



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ DE LARBI TÉBESSI-TÉBESSA
FACULTE DES SCIENCES EXACTES ET DES SCIENCES
DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE APPLIQUÉ



MÉMOIRE DE FIN ÉTUDE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : Science De La Nature Et De La Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Pharmco - Toxicologie

Thème

*Phytothérapie et activité antioxydante des plantes
médicinales contre la nano-toxicité*

Présenté par: MEZIANI Kenza
BOUAMRA Yamina
REBIAI Nedjella

Devant le jury

- Mr. ROUABHI Rachid	Pr.	(Université de Tébessa)	Encadreur
- Mme AMAMRA Rima	MCB	(Université de Tébessa)	Présidente
- Mme BALEL Warda	MAA	(Université de Tébessa)	Examinatrice

Date de soutenance : 09/06/2022

Remerciement :

tout d'abord, nous voudrions remercier dieu tout-puissant de nous avoir donné la santé, la volonté, le courage et la patience pour compléter notre formation et la capacité de faire ce travail de recherche.

en guise d'appréciation, nous tenons à remercier sincèrement le professeur rouabhi rachid, nous avons eu l'honneur et l'opportunité de bénéficier de ses connaissances, de ses compétences et de ses précieux conseils et de le suivre tout au long de notre carrière. son sens aigu du devoir, son écoute constante et sa rigueur scientifique exigent reconnaissance et respect.

merci beaucoup.

nous tenons à remercier les membres du jury pour leur présence, pour leur lecture attentive de cette lettre, ainsi que pour les notes qu'ils nous fourniront lors de cette soutenance afin d'améliorer notre travail.

alors mes professeurs, dans l'espoir que vous verrez, dans ce manuscrit, les fruits du dévouement dont vous avez fait preuve à travers les enseignements que vous nous avez donnés.

nous exprimons également nos remerciements à tous nous tenons également à remercier tous les enseignants de la faculté des sciences naturelles et biologiques - université theikh sarbi tébessa -tébessa- pour ne pas en oublier, nous tenons à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de cette thèse ainsi qu'au succès de ce cours de premier cycle.

Résumé

L'exposition et l'utilisation des nanoparticules sont largement remises en cause par une prise de conscience récente de l'existence de risques potentiels mal connus. Ces nanoparticules ont en effet des propriétés et un comportement différents des autres particules à cause de leur taille très réduite. Elles sont caractérisées et classifiées selon des comportements particuliers et de nouveaux paramètres qui leurs sont propres. Pourtant, des particules fines, de taille plus importante, les nanoparticules, sont connues pour leur toxicité vis-à-vis de l'environnement et de l'organisme humain. Du fait de leur faible taille, elles peuvent pénétrer facilement dans l'organisme en traversant les barrières, ainsi que se disperser dans tout l'environnement et atteindre la faune, la flore, et l'Homme.

L'Aloe vera, plante médicinale utilisée depuis des millénaires pour son suc et son gel, est composée de nombreux ingrédients actifs qui agissent seuls ou en synergie dans la phytothérapie. Selon notre étude bibliographique qui a montré que cette plante possède une activité antioxydante contre ces nanoparticules, est l'activité anti-nanotoxicité.

Mots-clés : Nanoparticule, Nanotoxicité, Phytothérapie, Activité antioxydante, Aloé vera

ملخص

إن التعرض للجسيمات النانوية واستخدامها موضع تساؤل على نطاق واسع من خالل الوعي الحديث بوجود مخاطر محتملة غير مفهومة بشكل جيد. هذه الجسيمات النانوية لها بالفعل خصائص وسلوك مختلف عن الجسيمات الأخرى بسبب صغر حجمها. يتم تصنيفها وتصنيفها وفقاً لسلوكيات محددة ومعايير جديدة خاصة بها. ومع ذلك ، فإن الجسيمات الدقيقة ، أكبر حجماً ، وهي الجسيمات النانوية ، معروفة بسميتها تجاه البيئة وجسم الإنسان. نظراً لصغر حجمها ، يمكنها اختراق الجسم بسهولة عن طريق عبور الحواجز ، وكذلك الانتشار في جميع أنحاء البيئة والوصول إلى الحيوانات والنباتات والبشر. الصبار ، نبات طبي يستخدم منذ ألف السنين لعصيره وهالمه ، ويتكون من العديد من المكونات النشطة التي تعمل بمفردها أو بالتآزر في العلاج بالنباتات. وفقاً لدراستنا الببليوغرافية التي أظهرت أن هذا النبات له نشاط مضاد لألكسدة ضد هذه الجسيمات النانوية ، فهو نشاط مضاد للسمية النانوية.

الكلمات المفتاحية: الجسيمات النانوية ، السمية النانوية ، العلاج بالنباتات ، الفعالية المضادة لألكسدة ، الصبار

Abstract

The exposure and use of nanoparticles are widely called into question by recent awareness of the existence of poorly understood potential risks. These nanoparticles have indeed properties and behavior different from other particles because of their very small size. They are characterized and classified according to specific behaviors and new parameters specific to them.

However, fine particles, larger in size, nanoparticles, are known for their toxicity vis-à-vis the environment and the human body.

Because of their small size, they can easily penetrate the body by crossing barriers, as well as disperse throughout the environment and reach fauna, flora and humans. Aloe vera, a medicinal plant used for millennia for its juice and its gel, is composed of many active ingredients that act alone or in synergy in phytotherapy. According to our bibliographic study which showed that this plant has an antioxidant activity against these nanoparticles, is the anti-nanotoxicity activity.

Keywords: Nanoparticle, Nanotoxicity, Phytotherapy, Antioxidant activity, Aloe vera

Liste des figures :

Figure	page
Figure 1 : La classification des nano-objets selon leur degré de dimension nanométrique	5
Figure 2 : Situation des nanoparticules par rapport à l'échelle de taille du vivant et des technologies	6
Figure 3 : Approche d'élaboration des nano-objets manufacturés	7
Figure 4 : Classement des nano-objets en fonction de leur origine de formation	13
Figure 5 : Exposition aux nanomatériaux	15
Figure 6 : Schéma représentant les différentes voies de pénétration des nanoparticules dans l'organisme humain conduisant à leur translocation vers différents organes	17
Figure 7 : Modèle prédictif de la déposition des nanoparticules dans les voies respiratoires en fonction de leur taille	18
Figure 8 : Grille des risques potentiels	21
Figure 9 : Schéma des principales voies d'internalisation cellulaire : (A) la phagocytose et les différentes voies de pinocytose (B) (C) (D) et (E)	26
Figure 10 : Schéma illustrant les différentes étapes de la Phagocytose	28
Figure 11 : Schéma récapitulatif des activités lytiques des lysosomes	31
Figure 12 : Origine extracellulaire et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène	52
Figure 13 : principales défenses antioxydantes enzymatiques	59
Figure 14 : réseau d'interactions d'antioxydants non enzymatiques	60
Figure 15 : structure de l'antioxydant glutathion	60
Figure 16 : structure chimique de la vitamine E	64
Figure 17 : structure chimique de l'acide ascorbique (Vitamine C)	64
Figure 18 : Photo présente la Plante d'Aloe vera	68
Figure 19 : Coupe transversale d'une feuille d' <i>Aloe Vera</i>	68
Figure 20 : Structure chimique respectives de l'Aoine, de l'Aloe-emodine	73

contenue dans la sève d'Aloe Vera	
Figure 21: Structure chimique de L'ACEMANNAN	75

Liste des tableaux

Tableau	page
Tableau 01: Principaux antioxydants exogènes et sources alimentaires associées	61
Tableau 02: Résumé de la composition chimique des feuilles d'Aloé vera (Gel et Suc)	71
Tableau 03: Les différentes propriétés thérapeutiques d'utilisation d'Aloé vera	77

Liste des abréviations

EAO : espèces réactives de l'oxygène.

RL : radicaux libres. **Cu⁺²**: L'ion cuivrique. **ADN** : acide désoxyribonucléique. **H** : hydrogène.

O₂ : oxygène. **Fe⁺²** : fer ferreux.

Fe⁺³ : ferric ion. **ROS** : reactive oxygen species (dérivés réactifs de l'oxygène).

NADPH : nicotinamide adénine di nucléotide phosphate hydrogynase.

A : Absorption.

UV: Ultra-violet.

R : rendement.

% : pourcentage. **NADP** : nicotinamide adénine di nucléotide phosphate.

O₂⁻ : l'anion superoxyde.

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène.

NO : Le monoxyde d'azote. **FDA** : Food Drug Administration

SOD : SuperOxyde Dismutase

mg/g : milligramme par gramme.

ISO : Organisation internationale pour la normalization (de l'anglais International Organization for Standardization)

Dédicace	
Remerciements	
Résumé	
ملخص	
Abstract	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Table des matières	
Introduction	1
Chapitre I :.....	1
Nano-toxicité	1
1- Nanomonde	4
1-1 Nanoparticules.....	4
1-1-1 Définition de l'échelle nanométrique et la classification des nano-objet :.....	4
1-1-2 Modes de production des nano-objets :.....	6
1-1-3 Propriétés nanométriques	8
1-2 Nanoparticules à application directe sur l'homme	9
1-2-1 Différentes approches :.....	9
1-2-1-1 Approches thérapeutiques :	9
1-2-1-2 Approches diagnostiques.....	10
1-2-1-3 Approches théranostiques.....	10
1-2-2 Types de ciblage.....	11
1-2-2-1 Ciblage passif par les nanovecteurs de première génération :	11
1-2-2-2 Ciblage passif par les nanovecteurs de deuxième génération :	11
1-2-2-3 Le ciblage actif par les nanovecteurs de troisième génération :.....	12
2- Nanotoxicologie.....	12

2- la caractérisation de ces effets biologiques.	12
2-1 Aspect environnemental et sanitaire des nanoparticules	12
2-1-1 Origine des nanoparticules	12
2-1-2 Evaluation de la quantité des nanoparticules dans l'environnement :.....	13
2-2 Effets biologiques des nanoparticules	15
2-2-1 Pénétration des nanoparticules dans l'organisme :.....	15
2-2-2 Pathologies liées à l'inhalation des particules :	18
2-2-3 Prévention des risques :.....	20
3- Toxicologie des nanoparticules	21
3-1 Toxicologie <i>in vivo</i> des nanoparticules :	21
3-1-1 Biodistribution.....	21
3-1-2 Bio-toxicité :	22
3-2 Toxicologie <i>in vitro</i> des nanoparticules	23
3-2-1 Mécanismes principaux de la nanotoxicité :.....	23
3-2-2 Nanoparticules « safer by design »	24
4- Interactions nanoparticules/cellules	25
4-1 Prise en charge des nanoparticules par la cellule :	25
4-1-1 Pinocytose :	26
4-1-2 Phagocytose :	26
4-2 Etude de l'internalisation cellulaire	29
4-3 Dégradation des nanoparticules par la cellule :.....	29
4-3-2 Etude de l'hydrolyse :.....	31
5- Paramètres modifiant les capacités d'internalisation cellulaire des nanoparticules	32
5-1 Caractéristiques physiques	32
5-1-1 La taille des nanoparticules :	32
5-1-2 Forme des nanoparticules :.....	33
5-2 Caractéristiques chimiques	34
5-2-1 Fonctionnalisation de surface des nanoparticules :.....	34
5-2-2 Types cellulaires :	35
5-3 Caractéristiques secondaires :	36
5-3-1 Corona protéique formée à la surface des nanoparticules :	36

5-3-2 Encombrement stérique à la surface des nanoparticules :.....	38
Chapitre II : La phytothérapie	4
1- Historique :	39
1-1 Les premières traces de l'utilisation des plantes médicinales	39
2- Définition	41
3-Principe de la phytothérapie:.....	42
5-1 Effets indésirables	43
5-2 Intoxication	44
5-3 Risque d'interactions entre plantes médicinales et médicaments.....	46
5-5 Contre-indications et précautions d'emploi des plantes médicinales	47
6-1 Formes solides	47
6-3 Formes utilisées en usage externe.....	50
1- Stress oxydant	52
1- Définition	52
2- Radicaux libres.....	53
2-1 Définition:.....	53
2-1-1 Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)	53
2-1-1-1 Les espèces oxygénées réactives radicalaires :.....	54
2-1-1-2 Les espèces oxygénées non radicalaires	54
2-1-2 Les espèces réactives azotées (ERN):.....	55
2-1-3 Espèces non radicalaires azotées.....	55
3- Mécanismes d'action :.....	55
4- Rôle des radicaux libres chez l'homme.....	56
5- Rôle des radicaux libres chez les plantes.....	56
7- Antioxydant	57
7-1 Définition	57
7-2 Classification des antioxydants :.....	58
7-2-1 Antioxydants endogènes :	58
7-2-1-1 Antioxydants enzymatiques :.....	58
7-2-1-2 Antioxydants non enzymatiques :.....	59
7-2-2 Antioxydants exogènes :.....	61

8- Mécanismes d'action des antioxydants :	62
8-1 Système de défense primaire :	62
8-2 Système de défense secondaire :	63
1-Présentation de l'Aloé Vera	66
1-1 Historique	66
1-2 Systématique	66
1-2-1 Selon la classification de CRONQUIST (1981)	66
1-2-2 Classification APG III (2009)	67
1-4 Origine, habitat et distribution géographique	68
2- Utilisation de la plante	69
2-1 Utilisations alimentaires	69
2-2 Utilisations cosmétiques	69
2-3 Utilisation comme produits de santé	70
3- Composition chimique	70
3-1 Composition de suc	72
3-2 Composition de gel	74
4- Propriétés thérapeutiques	77
5- Composants ont effets antioxydants d'Aloé vera	79
5-1 Effets antioxydant et pro-oxydant des flavonoïdes :	80
5-2 Mécanismes et pouvoir antioxydant des polyphénols :	81
5-3 Dérivés anthraquinoniques :	81
Conclusion :	82
Références bibliographiques	84

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Introduction

Ces dernières années, les impacts environnementaux et sanitaires de la pollution de l'air ont fait l'objet de nombreuses études (**Gombert et al., 2005 ; Faburé et al., 2010 ; Brauer et al., 2012 ; Dallmann et al., 2012 ; Kim et al., 2013 ; Pateraki et al., 2013 ; Tagliari De Brito et al., 2013**). Les types de polluants qui y sont présents et les niveaux de pollution dépendent de plusieurs facteurs comme la source d'émission, les conditions physiques et les paramètres météorologiques (**Meyer et al, 2010**).

Le monde est soumise à une pollution atmosphérique particulaire provenant non seulement des activités industrielles situées à proximité (industries sidérurgiques, industries de l'aluminium, raffineries de pétrole, industries de la chimie de base, industries pharmaceutiques, industries agroalimentaires), mais aussi de la circulation automobile. Des études réalisées (**Lamaison, 2006, Garçon et al., 2006**) ont mis en évidence la présence de particules fines et ultra-fines.

Les émises dans l'environnement, elles sont constituées de particules de différentes tailles et durant ces dernières décennies, la proportion des particules ultrafines a augmenté avec l'utilisation de filtres de plus en plus efficaces dans l'industrie (**Muller et al., 2007**), retenant les particules micrométriques mais pas celles de taille nanométrique. Comme pour les autres polluants, l'abondance des particules ainsi que leur granulométrie sont dépendantes des conditions environnementales (rural, urbain, industriel, etc.) mais aussi de la proximité de la source, de l'intensité des émissions et des conditions météorologiques (**Buseck et Adachi, 2008 ; Mariet et al., 2011**).

Parallèlement, avec l'émergence des nanotechnologies et l'utilisation croissante de nanoparticules manufacturées dans différents secteurs activités (industrie, cosmétique, etc.), il existe un risque accru de relargage de ces polluants dans l'environnement, au travers des déchets industriels mais aussi domestiques.

