'aluminium est un métal brillant (**Guler K, 1949**), blanc argent, léger et ductile, il est assez mou et malléable (**Belghit H, 2020**), caractérisé par sa faible densité, ses hautes conductibilités électrique et thermique et sa résistance aux agents chimiques. L'aluminium est le métal le plus répandu dans la croûte terrestre, dont il constitue environ 7,3 %. Cependant, il ne s'y trouve pas à l'état métallique, mais sous forme de combinaisons, le plus souvent avec l'oxygène et le silicium (**Guler K, 1949**).

#### 2.1.3. Origine

##### 2.1.3.1. Origines naturelles

L'Aluminium est le troisième élément constitutif de l'écorce terrestre. Il représente près de 8% de la composition de la lithosphère après l'oxygène (42%) et le silicium (28%). Métal très réactif, il ne se

rencontre pas à l'état libre dans la nature, il se combine à d'autres éléments pour former des composés : le plus souvent sous forme d'oxydes tels que dans le minerai de bauxite, mais aussi sous forme d'aluminosilicates comme dans l'argile et les micas. Les sources naturelles de rejets d'aluminium dans les milieux comprennent l'altération et l'érosion des roches, des dépôts glaciaires et des sols et de leurs dérivés minéraux ainsi que le dépôt atmosphérique des particules de poussière.

### 2.1.3.2. Origines anthropiques

Les pratiques humaines conduisent aussi à l'enrichissement des sols et des eaux en aluminium :

- Rejets d'origine industrielle : Les multiples utilisations sont les principales sources anthropiques de pollution (l'industrie minière, l'agriculture, la combustion du charbon, les fonderies et les échappements des automobiles)
- Les pratiques agricoles : Il est contenu essentiellement dans des produits utilisés pour la fabrication des engrais minéraux à savoir le nitrate d'aluminium et le sulfate d'aluminium
- Le traitement de l'eau potable : L'aluminium présent dans l'eau potable provient essentiellement de l'utilisation de sels comme l'alun ou le chlorure de poly-aluminium en guise de coagulants dans les stations de traitement de l'eau potable pour éliminer les composés organiques, les micro-organismes et les particules (**Hesni I, 2015**).

### 2.1.4. Propriétés de l'aluminium

#### 2.1.4.1. Propriétés chimiques

L'aluminium est un métal très réducteur qui s'oxyde rapidement dans l'air à température ordinaire en formant une couche d'alumine qui le protège de la corrosion. Ses propriétés réductrices en voie sèche sont utilisées en aluminothermie. Il réagit violemment avec le chlore, le fluor, le brome et l'iode pour former les tri-halogénures correspondants. En solution, l'aluminium présente le principal degré d'oxydation, Al(+III). L'aluminium pur (> 99,999 %) sous forme massive résiste bien à l'acide nitrique grâce à sa couche protectrice d'alumine ; ce film protecteur est toutefois dissout par l'acide chlorhydrique et par l'acide sulfurique chaud. L'aluminium est attaqué rapidement par des solutions aqueuses d'hydroxydes alcalins avec dégagement d'hydrogène et formation d'aluminates solubles. Fondu, il forme des alliages avec de nombreux métaux (cuivre, magnésium, manganèse, fer, silicium). L'aluminium peut aussi exister sous forme de poudre stabilisée (les particules d'aluminium sont enrobées d'huile dérivée du pétrole ou d'acide stéarique ou d'autres lubrifiants) ou sous forme de

poudre pyrophorique (particules non revêtues) : la forme stabilisée est inflammable et la forme pyrophorique est spontanément inflammable au contact de l'air et beaucoup plus réactive. Au contact de l'eau, les deux types de poudres dégagent de l'hydrogène ; les copeaux d'aluminium peuvent également réagir avec l'eau pour former de l'hydrogène. L'aluminium à l'état divisé réagit vigoureusement avec les hydrocarbures halogénés, le méthanol, l'acide chlorhydrique, l'acide fluorhydrique, l'acide sulfurique et la soude. (INRS, 2021).

#### 2.1.4.2. Propriétés physiques

**Tableau 1** : Propriétés physiques de l'aluminium (Lazizi H, 2013 ; Belghit H, 2020).

Nombre atomique	13
Masse volumique	26,98 g.cm <sup>3</sup>
Température de fusion	660 C°
Température d'ébullition	2467 C°
Densité	2,7 g/cm <sup>3</sup>
Conductibilité thermique	0,57 cal/cm.s.C°
Conductibilité électrique	2,6548 ohm.mm <sup>2</sup> /m
Susceptibilité magnétique	0,6 × 10 <sup>-6</sup>
Paramètre de maille	0,405 nm

#### 2.1.4.3. Propriétés mécaniques

L'aluminium commercialement pur possède, à l'état recuit, des propriétés mécaniques faibles. On peut toutefois améliorer considérablement ces propriétés par écrouissage, addition d'éléments d'alliage ou traitements thermiques, selon les cas. L'aluminium et ses alliages ont une structure cristalline cubique à faces centrées. Ils font donc preuve, à l'état recuit, d'une excellente ductilité à toute température (Fekrache A, 2008).

#### 2.1.5. Alliages d'aluminium

Un alliage d'aluminium est une composition chimique où d'autres éléments sont ajoutés à l'aluminium pur afin d'améliorer ses propriétés, seuls neuf éléments sont capables de s'allier à l'aluminium. Ce sont : l'argent, le cuivre, le gallium, le germanium, le lithium, le manganèse, le magnésium, le silicium et le

zinc. Les cinq éléments les plus répandus les alliages d'aluminium sont : le cuivre, le manganèse, le magnésium, le silicium et le zinc. L'action d'un élément sur les propriétés de l'aluminium dépend bien de sa nature et de la quantité ajoutée **(Belghit H, 2020)**.

### 2.1.6. Utilisation

L'aluminium est un élément chimique qui, en dehors de son utilisation comme métal à l'état pur, est utilisé sous forme de sels. Les plus courants sont l'oxyde, l'hydroxyde, le sulfate, le phosphate, le chlorhydrate et le silicate d'aluminium. Ces sels sont employés dans des secteurs aussi nombreux que variés :

- Le bâtiment : sous forme d'alliages avec d'autres métaux pour la fabrication des fenêtres, portes et gouttières
- Les transports : également sous forme d'alliages pour des pièces automobiles, ferroviaires, maritimes, aéronautiques et aérospatiales
- L'ingénierie : pour la fabrication de composants électriques et d'objets électroniques comme les ordinateurs, les téléphones portables.
- La pharmacie : pour les solutions parentérales et les médicaments. Dans ces derniers, ces sels sont aussi bien utilisés comme principes actifs dans les antiacides (ils diminuent l'acidité gastrique grâce à un effet tampon) et pansement gastro-intestinaux (ils adhèrent aux parois des muqueuses) que comme excipients ou adjuvants dans les vaccins.
- La chirurgie : dans des céramiques ou alliages pour la chirurgie dentaire et orthopédique
- La cosmétologie : pour les colorants capillaires, crèmes de soins corporelles, produits de rasage ou de maquillage pour le visage, les anti-transpirants et les dentifrices
- L'agroalimentaire : pour les ustensiles de cuisine, l'emballage mais aussi pour les colorants, les conservateurs ou les additifs.
- Le traitement des eaux d'alimentation : le sulfate d'aluminium est utilisé comme agent clarifiant et floculant. **(Sonthonnax J, 2014)**.

### 2.1.7. Sources d'exposition

#### 2.1.7.1. Exposition par l'air

Selon les études, les concentrations atmosphériques d'aluminium sont généralement comprises entre 0,008 µg/m<sup>3</sup> et 7 µg/m<sup>3</sup>. Ce large écart s'explique par la présence éventuelle, près du lieu de prélèvement, d'une source géologique ou d'un site industriel de production d'aluminium.

#### **2.1.7.2. Exposition par l'eau**

- Eau du robinet : L'aluminium présent dans l'eau peut avoir deux origines : naturelle ou anthropique (issue du traitement visant à transformer l'eau "brute" en eau "potable")
- Eaux embouteillées : Les eaux embouteillées peuvent également contenir de l'aluminium. On distingue plusieurs types d'eaux embouteillées : les eaux minérales naturelles, les eaux de sources et les eaux rendues potables par traitement.

#### **2.1.7.3. Exposition alimentaire**

L'aluminium présent dans l'alimentation de l'Homme peut avoir plusieurs origines :

##### **2.1.7.3.1. Aliments pouvant contenir de l'aluminium**

En raison de sa présence naturelle dans l'environnement, tous les aliments peuvent contenir de l'aluminium, avec des valeurs supérieures à 3 mg/kg, c'est le thé, le pain, les biscottes, les céréales, les biscuits, les légumes, les fruits secs et graines oléagineuses, les glaces, le chocolat ainsi que les crustacés qui en contiennent le plus.

##### **2.1.7.3.2. Additifs alimentaires**

Les additifs alimentaires à base d'aluminium sont principalement utilisés comme :

- Colorants (E173)
- Antiagglomérants (E554, E555, 556, E559)
- Agents raffermissants et épaississants (E520, E521, ET522)
- Correcteur de pH (E523)
- Stabilisant (E541)

##### **2.1.7.3.3. Objets au contact des aliments**

Les objets en aluminium qui sont en contact avec les denrées alimentaires peuvent être divisés en 3 catégories :

- Les emballages et les objets de conditionnement (canettes de soda, boîtes de conserve)
- Les ustensiles de cuisine (l'aluminium est léger et il conduit bien la chaleur)
- Les sucettes ou tétines pour enfants

#### **2.1.7.4. Exposition par les produits cosmétiques**

L'aluminium entre dans la composition de nombreux produits cosmétiques. Il est utilisé pour diverses fonctions :

- Anti-transpirant dans les déodorants
- Abrasif dans les produits dentaires et les produits pour le visage et le corps
- Agent de viscosité dans les produits de soins et de maquillage
- Absorbant dans les masques pour le visage

#### **2.1.7.5. Exposition par les produits de santé**

##### **2.1.7.5.1. Médicaments antiacides et pansements gastro-intestinaux**

L'aluminium (le plus souvent sous forme de sel de phosphate ou d'hydroxyde) est utilisé comme principe actif dans les médicaments antiacides et les pansements gastro-intestinaux.

##### **2.1.7.5.2. Nutrition parentérale**

Pour la nutrition parentérale, la contamination des solutés peut avoir 3 origines :

- Les matériaux de conditionnement
- Les substances actives
- L'eau

##### **2.1.7.5.3. Produits de dialyse**

L'aluminium présent dans ces solutions de dialyse peut donc avoir plusieurs origines. Tout d'abord, pour la dilution, on va utiliser de l'eau du robinet qui, peut contenir des sels d'aluminium.

##### **2.1.7.5.4. Vaccins**

L'aluminium est utilisé dans les vaccins comme adsorbant et comme adjuvant pour stimuler l'immunité (Sonthonnax J, 2014).

### 2.1.8. Voies d'exposition

Chez l'homme, les principales voies d'exposition reconnues sont les voies orale, cutanée et respiratoire. Pour la voie orale, en dehors de toute exposition professionnelle, l'ingestion d'aliments constitue 95% des apports quotidiens ; l'aluminium présent dans les aliments de base ou l'eau de boisson résulte d'un phénomène naturel, d'un ajout d'additifs alimentaires, d'un traitement de l'eau ou d'une migration du contenant vers le contenu. Dans le cas de l'instauration d'une thérapeutique par médicaments antiacide ou par pansements digestifs à base d'aluminium, l'exposition est majorée. L'inhalation demeure une voie d'exposition mineure, sauf en milieu professionnel où l'atmosphère des ateliers peuvent contenir des teneurs élevées en aluminium (AFSSA, 2000).

### 2.1.9. Métabolisme

Le métabolisme de l'aluminium dans l'organisme par la chaîne dynamique d'apport, d'absorption et d'élimination détermine le niveau d'accumulation tissulaire et le développement de la toxicité (Benhmimid et al., 2022).

#### 2.1.9.1. Absorption

##### 2.1.9.1.1. Absorption pulmonaire

Le poumon est l'un des organes qui possède la plus grande capacité à concentrer l'aluminium. Il reçoit continuellement de l'aluminium principalement sous forme de particules de silicates d'aluminium et d'autres composés peu solubles. Ces particules inhalées sont captées par les macrophages des alvéoles pulmonaires. La majeure partie est donc piégée dans le tissu pulmonaire, lorsque les taux d'aluminium dans l'air inhalé sont extrêmement élevés, une partie de ces particules peut être dissoutes par les lysosomes macrophagiques, libérant ainsi ce métal qui diffuse par voie sanguine dans l'organisme. La concentration d'aluminium dans les poumons a tendance à augmenter avec l'âge et peut entraîner des anomalies respiratoires (Benhmimid et al., 2022).

##### 2.1.9.1.2. Absorption gastro-intestinale

L'absorption gastro-intestinale est la principale voie par laquelle l'aluminium s'accumule de manière systémique chez l'Homme, et se produit en grande partie dans le duodénum, L'absorption provient de la consommation des aliments est estimée à 0,1%, alors que l'apport par la consommation d'eau est d'environ 0,3%. Cette absorption est influencée par divers facteurs, notamment les différences

individuelles, l'âge, le pH, le contenu de l'estomac et le type de composé d'aluminium, L'acide citrique favorise l'absorption intestinale, en inhibant la précipitation du métal et en augmentant sa solubilité, ce qui facilite le passage par la barrière intestinale. Contrairement au phosphate, fluor et silice qui peuvent se lier à l'aluminium et forment des complexes insolubles et moins absorbables par la muqueuse intestinale. L'absorption via le tractus gastro-intestinal peut être améliorée en présence de citrate, de maltol, de lactate et de fluorure qui proviennent de l'eau ou des aliments, et lors de maladies rénales chroniques, tandis que l'absorption est réduite chez les personnes présentant une surcharge en fer ou en cas d'ingestion de phosphate, silicium, polyphénols et acide sialique. L'aluminium entre en compétition avec le calcium et le magnésium qui sont prioritairement absorbés au niveau intestinal, d'un autre côté, les sécrétions biliaires et pancréatiques neutralisent le chyme alimentaire, ce qui le précipite sous forme de carbonate, d'hydroxyde ou de phosphate d'aluminium qui sont les formes moins biodisponibles **(Benhmimid et al., 2022)**.

#### **2.1.9.2. Biotransformation**

Chez l'Homme, après absorption gastro-intestinale (ou injection intra-péritonéale), l'aluminium est véhiculé par l'intermédiaire de la circulation porte vers le foie, où il subirait une biotransformation de premier passage hépatique. Une grande partie du travail effectué sur la spéciation et la distribution de l'aluminium s'est penché sur d'autres expositions que l'ingestion, telle que l'injection intraveineuse, qui peut contourner l'effet de premier passage du foie l'exposition au liquide de dialyse peut être considérée analogue à l'injection intraveineuse parce que la circulation sanguine est directement exposée, sans être filtré d'abord par le foie **(Kahloula K, 2016)**.

#### **2.1.9.3. Elimination**

L'élimination est essentiellement rénale. Il est aussi excrété dans le lait, la bile, les matières fécales, la sueur, les cheveux, les ongles, le sébum et le sperme. L'excrétion urinaire est améliorée par des chélateurs chimiques tels que la déféroxamine et les acides malique, malonique, citrique, oxalique et succinique **(Benhmimid et al., 2022)**.

#### **2.1.10. Effets pathologiques**

Les actions toxiques de l'aluminium induisent un stress oxydatif, des altérations immunologiques, une génotoxicité, un effet pro-inflammatoire, une dénaturation ou transformation des peptides, un dysfonctionnement enzymatique, un dérangement métabolique, une amyloïdogénèse, une perturbation

membranaire, une dyshoméostasie du fer, une apoptose, une nécrose et une dysplasie. Les états pathologiques associés à la toxicose sont la pneumonie interstitielle desquamative, la protéinose alvéolaire pulmonaire, les granulomes, la granulomatose et la fibrose, la myocardite toxique, la thrombose et l'accident vasculaire cérébral ischémique, l'entérite granulomateuse, la maladie de Crohn, les maladies inflammatoires de l'intestin, l'anémie, la maladie d'Alzheimer, la démence, la sclérose, l'autisme, la myofasciite à macrophage, l'ostéomalacie, l'oligospermie et l'infertilité, la maladie hépatorénale, le cancer du sein, la pancréatite, la nécrose pancréatique et le diabète sucré **(El daouk S, 2022)**.

L'aluminium aurait ainsi un pouvoir toxique pour l'Homme. Pour certains chercheurs, cette toxicité est relative et s'observerait uniquement chez des sujets particuliers et exposés à de fortes doses. Pour d'autres, ce métal qui est omniprésent dans notre quotidien posséderait une toxicité au long cours, même pour des sujets exposés à des faibles doses **(Kahloula K, 2016)**.

Comme les cas d'intoxications aiguës à l'aluminium sont très rares, il existe par conséquent peu de données sur cette toxicité. Les sels solubles d'aluminium (chlorure, fluorure, sulfate et citrate) sont généralement les causes de ces intoxications. Chez les animaux, il a été mis en évidence dans les études que la DL50 (Dose Létale 50) par voie orale variait de 140 à 6200 mg d'aluminium/kg de poids corporel suivant les espèces. Elle est de 164 à 980 mg d'aluminium/kg de poids corporel chez le rat. A titre de comparaison, les DL50 par voie intrapéritonéale chez le rat sont inférieures et comprises entre 25 à 108 mg d'aluminium/kg de poids corporel. Chez l'homme, il y a peu de cas de décès par ingestion d'une importante quantité d'aluminium. Les cas recensés sont liés à des ingestions volontaires (suicides) ou accidentelles de pesticides (présence de phosphore d'aluminium) **(Sonthonnax J, 1989)**.

L'aluminium généralement empêche le métabolisme de tétrahydrobioptérine, qui est importante dans la production de plusieurs neurotransmetteurs ; ce métabolisme est connu pour être diminué dans la maladie d'Alzheimer. L'aluminium a la capacité de se lier à la transferrine en lieu et place du fer. Cet aluminium lié à la transferrine peut se déposer partout dans l'organisme où se trouvent des récepteurs de la transferrine. La transferrine constitue donc un moyen de transport de l'aluminium vers différents organes, en particulier vers les os et le cerveau dont certaines régions possèdent un grand nombre de récepteurs de la transferrine **(Kahloula K, 2016)**.

## 2.2. Phytothérapie et plantes médicinales

### 2.2.1. Plantes médicinales

#### 2.2.1.1. Historique

Selon l'histoire des peuples, les plantes aromatiques et médicinales ont toujours occupé une place importante dans l'alimentation, en médecine est pour la composition des parfums. D'après l'historique des plantes médicinales est aromatique, la Chine fut le berceau de la phytothérapie. L'empereur Chen-Nong (2800 avant JC) consigne sa connaissance des plantes médicinales dans un livre, le Pen Ts'ao, qui regroupe plus de 100 plantes. Ce livre fera autorité jusqu'au 16ème siècle où il est revu et corrigé par un médecin et pharmacologue Li Che Tchen qui recense 1000 plantes médicinales. Trente siècles avant notre ère, un célèbre médecin connaissait déjà l'art de l'anesthésie à l'aide du chanfrein ainsi que l'usage des plantes aromatiques pour la santé et la diététique. Au Moyen-Orient, 4000 ans avant JC, les Sumériens avaient des plantes médicinales et aromatiques. Les Arabes conservèrent pendant des millénaires le monopole du commerce des épices et contribuent largement au progrès des techniques d'extraction des huiles et parfums **(Bouden I, 2022)**.

Depuis toujours les plantes ont constitué la source majeure de médicaments grâce à la richesse de ce qu'on appelle le métabolisme secondaire. Cependant, l'homme n'a découvert les vertus bénéfiques des plantes que par une approche progressive, facilitée par l'organisation des rapports sociaux, en particulier à partir du néolithique (8000 ans avant JC) **(Marwa et al., 2022)**.

#### 2.2.1.2. Définition

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles. Le groupe consultatif de l'OMS qui a formulé cette définition affirme également qu'une telle description permet de distinguer les plantes médicinales dont les propriétés thérapeutiques et les composants ont été établis scientifiquement des plantes considérées comme médicinales **(Messaouda et al., 2022)**.

#### 2.2.1.3. Origines

##### □ Plantes sauvages

Cette catégorie constitue les plus anciennement utilisées et représentant encore aujourd'hui un pourcentage notable du marché mondial. Leur répartition et développement dépendent de plusieurs facteurs tels que le type de sol et surtout du climat. Ces plantes sont en effet influencées par la

température, la latitude et la composition du sol. Ces conditions édaphiques font de ces plantes de véritables réservoirs de spécificités génétiques (**Ouedrago et al., 2021**).

### □ Plantes cultivées

Ces plantes permettent, grâce aux techniques de culture standardisées, d'obtenir des matières premières de bonne qualité en quantité suffisante et homogène. En effet, la culture des plantes médicinales répond à des directives de l'OMS sur les bonnes pratiques agricoles et des bonnes pratiques de récolte relatives aux plantes médicinales. Elles s'appliquent à la culture, à la récolte des plantes médicinales et à certaines opérations postérieures à la récolte. Les directives peuvent être adaptées à la réglementation en vigueur dans les différents pays. En plus de tous ces bénéfices sur la qualité, la culture pousse la dispersion ou la disparité des peuplements naturels. L'importante diversité créée au sein des espèces cultivées, bien que très inférieure à celle de la flore spontanée, constitue aussi un réservoir de spécificités génétiques (**Ouedraogo et al., 2021**).

#### 2.2.1.4. Avantages et inconvénients

Généralement, les plantes médicinales d'usage courant ne provoquent que très peu, voire aucun effet indésirable ; c'est l'un de leurs principaux avantages. De plus, l'action synergique des divers constituants commence à être mieux comprise et acceptée scientifiquement, contrairement à certaines croyances populaires, plusieurs plantes ont des effets pratiquement immédiats sur le métabolisme, Par contre, les médicaments de synthèses ont souvent une action plus directe et plus spectaculaire puisqu'ils sont formulés pour être immédiatement assimilés par l'organisme. Il est également plus facile de s'assurer de leur composition exacte et de leurs conditions de conservation.

Certaines plantes sont inoffensives, mais d'autres sont toxiques et ne sont pas utilisés sous aucune des formes connues (**Benkherbache A et al., 2021**).

#### 2.2.1.5. Effet hépato-protecteur

Bien que les maladies hépatiques chroniques soient considérées comme l'un des problèmes les plus importants de santé mondiale et que les médicaments disponibles pour les traiter induisent généralement des dommages hépatiques plus graves, les médicaments à base de plantes sont devenus de plus en plus populaires, et leur utilisation est largement répandue. En effet, le pouvoir hépatoprotecteur des plantes médicinales a été démontré dans plusieurs études. Cet effet est dû à la présence d'une variété de constituants chimiques tels que les polyphénols, les coumarines, les

monoterpènes, les glycosides, les alcaloïdes et les xanthines. La consommation de plantes médicinales protège contre les dommages hépatiques en réduisant les taux sériques de l'AST, l'ALT, la phosphatase alcaline, la bilirubine et l'albumine, et entraînant une régression histologique de la cholestase, la stéatose et la cirrhose chez les souris traitées par le CCl4 (**Boussadia N et al., 2020**).

### 2.2.2. Phytothérapie à base de *Rosmarinus officinalis*

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : « phuton » et « therapei » qui signifient respectivement « plante » et « traitement ». La phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes, qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe (**kerharo J et al., 1964**).