Ainsi, le risque d'exposition des écosystèmes et de la population humaine aux nanoparticules manufacturées est croissant, il est donc important d'évaluer le danger et le risque de ces polluants dont la préoccupation est émergent. Un des défis sociétal du XXIème siècle sera de mieux prendre en compte les risques des nouvelles technologies pour l'environnement et la

INTRODUCTION

santé humaine. Les nanoparticules font partie de ces nouvelles technologies actuellement sous le couvert du principe de précaution.

En effet, elles sont très peu réglementées et à l'heure actuelle, la connaissance du danger potentiel que certaines d'entre-elles pourraient représenter, pour la santé humaine et l'environnement, est très parcellaire. C'est pourquoi, l'amélioration des connaissances dans ce domaine est fondamentale afin de mieux pouvoir gérer les risques à l'avenir (**Jean-Pierre Dupuy et Françoise Roure, 2006**).

C'est dans ce contexte que la « nanotoxicologie » (**Oberdörster et al., 2005**) et la « plant nanotoxicology » (**Dietz et Herth, 2011**) sont apparues comme de nouvelles disciplines qui prennent tout leur sens.

Notamment, dans les années 1970, des bioindicateurs (aiguilles de conifères, lichens, etc.) étaient utilisés comme de véritable outils de diagnostic de pollution atmosphérique (**Van Haluwyn et al ; 2011**).

En 2002, **Garrec et Van Haluwyn** ont défini la notion de la biosurveillance comme « L'utilisation des réponses à tous les niveaux d'organisation biologique (moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique, tissulaire, morphologique, écologique) d'un organisme ou d'un ensemble d'organismes pour prévoir et/ou révéler une altération de l'environnement et pour suivre l'évolution ». Les études de biosurveillance permettent, encore aujourd'hui, d'acquérir une meilleure connaissance des effets de la pollution par l'utilisation d'espèces sentinelles.

Face à ce contexte de pollution nanoparticulaire, nous souhaitons étudier les effets des particules ultra-fines sur les écosystèmes et la santé humaines (**Hervé-Bazin, 2007**).

Les polyphénols, tanins, alcaloïdes, huiles essentielles sont des composés responsables de l'activité antioxydantes des plantes médicinales. Parmi ces plantes, certaines espèces d'Aloé vera, ont montré ses efficacités dans la conservation de la vitalité des cellules.

Selon **Buttke et Trope**, ces effets seraient liés aux antioxydants du gel.

L'*Aloe vera* posséderait donc des vertus exceptionnelles, à tel point qu'elle est devenue aujourd'hui une stratégie marketing. Des crèmes aux compléments alimentaires en passant par les yaourts, lessives et autres boissons « bien-être », l'*Aloe vera* est partout. Mais toutes ses propriétés légendaires sont-elles folkloriques ou vérifiées ? Mérite-t-il réellement le surnom de « Plante miracle ».

INTRODUCTION

On a donc, dans cette étude bibliographique, rassemblé les données scientifiques actuelles afin de confirmer ou infirmer les nombreuses vertus thérapeutiques qu'on lui attribue, surtout de coté antioxydant contre les nanoparticules.

Chapitre I :

Nano-toxicité

Chapitre I : Nano-toxicité

1- Nanomonde

Actuellement de nombreuses recherches s'orientent vers l'infiniment petit : le nanomonde. Le préfixe « nano- » est relié au nanomètre, soit l'unité de mesure de longueur du système international valant un milliardième de mètre (10⁻⁹m). Dans la nature, cette échelle est courante : un assemblage d'atomes de 0,1 nm forme les molécules, les protéines, la matière, etc.

Pour l'homme, la manipulation de la matière à cette taille est récente et rend possible la manipulation des propriétés physiques et chimiques des matériaux, on parle alors de nanotechnologie.

1-1 Nanoparticules

1-1-1 Définition de l'échelle nanométrique et la classification des nano-objets :

Plus spécifiquement, l'échelle dite nanométrique se situe entre 1 et 100 nm (**ISO/TS27687, 2008**). Il s'agit de l'ordre de grandeur caractéristique des processus nanométriques dans lesquels le ratio surfacevolume a un rôle prépondérant. En outre les particules dont les dimensions sont comprises entre 100 et 500 nm présentent également de potentielles caractéristiques nano-spécifiques (**ANSES, 2014**).

Les nano-objets peuvent être classés selon le nombre de dimensions possédées à l'échelle nanométrique, comme ci-dessous (**ISO TS/80004-1, 2011**) :

- Nanomatériau (aucune dimension nanométrique) : matériau possédant une structure interne ou de surface à l'échelle nanométrique comme les matériaux nanoporeux avec des pores de taille nanométrique, les nanocomposites constitués de nano-objets de dimension inférieure, ou les solides nanocristallins contenant des nanocristaux. La Commission Européenne regroupe ces nanomatériaux sous l'appellation NOAA pour « nano-objets, agglomérats (liés par des interactions faibles de type Van der Waals) et agrégats (liés chimiquement) », y sont également inclus un certain nombre d'éléments par dérogation comme les fullerènes et les graphènes qui ne correspondent pas tout à fait à cette définition mais nécessitent la même attention (Commission Européenne, 2011) (**Lidén, 2011**).
- Nanofilm (une dimension nanométrique) : revêtement de surface d'épaisseur de quelques nanomètres.

Chapitre I : Nano-toxicité

- Nanofibre (deux dimensions nanométriques) : nanotube, nanofilament ou nanobâtonnet. La longueur supérieure à 100 nm est en général comprise entre 500 nm et 10 μm et le rapport de cette longueur sur le diamètre à l'échelle nanométrique est supérieur à 3.

- Nanopoudre (trois dimensions nanométriques) : nanoparticules plus ou moins sphériques.

Les nano-objets sont donc classés selon (**Fig. 01**) ci-dessous :

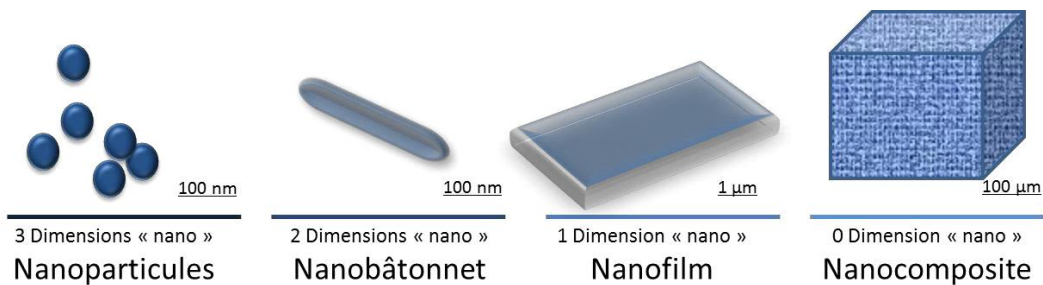


Figure 01 : La classification des nano-objets selon leur degré de dimension nanométrique.

Du point de vue de la taille, les nanoparticules se situent sur l'échelle du monde vivant entre l'hélice d'ADN (diamètre 2 nm) et un virus (diamètre 100 nm) comme montré dans (**Fig. 02**)

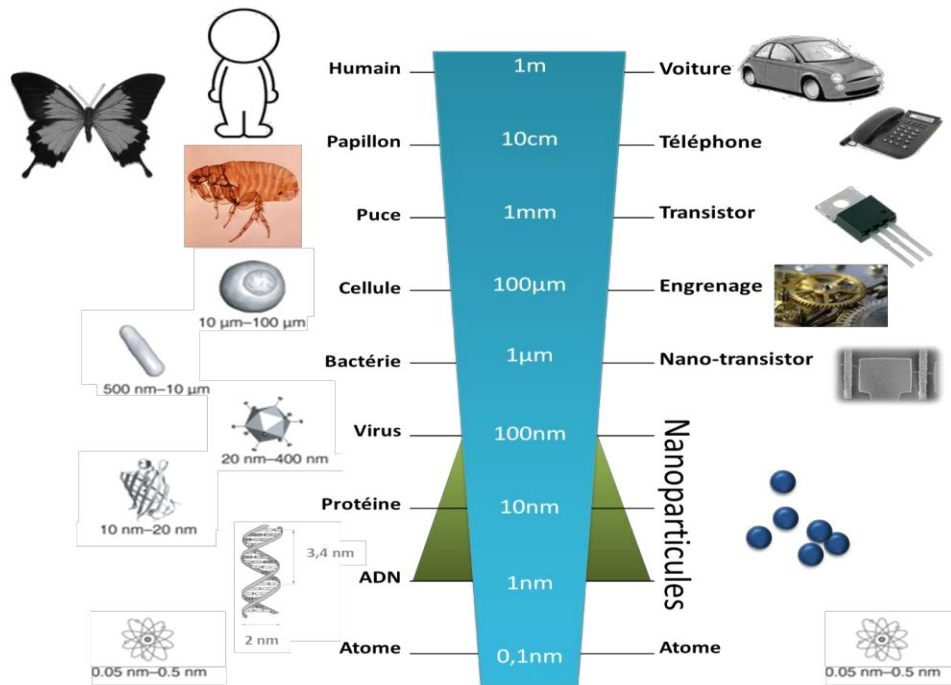


Figure 02 : Situation des nanoparticules par rapport à l'échelle de taille du vivant et destechnologies (**librement inspiré d'Invitrogen**).

1-1-2 Modes de production des nano-objets :

Les nano-objets peuvent être obtenus par une approche ascendante (bottom-up), un assemblage atome par atome, ou par une approche descendante (top-down), une déstructuration d'un matériau massif par attaque physique ou chimique. Ces deux approches sont représentées dans (**Fig. 03**) :

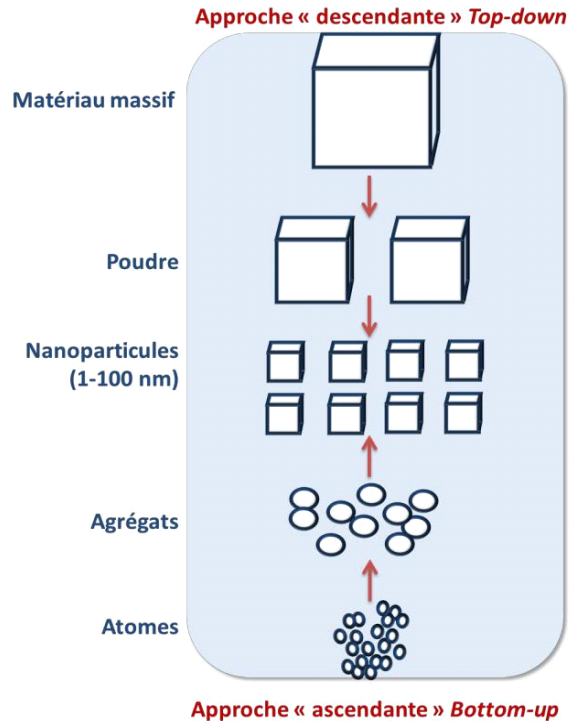


Figure 03 : Approche d'élaboration des nano-objets manufacturés (**Librement inspiré de l'INRS**).

Ces deux approches regroupent à l'échelle industrielle plus de 29 procédés pour la production de nano-objets (**Busnaina, 2007**). Ils peuvent être séparés en cinq grands types de production selon les procédés physiques, chimiques et mécaniques utilisés (**Aitken, 2004**) :

1- Les procédés physiques par évaporation/condensation en phase gazeuse basés sur une nucléation de vapeur sursaturée suivie d'une croissance de particules par condensation, coagulation et capture. Ils regroupent entre autres : la pyrolyse laser, la pyrolyse de flamme, l'évaporation à haute température et les synthèses dans un plasma (plasma de micro-ondes, plasma thermique),

2- Les dépôts physiques en phase vapeur (PPV ou PVD pour l'anglais Physical Vapor Deposition).

Chapitre I : Nano-toxicité

3- Les procédés chimique par réactions et précipitations en milieu liquide et en milieu solide (la plupart des métaux et oxydes), les procédés sol-gel (la plupart des polymères) en micro-émulsion (le solvant permet la formation de micelle encapsulantes où va se produire la polymérisation en chaîne), les fluides super-critiques avec réaction chimique.

4- Les dépôts chimiques en phase vapeur (CPV ou CVD pour l'anglais Chemical Vapor Deposition).

5- Les procédés mécaniques par attrition (torsion, friction, laminage) qui consistent en une réduction mécanique de la taille du matériau à l'aide de frottements et d'impacts à haute énergie.

Les procédés 1, 2, 3 et 4 sont des approches ascendantes et le procédé 5) est une approche descendante. Les deux types d'approche tendent à converger en termes de dimension des objets synthétisés. Cependant, l'approche descendante permet une production en quantité intéressante pour l'industrie que permet difficilement l'approche ascendante. Pour autant, l'approche ascendante permet la fabrication d'une plus grande diversité d'architectures, souvent un meilleur contrôle de l'état nanométrique (tailles et distributions granulométriques relativement monodisperses, positionnement des molécules, homogénéité des produits) et ainsi un meilleur contrôle des propriétés de la matière à cette échelle (**Ostiguy *et al.*, 2006b**)

1-1-3 Propriétés nanométriques

Lorsqu'une particule est à l'échelle micro ou macroscopique, ses propriétés physiques et chimiques découlent du matériau qui la constitue. Le passage de la matière à des dimensions nanométriques, comme une rugosité ou une porosité nanométrique du matériau, augmente fortement la surface spécifique de l'objet, c'est-à-dire l'aire superficielle par gramme de solide.

Ainsi, le nombre d'atomes en surface d'un nano-objet est bien plus important que pour des objets plus grands. De plus, à l'échelle nanométrique, le taux d'atomes en surface par rapport au nombre total d'atomes augmente lorsque la taille du nano-objet diminue : par exemple, une nanoparticule de 10 nm de diamètre comporte environ 2 500 atomes dont 30% à sa surface tandis qu'une nanoparticule de 1 nm de diamètre comporte environ 50 atomes dont 90% en surface.

Ce sont principalement les atomes présents en surface des objets qui interagissent avec l'environnement lors des réactions chimiques engendrées.

Chapitre I : Nano-toxicité

Par conséquent, à l'échelle nanométrique, l'énergie d'activation même du nano-objet, c'est-à-dire la quantité d'énergie à apporter à un composé d'une masse donnée pour provoquer une réaction, est diminuée donc sa réactivité chimique, physique et thermique est augmentée. Cela confère des propriétés remarquables à la matière (**Lidén, 2011**).

Par exemple l'or, connu pour être inerte sous forme micrométrique, est un catalyseur à l'échelle nanométrique (**Zhang et al., 2013**). De même une solution de nanoparticules de silice peut servir d'interface d'adhésion à des matériaux de type gélatineux (**Rose et al., 2014**) et le nano-argent est un agent anti-bactérien (**Markowska et al., 2013**). Toutes les familles de matériaux (métaux, céramiques, oxydes magnétiques, carbones, etc.) voient leurs propriétés chimiques modifiées, ainsi les connaissances de la matière établies à l'échelle micrométriques ne sont pas transposables à l'échelle nanométrique.

1-2 Nanoparticules à application directe sur l'homme

Pour ces domaines l'utilisation des nanotechnologies implique la mise en contact volontaire de nano-objets avec l'organisme humain, ce qui entraîne un développement plus lent. Cependant, la nanomédecine possède un énorme potentiel en terme d'approches ciblées (**Santhosh et Ulrich, 2013**).

1-2-1 Différentes approches :

Avec l'évolution des modes de vie et le vieillissement de la population, les maladies comme les affections neurologiques (maladie d'Alzheimer), hépatiques (diabète), cardiaques, et plus encore les cancers, constituent des problèmes croissants de santé publique. Actuellement, les traitements efficaces n'ont pas encore été mis au point et les nanotechnologies constituent une piste certaine pour améliorer la thérapie ciblée et le diagnostic précoce de ces maladies (**Boisselier et Astruc, 2009**).

1-2-1-1 Approches thérapeutiques :

La vectorisation des médicaments par les nanoparticules a pris un essor considérable ces dernières années. A titre d'exemple, plusieurs nano-vecteurs de la société Cerulean Pharma (en essais cliniques depuis 2013) sont utilisés contre les cancers rectaux ou le cancer du poumon (**Gaur et al., 2014**), et le Doxil® est un liposome contenant de la doxorubicine utilisé pour le traitement du cancer avancé de l'ovaire (**Wright et al., 2006**).

Chapitre I : Nano-toxicité

Outre la délivrance de principes actifs et d'agents thérapeutiques biologiques de manière ciblée dans la zone à traiter, comme pour les thérapies géniques, les nanoparticules peuvent être utilisées pour d'autres types de thérapies : la radiothérapie (par transport d'une source radioactive), la thermothérapie (par transport d'une source d'énergie à activation magnétique) ou encore la thérapie photodynamique (par transport d'agents photosensibilisateurs à forte propriété oxydante) (**Kong *et al.*, 2013 ; Leung *et al.*, 2013 ; Teng *et al.*, 2013**).

L'utilisation de nanoparticules permet alors de concentrer le traitement, comme par exemple, les nanoparticules NanoXray à base de dioxyde de hafnium développées par Nanobiotix® (en essais cliniques depuis 2012) qui permettent d'amplifier l'effet létal des rayons ionisant dans la tumeur sans nécessiter une augmentation de la dose de rayon X traversant les tissus sains.

1-2-1-2 Approches diagnostiques

Les nanoparticules permettent d'améliorer l'imagerie médicale en terme de précision et de puissance du signal, mais également de sécurité du patient. En effet, les nanoparticules peuvent être marquées par des fluorophores et colorants ou présenter des propriétés de résonance magnétique ou radioactive (**Choi *et al.*, 2007**). Par exemple des nanoparticules de silice imprégnés de colorant organique fluorescent (Cornell-dots® en essais cliniques depuis 2011), et des nanoparticules d'oxyde de fer (Sinerem® ou Clariscan®) ou contenant du gadolinium (Gadomer® de Schering) qui induisent des champs magnétiques locaux.

1-2-1-3 Approches théranostiques

Les nanoparticules permettent aussi de développer des approches combinées diagnostiques et thérapeutiques, dites « théranostiques » (**Sumer et Gao, 2008 ; Choi *et al.*, 2012**). En effet, des matériaux présentant des propriétés intrinsèques d'agent d'imagerie (quantum dot semi-conducteurs, QDs, oxyde de fer superparamagnétique, SPIONs, et nanoparticules d'or) peuvent être combinés à des agents traitant. Par exemple l'équipe de Roy a développé des nanoparticules d'ormosils pour la thérapie photodynamique en encapsulant l'agent anti-cancéreux 2-devinyl-2-(1-hexyloxyethyl) pyropheophorbide dans une nanoparticules de silice contenant de l'eau, ce qui permet à la substance traitante d'émettre une fluorescence détectable (**Roy *et al.*, 2003**).

Chapitre I : Nano-toxicité

1-2-2 Types de ciblages

A une taille micrométrique l'administration des suspensions pharmaceutiques par voie intraveineuse peut entraîner des risques d'embolie. A l'opposé, la conception de suspensions nanoparticulaires permet de les adresser de manière spécifique vers les sites de lésions (**Chandolu et Dass, 2013**). Cet acheminement peut résulter de deux types de ciblages : passif ou actif.

1-2-2-1 Ciblage passif par les nanovecteurs de première génération :

Le ciblage passif est principalement valable en oncologie et résulte de l'effet de perméabilité et de rétention tissulaire spécifique des zones tumorales (appelé effet « EPR » pour Enhanced Permeability and Retention effect). En effet, la vascularisation modifiée des zones tumorales permet l'entrée passive des nanoparticules à forte rémanence vasculaire en raison de leur petite taille (**Papahadjopoulos et al., 1991**).

De plus, l'élimination des nanoparticules de ces zones est limitée car le drainage lymphatique y est altéré. En outre, il a été montré que l'adressage de nanomédicaments par effet « EPR » est également possible dans d'autres pathologies, comme l'encéphalomyélite allergique expérimentale (EAE) (**Calvo et al., 2002**) et l'uvéite auto-immune (**de Kozak et al., 2004**). La première génération de nanomédicaments regroupe ainsi les simples nano-colloïdes stables en milieu aqueux et présentant une faible capacité d'élimination par le système rénal.

1-2-2-2 Ciblage passif par les nanovecteurs de deuxième génération :

Toutefois, la rémanence vasculaire des nanoparticules est généralement limitée par le processus d'« opsonisation ». En effet, les éléments exogènes, potentiellement pathogènes, subissent un marquage biochimique passif par adsorption de protéines, dites opsonines, à leur surface. Ces corps sont alors reconnus comme « étrangers » par les cellules phagocytaires dotées de récepteurs pour les opsonines. De ce fait, ces particules vont être prises en charge par les macrophages du système immunitaire dans les zones spécifiques où ils ont été activés.

Ce phénomène d'opsonisation peut être limité par l'ajout de groupements à la surface de la nanoparticule augmentant la gêne stérique et empêchant ainsi l'adsorption de protéines à sa surface. Ainsi, la deuxième génération de nanomédicaments est caractérisée par l'ajout d'agents de furtivité à la surface du nanovecteur comme par exemple des polymères tel le PEG (polyéthylène glycol). Le PEG présente de

Chapitre I : Nano-toxicité

nombreux avantages car il est biocompatible, soluble en milieu aqueux, et peu toxique. De plus, il est autorisé par la *Food and Drug Administration* (FDA) pour l'injection chez l'homme.

1-2-2-3 Le ciblage actif par les nanovecteurs de troisième génération :

La troisième génération de nanomédicaments permet un ciblage actif grâce à la fixation, sur l'enveloppe extérieure de la nanoparticule, de molécules de reconnaissance telles que des anticorps spécifiques de la pathologie. Ainsi ces nanoparticules permettent par exemple la visualisation spécifique de tumeurs et par conséquent des diagnostics précoces et précis. Ce type de ciblage implique d'utiliser un matériau constitutif de la nanoparticule permettant de fixer facilement et de manière durable la molécule d'adressage. Un des matériaux présentés est la silice amorphe.

2- Nanotoxicologie

L'étude des effets biologiques des nanoparticules sur la santé de l'Homme et l'environnement, est nécessaire au développement des nanotechnologies. La nanotoxicologie, l'étude spécifique de la toxicité des nanomatériaux sur les systèmes vivants, poursuit deux buts :

1- le développement de modèle d'études pour connaître les facteurs influant sur la fréquence et la gravité des effets biologiques des nanoparticules et

2- la caractérisation de ces effets biologiques.

2-1 Aspect environnemental et sanitaire des nanoparticules

2-1-1 Origine des nanoparticules

Si le marché des nanotechnologies, définies comme un ensemble de procédés de fabrication et de manipulation de structures à l'échelle nanométrique, n'a fait son apparition que dans les années 1980, les nanoparticules non intentionnellement générées par l'Homme existent depuis toujours.

Ainsi, il existe trois classes de nanoparticules en fonction de leur provenance, résumées en **(Fig. 04)** :

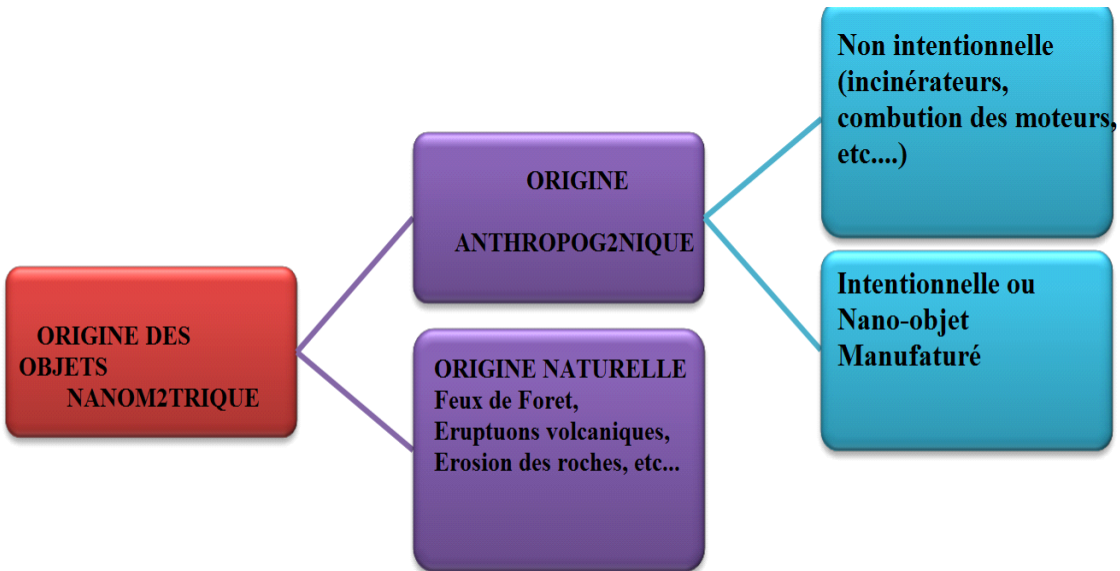


Figure 04 : Classement des nano-objets en fonction de leur origine de formation
(Librement inspiré de l'INRS).

- les nanoparticules d'origine naturelle résultent essentiellement des phénomènes de nucléation et de condensation des gaz et vapeurs dans l'atmosphère comme les fumées volcaniques, les incendies de forêt,
- les nanoparticules d'origine anthropogénique non-intentionnelle sont issues des procédés chauds tels que les fumées de soudage, la combustion des moteurs ou encore les activités industrielles,
- les nanoparticules d'origine anthropogénique intentionnelles se retrouvent sous la dénomination de nanoparticules manufacturées.

2-1-2 Evaluation de la quantité des nanoparticules dans l'environnement :

Outre la détermination de la provenance des nanoparticules, il est très difficile d'évaluer les quantités de nanoparticules auxquelles l'homme est exposé chaque jour. Ces données d'exposition de l'homme sont cruciales pour évaluer les risques potentiels liés à la présence des nanoparticules dans l'environnement.

Les campagnes de mesures localisées prennent en compte des particules diverses dénommées PM10, PM 2,5 et PM1 selon leur taille en micromètres (en anglais Particulate

Chapitre I : Nano-toxicité

Matter, PM) et, plus récemment, les nanoparticules ou particules ultrafines (de taille 100nm) **(Seaton et Donaldson, 2012)**.

Mais l'exposition d'un individu aux nanoparticules est dépendant d'autres facteurs mal connus tels que son environnement quotidien (urbain ou rural), sa profession (contact direct avec des produits contenant des nanoparticules volatiles comme les peintures...) et son hygiène de vie (tabagisme...). Des schémas d'expositions comme celui présenté en **(Fig. 05)** apparaissent aujourd'hui incomplets.

Les premiers résultats des mesures montrent que dans un milieu relativement préservé tel qu'une zone rurale, chaque millilitre d'air contient environ 10 000 nanoparticules. Ce chiffre augmente dans les zones urbaines plus exposées. Les particules ultrafines ont en premier lieu été décelées dans les fumées des moteurs diesels et plus généralement au niveau du trafic urbain, chaque millilitre d'air pouvant contenir quelques centaines de milliers de nanoparticules **(INERIS, 2012)**.

Mais les mesures réalisées sur l'environnement quotidien ne suffisent pas à caractériser le niveau d'exposition d'un individu, car l'essor des nano-objets a entraîné la production de plus en plus importante de nanoparticules manufacturées auxquels les travailleurs peuvent être directement exposés. Outre les travailleurs, les populations, en tant que consommateurs mais aussi en cas de dissémination non contrôlée des nanoparticules manufacturées dans l'environnement, sont elles aussi de plus en plus exposées.

En effet, en milieu professionnel (usine de silice, minoterie, atelier de soudage, etc.) chaque millilitre d'air peut contenir plusieurs centaines de milliers de nanoparticules et la quantité de résidus de ces nanomatériaux, qui est relarguée dans l'environnement (lors de l'extraction, la manipulation, l'utilisation des produits contenant les substances nanométriques, ou encore durant leur cycle de vie et jusqu'à leur incinération ou mise en décharge), est mal connue. Par exemple, en 2013, des chercheurs ont estimé qu'entre 63 et 91% des 300 000 tonnes de nanomatériaux manufacturés produits dans le monde en 2010 ont bien fini dans des décharges, le reste étant relargué dans les sols (8 à 28%), l'eau (de 0,4 à 7%), ou l'atmosphère (0,1-1,5 %) **(Keller et al., 2013)**.

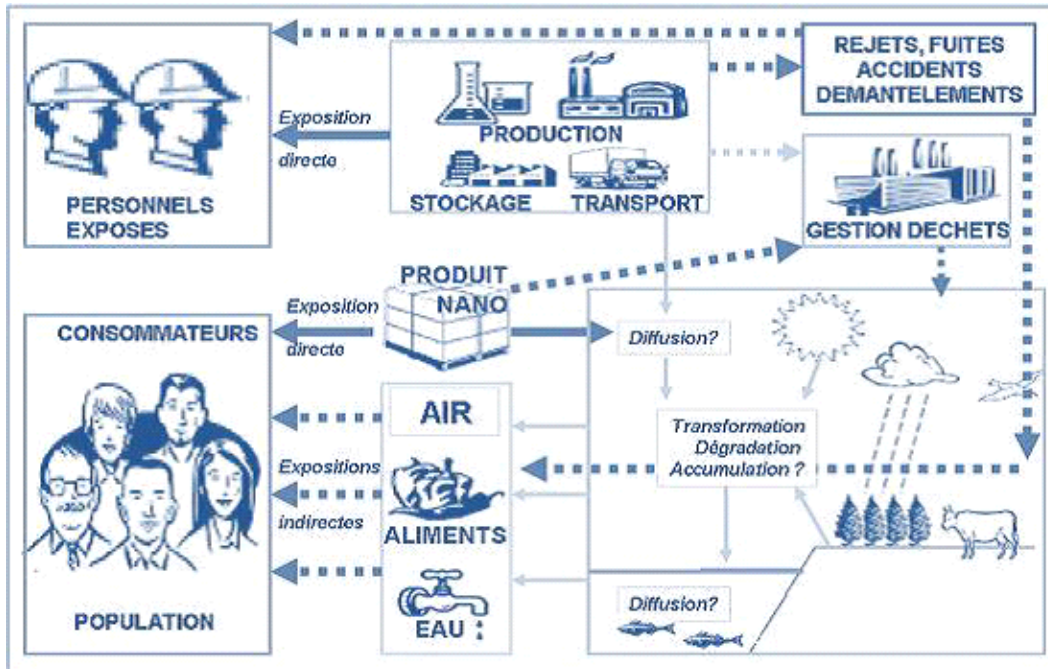


Figure 05 : Exposition aux nanomatériaux (D'après Nanosafe.org).

2-2 Effets biologiques des nanoparticules

2-2-1 Pénétration des nanoparticules dans l'organisme :

L'ensemble des nanoparticules peut pénétrer l'organisme par trois voies : la voie respiratoire, la voie digestive et la voie cutanée. La voie respiratoire étant la plus fréquente, elle est par conséquent la plus étudiée (Hervé-Bazin, 2007).

D'autre part, de l'inhalation de nanoparticules, découle la sollicitation de la voie digestive via l'appareil muco-ciliaire respiratoire (carrefour des voies aéro-digestives), car certaines particules inhalées passent dans le mucus, lui-même pris en charge par la voie digestive lors de la déglutition. De plus, des nanoparticules entrent dans la composition de nombreux aliments, compléments alimentaires et médicaments que nous assimilons par voie digestive. La voie cutanée est sollicitée lors de l'utilisation de cosmétiques contenant des nano-objets, comme des crèmes solaires contenant des nanoparticules de dioxyde de titane, ou, plus rarement lors de contact entre la peau et une surface contenant des nano-objets libres.