*Rosmarinus officinalis* est une plante médicinale originaire du bassin méditerranéen qui pousse à l'état sauvage. Le romarin aime les terrains calcaires et s'accommode très bien à des contrées arides et rocailleuses, Son odeur est aromatique. Il existe 3 espèces de romarin : *Rosmarinus officinalis* ou romarin commun, de population, qui présente une grande variabilité ; *Rosmarinus eriocalyx* et *Rosmarinus eriocalyx* sp. (**Nadjaoui H et al., 2022**). Les feuilles fraîches et séchées du romarin ont été utilisées depuis longtemps pour leur arôme caractéristique dans les préparations culinaires ou sous forme d'une tisane, tandis que les extraits du romarin servent couramment d'antioxydant naturel pour augmenter la durée de conservation des aliments périssables. Il est également utilisé dans la phytothérapie sous forme de poudre, d'extrait sec ou d'autres préparations galéniques par voie interne et/ou externe pour le soulagement ou le traitement de nombreuses pathologies, en parfumerie et cosmétique sur la composition des parfums, et dans la production des différentes pommades dermiques (**Boussadia N et al., 2020**).

#### 2.2.2.1. Classification

Selon **Laouici N et al. (2020)**, la classification de *Rosmarinus officinalis* est comme suit :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Embranchement : Magnoliophyta

Sous-embranchement : Magnoliophytina

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Rosmarinus*

Espèce : *officinalis*

#### 2.2.2.2. Distribution géographique

La plante *Rosmarinus officinalis* L. est originaire de la région du Caucase et de l'Est méditerranéen, bien qu'elle ait été introduite dans de nombreuses régions du monde depuis l'antiquité comme une espèce ornementale (e.g., le reste de l'Europe, le Chili et la Chine). Cependant, c'est dans les pays avec un climat méditerranéen où elle est la plus cultivée (Talbi et al., 2022).

#### 2.2.2.3. Domaines d'utilisation

*Rosmarinus officinalis* L. peut être utilisé comme une épice en cuisine et comme conservateur naturel dans les industries alimentaires. Ses huiles sont également utilisées dans l'aromatisation du fromage et permettent une amélioration notable de son goût et de sa texture. De plus, il est largement utilisé dans les préparations cosmétiques comme parfum et comme soin de la peau. Il préserve les cosmétiques de la dégradation et a un grand potentiel d'utilisation topique. Il absorbe bien la lumière UV et est un agent bactéricide et antifongique (Talbi et al., 2022).

#### 2.2.2.4. Pouvoir antioxydant

L'extrait de *Rosmarinus officinalis* est un alternatif naturel aux antioxydants. Les propriétés antioxydantes de l'acide rosmarinique peuvent être mises à profit pour prévenir l'oxydation des aliments. Il peut prévenir l'oxydation des stérols contenus dans l'huile d'olive vierge lors des phases de chauffage, inhiber la peroxydation des lipides et activer les enzymes antioxydantes. Il possède par ailleurs une activité largement supérieure à celle de la vitamine E. Il inhibe aussi la production d'oxyde nitrique (NO) ainsi que d'autres espèces réactives de l'oxygène et de l'azote dans les macrophages, évitant ainsi des dommages importants causés par le stress oxydant ou le vieillissement cellulaire (Yahiaoui H, 2010).

### 3. Matériel et méthodes

#### 3.1. Lieu et période de travail

Notre partie expérimentale a été réalisée au Laboratoire d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive au niveau de la Faculté de Sciences de la Nature et de la Vie, Université Chadli Bendjedid - El-Tarf, pendant une durée de 3 mois (depuis Mars jusqu'à Mai 2023).

#### 3.2. Modèle animal

Notre modèle animal est *Helix aspersa*, nommé également *Cantareus aspersus*, *Cornu aspersum* ou *Criptomphalus aspersus* dans la nomenclature scientifique. C'est un mollusque gastéropode pulmoné terrestre (**Labadi W, 2021**). C'est une sous-espèce circumméditerranéenne ubiquiste dont le polymorphisme se traduit par une variation de la taille, de la coloration, de la forme, de l'épaisseur et de la sculpture de la coquille. La coloration et le système de bandes de la coquille sont d'origine génétique, mais le biotope a peut-être une action secondaire sur leur variation (**Zaafour M, 2014**). Sa position systématique est illustrée dans le Tableau :

**Tableau 2 :** Classification de *Helix aspersa* (**Hamidouche L, 2016 ; Boucenna M, 2010**).

<b>Règne</b>	Animalia
<b>Embranchement</b>	Mollusca
<b>Classe</b>	Gastropoda
<b>Sous-classe</b>	orthogastropoda
<b>Super-ordre</b>	Heterobranchia
<b>Ordre</b>	Stylommatophora
<b>Famille</b>	Helicidae
<b>Genre</b>	<i>Helix</i>
<b>Espèce</b>	<i>aspersa</i>

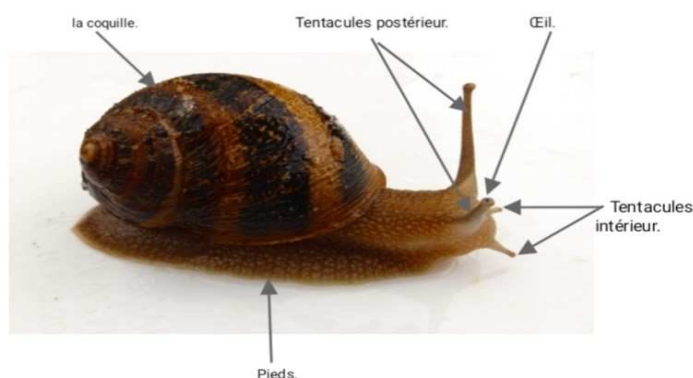


Figure 1 : Anatomie externe de l'escargot *Helix aspersa*.

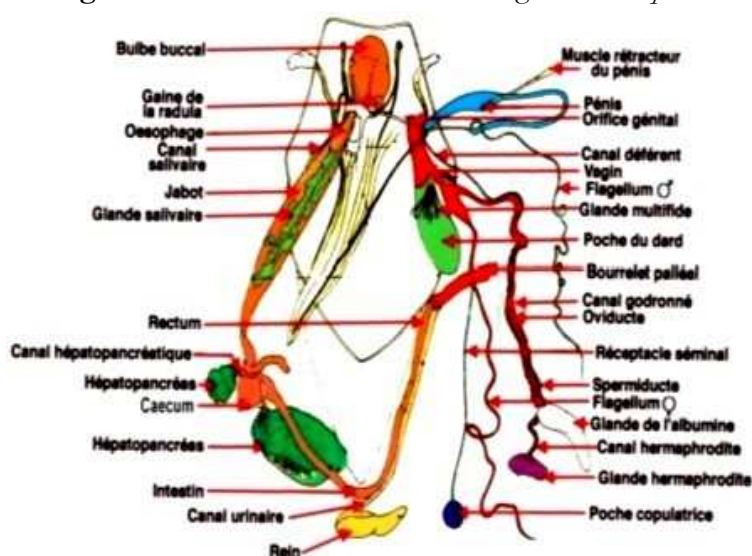


Figure 2 : Anatomie interne de l'escargot *Helix aspersa* (Aziz D et al., 2016).

### 3.3. Collection et adaptation

Les escargots ont été collectés à différents moments, entre Février et Mars 2023, depuis la zone centrale d'El-Tarf. Les escargots ont été mis dans une boîte en plastique transparente et perforée pour garantir le passage d'air, et soumis à des conditions climatiques naturelles (photopériode et humidité du printemps). Nous avons fourni une humidité artificielle, si nécessaire, par un vaporisateur d'eau. Le nettoyage a été effectué quotidiennement avant de fournir la nourriture. Les escargots sont nourris par des plantes variées telle que la salade. La période d'adaptation avant le recours à la dissection est d'environ 20 jours.



**Figure 3 :** Elevage des escargots *Helix aspersa*.

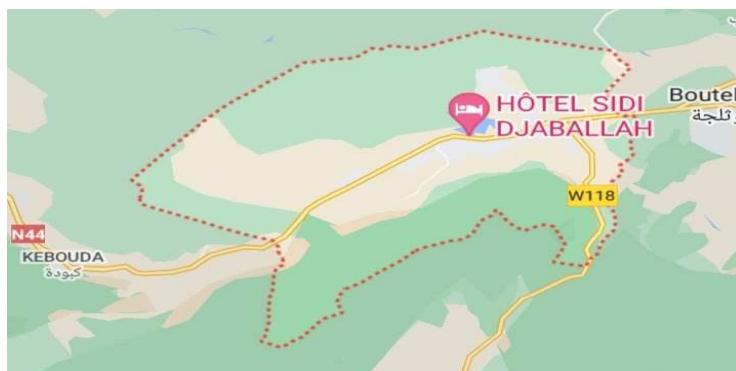
#### 3.4. Plante médicinale : *Rosmarinus officinalis* L.

Le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) est une plante des coteaux arides, garrigues et lieux rocheux de la région méditerranéenne et même un peu plus au sud jusqu'aux confins sahariens. Cette plante pousse jusqu'à 2 m de hauteur, ayant des branches brunes et des feuilles appelées pétioles, de couleur verte vivace et de taille variable sur la même branche, recourbées et aiguës, de forme linéaire ou lancéolée. La face supérieure est verte et la face inférieure est blanchâtre en raison de la présence de nombreux poils dégageant son parfum caractéristique. Les fleurs sont hermaphrodites de couleurs blanches, roses à bleutées, pouvant pousser et se reproduire dans diverses conditions climatiques et pédologiques (Talbi et al., 2022).



**Figure 4 :** *Rosmarinus officinalis* L. récolté et utilisé dans notre étude.

*Rosmarinus officinalis* L. a été récolté de la zone de Lac des Oiseaux, El Tarf, au mois de Février 2023.



**Figure 5 :** Illustration géographique de la zone de Lac des Oiseaux, El Tarf.

### 3.5. Extraction

#### 3.5.1. Préparation de la plante récoltée

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

#### 3.5.2. Protocole d'extraction

L'extraction a été réalisée par hydrodistillation. Dans le ballon de l'hydro-distillateur (Electrothermal, UK), on introduit un certain volume d'eau distillée et 20 g des feuilles séchées de *Rosmarinus officinalis* L. 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.

### 3.6. Solution-mère de trichlorure d'aluminium

La préparation de la solution-mère de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) s'est fait dans un bécher à une concentration de 150  $\mu g$  de  $AlCl_3$ /1,5 ml d'eau distillée. Une agitation magnétique pendant 5 min a permis d'obtenir une solution homogène utilisable.

### 3.7. Protocol expérimental

#### 3.7.1. Dissection

L'anesthésie des escargots s'est faite au froid (-9 à -10 °C) pendant 20 à 30 min. Nous avons mesuré le poids frais de chaque escargot et pris la longueur et la largeur de la coquille à l'aide d'un pied à coulisse. 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 et le poumon, qui sont pesés par une balance de précision.



**Figure 6 :** Le matériel utilisé pour les mesures et la dissection.

### 3.7.2. Groupes expérimentaux

Les escargots acclimatés (pendant 15 à 20 jours) ont été aléatoirement assignés à quatre groupes expérimentaux (4 escargots par groupe) :

- Groupe 1 (Témoin, T) : Les organes concernés sont mis dans 3 ml du tampon phosphate.
- Groupe 2 (Traité à l'extrait de *Rosmarinus officinalis* L., E) : Les organes concernés sont mis dans 3 ml de tampon phosphate contenant 200  $\mu$ l d'extrait de *Rosmarinus officinalis* L. pendant 2 heures.
- Groupe 3 (Traité au trichlorure d'aluminium, A) : Les organes concernés sont mis dans 3 ml de tampon phosphate contenant 100  $\mu$ l de  $AlCl_3$  pendant 1 heure.
- Groupe 4 (Traité à l'extrait de *Rosmarinus officinalis* L. puis au trichlorure d'aluminium, E+A) : Les organes concernés sont mis dans 3 ml de tampon phosphate contenant 200  $\mu$ l d'extrait de *Rosmarinus officinalis* L. pendant 2 heures. Ensuite, 100  $\mu$ l de  $AlCl_3$  ont été ajoutés aux échantillons pendant 1 heure.

Après la durée du traitement, chaque organe a été divisé en deux morceaux. Un morceau a été fixé dans un tube à essai contenant du formaldéhyde (10 %) en préparation aux analyses histologiques. L'autre morceau a été mis dans un mortier et broyé dans du tampon phosphate. L'homogénat a été récupéré dans un tube Eppendorf et centrifugé pendant 10 min à 6000 rpm. Le surnageant obtenu a été conservé au congélateur (-9 à -10 °C) pour le dosage ultérieur du glutathion réduit (GSH).

### 3.8. 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-mercapturique. 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 :

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

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.

Les taux de GSH dans les ganglions sont présentés en  $\mu\text{M}/\text{mg}$  de tissu.

### 3.9. Etude histologique

La préparation des coupes histologiques a été effectuée selon les indications de **Martoja R et MartojaPierson M (1967)**. Elle comporte plusieurs étapes :

#### 3.9.1. Fixation

La fixation doit être réalisée le plus tôt et le plus rapidement possible. Se rappeler que plus un échantillon est petit, plus la pénétration des différents milieux se fera facilement. Pour les échantillons protégés par une membrane ou autre penser à l'entailler, pour favoriser la pénétration des différents milieux. Nous avons utilisé le formaldéhyde (10%) comme fixateur.

#### 3.9.2. Déshydratation

La paraffine n'est pas miscible à l'eau, la pièce anatomique doit être entièrement déshydratée avant l'inclusion dans la paraffine. Le fixateur est alors éliminé. La pièce est rincée à l'eau distillée, puis déshydratée par l'alcool éthylique à des degrés croissants ( $70^\circ$ ,  $90^\circ$  et  $100^\circ$ ). La paraffine n'est pas non plus soluble dans l'alcool utilisé pour la déshydratation. On procède donc à une substitution par le toluène renouvelé 3 fois (durée des bains : 30 min).

#### 3.9.3. Inclusion

La résistance des tissus à la pression de l'instrument coupant n'est pas suffisante et entraîne des détériorations qui rendent inexploitable les observations qui en résultent. C'est pourquoi on pratique une inclusion des tissus préalablement à la coupe. Le médium utilisé va se substituer à l'eau tissulaire pour augmenter la tenue du bloc à couper. La paraffine, qui existe en plusieurs déclinaisons, est le médium le plus connu et le plus utilisé. L'inclusion ne se fera de façon satisfaisante que si la pièce à couper ne contient ni eau ni solvant intermédiaire (alcool). Il existe différentes qualités de paraffines qui se différencient par leur point de fusion. Les échantillons sont inclus séparément, en utilisant les barres de Leuckard. Tant que la paraffine est liquide dans le moule, on oriente l'échantillon en fonction des informations recherchées.

#### 3.9.4. Coupes et coloration

Les blocs d'inclusions sont collés sur un porte-échantillon, la surface à coller est ramollie au moyen d'une lame métallique chauffée modérément à la flamme, puis posée sur le porte-objet sur lequel le bloc adhère

très bien après une légère pression. Les coupes sériées sont réalisées à l'aide d'un microtome automatique (SLEE, Germany). Ces séries de coupes sont reliées entre elles sous forme de ruban, ce qui facilite la reconstitution tridimensionnelle des structures observées, l'épaisseur des coupes est de 4 à 7 microns.

Les rubans de coupes obtenus sont collés sur des lames de verre dégraissées, posées sur une platine chauffante (dont la température est inférieure à la température de fusion de la paraffine). La chaleur permet l'étalement des rubans de coupes. On enduit les lames avec la glycéralbumine, les recouvre d'eau distillée avant de poser les rubans dessus. Les coupes déparaffinées sont colorées à l'hémalum-éosine. On déshydrate la préparation dans des bains d'alcool et on monte au baume de Canada ou à l'Eukitt. Enfin, on passe à l'observation au microscope photonique équipé d'un appareil photographique (Zeiss Primo Star, Germany).

### **3.10. Détermination des paramètres physiques de *Rosmarinus officinalis* L.**

#### **3.10.1. Profil spectral à l'ultraviolet**

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

#### **3.10.2. 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).

#### **3.10.3. Viscosité**

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

### **3.11. Essai DPPH**

Une solution de DPPH de 1000 µl a été ajoutée à 800 µl de tampon phosphate (pH 7,4) dans un tube à essai. Ensuite, 200 µl de solution d'échantillon de test ont été ajoutés et mélangés rapidement. La solution a été maintenue à température ambiante pendant 30 min. L'absorbance de la solution à 517 nm a été enregistrée. Une solution mélangée avec 1200 µl d'éthanol et 800 µl de tampon phosphate (pH 7,4) a été utilisée comme blanc.

Le taux d'inhibition (%) a été obtenu à partir de l'équation suivante :

Ratio d'inhibition (%) =  $(A1 - A2) \times 100/A1$ ,

Où A1 est l'absorbance de l'ajout d'éthanol au lieu de l'échantillon d'essai et A2 est l'absorbance de la solution d'échantillon d'essai (Xiao et al., 2020).

### 3.12. 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 morphométriques et les taux de GSH. 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 et histogrammes sous forme de moyennes  $\pm$  écart-type. Un modèle de régression linéaire a été appliqué sur les données de l'essai DPPH relatif aux différents degrés de dilution de l'extrait de *Rosmarinus officinalis L.*

## 4. Résultats

### 4.1. Paramètres morphométriques et pondéraux

Les Tableaux 3, 4 et 5 et Figures 7, 8 et 9 illustrent les résultats des différents paramètres morphométriques et pondéraux des escargots.

La longueur : Chez les groupes (T) et (E+A), les mesures sont respectivement  $3,60 \pm 0,35$  cm et  $3,82 \pm 0,17$  cm. Chez le groupe (E), nous avons trouvé  $3,77 \pm 0,29$  cm, et ce paramètre diminue chez le groupe (A) à  $3,32 \pm 0,18$  cm (pas de différence significative,  $P \geq 0,05$ ).

La largeur : Chez les groupes (T) et (E), les mesures sont respectivement  $2,57 \pm 0,22$  cm et  $2,52 \pm 0,17$  cm. Chez le groupe A, nous enregistrons  $2,35 \pm 0,23$  cm. Chez le groupe (E+A), la largeur mesure  $3,07 \pm 0,42$  cm. Une différence significative entre les groupes a été obtenue ( $P = 0,019$ ).

Le poids corporel : Chez les groupes (T) et (A), les résultats sont respectivement  $11,37 \pm 2,07$  g et  $11,47 \pm 1,00$  g. Chez le groupe (E), les animaux pèsent  $13,27 \pm 2,40$  g. Cette mesure se situe chez le groupe (E+A) à  $13,98 \pm 1,63$  g (pas de différence significative  $P \geq 0,05$ ).

Le poids de l'hépatopancréas : Chez les groupes (T) et (A), les résultats sont respectivement  $0,77 \pm 0,27$  g et  $0,44 \pm 0,15$  g. Chez le groupe (E), cet organe pèse  $0,80 \pm 0,35$  g. Cette mesure se situe chez le groupe (E+A) à  $0,90 \pm 0,14$  g (pas de différence significative  $P \geq 0,05$ ).

Le poids du poumon : Chez les groupes (T) et (A), les résultats sont respectivement  $0,23 \pm 0,11$  g et  $0,12 \pm 0,03$  g. Chez le groupe (E), cet organe pèse  $0,39 \pm 0,35$  g. Cette mesure se situe chez le groupe (E+A) à  $0,20 \pm 0,06$  g (pas de différence significative  $P \geq 0,05$ ).

**Tableau 3 :** Comparaison des moyennes des variables morphométriques et pondéraux.

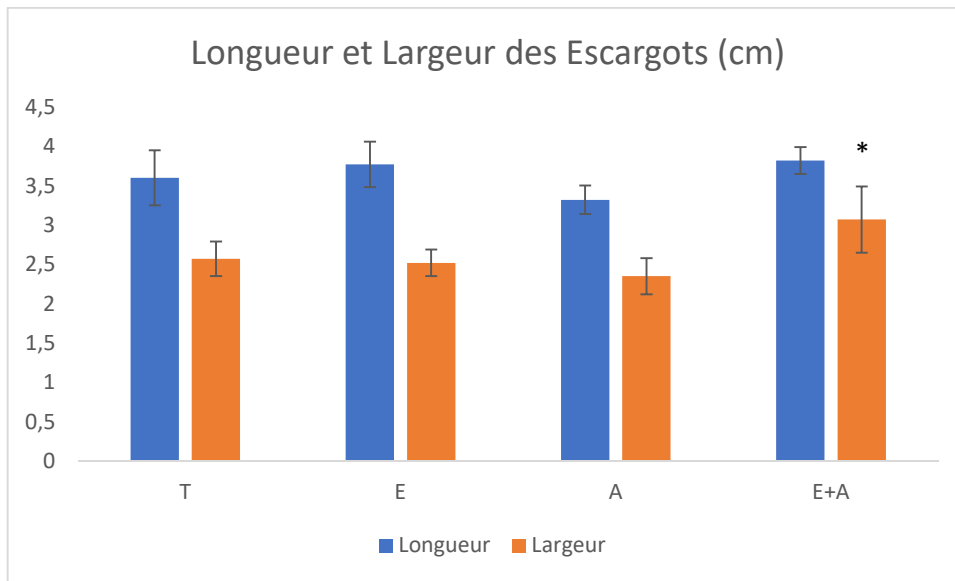
Groupe		Longueur	Largeur	Poids	Hépatopancréas	Poumon
A	Moyenne	3,3250	2,3500	11,4750	,4425	,1225
	Ecart type	,18930	,23805	1,00457	,15819	,03304
	Erreur standard de la moyenne	,09465	,11902	,50229	,07910	,01652
E	Moyenne	3,7750	2,5250	13,2750	,8025	,3950
	Ecart type	,29861	,17078	2,40468	,35650	,35828
	Erreur standard de la moyenne	,14930	,08539	1,20234	,17825	,17914
E+A	Moyenne	3,8250	3,0750	13,9850	,9050	,2025
	Ecart type	,17078	,42720	1,63504	,14754	,06602
	Erreur standard de la moyenne	,08539	,21360	,81752	,07377	,03301
T	Moyenne	3,6000	2,5750	11,3750	,7750	,2375
	Ecart type	,35590	,22174	2,07906	,27538	,11087
	Erreur standard de la moyenne	,17795	,11087	1,03953	,13769	,05543

**Tableau 4 :** Analyse de variance des variables morphométriques et pondéraux.

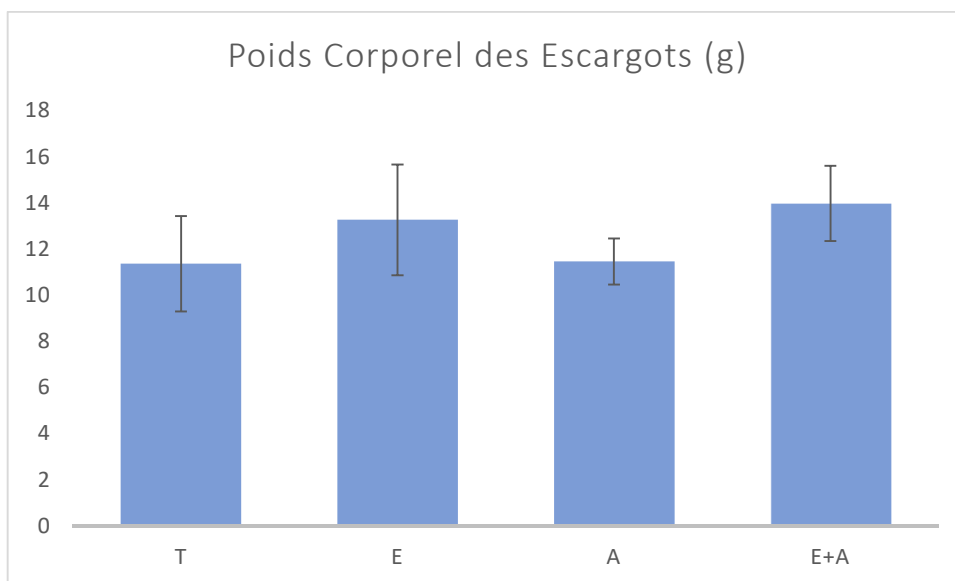
			Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Longueur * Groupe	Inter-groupes (Combinée)		,612	3	,204	2,905	,078
	Intra-groupes		,843	12	,070		
	Total		1,454	15			
Largeur * Groupe	Inter-groupes (Combinée)		1,162	3	,387	4,879	<b>,019</b>
	Intra-groupes		,953	12	,079		
	Total		2,114	15			
Poids * Groupe	Inter-groupes (Combinée)		20,476	3	6,825	1,980	,171
	Intra-groupes		41,363	12	3,447		
	Total		61,839	15			
Hépatopancréas * Groupe	Inter-groupes (Combinée)		,482	3	,161	2,575	,103
	Intra-groupes		,749	12	,062		
	Total		1,231	15			
Poumon * Groupe	Inter-groupes (Combinée)		,157	3	,052	1,432	,282
	Intra-groupes		,438	12	,037		
	Total		,595	15			