Ces voies naturelles s'opposent aux voies intentionnelles comme les voies d'injections volontaires appliquées dans des cadres thérapeutiques et diagnostiques. D'autre part, les

Chapitre I : Nano-toxicité

expositions aux nanoparticules peuvent être aiguës (forte concentration pendant un temps court) ou, et c'est le cas le plus fréquent, chroniques (faibles concentrations sur de longues durées).

De manière générale les nanoparticules souvent non dégradées par les systèmes de défense de l'organisme y persistent et s'y accumulent. Ce phénomène, appelé biopersistance, peut être accompagné de migration des nanoparticules vers différents organes (**Nune *et al.*, 2009**).

En effet, les nanoparticules ou particules ultrafines ont, du fait de leur taille, la faculté de franchir les barrières structurales fonctionnelles que sont les barrières épithéliales (alvéo-capillaires, gastro-intestinales ou hémato-encéphalique) pour passer dans la circulation sanguine générale - comme c'est aussi le cas pour beaucoup de nano-objets ou particules fines ($< 2,5 \mu\text{m}$) - et atteindre d'autres organes (**Karmakar *et al.*, 2014 ; Oberdörster *et al.*, 2004**). Par ce phénomène, appelé translocation, des matériaux de dimension inférieure à 300 nm peuvent ainsi se retrouver dans les cellules de tous les tissus comme présenté en (**Fig. 06**) (**Garnett et Kallinteri, 2006**) et, pour les matériaux de dimension inférieure à 70 nm, jusque dans les noyaux des cellules où ils sont susceptibles d'être génotoxiques, c'est-à-dire susceptibles d'entraîner des dommages à l'ADN (mutations, cassures...) (**Geiser *et al.*, 2005**).

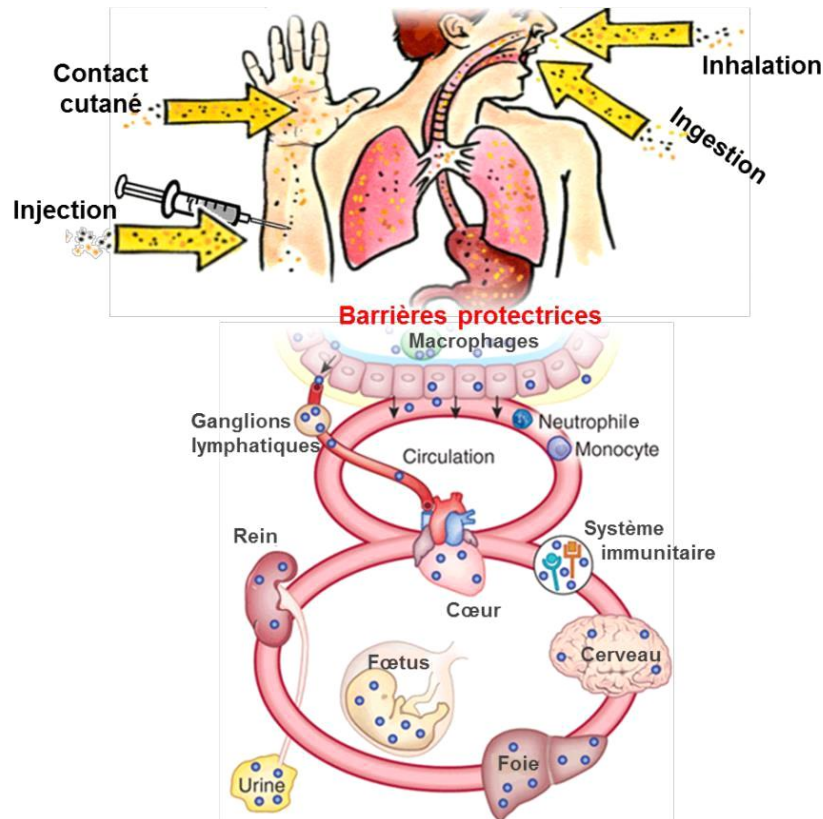


Figure 06 : Schéma représentant les différentes voies de pénétration des nanoparticules dans l'organisme humain (**Librement inspiré de Vicari et al., 2010**).

En complément de ces observations, des modèles mathématiques prédictifs, peuvent permettre d'établir la cartographie de dépôt des particules dans différentes régions du tractus respiratoire, comme présenté en (**Fig. 07**).

Cependant, ces modèles réalisés en fonction du diamètre aérodynamique des particules, ne prennent pas en compte les différences physiologiques (dépendantes du sexe, de l'âge, et de l'état de santé), qui influent sur la façon de respirer de l'individu, ni la forme de la particule, en général assimilée à une sphère pour permettre les calculs (**Oberdörster et al., 2005**).

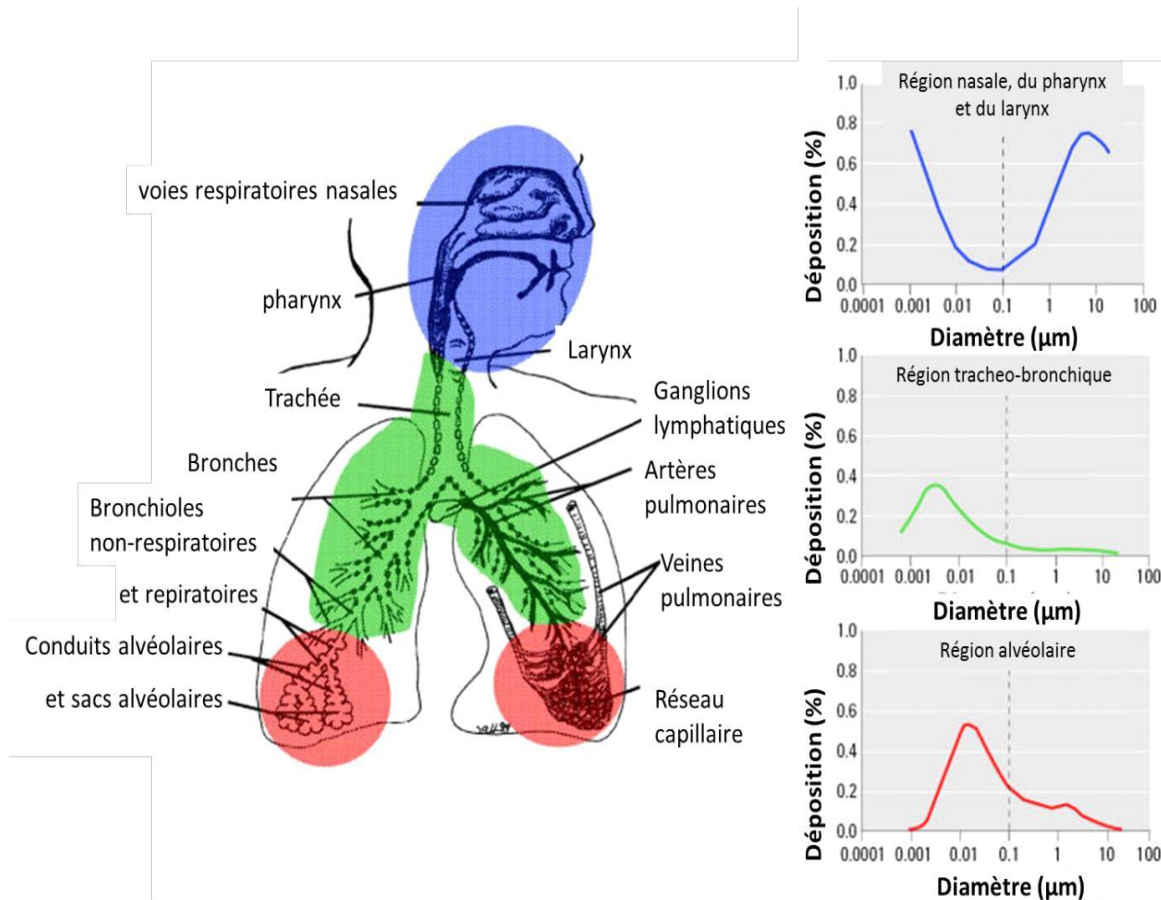


Figure 07 : Modèle prédictif de la déposition des nanoparticules dans les voies respiratoires en fonction de leur taille (**Oberdörster et al., 2005**).

2-2-2 Pathologies liées à l'inhalation des particules :

Des maladies pulmonaires plus ou moins graves, provoquées par l'inhalation de poussières de taille micrométrique (poussières de fer, de béryllium, de charbon, de silice cristalline type quartz, d'amiante), sont connues depuis longtemps notamment en milieu professionnel : pneumoconioses (asbestose et silicose par exemple), cancers broncho-pulmonaires ou de la plèvre (mésothéliome) (**Ostiguy, 1979 ; Hayashi et Kajita, 1988 ; Hamilton et al., 2008**) (**Gambelli et al., 2004**).

Depuis une dizaine d'années, les données également avoir une toxicité spécifique (**Sayes et al., 2007 ; Catelas et al., 1999 ; Donaldson et al., 2002**).

Chapitre I : Nano-toxicité

En effet, pour un même volume de matière, le volume d'une particule de 5 µm de diamètre équivaut à 12 500 nanoparticules de 100 nm de diamètre. Par extension cet ensemble de nanoparticules présentant une surface 50 fois plus grande que la surface de la seule microparticule.

En conséquence, les contacts avec les membranes et molécules biologiques sont plus importants dans le cas de nanoparticules, ce qui les rend beaucoup plus réactives. Les études épidémiologiques permettent de penser qu'en raison de leurs dimensions nanométriques, les particules ultrafines et les nanoparticules manufacturées pourraient également avoir une toxicité spécifique (**Sayes *et al.*, 2007 ; Catelas *et al.*, 1999 ; Donaldson *et al.*, 2002**).

En effet, pour un même volume de matière, le volume d'une particule de 5 µm de diamètre équivaut à 12 500 nanoparticules de 100 nm de diamètre. Par extension cet ensemble de nanoparticules présentent une surface 50 fois plus grande que la surface de la seule microparticule. En conséquence, les contacts avec les membranes et molécules biologiques sont plus importants dans le cas de nanoparticules, ce qui les rend beaucoup plus réactives.

De plus, ces contacts, sources de radicaux libres, pourraient être en partie responsables de la toxicité des poussières ultrafines, qui possèdent un potentiel inflammatoire important, et ce également pour des poussières que l'on pensait être «inertes» ou biocompatibles (dioxyde de titane, silice amorphe...).

L'inflammation est à l'origine de nombreuses pathologies pulmonaires (emphysème, fibrose, silicose) consécutives à l'inhalation de poussières ou même de pathologies digestives (maladie de Crohn) (**Song *et al.*, 2009**).

Ainsi les connaissances sur la toxicologie des particules micrométriques ne sont pas applicables aux particules nanométriques et la spécificité de l'échelle nanométrique comprend, outre les nouvelles propriétés innovantes des matériaux, de nouvelles propriétés quant à leur réactivité biologique (**Mamaeva *et al.*, 2013**). Par exemple de récentes études ont mis en garde contre les effets toxiques des nanoparticules d'argent - présentes en tant que biocide dans les produits du quotidien (déodorants, emballages alimentaires, textiles...), sur leur risque pour la fertilité masculine (**Gromadzka-Ostrowska *et al.*, 2012 ; Klein *et al.*, 2013**).

De même des nanoparticules d'oxyde de zinc - permettant de lutter contre les radiations UV dans les crèmes solaires –peuvent pénétrer une peau lésée et potentiellement

Chapitre I : Nano-toxicité

augmenter la probabilité d'apparition de cancers de la peau ou être ingérées et détruire les cellules du colon (**Wang et al., 2013 ; De Angelis et al., 2013**). Les nanoparticules de dioxyde de titane présentes également dans les crèmes solaires, et utilisées comme pigment blanc et agent opacifiant de dentifrices ou de fromages pourraient provoquer des inflammations similaires à celles de l'amiante au niveau des poumons de même que les nanotubes de carbone composant renforçant et allégeant pour les équipements sportifs (**Soto et al., 2008**).

Enfin les nanoparticules d'aluminium utilisées comme adjuvant dans des vaccins-pourrait entraîner des troubles neurologiques (**Milačič et al., 2009**).

2-2-3 Prévention des risques :

La prévention actuelle passe par l'analyse du risque tel qu'il est établi pour l'hygiène du travail, par exemple par l'*Institut National de Recherche et de Sécurité au travail* (INRS) en France mais le système d'analyse est international. Ainsi, le risque direct pour la santé humaine résulte de deux facteurs : (1) d'une part la toxicité intrinsèque du produit et (2) d'autre part le niveau d'exposition des personnes au produit. En complément, un ensemble d'associations de consommateurs américaines et européennes regroupées sous le lobby *Dialogue Transatlantique des Consommateurs* (en anglais *Transatlantic Consumer Dialogue*, TACD) préconise depuis 2009 de hiérarchiser officiellement les applications nano de la plus à la moins risquée. Une grille de risques sanitaires de nano-objets présent dans des produits du quotidien et classés selon les données issues de la recherche est présentée dans (**Fig. 08**) ci-dessous.

De cette manière, la prévention du risque suppose une bonne connaissance de l'identité des nanoparticules dangereuses, de la caractérisation de leurs dangers et du degré de toxicité associée. Dans le cas des nanoparticules, les connaissances sont encore très parcellaires. (**D'après Maynard et al., 2006**).

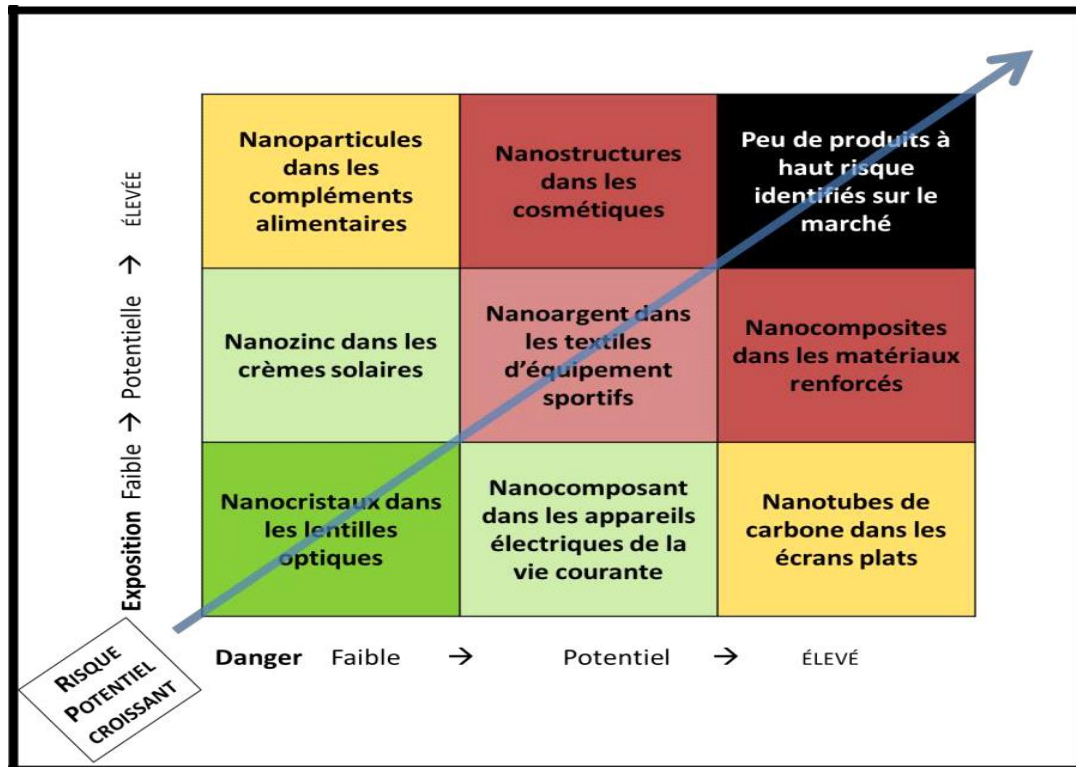


Figure 08 : Grille des risques potentiels (D'après Maynard *et al.*, 2006).