**Tableau 5 :** Comparaison multiple (Post-Hoc) de la largeur des escargots.

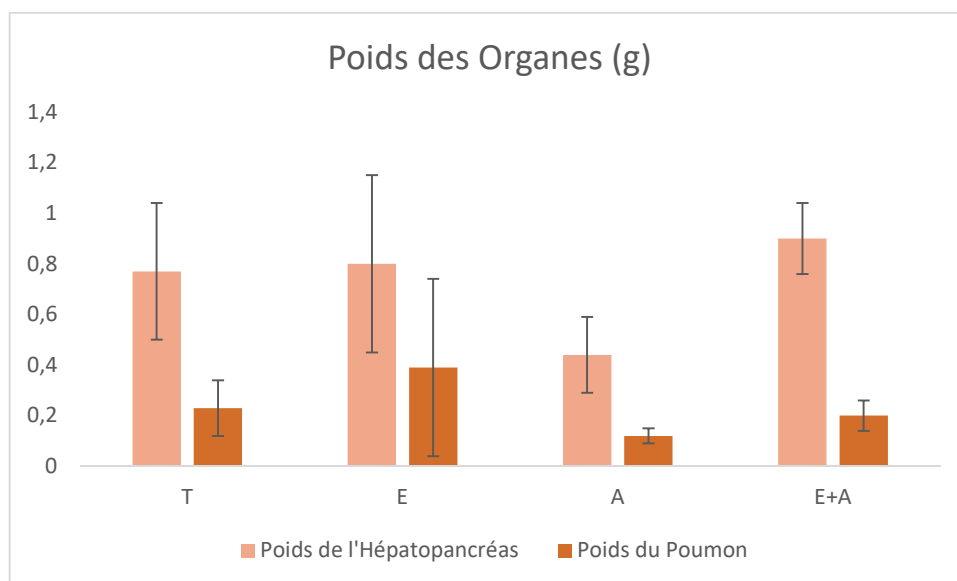
(I) Groupe	(J) Groupe	Différence moyenne (I-J)	Erreur standard	Signification	Intervalle de confiance à 95 %	
					Borne inférieure	Borne supérieure
A	E	-,1750	,19922	,816	-,7665	,4165
	E+A	-,7250*	,19922	<b>,016</b>	-1,3165	-,1335
	T	-,2250	,19922	,679	-,8165	,3665
E	A	,1750	,19922	,816	-,4165	,7665
	E+A	-,5500	,19922	,071	-1,1415	,0415
	T	-,0500	,19922	,994	-,6415	,5415
E+A	A	,7250*	,19922	<b>,016</b>	,1335	1,3165
	E	,5500	,19922	,071	-,0415	1,1415
	T	,5000	,19922	,109	-,0915	1,0915
T	A	,2250	,19922	,679	-,3665	,8165
	E	,0500	,19922	,994	-,5415	,6415
	E+A	-,5000	,19922	,109	-1,0915	,0915



**Figure 7 :** Longueur et largeur des escargots des groupes expérimentaux (\*  $P < 0,05$  par rapport au A).



**Figure 8 :** Poids corporel des escargots des groupes expérimentaux.



**Figure 9 :** Poids des organes des groupes expérimentaux.

#### 4.2. Taux du glutathion réduit (GSH) dans l'hépatopancréas

Les tableaux 6, 7 et 8 et Figure 10 montrent les variations des taux du GSH au niveau de l'hépatopancréas chez les différents groupes expérimentaux. L'application de  $AlCl_3$  mène à une diminution significative de la teneur du GSH ( $P = 0,031$ ) par rapport au groupe (E+A), avec une diminution non significative par rapport au témoin. Chez les groupes (E) et (E+A), une augmentation non significative de la teneur du GSH ( $P \geq 0,05$ ) par rapport au témoin a été enregistrée.

**Tableau 6 :** Comparaison des moyennes du taux de glutathion réduit dans l'hépatopancréas.

Groupes	Moyenne	N	Ecart type
A	,200750	4	,0611593
E	,342650	4	,1174860
E+A	,413225	4	,0202739
T	,268425	4	,1285593

**Tableau 7 :** Analyse de variance des taux du glutathion réduit dans l'hépatopancréas.

		Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
GSH * Groupes	Inter-groupes (Combinée)	,101	3	,034	3,918	,037
	Intra-groupes	,103	12	,009		
	Total	,205	15			

**Tableau 8 :** comparaison multiples (Post-Hoc) des taux du glutathion réduit dans l'hépatopancréas.

(I) Groupes	(J) Groupes	Différence moyenne (I-J)	Erreur standard	Signification	Intervalle de confiance à 95 %	
					Borne inférieure	Borne supérieure
A	E	-,141900	,0656524	,189	-,336816	,053016
	E+A	-,212475*	,0656524	,031	-,407391	-,017559
	T	-,067675	,0656524	,735	-,262591	,127241
E	A	,141900	,0656524	,189	-,053016	,336816
	E+A	-,070575	,0656524	,710	-,265491	,124341
	T	,074225	,0656524	,679	-,120691	,269141
E+A	A	,212475*	,0656524	,031	,017559	,407391
	E	,070575	,0656524	,710	-,124341	,265491
	T	,144800	,0656524	,177	-,050116	,339716
T	A	,067675	,0656524	,735	-,127241	,262591
	E	-,074225	,0656524	,679	-,269141	,120691
	E+A	-,144800	,0656524	,177	-,339716	,050116

### 4.3. Taux du glutathion réduit (GSH) dans le poumon

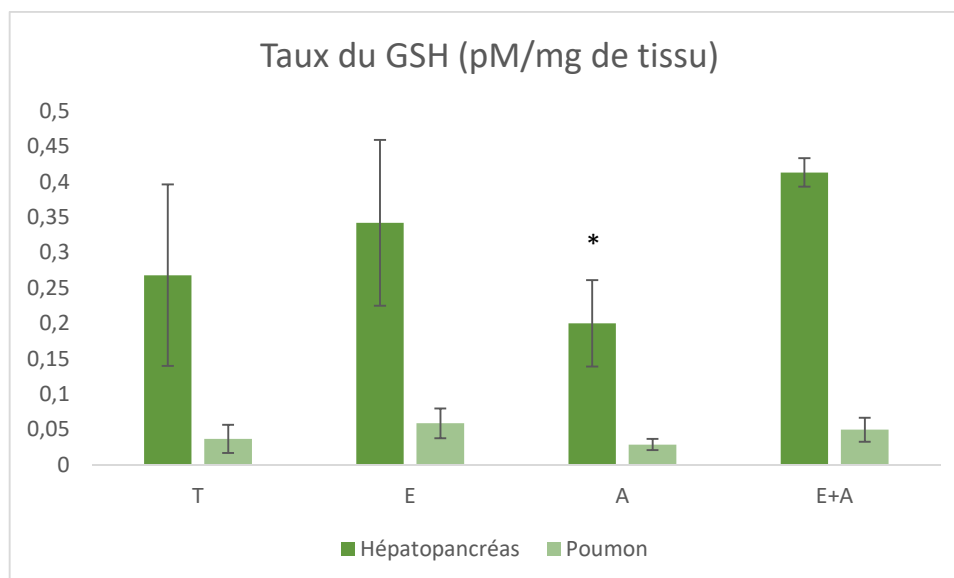
Les tableaux 9 et 10 et Figure 10 montrent les variations des taux du GSH au niveau du poumon chez les différents groupes expérimentaux. L'application de AlCl<sub>3</sub> mène à une diminution non significative de la teneur du GSH ( $P \geq 0,05$ ) par rapport aux autres groupes. Chez les groupes (E) et (E+A), une augmentation non significative de la teneur du GSH ( $P \geq 0,05$ ) par rapport au témoin a été enregistrée.

**Tableau 9 :** Comparaison des moyennes du taux de glutathion réduit dans le poumon.

Groupes	Moyenne	N	Ecart type
A	,029050	4	,0082496
E	,059600	4	,0212993
E+A	,050150	4	,0176681
T	,037775	4	,0203264

**Tableau 10 :** Analyse de variance des taux du glutathion réduit dans le poumon.

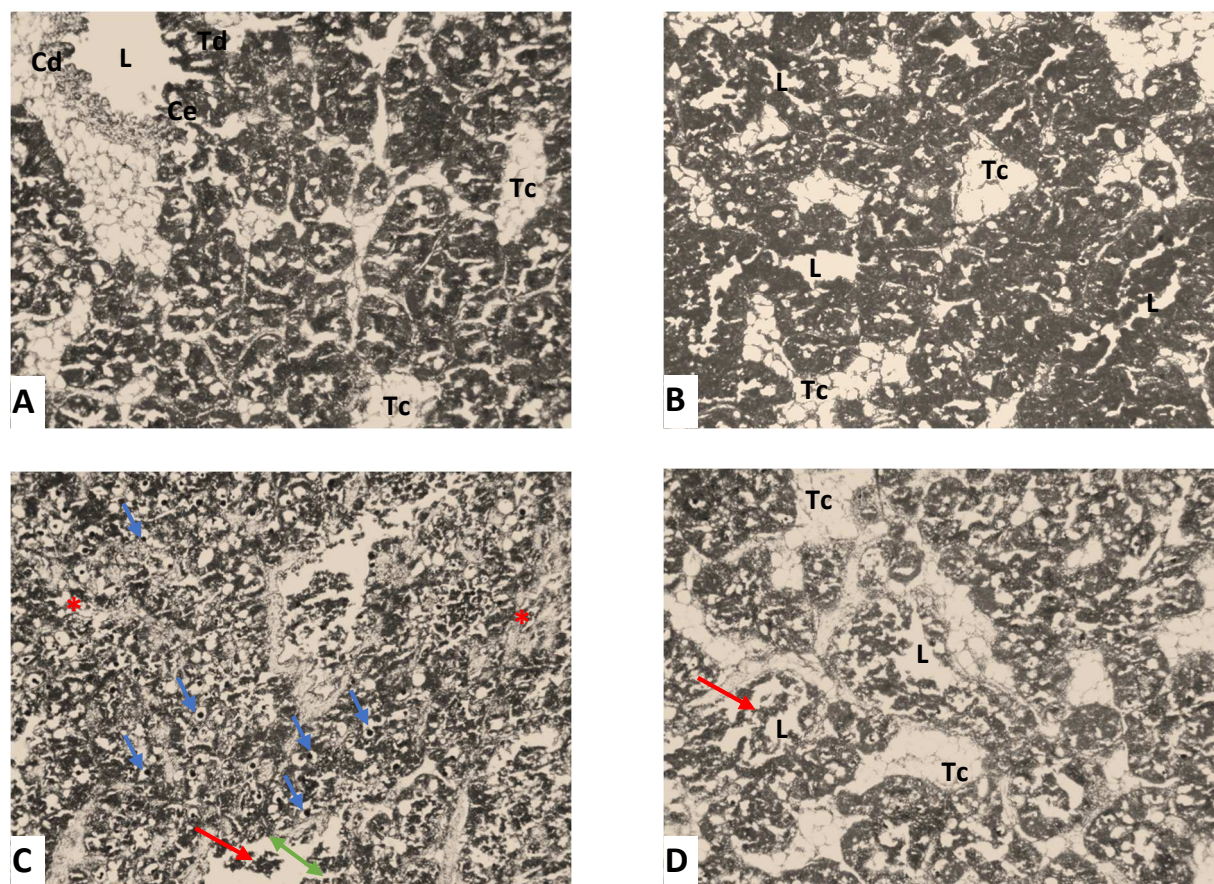
		Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
GSH * Groupes	Inter-groupes (Combinée)	,002	3	,001	2,324	,127
	Intra-groupes	,004	12	,000		
	Total	,006	15			



**Figure 10 :** Taux du glutathion réduit dans les organes des groupes expérimentaux (\*  $P < 0,05$  par rapport au E+A).