3- Toxicologie des nanoparticules

3-1 Toxicologie *in vivo* des nanoparticules :

Les études *in vivo* montrent que le devenir des nanomatériaux une fois dans l'organisme est difficile à appréhender. D'une part à cause de la complexité des interactions biologiques, d'autre part, car la taille de nanoparticules est proche de la limite de résolution de la plupart des dispositifs de mesures ou d'observation.

3-1-1 Biodistribution

Une étude de **Jong *et al.***, sur la biodistribution de particules d'or chez la souris (étudiées 24 heures après injection par voie intraveineuse), a montré que des particules de 250 et 50 nm de diamètre atteignaient toutes deux les poumons, le foie, les reins et la rate, mais les nanoparticules de 50 nm de diamètre atteignaient également le coeur.

Par ailleurs, des nanoparticules d'or de 10 nm sont parvenues traverser les barrières hémato-encéphalique et hémato-testiculaire (**Jong *et al.*, 2008**). Ces données confirment l'intuition que plus la particule est petite et plus la probabilité qu'elle traverse les barrières biologiques est élevée.

Chapitre I : Nano-toxicité

Cependant, d'autres études amènent à penser que les seuils de distribution en fonction de la taille varient aussi en fonction de la nature du matériau et de la voie d'administration (**He et al., 2010 ; Liu et al., 2012**). Par exemple, une étude de **Oberdörster et al.**, a montré que des nanoparticules de graphite de 50 nm inhalées durant 24 heures par des rats traversaient également la barrière hémato-encéphalique (**Oberdörster et al., 2004**).

La biodistribution est également influencée par le revêtement de surface de la nanoparticule (**Arnida et al., 2011 ; Sakurai et al., 2012**). Par exemple une étude de **Faure et al.**, sur la biodistribution chez la souris de nanoparticules mixtes de silice et d'oxyde de gadolinium (étudiée 72 heures après injection par voie intraveineuse), a montré que la fonctionnalisation de surface des nanoparticules par un type de longues chaînes de polymères (PEG2000-OCH₃) favorisait l'accumulation des nanoparticules spécifiquement dans les tumeurs.

A l'inverse une chaîne de polymères différente et plus courte (PEG250-COOH) a favorisé la circulation systémique (dans le sang) des nanoparticules jusqu'à leur élimination par les reins et la vessie (**Faure et al., 2009**).

Les études disponibles sur la biodistribution des nanoparticules ne permettent pas de tirer de conclusion unique en raison de la variabilité des paramètres tels que les matériaux étudiés, les modes et les doses d'administration des nanoparticules. Le seul point commun entre ces études est l'échelle nanométrique du produit testé. A cette échelle, il en va de même pour les études de bio-toxicité.

3-1-2 Bio-toxicité :

Les études de toxicité *in vivo* n'apportent pas de conclusion générale mais tendent à confirmer que les matériaux classiquement considérés comme biologiquement inertes, comme les oxydes métalliques (dioxyde de titane ou de platine...) ou les métaux précieux (or, argent), peuvent provoquer des réactions biologiques à l'échelle nanométrique (**Kaewamatawong et al., 2006**). Par exemple une étude de **Cho et al.** a montré qu'une instillation, par voie intra-trachéale, de nanoparticules de silice amorphe de 14 nm de diamètre a provoqué une inflammation sévère du poumon de la souris, avec production du facteur de nécrose tumorale et d'interleukines spécifiques pour des doses comprises entre 2 et 50 mg/kg.

Chapitre I : Nano-toxicité

Cependant cette étude a également montré que les réponses cellulaires étaient variables et dépendaient conjointement de la dose utilisée et du délai d'observation variant de 24 h à plusieurs semaines (**Cho *et al.*, 2007**).

3-2 Toxicologie *in vitro* des nanoparticules

Les modèles *in vitro* livrent une grande quantité d'informations sur la toxicité intrinsèque des nanoparticules et permettent d'établir, à l'échelle de la cellule, des hypothèses sur les mécanismes impliqués dans la toxicité des nanoparticules dans des conditions contrôlées.

Cependant, la grande hétérogénéité des études *in vitro*, notamment la variation des modèles cellulaires employés, les temps d'exposition, les doses appliquées et la nature de la méthode de détection de la réponse cellulaire utilisée, permettent difficilement de les comparer et apportent parfois des résultats contradictoires (**Horie *et al.*, 2012**)

3-2-1 Mécanismes principaux de la nanotoxicité :

Récemment, de nombreuses investigations *in vitro* sur la toxicité des nanoparticules ont révélé des mécanismes de toxicité. Ainsi, certaines nanoparticules induisent des réponses cellulaires tandis que d'autres nanoparticules semblent biologiquement inertes. Pour **Boczkowski et Lanone** deux mécanismes cellulaires se distinguent tout particulièrement en cas d'interaction de la cellule avec des nanoparticules:

- l'induction d'un stress oxydant : les nanomatériaux métalliques peuvent participer à la formation de quantités importantes des espèces réactives de l'oxygène (capacité intrinsèque de la nanoparticule à transférer des électrons vers les dérivés de l'oxygène formant alors des radicaux libres toxiques) et/ou induire une production excessive de ces espèces par les cellules. Ces molécules sont d'une grande réactivité biologique et peuvent endommager les parois des cellules par peroxydation lipidique, ce qui peut induire des réactions d'inflammation, voire de fibrose. Elles peuvent également léser l'ADN des cellules et participer à des processus génotoxiques responsables à terme de risques cancérogènes.

L'adsorption de molécules biologiquement actives à la surface de la nanoparticule: les nanomatériaux, du fait de leurs propriétés de surface particulières, peuvent adsorber des molécules ayant une fonction biologique, comme des facteurs nécessaires à la croissance cellulaire, induisant ainsi une souffrance et parfois la mort cellulaire, qu'ils soient internalisés dans les cellules ou non (**Boczkowski et Lanone, 2010**).

3-2-2 Nanoparticules « safer by design »

Bien que peu de données de nanotoxicologie complètes et fiables soient disponibles, les données scientifiques actuelles sur les nanoparticules incitent à la prudence, en particulier pour les nanoparticules d'usage courant (**rapport de l'ANSES, 2012**).

Face à ce constat, des chercheurs tentent de maîtriser, limiter, voire de s'affranchir de la toxicité de certaines nanoparticules, dont les performances techniques sont incontestablement prometteuses, par l'élaboration de nanoparticules « safer by design ». Par exemple, Prasad a montré la diminution de la toxicité de Quantum-Dots (QDs), des cristaux fluorescents à base de cadmium, par leur enrobage dans la gélatine.

En effet, les QDs représentent un outil, majeur dans le diagnostic, et prometteur pour le traitement des tumeurs par thérapie ciblée, mais le cadmium est un métal toxique (**Prasad et al., 2012**).

En ce sens, l'ensemble des études *in vitro* a permis d'affiner les paramètres influant sur la réponse biologique des nanoparticules, notamment les paramètres physico-chimiques recensés dans la norme ISO TS/13014 pour les directives relatives à la caractérisation physico-chimique des nano-objets manufacturés soumis aux essais toxicologiques, tels que l'état d'agglomération et d'agrégation des nanoparticules, la distribution granulométrique et la charge globale dans un milieu, la taille et la forme de la nanoparticules, la solubilité et la capacité de dispersion des poudres, la composition chimique et la pureté des nanoparticules, la surface spécifique ainsi que la chimie de la surface en contact avec la cellule comme le type et la densité des groupes chimiques de surface (**Albanese et al., 2012**).

Bien que ces études laissent percevoir les possibilités de synthèses de particules « safer by design », il est actuellement impossible, à partir de nos connaissances fragmentaires, de pondérer leur importance respective ou de prédire avec précision la toxicité d'une nouvelle nanoparticule. En effet, les paramètres secondaires tels que la méthode de synthèse des nanoparticules, le caractère hydrophile/hydrophobe, les modifications post-synthèse (le recouvrement de surface pour empêcher l'agglomération), et la présence de certains contaminants (tels les métaux pouvant favoriser la formation de radicaux libres) rendent complexe la compréhension de leur toxicité (**Schrurs et Lison, 2012**). De plus, la solubilité des nanoparticules et la libération d'ions toxiques à long terme sont encore peu étudiés, et ce d'autant

Chapitre I : Nano-toxicité

moins dans un environnement biologique particulièrement complexe tel que l'organisme humain (**Quignard et al., 2012**).

En effet, les études QSAR tendent à corréler la structure chimique, par exemple la fonctionnalisation de surface de la nanoparticule ou le type de matériaux, avec un effet bien déterminé, par exemple l'internalisation cellulaire ou l'effet pro-inflammatoire, et proposer une relation mathématique entre les deux. L'expression mathématique obtenue peut alors être utilisée comme moyen prédictif de la réponse biologique pour des structures similaires (**Kar et al., 2014 ; Puzyn et al., 2011 ; Xia et al., 2011**).

4- Interactions nanoparticules/cellules

Comprendre les mécanismes d'interactions des nanoparticules avec les cellules pourrait permettre un meilleur contrôle de leur internalisation, mais aussi de leur biodistribution et de leur biopersistence, et donc l'amélioration de la prédiction de leurs effets toxiques éventuels.

De plus, le développement des biotechnologies, et en particulier de la nanomédecine, nécessite des recherches approfondies sur le moyen de délivrer de manière spécifique les nanoparticules pour le diagnostic ou le traitement de maladies ciblées.

4-1 Prise en charge des nanoparticules par la cellule :

Les cellules immunitaires du corps humain ont un rôle spécifique de défense de l'organisme et d'élimination des éléments exogènes potentiellement pathogènes.

Cependant, toutes les cellules présentent des capacités plus ou moins fortes d'internalisation d'éléments de leur environnement, comme les solutés et les particules, et de traitement des déchets générés (**Xia et al., 2008 ; Aderem et Underhill, 1999**).

Les phénomènes d'internalisation au sens large sont généralement divisés en deux grandes catégories (**Conner et Schmid, 2003**) : la phagocytose pour l'internalisation de grosses particules et la pinocytose pour l'internalisation de fluides et de solutés comme les particules nanométriques. Ces phénomènes sont représentés en (**Fig. 09 et 10**) ci-dessous.

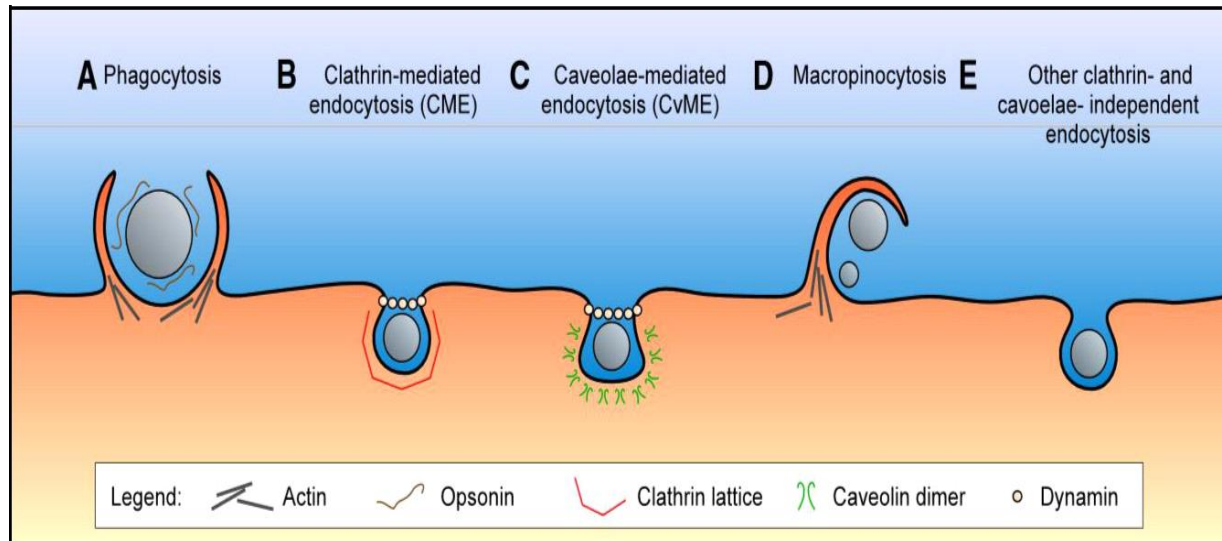


Figure 09 : Schéma des principales voies d'internalisation cellulaire : (A) la phagocytose et les différentes voies de pinocytose (B) (C) (D) et (E) (Hillaireau et Couvreur, 2009).

4-1-1 Pinocytose :

La pinocytose existe dans tous les types cellulaires selon au moins quatre mécanismes de base (Benmerah et Lamaze, 2002) :

-1 La macro-pinocytose, non spécifique et formant de larges vésicules d'environ $1\mu\text{m}$ de diamètre.

-2 et 3 L'endocytose médiée par la clathrine et l'endocytose médiée par les cavéoles, pour toutes deux les vésicules sont formées au niveau de régions déterminées de la membrane où sont regroupés les récepteurs membranaires spécifiques et les vésicules formées sont de diamètre inférieur à $0,1\mu\text{m}$.

-4 L'endocytose indépendante de la clathrine et des cavéoles induit également la formation de petites vésicules et se produit en continu dans la cellule.

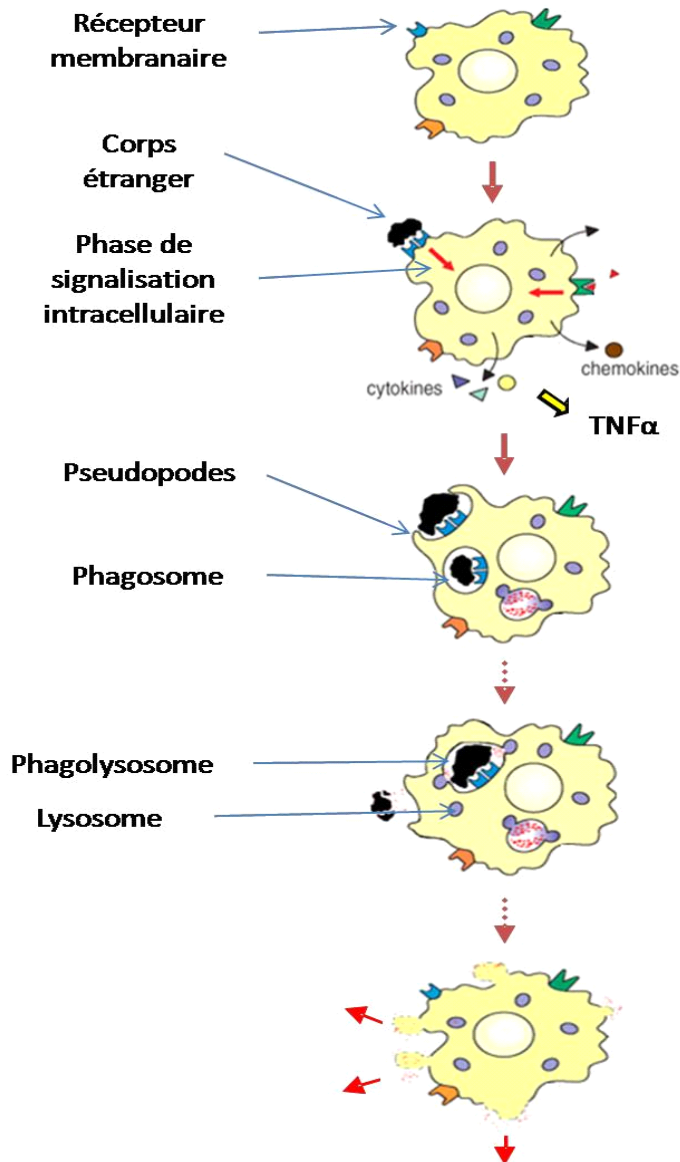
4-1-2 Phagocytose :

Bien qu'elle puisse potentiellement survenir pour tout type cellulaire, la phagocytose est un mécanisme préférentiellement utilisé par les cellules spécialisées, dites cellules phagocytaires comme les macrophages/monocytes, les neutrophiles et les cellules dendritiques. Ce processus dépendant de l'actine du cytosquelette est initié par l'interaction entre un récepteur spécifique du phagocyte et un ligand à la surface de la particule.