#### 4.4. Examen histopathologique de l'hépatopancréas

La figure 11 (A) montre une coupe histologique de l'hépatopancréas d'un escargot témoin. Le tissu hépatopancréatique est de morphologie normale présentant des tubules digestifs traversés par du tissu conjonctif. Chaque tubule est formé par des cellules digestives et des cellules excrétrices entourant un lumen bien différencié. Le tissu hépatopancréatique des escargots traités à l'Aluminium présente des lésions élémentaires avec dysplasie cellulaire et formation d'un noyau pycnotique. Par ailleurs, une congestion tubulaire avec une présence d'un considérable infiltrat cellulaire ont été signalées (Fig. 11, C). Le parenchyme hépatopancréatique des escargots traités à l'extrait de *Rosmarinus officinalis* L. est de morphologie régulière, semblable à celui du témoin (Fig. 11, B). Le tissu hépatopancréatique des escargots du groupe E+A présente des structures tissulaires conservées avec une légère infiltration cellulaire sans dilatation du contour tubulaire (Fig. 11, D).

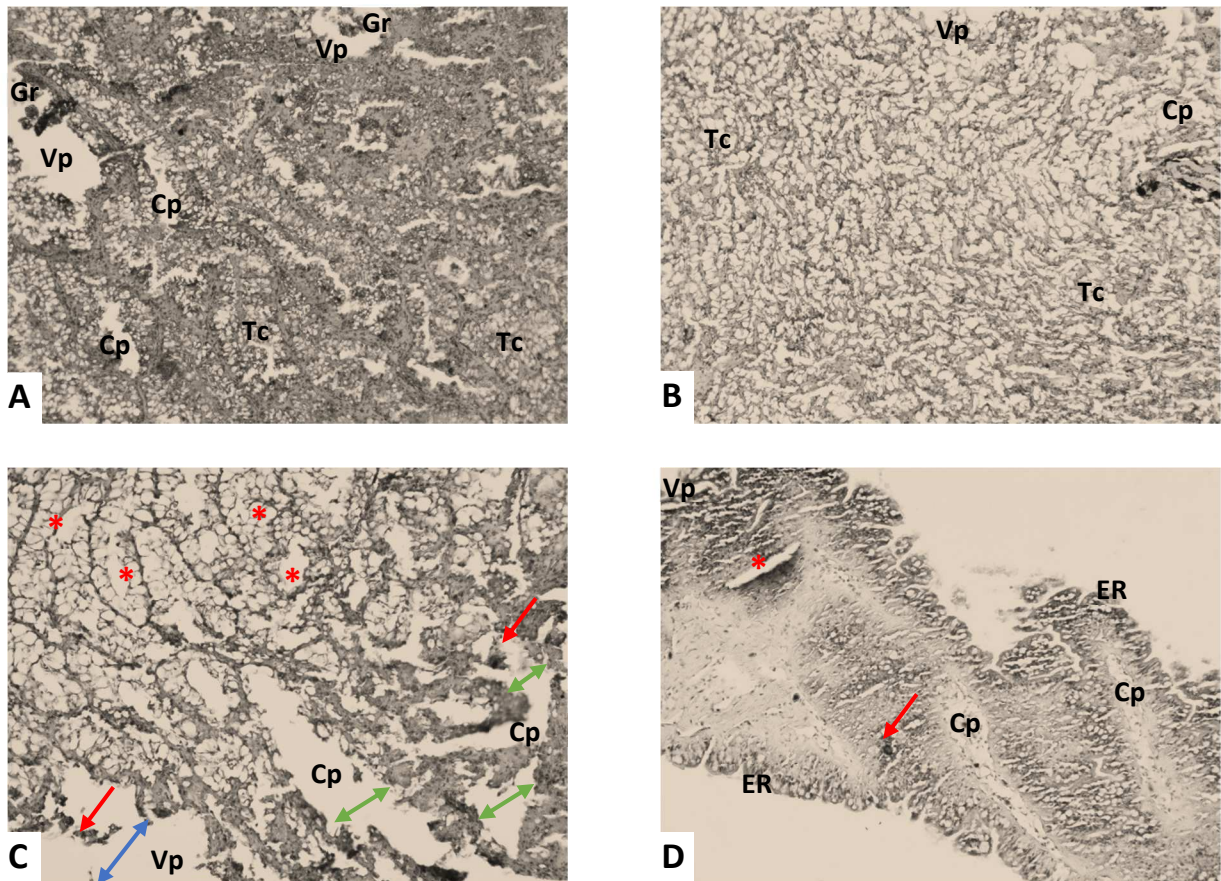


**Figure 11** : Observations microscopiques des coupes histologiques des glandes digestives (hépatopancréas) des escargots *Helix aspersa* appartenant aux différents groupes témoins et traités (G×100). A : groupe T ; B : groupe E ; C : groupe A ; D : groupe E+A. Cd : Cellule digestive. Ce : Cellule excrétrice. L : Lumen. Td : Tubule digestif. Tc : Tissu conjonctif. (Flèche verte) : Dilatation du lumen. (Flèche rouge) : Infiltration cellulaire dans le lumen. (Etoile rouge) : Dégénérescence du tissu conjonctif. (Flèche bleue) : Noyau pycnotique.

#### 4.5. Examen histopathologique du poumon

La figure 12 (A) montre une coupe histologique des poumons d'un escargot témoin. Le parenchyme pulmonaire est de morphologie normale présentant un épithélium respiratoire traversé par des veines et des cavités pulmonaires. Un tissu conjonctif bien différencié tapisse le tissu respiratoire. L'histologie pulmonaire des escargots traités à l'aluminium présente une atrophie tissulaire avec une dilatation remarquable des cavités pulmonaires. Par ailleurs, ce traitement provoque une dilatation et une congestion vasculaire avec infiltration des cellules inflammatoires au niveau de l'interstitium (Fig. 12, C). Le parenchyme pulmonaire des rats traités à l'extrait de *Rosmarinus officinalis* L. est de morphologie régulière, semblable à celui du témoin, avec une structure

d'aspect normal et des cavités pulmonaires bien différenciées (Fig. 12, B). Le tissu pulmonaire des escargots du groupe E+A présente une morphologie d'ensemble conservée avec une légère dégénérescence du tissu conjonctif et la présence d'un minime infiltrat inflammatoire comparativement au tissu respiratoire des escargots traités à l'Aluminium (Fig. 12, D).

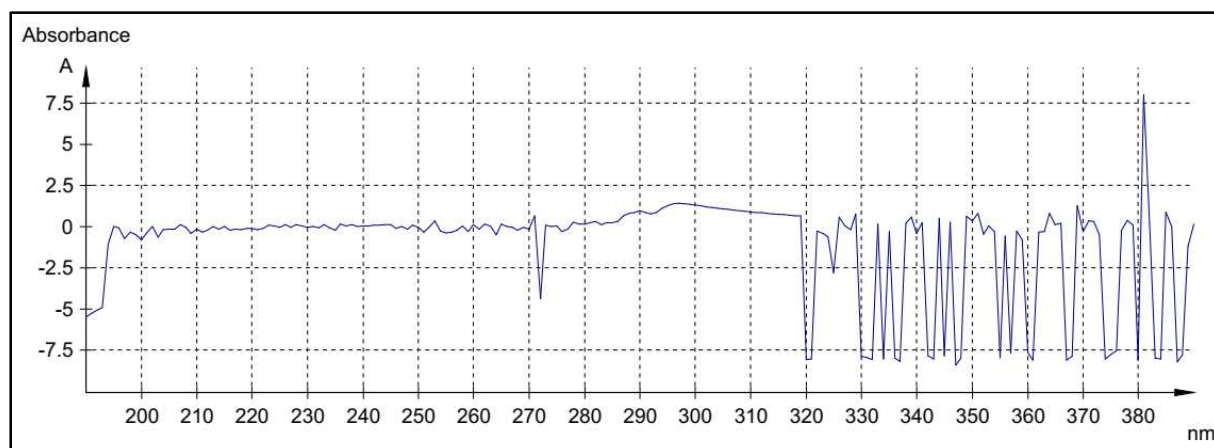


**Figure 12 :** Observations microscopiques des coupes histologiques des poumons des escargots *Helix aspersa* appartenant aux différents groupes témoins et traités (G×100). A : groupe T ; B : groupe E ; C : groupe A ; D : groupe E+A. ER : Epithélium respiratoire. Vp : Veine pulmonaire. Gr : Globule rouge. Cp : Cavité pulmonaire. Tc : Tissu conjonctif. (Flèche rouge) : Infiltration cellulaire. (Flèche verte) : Dilatation des cavités pulmonaires. (Flèche bleue) : Dilatation des veines pulmonaires. (Etoile rouge) : Dégénérescence du tissu conjonctif.

#### 4.6. Paramètres physiques de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis L.*

##### 4.6.1. Profil spectral à l'ultraviolet

Le balayage spectral UV de l'extrait de *Rosmarinus officinalis L.* permet d'élucider la présence de deux plages d'absorption : la première est située entre 236 nm et 245 nm, et la deuxième est située entre 278 nm et 319 nm. Nous avons remarqué aussi un pic très important à 381 nm (Fig. 13).



**Figure 13 :** Profil spectral UV de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis L.*

##### 4.6.2. Indice de réfraction et viscosité de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis L.*

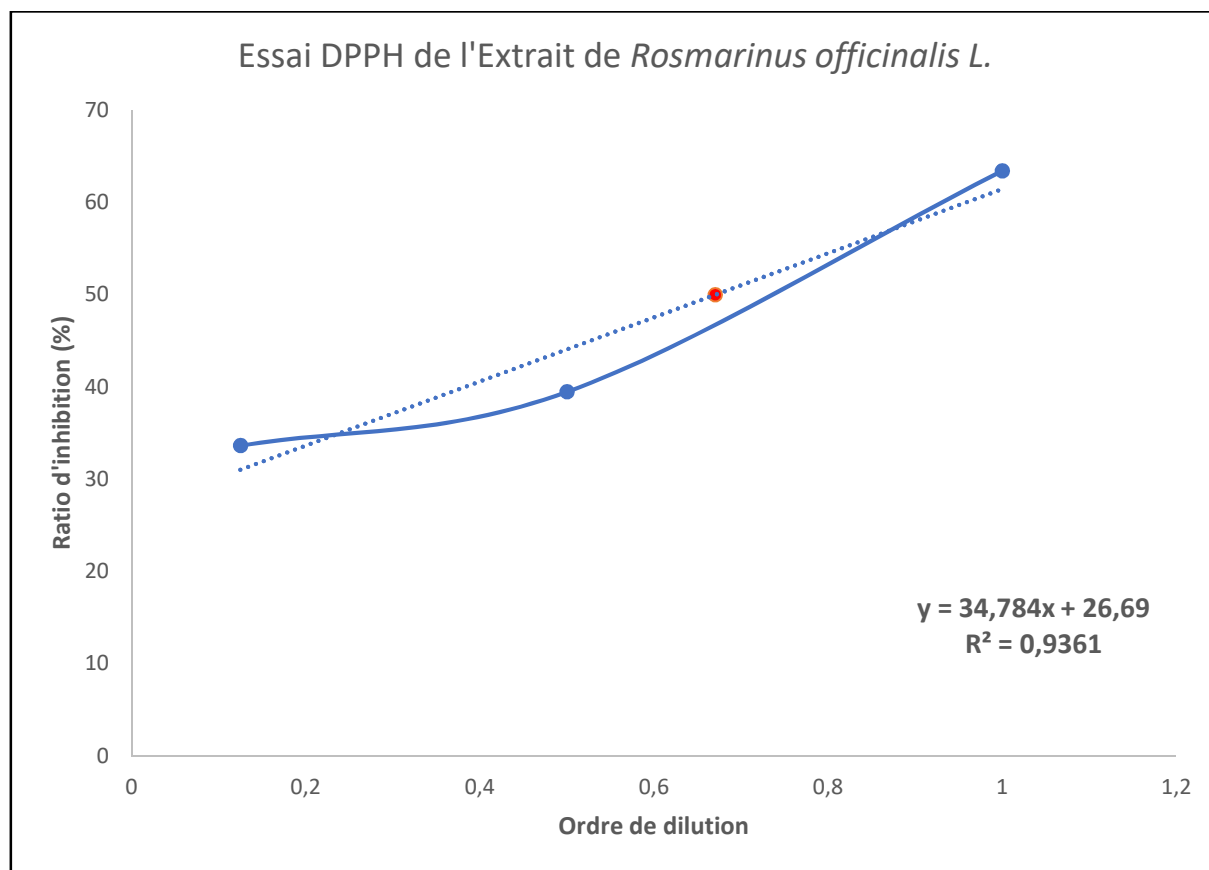
Le Tableau 11 montre les mesures relatives à la réfraction et la viscosité de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis L.*

**Tableau 11 :** Indice de réfraction et viscosité de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis L.*

Indice de réfraction (à 21,7°C)	1,3316 nD
Viscosité (à 25,4°C)	0,1 Pa.s

#### 4.7. Pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis L.*

La Figure 14 illustre le ratio d'inhibition de DPPH par l'extrait de *Rosmarinus officinalis L.* en fonction de l'ordre de dilution. La capacité antioxydante a été déterminée à partir d'une équation de régression linéaire ( $y = 34,784x + 26,69$  ;  $R^2 = 0,9361$ ). Il semble que le ratio d'inhibition s'accroît avec l'augmentation de l'ordre de dilution. Ceci a permis de démontrer que la concentration inhibitrice à 50% (IC50) se situe à 0,6701 (volume de méthanol (ml)/1 ml d'extrait à IC50 = 1,4922).



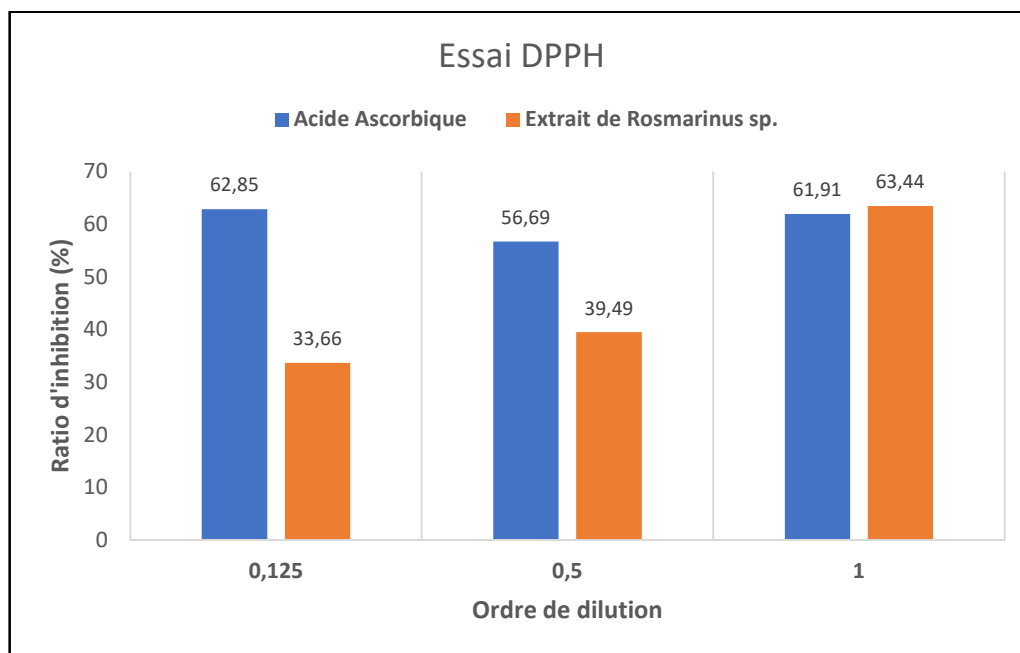
**Figure 14 :** Modèle de régression linéaire du ratio d'inhibition de DPPH par l'extrait de *Rosmarinus officinalis* L. en fonction de l'ordre de dilution.

La Figure 15 montre une comparaison entre le ratio d'inhibition de DPPH par l'extrait de *Rosmarinus officinalis* L. et le ratio d'inhibition de DPPH par un antioxydant standard, l'acide ascorbique.

A l'ordre de dilution 0,125 : Le pouvoir antioxydant de l'extrait (33,66%) est inférieur à celui de l'acide ascorbique (62,85%).

A l'ordre de dilution 0,5 : Le pouvoir antioxydant de l'extrait (39,49%) est inférieur à celui de l'acide ascorbique (56,69%).

A l'ordre de dilution 1 : Le pouvoir antioxydant de l'extrait (63,44%) est légèrement supérieur à celui de l'acide ascorbique (61,91%).



**Figure 15 :** Ratio d'inhibition de DPPH par l'acide ascorbique et l'extrait de *Rosmarinus officinalis* L. à trois ordres de dilution.

## 5. Discussion

Nous avons étudié les effets toxiques d'un élément métallique, l'aluminium, sur l'hépatopancréas et le poumon chez un modèle animal, le gastéropode *Helix aspersa*, et la capacité thérapeutique de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis L.* contre cette toxicité. Les facteurs étudiés sont les paramètres morphométriques et pondéraux, le dosage du glutathion réduit (GSH), l'indice de réfraction, le profil spectral UV de *Rosmarinus officinalis L.*, l'activité antioxydante de *Rosmarinus officinalis L.* et la structure microscopique des organes après le traitement.

L'aluminium (Al), troisième élément constitutif de l'écorce terrestre se retrouve naturellement présent d'une manière abondante dans l'environnement. Les actions toxiques induisent un stress oxydatif, un dysfonctionnement enzymatique et un dérangement métabolique (**El Daouk S, 2022**).

Le glutathion (8-glutamyl-cystéinyl-glycine) est un tripeptide constitué d'acide glutamique, cystéine et de glycine. Le GSH est requis pour l'activité de plusieurs enzymes, dont il participe avec la glutathion réductase à l'établissement de ponts disulfures dans de nombreuses protéines et dans des hormones polypeptidiques et prend part au métabolisme des xénobiotiques (**Guedri K, 2009 ; Guedri K, 2010**). Dans notre résultat, on remarque une diminution significative de la teneur en GSH dans l'hépatopancréas des escargots traités par l'aluminium. On peut dire que l'aluminium a une action toxique sur l'activité antioxydant du glutathion. **Haroun K et al. (2011)** ont montré l'effet de l'aluminium métallique sur la concentration de GSH dans le plasma et la fraction cytosolique après avoir mélangé le sang total avec une certaine concentration de sulfate d'aluminium. Au fur et à mesure que le temps passait de 0 minute d'intervalle à 150 minutes, les auteurs ont constaté que le niveau normal de GSH dans le plasma diminuait avec le temps, alors que les mélanges de plasma des témoins montraient peu de variation du statut thiol à chaque intervalle de temps.

Le profil spectral UV de *Rosmarinus officinalis L.* est caractérisé par deux plages de forte absorbance. On peut dire qu'elles représentent des molécules supposées être des flavonoïdes, alors que le pic d'absorbance à 381 nm représente la molécule d'aniline.

Pour l'activité antioxydante de l'extrait de *Rosmarinus officinalis L.*, on a obtenu un ratio d'inhibition de 63,44%. Cela veut dire que notre extrait a une activité antioxydante importante. Selon **Yahiaoui H (2010)**, l'extrait de *Rosmarinus officinalis L.* est un alternatif naturel aux antioxydants. Les résultats de **Athamena et al. (2009)** montrent que l'activité antiradicalaire des extraits du romarin était plus importante (96,18%). De plus, **Ezziane I et al. (2019)** montrent que l'utilisation du *Rosmarinus officinalis L.* ou de son extrait donne une bonne activité antioxydante dans la capacité de piégeage

des radicaux libres, et dans la prévention de l'infection microbienne. **Herizi C *et al.* (2022)** montre que le romarin possède des activités biologiques très importantes en se basant sur des tests d'activité antioxydante et antibactérienne.

La vitamine C ou acide ascorbique est le plus important antioxydant hydrosoluble (**Justine O *et al.*, 2005**). La comparaison entre l'activité antioxydante de notre extrait et celle de l'acide ascorbique indique qu'elles sont similaires en termes d'efficacité à l'ordre de dilution 1. Il semble que l'activité anti-radicalaire est fortement dépendante aux concentrations des extraits ; plus l'extrait est concentré, plus le pourcentage d'activité est élevé. Par ailleurs, **Lakehal S (2016)** suggère que les huiles essentielles testées sont dotées d'un pouvoir antioxydant modéré par rapport aux antioxydants standards utilisés (vitamine C, BHT, BHA).

Une étude microscopique des tissus hépatiques chez des souris intoxiquées par l' $\text{AlCl}_3$  à une dose de 100 mg/kg, et des souris intoxiquées mais traitées par la curcumine durant 11 semaines avec deux doses (45 et 60 mg/kg), a indiqué une nécrose cellulaire avec infiltrat inflammatoire monocytaire chez les animaux sans curcumine. Par contre, des hépatocytes ballonnés sans nécrose ni infiltrat inflammatoire ont été observés chez les animaux intoxiqués et traités à la curcumine à 60 mg/kg (**Zerrouki K, 2012**).

**Mestaghanmi H *et al.* (2013)** ont montré que la structure histologique du poumon du fœtus témoin rappelle celle de la mère témoin. En effet, les alvéoles sont normales et présentent une paroi régulière avec des structures cellulaires bien préservées. Cette structure histologique change avec le traitement par  $\text{AlCl}_3$ . Au fur et à mesure que la dose d' $\text{AlCl}_3$  augmente, la structure pulmonaire change, si bien que pour la dose de 200 mg  $\text{AlCl}_3$ /kg/jour, on observe une abondance de fibres conjonctives au niveau des parois alvéolaires. Les structures cellulaires deviennent non reconnaissables puisqu'il y a nécrose des cellules. Donc le traitement par le trichlorure d'aluminium entraîne des modifications histologiques majeures au niveau des poumons.

## Conclusion et Perspectives

Dans le cadre de ce mémoire, notre travail a pour objectif d'étudier les effets protecteurs d'une plante médicinale, *Rosmarinus officinalis L.*, et les dommages causés par l'aluminium chez un modèle animal, le gastéropode *Helix aspersa*.

D'après les résultats obtenus, nous concluons que la plante médicinale *Rosmarinus officinalis L.* exerce un effet antioxydant important, lui permettant d'être utilisée dans la thérapie médicale et pharmaceutique. L'extrait de cette plante montre des plages d'absorbance importantes, dues aux molécules bioactives qu'il contient. Une diminution significative du taux de GSH dans l'hépatopancréas a été trouvée chez le groupe exposé à  $AlCl_3$ . L'aluminium cause de nombreux dommages structuraux dans les organes testés.

A l'issue de ce travail, nous mettons quelques perspectives :

- ✓ Faire un test de toxicité de la plante pour assurer qu'elle ne contient pas de substances toxiques lorsqu'elles sont utilisées dans la thérapie.
- ✓ Réaliser des analyses plus poussées sur les huiles essentielles en utilisant d'autres techniques plus performantes telles que la chromatographie.
- ✓ Tester les effets toxiques de l'aluminium à long terme sur tous les organes.