Chapitre I : Nano-toxicité

Lors de la phagocytose des extensions cytoplasmiques, appelées pseudopodes, se forment et vont venir envelopper les larges particules présentes à proximité de la cellule, en général de taille supérieure à 0,5 μm . Ces vésicules endocytaires sont appelées phagosomes. Il existe plusieurs modes d'initiation potentiels de la phagocytose (**Chimini et Chavrier, 2000**) présentés dans la figure 17 ci-après avec l'ensemble des étapes du processus.

La phagocytose est nécessaire au rôle de défense des cellules, cependant elle peut échouer, par exemple dans le cas de nanofibres ou de nanotubes trop longs pour être entièrement pris en charge par la cellule (**Brown *et al.*, 2007**). On parle alors de « phagocytose frustrée ». Suite à ce phénomène des mécanismes d'inflammation, de stress oxydant, de génotoxicité ou d'apoptose peuvent être déclenchés (**Kuschner et Wright, 1976**).



Macrophage

Chimiotactisme et adhésion

Le macrophage est chimiquement attiré vers le corps étranger à éliminer, entre en contact avec un récepteur membranaire spécifique qui va transduire un signal intracellulaire et déclencher le processus de phagocytose.

Internalisation

Une réorganisation du cytosquelette d'actine conduit à la formation de pseudopodes qui vont englober le corps étranger pour former une nouvelle vacuole intracellulaire : le phagosome.

Digestion

Les lysosomes contiennent des enzymes hydrolytiques et ont un pH naturellement acide. Ils vont fusionner avec le phagosome pour former un phagolysosome. Quand cela est possible le corps étranger est dégradé.

Rejet

Les éléments dégradés sont rejetés dans le milieu extracellulaire par exocytose des vésicules. Les éléments non dégradés persistent dans les macrophages et sont évacués grâce au fonctionnement de l'appareil muco-ciliaire.

Figure 10 : Schéma illustrant les différentes étapes de la Phagocytose (D'après Boumahdi, 2009).

4-2 Etude de l'internalisation cellulaire

La voie d'internalisation privilégiée peut être déterminée par des inhibiteurs spécifiques afin de bloquer, de façon fonctionnelle, l'une ou l'autre des voies définies en figure 09, (**Herd et al., 2013 ; Zhao et al., 2011**). Ainsi, des études ont montré des voies d'internalisation privilégiées dépendantes d'un type de nanoparticule donné ou de la nature du type cellulaire et de ses propriétés d'internalisation :

- L'endocytose clathrine-dépendante a été privilégiée par les cellules mésenchymateuses (Hmsc) pour des nanoparticules d'argent de 80 nm de diamètre (**Greulich et al., 2011**) ou par des cellules issues de métastases de cancer de l'utérus (HeLa) pour des nanoparticules en polymère d'acide poly-lactique de 90 nm de diamètre

(**Harush-Frenkel et al., 2007**).

- L'endocytose dépendante des cavéolines a été privilégiée par des cellules humaines d'endothélium aortique pour des nanoparticules de polysiloxane de 100 nm de diamètre (**Nishikawa et al., 2009**) et par des cellules d'épithélium alvéolaire pour des particules submicroniques d'acide polylactique de 250 nm (**Mo et Lim, 2004**).

- La pinocytose a été privilégiée par des cellules HeLa pour des particules de polystyrène de 113 nm (**Dausend et al., 2008**)

- La phagocytose a été privilégiée par des macrophages pour des nanoparticules de gadolinium de 100 nm de diamètre (**Liu et al., 2009**).

D'autres méthodes basées sur des observations microscopiques de la forme et de la taille des vésicules ainsi que du motif de recouvrement de sa surface sont aussi utilisées. Par exemple **Rima et al.**, ont notamment comparé la morphologie de cellules de carcinome épidermoïde après incubation avec des nanoparticules à base de gadolinium de 5 nm de diamètre, par microscopie électronique à transmission (TEM), microscopie électronique à balayage (MEB) et microscopie photonique. Cette étude a montré deux mécanismes d'internalisation distincts à savoir la diffusion passive et la macropinocytose (**Rima et al., 2013**).

4-3 Dégradation des nanoparticules par la cellule :

Une fois la nanoparticule internalisée, des mécanismes cellulaires de dégradation vont être activés. Pendant cette phase, les phagosomes fusionnent avec les lysosomes, organites intracellulaires de diamètre de 250 à 500 nm possédant une activité enzymatique lytique. Les

Chapitre I : Nano-toxicité

phagosomes sont considérés comme le « système digestif » de la cellule. La vésicule résultant de cette fusion est appelée phagolysosome et assure la dégradation et le tri des éléments phagocytés.

4-3-1 Enzymes lytiques :

Les enzymes lytiques des lysosomes appartiennent toutes au groupe des hydrolases acides. Celles-ci peuvent être des protéases, des nucléases, des phosphatases, des lipases, des phospholipases, des glycosidases ou des sulfases et sont présentes en quantité variable selon les types cellulaires. L'acidité intralysosomiale augmente progressivement grâce à un système de transport actif utilisant l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP.

Durant cette étape les ions H^+ sont pompés à l'intérieur du lysosome. Alors que le pH intracellulaire se situe autour de 7, le pH d'activité du lysosome se situe en dessous de 5 et celui du phagolysosome autour de 4 (Miksa *et al.*, 2009 ; Aderem et Underhill, 1999). La membrane des lysosomes, normalement imperméable à ces enzymes ainsi qu'aux ions, représente un système fermé à l'intérieur du cytoplasme sans risque pour les autres composants cellulaires.

Les lysosomes primaires peuvent aussi fusionner avec des vésicules d'endocytose à récepteurs ou des vésicules de pinocytose formant alors des lysosomes secondaires. Ils prennent un aspect classique à contenu hétérogène, ou alors celui de corps multivésiculaires, c'est-à-dire de larges vésicules d'hydrolyse renfermant les vésicules d'endocytose.

(Fig. 11) ci-dessous présente ces différentes activités lysosomales.

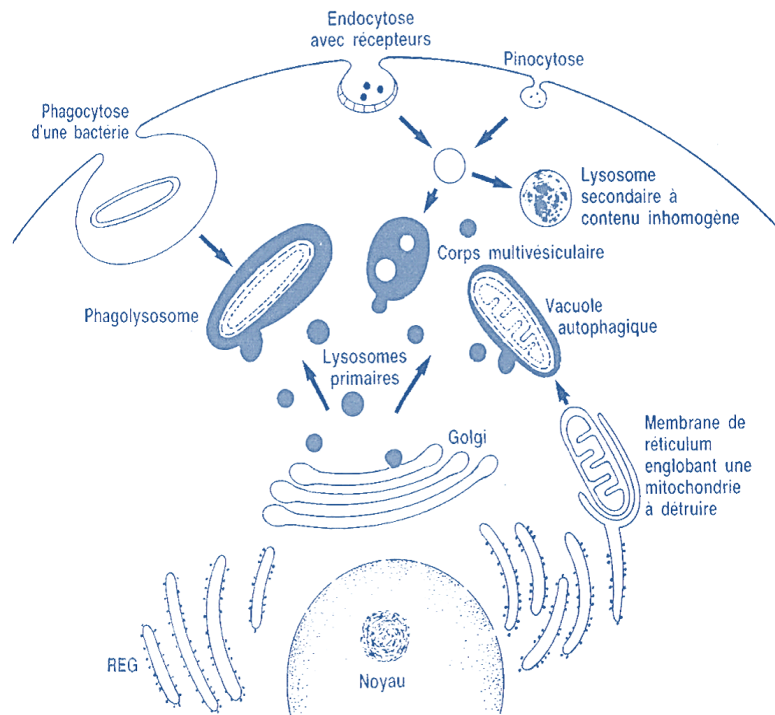


Figure 11 : Schéma récapitulatif des activités lytiques des lysosomes (**Histologie, Jean Pierre DADOUNE, Médecine-Sciences Flammarion**).

4-3-2 Etude de l'hydrolyse :

Les sondes fluorescentes spécifiques d'un pH permettent d'étudier ces compartiments intracellulaires acides et peuvent également être utilisées pour suivre les modifications du pH des organites lors des contacts nanoparticules/cellules (**Bassoe *et al.*, 2003**). D'après la littérature, la sonde LysoTracker®red permet le marquage des vésicules acides comme les lysosomes (**Peng *et al.*, 2007**). D'autres sondes telles que les PEBBLES (**Lee et Kopelman, 2012**) et les micro-sondes fluorescentes comme les SNARF-1 (**Nakata *et al.*, 2010**), permettent de distinguer différents pH et donc différents processus cellulaires régulés par le pH intracellulaire comme par exemple, l'apoptose, la phagocytose et la croissance cellulaire (**Ramshesh et Lemasters, 2012**).

De la même manière, Leclerc *et al.*, ont développé des particules submicroniques contenant deux fluorophores : le FITC, émettant une fluorescence verte à pH extracellulaire, et le pHrodo™, émettant une fluorescence rouge à pH acide. Ainsi, les particules initialement vertes à l'extérieur de la cellule devenaient jaunes par superposition des émissions verte et rouge lors de leur phagocytose par les cellules (**Leclerc *et al.*, 2012**).

4-3-3 Rejet des débris issus de la dégradation des nanoparticules

Le rejet des débris issus de la dégradation de certaines nanoparticules organiques par les lysosomes secondaires se fait de façon passive : les molécules de faible poids moléculaire qui en résultent traversent la membrane lysosomale et seront réutilisées par la cellule. Elles jouent alors un rôle dans le renouvellement des constituants cellulaires.

Les corps résiduels non utilisés par la cellule sont rejetés dans le milieu extracellulaire par exocytose. Or dans le cas de certaines particules, il semble que celles-ci ne peuvent pas être correctement dégradées par la cellule. Il en résulte la formation de résidus pro-inflammatoires potentiellement cytotoxiques, avec la possibilité d'accumulation intracellulaire pouvant aboutir à terme à une lyse cellulaire. C'est le cas par exemple pour les macrophages « à poussières » au niveau des poumons de fumeurs chargés en particules de goudron ou des poumons de mineurs chargés en particules de charbon (**Thiberville *et al.*, 2009 ; Blidberg *et al.*, 2012**).

D'autre part, certaines nanoparticules, notamment les nanoparticules inorganiques ou certaines molécules issues de leur dégradation, ne sont pas métabolisables et persistent dans les lysosomes. L'hypothèse la plus probable pour l'élimination de ces particules passe par l'élimination de la cellule entière par l'organisme comme c'est le cas pour les macrophages alvéolaires expulsés par l'appareil muco-ciliaire lors de la déglutition/expectoration ou bien leur passage dans l'appareil digestif mais, malgré ces mécanismes, certaines nanoparticules s'accumulent dans l'organisme (**Akiyama *et al.*, 2003 ; Geiser, 2010**).

5- Paramètres modifiant les capacités d'internalisation cellulaire des nanoparticules

Au-delà du type cellulaire, qui conditionne les fonctions même de la cellule et ses capacités d'internalisation et de digestion (**Chung *et al.*, 2007**), les caractéristiques physico-chimiques des nanoparticules mises en évidence dans le cadre de la nanotoxicologie peuvent aussi jouer un rôle au moment de l'adhésion et de la reconnaissance cellulaire (**Ma *et al.*, 2013 ; Yu *et al.*, 2012 ; Greish *et al.*, 2012**).

5-1 Caractéristiques physiques

5-1-1 La taille des nanoparticules :

La taille des nanoparticules serait un paramètre déterminant au regard des phénomènes d'internalisation intracellulaire et de la taille des vésicules formées (**Clift *et al.*, 2008 ; He *et al.*, 2010**). Bien que la majorité des nanoparticules puissent être internalisées par des cellules,

Chapitre I : Nano-toxicité

différentes études tendent à démontrer que ces dernières privilégient l'internalisation des nanoparticules dont le diamètre est autour de 20-50 nm.

Chithrani *et al.*, ont montré, par spectrométrie à torche plasma, que les cellules HeLa privilégient l'internalisation de nanoparticules d'or de 50 nm de diamètre par rapport aux nanoparticules de 14 et 74 nm de diamètre (**Chithrani *et al.*, 2006**). L'étude de **Huang *et al.***, par imagerie à résonance magnétique, a également montré que l'internalisation de nanoparticules de Polyvinylpyrrolidone par des macrophages (RAW 264.7) est plus importante pour des nanoparticules de 37 nm de diamètre que pour des nanoparticules de 8 ou 65 nm (**Huang *et al.*, 2010**).

5-1-2 Forme des nanoparticules :

La forme des nanoparticules (sphériques, fibreuses, tubulaires, circulaires et planes) semble également conditionner leurs effets biologiques (**Arnida *et al.*, 2011**).

Une étude de Champion et Mitragotri a montré que des particules de polystyrène sphériques sont plus internalisées par des macrophages NR8383 que des particules en forme de bâtonnets (**Champion et Mitragotri, 2009**). Cette étude suggère que la forme des nanoparticules influence leur capacité à adhérer à la cellule selon le rayon de courbure du matériau et influence donc leur internalisation par la cellule.

Ce résultat est soutenu par l'étude de **Herd *et al.***, sur trois types de nanoparticules de silice, en cylindre, en zig-zag et sphériques qui a montré que les macrophages (RAW 264 .7) et les cellules d'épithélium pulmonaire (A549) internalisent les particules sphériques par endocytose clathrine-dépendante tandis que les autres types de particules étaient internalisées principalement par macropinocytose ou mécanismes phagocytaires (**Herd *et al.*, 2013**).

L'étude de **Chithrani *et al.***, citée plus haut a également montré que les cellules ont internalisé davantage les nanoparticules sphériques de 74 et 14 nm que les bâtonnets de dimension 74x14 nm.

Cependant, les résultats de cette étude suggèrent que cette différence pourrait être due aux solvants différents utilisés pour les synthèses dont résultent les formes différentes, ainsi la conclusion de cette étude reste incertaine (**Chithrani *et al.*, 2006**).

5-2 Caractéristiques chimiques

Pour les mêmes raisons de capacité d'interaction avec la membrane cellulaire, la fonctionnalisation chimique de la surface de la nanoparticule pourrait moduler la pénétration des nanoparticules au travers des membranes cellulaires (**Cho et al., 2009**) (**Leclerc et al., 2010**).

5-2-1 Fonctionnalisation de surface des nanoparticules :

La fonctionnalisation de surface des nanoparticules, par différents groupements chimiques, leur confère un potentiel de surface spécifique. Seulement, actuellement il n'est pas possible de mesurer le potentiel de surface des nanoparticules à cause des couches ioniques qui les entourent en solution. Cependant, leur charge électrique globale, caractérisée par le potentiel zêta de la suspension de nanoparticules au niveau de la couche de cisaillement délimitent le milieu qui suit la particule, peut être mesuré (Annexe I). Le potentiel zêta est relié à la mobilité électrophorétique des nanoparticules en solution ce qui permet de le mesurer, comme la taille de la nanoparticule, par la technique de diffusion dynamique de la lumière (en anglais Dynamic Light Scattering, DLS). Il peut avoir un impact sur la capacité des nanoparticules à être internalisées par la cellule, car il modifie les interactions électrostatiques entre une nanoparticule et la cellule.

Chung et al., ont montré que des nanoparticules de silice fonctionnalisées avec des alkyles, donc de potentiel zêta négatif, étaient moins internalisées par les cellules adipeuses (3T3-L1) que lorsqu'elles sont fonctionnalisées par des groupements amines leur conférant un potentiel zêta positif (**Chung et al., 2007**).