## Références bibliographiques

- Abdelhak F (2008) Etude Microstructurale Des Alliages Aluminium-Fer. Mémoire de magistère, Université Badji Mokhtar - Annaba,
- Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments ( afssa) (2000) Evaluation des risques sanitaires liés à l'exposition de la population française à l'aluminium - Eaux, aliments, produits de santé, 2.
- Ainseri L, Hamidouche L ( 2016) Contribution à l'étude d'accumulation de métaux lourds chez des individus adultes appartenant à l'espèce *Helix aspersa* (Gastropoda : Helicidae) dans la région de Béjaia. mémoire de master, Université A. MIRA - Bejaia, 35.
- Akaba I (2020) Aluminium et ses alliages, cas de l'entreprise SNVI Rouiba. Mémoire de master, Université Badji Mokhtar - Annaba, 60.
- Arsalane L, Kamouni Y, Yahyaoui H, Bennouar N, Berraha M, Zouhair S, El bouamri M (2014) Profil actuel de résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* uropathogènes et conséquences thérapeutiques. *Progrès en urologie*, 4(16), p. 1058-1062.
- Atrous L, Sahbi O (2020) L'extraction des composés actifs d'une plante médicinale . mémoire de master, Université Larbi Ben M'hidi (Oum El Bouaghi, 66.
- Azizi D, Chergui M (2016) effet du carbofuran sur le système enzymatique des gastéropodes ( *Helix aspersa*). mémoire de master, Université de Larbi Tébessi, Tébessa .
- Bachene L, Benattia F (2020) Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne du *Rosmarinus officinalis* L. Mémoire de Master, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimy - B.B.A -, 31.
- Belghit H ( 2020) Etude de l'influence des traitements thermique et thermomécaniques sur les propriétés des alliages de la série 6000 contenant différentes teneurs des éléments d'additions. Thèse de doctorat , Université Larbi Ben M'hidi d'oum El Bouaghi, 106p.
- Benhamimid H, Boudaoud C, Boussekine R , Benhamiche H, Bouziane M., Kheroufi A., Ksier D, Makhoulouf F, Mansouri S, Mekaoussi I, Meradji M, Messiouid Y, Moali M, Mouzai A, Sahli, K., Sayah T.M, Agli A (2022) Impact de l'aluminium sur la santé humaine. *Algerian Journal of Nutrition and Food Sciences*, 2(1), 1–16.

Benikhlef A (2014) comparaisant entre les huiles essentielles et leurs effets antibactériens sur *Rosmarinus officinalis* de la région de Béchar et Ouargla. Mémoire de master, Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen, 30.

BenkherbaChe A, Zouwyna R (2021) *Punica granatum* L. un arbre historique, évolutions thérapeutique récentes et activités biologiques. Mémoire de Master Académique, Université Mohamed Boudiaf-M'sila, 44.

Berthomier M (2019) Etude de la lixiviation de l'aluminium de matériaux cimentaires à base de CEM III utilisés dans les canalisations d'eau potable: approche expérimentale et numérique. Thèse de doctorat, INSA de Toulouse, 295.

Boucenna M (2010) Evaluation de la toxicité des poussières métalliques rejetées par les aciéries 1 et 2 du complexe sidérurgique d'EL-Hadjar sur un modèle bioaccumulation *Helix aspersa*. Mémoire de magistère, Université Badji Mokhtar - Annaba, 60.

Boucenna M (2010) Évaluation de la toxicité des poussières métalliques rejetées par les aciéries 1 et 2 du complexe sidérurgique d'EL-Hadjar sur un modèle bioaccumulation *Helix aspersa*. Mémoire de magistère, Université Badji Mokhtar - Annaba, 60.

Bouden I, Karaouet S (2022) Diversité des plantes médicinales dans les marchés de la wilaya de Mila: Intérêt économique et thérapeutique. Mémoire de master, university center of abdalhafid boussouf-MILA, 59.

Boudra S, Chaalal S (2021) L'effet de la phytothérapie sur le système immunitaire. Mémoire de Master, Université 8 mai 1945 Guelma, 54.

Boussaidia N, Bouzerdou Y (2020) Effet antioxydant et hépatoprotecteur de *Rosmarinus officinalis* (revue systématique), Mémoire de Master Académique Université de Mohammed Seddik BenYahia – Jijel, 48.

Brahimi M (2017) Etude comparative des procédés de traitement des eaux chargées en métaux lourds. Mémoire de master, Génie de l'Environnement, Alger, École Nationale Polytechnique, 42.

Dar-odeh N, Babkair H, Abu-hammad S, Dar-odeh N, Babkair H, Abu-hammad S, Sary B, Abdalla A, Osama A (2020) COVID-19: present and future challenges for dental practice. *International journal of environmental research and public health*, 17(09), 3151.

Denai A, Kraimia C, Guesmia M (2021) Revue Bibliographique Contribue À La Connaissance De La Toxicité De Quelques Dérivés Des Métaux Lourds Sur Les Rats Et Les Lapins. Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi.

El daouk, S (2022) L'exposition à l'aluminium dans la population Libanaise et analyse des déterminants notamment alimentaires. Thèse de doctorat, Nantes Université, 148.

Guedri k (2010) Étude de l'effet de la glisodine sur les réponses de détoxifications enzymatique au cours d'un stress oxydatif cancérigène induit par la azoxymethane chez le rat wistar. Mémoire de magistère, Université Badji Mokhtar - Annaba, 38.

Haroon K, Muhammad F, Barkat A, Naseem U, Muhammad M, Arshad F (2013) Metabolic changes of glutathione in human T and B lymphocytes induced by organo-aluminum complex. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 7(19), 1194-1204.

Houriya M, Souad EL A, Michel D, Rachid S (2002) Effects of aluminum chloride on some essential elements in pregnant rats and their offspring. Actes Inst.Agron , 22(4), 227-234.

Imed H (2015) Investigation Des Mécanismes De Toxicité De L'aluminium Sur Les Propriétés Fonctionnelles et Structurelles De L'appareille Photos Synthétique. Thèse de doctorat, Université Du Québec, 183.

Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS) (2021) Aluminium et ses composés minéraux. Base de données, fiche toxicologique, 17.

Julien S (2014) L'aluminium et son potentiel toxique. Thèse de doctorat, Faculté de pharmacie, Université de Limoges, 140.

Justine O, Carole P (2005) Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. thèse de doctorat.

K. Guler (1949) L'aluminium et ses alliages Fabrication - Emploi, [https://doc.rero.ch/record/23877/files/BCV\\_N\\_112\\_066\\_1949\\_061.pdf](https://doc.rero.ch/record/23877/files/BCV_N_112_066_1949_061.pdf), 61.

Kahluola, K (2016) Effets d'un traitement antioxydant sur l'intoxication chronique à l'Aluminium Étude expérimentale chez la souris. Thèse de doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem,130.

Kerhar J, Adam J (1964) Plantes médicinales et toxiques des Peul et des Toucouleur du Sénégal. Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée, 11(10), 384-444.

Khirani M, Lamlouma M (2022) Etude de stratégies d'évaluation des effets thérapeutiques des plantes médicinales in vitro et in vivo. Mémoire de master académique, Université Mohamed Boudiaf-M'Sila, 41.

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

Laouici N (2020) Activité antimicrobienne et composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait brut de l'espèce *Rosmarinus officinalis* L. Mémoire de Master Académique, Université de Jijel, 42.

Lasselat M, Laouar S, Makrof W, Bouallam, I (2022) Etude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des maladies ostéoarticulaires dans la région de Boussaâda. Mémoire de Master Académique, Université Mohamed Boudiaf-M'Sila, 54.

Latif A, Maâz I (2020) L'effet de la vitesse de refroidissement sur les propriétés mécaniques et électrochimiques d'un alliage d'aluminium. Mémoire de Master, Université Mohamed Khider de Biskra, 56.

Lazizi H (2013) Influence de la variation de la température de revenu sur l'évolution des caractéristiques mécaniques et structurales de l'alliage Al-4%Cu trempé dans un fluide à 70% H<sub>2</sub>O et 30% d'huile soluble. mémoire de master académique, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 104.

Mailloux R, Harper M (2011) Uncoupling proteins and the control of mitochondrial reactive oxygen species production. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(6), p 1106-1115.

Meghsel N, Chikioua A (2012) Extraction caractérisation, et évaluation de L'activité biologique des flavonoïdes de *Rosmarinus officinalis* L. Mémoire de Master, Université de Médéa, 85.

Mehrdad R R, Mehravar R R ,Sohrab K, Roghayeh J A, Marzieh P, Ali A, Moghadamnia (2022) Aluminum Poisoning with Emphasis on Its Mechanism and Treatment of Intoxication. *Hindawi*, 13.

Nadjaoui H, Amrani N, Mahfoudi A (2020) Contribution à l'étude ethnobotanique et caractérisation phytochimique de deux plantes médicinales (*Rosmarinus officinalis* L. et *Cotula cinerea*), Mémoire de Master, Université Ahmed Draïa-Adrar, 36.

Nouiri N, Bouterfif S, (2020) Etude bibliographique de l'effet larvicide de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* à l'égard de *Culex pipiens*: Métabolites. Mémoire de Master, Université Larbi tebessi tebessa, 66.

Ouedraogo S, Yoda J, Traore T, Kadiatou T, Mathieu N, Bavouma C, Sombiehermine Z, Diawara J, Yameogo, Abdoulye D, Lazare B, KiniSylvain (2021) production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*,15(2), p 750-772.

Rahimzadeh M, Kazemi S, Roghayeh J, Marzieh P, Ali Akbar M (2022) Aluminum poisoning with emphasis on its mechanism and treatment of intoxication. *Emergency medicine international*, 13.

Ryan J, Mailloux J L, Vasu D. Appanna( 2011 ) Hepatic response to aluminum toxicity: Dyslipidemia and liver diseases. Elsevier Inc, All rights reserved, 2231 – 2238.

Salah L (2016) Extractions et caractérisation des composés secondaires de deux plantes : Armoise blanche ( *Artemisia herba-alba* Asso) et Romarin ( *Rosmarinus officinalis* L) de la région de Djelfa effets thérapeutiques et biopesticides. Mémoire de magistère, Université Blida 1, 98.

Saouli S, Abdennebi, B (2020) Contribution à l'étude des caractéristiques phytochimiques de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis* L. Mémoire de Master, Université Mohamed Khider de Biskra, 26.

Sirven J (2006) Détection de métaux lourds dans les sols par spectroscopie d'émission sur plasma induit par laser (LIBS). Thèse de doctorat, Université Sciences et Technologies-Bordeaux I, 250.

Slimani A (2012) Élimination des métaux lourds par complexation–ultrafiltration: Étude expérimentale de l'ultrafiltration. Mémoire de Magister, Université Mohamed Khider-Biskra, 121.

Sonthonnax, J (1989) L'aluminium et son potentiel toxique. Thèse de doctorat, Université de Ilumoges, 140.

Talbi D, Benfridja M (2022) Etude de l'activité antioxydante des extraits hydro méthanoliques de *Myrtus communis* L. et *Rosmarinus officinalis* L., de leur activité anti-inflammatoire et de l'activité

anti-inflammatoire de leurs huiles essentielles et de l'effet gastroprotecteur de l'extrait hydroéthanolique de *Myrtus communis* L. Mémoire de Master, Université de Jijel, 95.

Xiao F, Xu T, Lu B, Liu R (2020) Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food Frontiers*, 1(1):60-69.

Zaafour M (2014) Étude écophysiological de la reproduction de l'escargot terrestre Petit-Gris (*Helix aspersa aspersa*, Gastropoda: Stylommatophora; Helicidae) dans la région Nord-Est d'Annaba – Algérie .thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar - Annaba, 106.

Zarroki K la neurotoxicité de l'aluminium, interaction maladie d'Alzheimer contribution à un traitement par le curcumin ( étude expérimentale chez la souris). Mémoire de magistère, Université Mostaganem, 118.