De la même façon, **Ge et al.**, ont montré que des nanoparticules d'oxyde de fer étaient davantage internalisées par les cellules de carcinome squameux (KB) lorsqu'elles présentent des chitosanes et un potentiel zêta positif (**Ge et al., 2009**). Ces deux études suggèrent que les nanoparticules présentant des groupements de surface induisant un potentiel zêta positif interagissent plus facilement avec les membranes cellulaires de potentiel de surface électrostatiquement négatif indépendamment du matériau composant la nanoparticule. De la même manière, **Kralj et al.** ont montré que des nanoparticules super-paramagnétiques enrobées de silice et mises au contact des cellules issues de cancers du sein (**MCF10A**) et de prostate (**PC-3**) n'étaient pas internalisées lorsqu'elles étaient fonctionnalisées avec des groupements carboxyles tandis qu'elles l'étaient lorsqu'elles étaient fonctionnalisées avec des groupements amines (**Kralj et al., 2012**).

Chapitre I : Nano-toxicité

De plus, une étude de **Yue et al.**, réalisée par microscopie confocale, a montré que la charge globale de surface peut moduler le parcours intracellulaire de nanoparticules. Ainsi, les particules de potentiel zêta positif ont été retrouvées autour du noyau de la cellule tandis que les particules de potentiel neutre et négatif ont été détectées dans les lysosomes (**Yue et al., 2011**). En effet, la fonctionnalisation de surface des nanoparticules est importante pour garantir leur hydrophilie et ainsi conditionner leur dispersibilité et interactivité cellulaire notamment pour des applications en nanomédecine.

5-2-2 Types cellulaires :

A l'inverse une étude de **Kemp et al.**, a montré que des cellules humaines alvéolaires immortalisées ont privilégié l'internalisation de nanoparticules de latex de 50 nm de diamètre chargées négativement par des groupements carboxyles par rapport aux mêmes nanoparticules chargées positivement par des groupements amines (**Kemp et al., 2008**). La variation entre cette étude et les précédentes met en évidence l'influence du type cellulaire sur la capacité d'internalisation des nanoparticules en fonction de leur fonctionnalisation de surface. En complément, une étude de **Lunov et al.**, sur des nanoparticules de polystyrène de 100 nm de diamètre, a montré que des monocytes non phagocytaires (THP-1) ingèrent bien préférentiellement les nanoparticules cationiques, mais qu'à l'inverse ces cellules différenciées en macrophages phagocytaires ingèrent préférentiellement les nanoparticules anioniques (**Lunov et al., 2011**). Ainsi, la nature de la cellule semble conditionner les interactions avec les nanoparticules.

Des équipes tentent de caractériser l'importance relative de ces paramètres physico-chimiques, comme l'équipe de **Nowacek et al.** qui a déterminé, en étudiant des formulations nanométriques de médicaments antirétroviraux, que la forme de la particule a plus d'impact que sa charge ou encore sa taille sur l'internalisation par des macrophages (MDM) (**Nowacek et al., 2011**). Cependant, des caractéristiques secondaires non maîtrisables semblent intervenir également.

5-3 Caractéristiques secondaires :

Le degré d'agglomération des nanoparticules, généralement imputé aux forces de Van der Waals, est lié aux forces électrostatiques et aux tensions de surface de la nanoparticule dues à la composition du milieu environnant (**Limbach et al., 2008 ; Lynch et al., 2007**).

Ainsi, les nanoparticules tendent plus ou moins à s'agglomérer entre elles en fonction de leur forme et des groupements chimiques fixés à leur surface (**Fubini et al., 2010**). Les nanoparticules peuvent également s'agréger entre elles sous l'action de forces plus importantes, rendant ainsi leur séparation plus difficile. Les phénomènes d'agglomération et d'agrégation des nanoparticules peuvent laisser supposer une interaction différente avec les cellules du fait de la modification de leur diamètre géométrique et de leur potentiel zêta (**Kendall et al., 2011**).

Les nanoparticules ont aussi tendance à former des agrégats en milieu biologique avec les autres constituants du milieu comme les protéines (**Drescher et al., 2011**).

5-3-1 Corona protéique formée à la surface des nanoparticules :

En effet, il existe des interactions biomolécules/nanoparticules (lipides, peptides ...), plus particulièrement protéines/nanoparticules, dans les milieux de culture cellulaire complété avec du sérum utilisés dans les études *in vitro*. Les protéines sont des polypeptides ayant une conformation et une charge de surface dépendantes du pH et du milieu environnant. L'adsorption de protéines à la surface des nanoparticules est facilitée par plusieurs forces telles que des liaisons hydrogène, les forces de solvatation, et les interactions de Van der Waals. Ainsi un recouvrement protéique s'établit autour de la nanoparticule : la « corona protéique » (**Lynch et al., 2007 ; Lundqvist et al., 2008**). La corona est caractérisée par la couche dynamique de protéines qui se crée naturellement autour de la nanoparticule en milieu biologique jusqu'à la recouvrir entièrement. Elle est « l'identité biologique » de la nanoparticule car c'est le premier élément de la nanoparticule en contact avec les cellules (**Walkey et Chan, 2012 ; Podila et al., 2012**).

De plus elle influence la réponse biologique (hémolyse, activation plaquettaire et mort cellulaire...) davantage que le type de matériau étudié (**Monopoli et al., 2012 ; Tenzer et al., 2013**). Par exemple, la quantité de protéines du sérum adsorbées sur des nanoparticules peut être corrélée avec la capacité des nanoparticules à entrer dans la cellule (**Qiu et al., 2010**). Il apparaît même une notion très importante d'artefacts qui pourraient exister dans les résultats d'évaluations biologiques dues à ces phénomènes d'adsorption (**Nel et al., 2009 ; Val et al., 2009**). Certaines

Chapitre I : Nano-toxicité

études soulignent aussi l'importance d'utiliser un sérum pour la culture cellulaire proche de la composition du sang humain pour prédire les interactions nanoparticules/cellules dans l'organisme humain (**Merhi *et al.*, 2012**).

Plusieurs études ont été réalisées au sujet de l'adsorption de molécules à la surface des nanoparticules. L'association de techniques telles que la chromatographie haute résolution en phase liquide et la spectrométrie de masse permet l'identification des protéines de la corona pour autant que les protéines soient répertoriées dans les bases de données. Ainsi, il a été montré que le ratio des protéines adsorbées à la surface de la nanoparticule n'est pas représentatif du milieu mais bien spécifique de la nanoparticule, de sa chimie de surface et du temps pendant lequel la nanoparticule a été incubée dans le milieu (**Mortensen *et al.*, 2013 ; Walkey *et al.*, 2012**).

Cependant, l'analyse de la corona protéique par cette méthode reste difficile à réaliser (difficulté à s'affranchir des protéines restées libres dans le milieu de dilution lors du lavage des nanoparticules, difficulté de séparer les protéines de la nanoparticule surtout lorsqu'elles sont agrégées, difficulté de trier les protéines également agglomérées et nécessité d'utiliser de grandes quantité de nanoparticules pour palier à la sensibilité limitée de l'appareil de spectrométrie) et nécessite encore des mises au point et une standardisation (**Lynch *et al.*, 2007**).

Les premières études ont montré que cette « identité biologique » dépend des caractéristiques physico-chimiques de la nanoparticule (**Wang *et al.*, 2011 ; Cedervall *et al.*, 2007**).

En effet, l'étude de **Dobrovolskaia *et al.***, sur des nanoparticules d'or a montré que les nanoparticules fonctionnalisées avec des polysorbates ont été principalement recouvertes d'apolipoprotéines, tandis que les mêmes nanoparticules non traitées ont été majoritairement recouvertes d'albumine (**Dobrovolskaia *et al.*, 2009**).

De plus, les études montrent que la corona protéique est constituée de deux couches de dynamiques différentes qui se forment successivement au cours du temps. Une première couche de protéines fixée fermement à la surface de la nanoparticule formant la « hard » corona aux temps courts. La « hard » corona est irréversible tant que la nanoparticule est maintenue dans le même milieu (**Monopoli *et al.*, 2011 ; Lundqvist *et al.*, 2008**). Autour de cette première couche, une seconde couche de protéines moins stable, la « soft » corona, se forme (**Barrán-Berdón *et al.*, 2013 ; Dell'Orco *et al.*, 2010**).

Ainsi, les différentes couches de protéines de la « soft » corona pourraient permettre de retracer le parcours de la nanoparticule dans l'organisme (**Milani *et al.*, 2012 ; Treuel et Nienhaus,**

2012). Excepté dans le cas de nanoparticules de taille équivalente à la dimension des protéines. Comme montré dans l'étude de **Liu et al.**, pour des nanoparticules d'oxyde de cérium de dimension inférieure à 10 nm, se forment uniquement des hétéro-agrégats de protéines et de nanoparticules mais pas de corona protéique reproductible (**Liu et al., 2013**).

5-3-2 Encombrement stérique à la surface des nanoparticules :

Cependant, la corona protéique peut être limitée par un fort encombrement stérique de la surface de la nanoparticule (**Natte et al., 2013 ; Dai et al., 2014 ; Sacchetti et al., 2013 ; Faunce et al., 2008**). Ainsi, les nanoparticules revêtues de longues chaînes de polysaccharides, polyéthylène glycol (0« pégylation », PEG) ou dextran et autres polymères de revêtements, ont tendance à former des suspensions homogènes peu modifiées par les protéines du milieu de culture en raison de l'attraction dipolaire anisotrope entre les groupements (**Vonarbourg et al., 2006**).

De plus, cette stratégie, bloquant les sites de liaison des protéines à la surface de la nanoparticule, réduit l'agrégation des nanoparticules et améliore leur rémanence vasculaire (**Satulovsky et al., 2000**).

D'autre part, les nanoparticules recouvertes par ces groupements sont internalisées en proportion différente par les cellules. Par exemple, l'équipe de **Hu et al.** a étudié, par fluorescence, l'interaction des cellules de carcinome de foie humain avec des nanoparticules recouvertes de PEG et des nanoparticules revêtues de dextran de même diamètre entre 20 et 90 nm. Dans cette étude, les cellules privilégiaient l'internalisation des nanoparticules avec un recouvrement de PEG à leur surface (**Hu et al., 2007**).

L'ensemble de ces observations montre bien que chaque évaluation est spécifique du type de nanoparticules, d'où la nécessité de développer des nanoparticules modèles bien caractérisées. Elle est tout autant spécifique du modèle d'étude, d'où la nécessité de développer un consensus en nanotoxicologie, (**Tsuji et al., 2006**). Il en découle également une grande difficulté de se rapprocher d'un modèle exhaustif représentant l'interaction nanoparticules/cellules dans l'organisme humain.

Chapitre II : La phytothérapie

Chapitre II : La phytothérapie

1- Historique :

Depuis des milliers d'années, l'homme utilisait les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies (**Sanago, 2006**).

1-1 Les premières traces de l'utilisation des plantes médicinales

Le premier texte connu sur la médecine par les plantes est gravé sur une tablette d'argile, rédigé par les Sumériens en caractères cunéiformes 3000 ans av. J.-C.; Ils utilisaient des plantes telles que le myrte, le chanvre, le thym, le saule en décoctions filtrées (**Gahbiche, 2009**).

La tradition égyptienne eut une influence significative sur l'herboristerie européenne. Des papyrus datant de 3500 ans indiquent que les Egyptiens employaient plusieurs centaines de plantes tant pour leurs valeurs culinaires que thérapeutiques. Ces deux usages demeurèrent inextricablement liés pendant des siècles, comme l'écrivait un médecin grec : « que votre nourriture soit votre médecine, et votre médecine votre nourriture » (**Beloued, 2001**).

- Empire gréco-romain

Ils eurent de grands médecins comme Hippocrate (460-377 av. J.-C.), ou encore Aristote (384-322 av. J.-C.), qui utilisaient des narcotiques (opium, Jusquiame, Mandragore).

(**Bézanger-Beauquesne, et al., 1975**)

Les connaissances de la civilisation romaine en thérapeutique proviennent majoritairement de la Grèce. Au premier siècle après **J.-C.**, un médecin du nom de Dioscoride qui était le véritable ancêtre des pharmacognosies. D'origine grecque, bien qu'il soit né en Turquie, il agissait comme médecin auprès des troupes romaines. En l'an 78, il publia **De Materia Medica** (Au sujet de la médecine) qui recensait plus de 600 plantes, dont près d'une centaine sont toujours utilisées de nos jours. Son livre demeura la référence en matière d'herboristerie jusqu'à **XVII**ème siècle et a été traduit dans plusieurs langues européennes, en hébreu et en perse. En 512, un manuscrit de **De Materia Medica**, (un terme utilisé pour définir la connaissance des médicaments pour plusieurs centaines d'années) devint le premier herbier à comporter des dessins des plantes citées (**Jourdain, 1997**).

Chapitre II : La phytothérapie

-Moyen-âge

Au début du Moyen-âge, en Occident, le Clergé a la mainmise sur la médecine « savante » au travers des ouvrages médicaux hérités de l'Antiquité, qui sont conservés et recopiés au sein des monastères. Sur le modèle du jardin de l'abbaye de Saint Gall, les plantes médicinales sont cultivées dans desherbularius ou « jardins des simples » par les moines. Le legs de l'Antiquité gréco-romaine est reclus dans la sphère religieuse et ne bénéficiera que de peu d'évolution. Dans les villages se pratique une médecine populaire empreinte de mysticisme. (**BROHAN, 2012**).

Citons tout de même Hildegarde DE BINGEN, religieuse qui s'est distinguée par sa contribution à l'art de guérir, notamment par son apport à la phytothérapie grâce à la rédaction d'importants ouvrages en particulier sur les plantes médicinales (**MOULINIER, 1989**).

- Ere scientifique

Au cours des XVIème et XVIIème siècles, les plantes médicinales continuent à jouer une fonction primaire en médecine. Au XVIIIème siècle, **Linné Carl Von2 (1707-1778)** a fait une contribution importante au développement de la science des plantes médicinales grâce à l'introduction d'un nouveau système pour nommer et classer les plantes.

Grâce aux alchimistes, à la recherche de l'or, beaucoup de substances d'origine minérale étaient connues au XVIème siècle. Mais des principes chimiques définis ne devaient être retirés des végétaux qu'à la fin du XVIIIème siècle, lorsque le pharmacien et chimiste suédois **Carl Wilhelm Scheele (1742-1786)** sépara les premiers acides organiques (oxalique, malique, tartrique, etc.).

Cependant, au cours de cette période a commencé l'isolement et l'identification des principes chimiques à partir des plantes. Par exemple, la morphine était isolée en 1803, strychnine en 1817, quinine et caféine en 1820, nicotine en 1828, salicine en 1830, atropine en 1833, et la cocaïne en 1855... (**Capasso, et al., 2003**)

En 1986, après identification et standardisation des extraits actifs des plantes, le Ministère de la Santé Français propose une réglementation de mise sur le marché pour les préparations à base de plantes ou autrement appelés phytomédicaments (**Catherine, 2002**).

Chapitre II : La phytothérapie

Vers la fin du XIXe siècle, elle a connu un rapide déclin en Occident avec l'avènement de la médecine scientifique et l'apparition des médicaments modernes, La plus grande trouvaille a été faite au XVIIIe siècle, avec la découverte par le botaniste Jussieu du quinquina (**Beloued, 2001**).

2- Définition

Le mot phytothérapie se compose étymologiquement de deux racines grecques: "photon" et "therapeia" qui signifient respectivement "plante" et "traitement" (**Mansour, 2015**).

La phytothérapie est une discipline qui étudie les plantes médicinales donc est une façon de mettre à profit les propriétés médicinales des végétaux en utilisant les plantes sous forme de préparations dites "galéniques" afin de soigner ou de prévenir les maladies (**Chamer, 2016**).

Les préparations peuvent être obtenues par macération, infusion, décoction, ou sous forme de teinture, poudre totale, extraits, etc... (**Mohammadie, 2013**).

On distingue deux types de phytothérapies :

- **Phytothérapie traditionnelle:**

C'est une thérapie de substitution qui a pour but de traiter les symptômes d'une affection. Ses origines peuvent parfois être très anciennes et elle se base sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Elles concernent notamment les pathologies saisonnières depuis les troubles psychosomatiques légers jusqu'aux symptômes hépatobiliaires, en passant par les atteintes digestives ou dermatologiques (**Prescrire, 2007**).

L'approche traditionnelle revêt un caractère « intégral », « global » qui l'éloigne de l'approche médico-scientifique occidentale actuelle qui, elle, tend davantage à la purification, à l'isolement des substances et à l'identification précise des mécanismes d'action pharmacologique sur des récepteurs, des cellules ou des organes(**Jortie, 2015**).

- **Phytothérapie clinique:**

C'est une approche globale du patient et de son environnement est nécessaire pour déterminer le traitement, ainsi qu'un examen clinique complet.

Chapitre II : La phytothérapie

Son mode d'action est basé sur un traitement à long terme agissant sur le système neuro-végétatif.

Dans ce type, les indications sont liées à une thérapeutique de complémentarité. Elles viennent compléter ou renforcer l'efficacité d'un traitement allopathique classique pour certaines pathologies (**Moreau, 2003**).

3-Principe de la phytothérapie:

- La phytothérapie repose sur l'utilisation de plantes médicinales à des fines thérapeutiques.
- En médecine classique, les fabricants pharmaceutiques extraient le principe actif des plantes pour en faire des médicaments.
- La logique de traitement est également différente entre la médecine classique et la phytothérapie.
- La médecine moderne est substitutive, c'est-à-dire que les médicaments classiques régularisent les fonctions de l'organisme et le soulagent du besoin de s'auto guérir.
- En phytothérapie, les plantes sont également utilisées comme des médicaments pour réguler les fonctions du corps. Selon les phytothérapeutes, une maladie ne survient pas par hasard Elle est la conséquence d'un déséquilibre interne à l'organisme qui doit en permanence s'adapter à son environnement.

La phytothérapie s'attache à analyser les systèmes constitutifs de l'organisme : systèmes neuroendocrinien, hormonal, immunitaire, système de drainage... (**Devoyer, 2012**).

- Elle tient compte d'un examen clinique complet et approfondi de l'état de l'organisme du patient, analysé dans son ensemble et dans ses spécificités, et non pas uniquement de la symptomatologie du patient: motif de consultation, symptômes, aspect général du patient, antécédents personnels et familiaux, bilans biologiques, etc .
- Elle utilise l'outil phytothérapeutique en exploitant l'ensemble de ses potentialités connues (synergie, utilisation de doses pondérées), avec ses capacités régulatrices, complétant une simple phytothérapie symptomatique et de drainage (**Carillon, 2009**).

Chapitre II : La phytothérapie

4- Avantages de la phytothérapie

A l'exception du siècle passé, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou malaria. Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques décroît. Les bactéries et virus sont adaptés aux médicaments et devenus résistants (**Benhamza, 2008**).

La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme et souvent associée aux traitements classiques (**Bouderba, 2016**).

Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en Occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite. (**Iseran, 2001**).

5- Limites et précautions de emploi

5-1 Effets indésirables

Les effets indésirables induits par les plantes médicinales sont rares (**La rousse, 2001**).

Posadzki et al., ont publié en **2013** un article présentant une vue d'ensemble de 50 revues systématiques concernant 50 plantes médicinales différentes, en s'intéressant à leurs effets

Indésirables. La plupart des plantes médicinales évaluées dans ces revues systématiques étaient associées à des effets indésirables mineurs ou modérés.

Il peut s'agir de réactions allergiques, de réactions cutanées type photosensibilisation, ou d'atteintes de différents organes tels que le tractus gastro- intestinal, le foie, les reins, le cœur, le système nerveux central, etc. (**Posadzki, et al., 2013**).

Réactions allergiques : certaines plantes contiennent des substances susceptibles de provoquer des réactions allergiques, notamment la dermatite de contact. Parmi ces substances figurent certaines lactones ses quiterpéniques dont les familles végétales concernées sont les Astéracées, Apiacées, Lauracées, Magnoliacées, etc... (**Schempp et al., 2002**).

Photosensibilisation : elle peut être due à des substances phototoxiques ou toxiques contenues dans des plantes médicinales. Il s'agit de dérivés acétyléniques comme les polyines des Apiacées,

Chapitre II : La phytothérapie

des Astéracées, des Fabacées et des Rutacées, il peut aussi s'agir d'alcaloïdes du type bêtacarboline présents chez certaines plantes appartenant à la famille des Cypéracées, ou encore de furochromones comme la khelline du Khella de la famille des Apiacées, ou de furanocoumarines présentes chez les Apiacées, Rutacées, Solanacées, etc... (**EDITION LAROUSSE**).

Hépatotoxicité : les manifestations hépatiques cliniques dues aux plantes et leur sévérité peuvent être très variables : hépatite bénigne, insuffisance hépatique aiguë nécessitant une transplantation, etc... (**Bunchorntavakul et Reddy, 2013**).

Cardiotoxicité et neurotoxicité : on cite comme exemple l'Ephédra. De nombreux incidents sont survenus à la suite de la consommation de compléments alimentaires à base d'alcaloïdes d'Ephédra, notamment des accidents cardiovasculaires (infarctus), des accidents vasculaires cérébraux et des troubles psychiatriques (**Haller et Benowitz, 2000**).

5-2 Intoxication

Les plantes peuvent contenir des composés chimiques puissants, responsables d'effets indésirables et de toxicité. Leur utilisation nécessite une vigilance continue.

- Des études antérieures du Centre Anti Poison d Alger montre que l'intoxication par les plantes présente 2.34 % en 2007 parmi tous les cas d'intoxications mais avec un nombre des décès élevé « 21 cas décès » (**Durrity, 1994**).

- Des effets toxiques peuvent apparaître en cas de consommation de plantes médicinales dans les cas suivante:

- Surdosage

Comme exemples, on peut citer la feuille de Ginkgo qui peut provoquer des effets indésirables tels que la diarrhée, nausées, vomissements, agitation et faiblesse musculaire lorsqu'elle est utilisée à des doses supérieures à celles recommandées. (**Gagnon et al., 2010**).

Chapitre II : La phytothérapie

- Substitution de plantes médicinales par des plantes toxiques

Les substitutions accidentelles peuvent résulter d'une confusion à cause d'une ressemblance entre les plantes comme le cas de La digitale pourpre qui est une plante très toxique par la présence d'hétérosides à visée cardiaque pouvant être confondue avec les feuilles de bourrache entraînant ainsi des troubles digestifs, suivis d'une phase d'anxiété et des troubles cardiaques sévères, ou à cause de noms voisins (LIN *et al.*, 2010).

- Contamination par des substances non végétales

Les plantes médicinales peuvent être contaminées par des micro-organismes, des toxines microbiennes, des parasites, des métaux lourds, des résidus de pesticides et de solvants, des substances radioactives

- Micro-organismes (CHAPMAN, 2004 ; WICHTL M et ANTON R, 2003)

Les micro-organismes présents dans le sol, le fumier et les poussières contaminent en général les drogues végétales. Leur nombre varie considérablement d'une drogue à l'autre, et se situe entre 10² et 10⁸ germes par gramme de plantes, pour la quasi-totalité des saprophytes habituels, avec la présence possible de germes issus des contaminations fécales. Mais la quantité totale de micro-organismes est en réalité peu significative. Ce qui importe surtout, c'est de garantir l'absence de germes pathogènes (comme *Salmonella* par exemple), qui pourraient provoquer des infections chez les consommateurs.

Pour limiter la présence de germes dans les drogues végétales, il n'existe que très peu de procédés qui ne portent atteinte aux constituants présents.

- Métaux lourds

Les plantes peuvent absorber et accumuler les métaux lourds présents dans l'environnement ; les plus cités sont le plomb, le cadmium et le mercure.

Ces métaux sont absorbés par les racines, et y demeurent le plus souvent ; certains peuvent passer dans les parties aériennes (tiges, feuilles), notamment si leur concentration augmente dans le sol.

Chapitre II : La phytothérapie

Par exemple, le plomb reste dans les racines alors que le cadmium passe plus facilement dans les parties aériennes (**BOTINEAU, 2011**).

Les quantités absorbées demeurent faibles ; elles varient selon les plantes, selon la concentration des métaux dans le milieu et selon les caractéristiques du milieu.

Mais on ne connaît pas les effets à long terme, sur l'organisme humain et à la suite de prises répétées, des métaux lourds présents dans les drogues végétales.

La dernière édition de la Pharmacopée Européenne ne mentionne pas de méthode de contrôle des métaux lourds présents dans les drogues végétales (**KABELITZ L et BARBIN, 1999**).

5-3 Risque d'interactions entre plantes médicinales et médicaments

Contrairement aux médicaments de synthèse, les plantes médicinales et les produits de phytothérapie contiennent de nombreux principes actifs. Ainsi, le risque d'interactions entre les plantes et les médicaments est en théorie, supérieur au risque d'interactions entre les médicaments.

Des rapports de cas et des études cliniques ont souligné l'existence de nombreuses interactions, bien que les relations de cause à effet n'aient pas toujours été établies. Le mécanisme de ces interactions peut être d'ordre pharmacocinétique ou pharmacodynamique (**Hussain, 2011**).

5-4 Interactions pharmacologiques

• Modifications pharmacocénitiques

Les interactions pharmacocinétiques consistent soit en une modification de l'absorption des médicaments associés aux plantes, soit en une modification de leur métabolisme. (**Wichtl et Anton, 2003**).

• Modification pharmacodynamiques

En ce qui concerne les interactions pharmacodynamiques, il peut s'agir soit d'une synergie d'action lorsqu'une plante médicinale potentialise l'action d'un médicament, soit d'un antagonisme lorsqu'une plante médicinale diminue l'efficacité d'un médicament (**Hussain, 2011**).

Chapitre II : La phytothérapie

5-5 Contre-indications et précautions d'emploi des plantes médicinales

Parmi les autres limites de la phytothérapie figurent les contre-indications et les précautions d'emploi des plantes médicinales en cas de **(Gagnon et al., 2010)**

-**Pathologies** : les plantes cholagogues par exemple ne sont pas recommandées en cas d'obstruction des voies biliaires.

On peut citer par exemple l'Artichaut, le Romarin, le Radis noir, le Pissenlit.

-**Grossesse** : il s'agit des plantes oestrogéno-mimétiques (on peut citer le Gattilier), abortives (exemple de la Menthe poivrée), emménagogues (cas de l'Absinthe), antigonadotropes et ocytociques (exemple de l'Hydrastis).

- **Allaitement** : les femmes allaitantes doivent éviter de consommer des plantes qui pourraient provoquer des intolérances digestives ou respiratoires (par exemple les laxatifs stimulants anthracéniques qui peuvent donner de fortes diarrhées aux nourrissons).

- **Chez les enfants** : les formes contenant de l'alcool (extraits alcooliques, alcoolatures, alcoolats, teintures, macérats glycélinés, suspensions intégrales de plantes fraîches) sont contre-indiquées.

6- Principales formes d'administration

6-1 Formes solides

● Gélules et comprimés secs à avaler

Les gélules sont des préparations de consistance solide constituées par une enveloppe dure à base de gélatine ou de dérivés de la cellulose comme par exemple l'hypromellose et les comprimés à leur tour se définissent comme étant des préparations, de consistance solide, contenant chacune une unité de prise d'un ou plusieurs principes actifs **(Jean Raynaud, 2006)**.

● Poudres de plantes

Ils sont obtenus à partir de la drogue sèche selon deux possibilités **(Jean Raynaud, 2006)**.

- La drogue sèche après broyage est tamisée de façon à avoir une granulométrie convenable suivie d'une mise en gélules ou comprimés.

Chapitre II : La phytothérapie

- Un cryobroyage peut également être réalisé, c'est-à-dire une pulvérisation de la partie active de la plante fraîche en la broyant à froid sous azote liquide.

- **Extraits secs et nébulisats:**

Ce type d'extrait résulte de l'évaporation jusqu'à consistance fluide, molle, ferme ou sèche d'une solution extractive, obtenue par épuisement de la drogue par un solvant approprié à la plante qui peut être très souvent un mélange hydro alcoolique de titre variable, plus rarement par de l'eau. Le solvant sera ensuite éliminé essentiellement par nébulisation (**Jean Raynaud, 2006**).

- **Les Nutrisanes**

Elles sont obtenues par pulvérisation d'extraits de plantes sur des micronoyaux de maltitol, et se présentent en sachets contenant l'équivalent de six gélules de poudre de plante sèche environ 1320 mg. Un sachet par jour est recommandé pendant 20 jours. (**Jean Raynaud 2006**).

6-2 Les Formes liquides

- **Tisanes**

Ce sont des préparations aqueuses obtenues à partir de drogues végétales convenablement divisées et dont la quantité à utiliser variera selon la plante, qui sont mises en contact avec de l'eau pendant un temps variable et à une température plus ou moins élevée (**Jean Raynaud, 2006**).

Les tisanes sont obtenues par macération, infusion ou décoction en utilisant de l'eau (**Posadzki, 2013**).

- **Hydrolats**

Ce sont des préparations aqueuses renfermant la plupart des principes volatils, solubles dans l'eau. Ils sont obtenus par distillation d'une drogue fraîche à l'aide d'un alambic, ce sont en fait les produits secondaires recueillis après hydrodistillation lors de la préparation des huiles essentielles. (**Jean Raynaud, 2006**). L'hydrolat ne possède donc qu'une partie des molécules aromatiques volatiles de l'huile essentielle dont il est issu. Ses propriétés en sont donc

Chapitre II : La phytothérapie

différentes, il est à noter qu'il faut 1 kilo de plante fraîche pour obtenir 1 litre d'hydrolat dans le meilleur des cas (**Charrié et al., 2017**)

- **Alcoolatures**

Ce sont des préparations liquides colorées obtenues par macération des drogues végétales fraîches dans l'alcool. Elles correspondent généralement au cinquième de la plante déshydratée. Leur titre alcoolique varie entre 75 et 95° (**Jean Raynaud, 2006**).

- **Alcoolats**

Ils sont obtenus tout d'abord par une macération de drogues fraîches ou sèches dans de l'alcool variant de 60 à 80° suivie d'une distillation sur la solution obtenue. Ils sont généralement incolores. (**Jean Raynaud, 2006**).

- **Teintures**

Elles sont définies comme étant des préparations liquides généralement obtenues par extraction hydroalcoolique de la drogue fraîche séchée. Le titre alcoolique est compris entre 60 et 90° en fonction de la nature de la substance à dissoudre. Les drogues utilisées en phytothérapie, sont diluées au cinquième (une partie de drogue pour 5 parties de solvant d'extraction).

Il existe des teintures diluées au dixième pour les drogues à alcaloïdes comme la belladone, le datura, la jusquiame qui ne seront pas prescrites en phytothérapie (**Jean Raynaud, 2006**).

- **Teintures mères**

Ce sont des préparations liquides obtenues par extraction hydroalcoolique des drogues végétales fraîches. Leur titre alcoolique est compris entre 60 et 70 °.

Elles sont préparées généralement au dixième par macération d'une plante fraîche dans de l'alcool pendant trois semaines. La dose usuelle préconisée est de 40 à 50 gouttes trois fois par jour dans un verre d'eau pour un adulte (**Jean Raynaud, 2006**).

L'avantage principal de la teinture mère tient dans son large éventail de principes actifs. En effet elle permet d'extraire à la fois les principes actifs dissouts dans l'eau et dans l'alcool,

Chapitre II : La phytothérapie

contrairement aux tisanes qui contiennent uniquement les principes actifs hydrosolubles (**Charrié et al., 2017**)

- **Les suspensions intégrales de plantes fraîches (SIPF)**

Ces suspensions sont des broyats composés de la totalité de la drogue végétale fraîche en suspension dans de l'alcool à 30°, afin d'assurer leur conservation (**Bézanger-Beauquesne et Pinkas, 1986**) .Celles-ci sont broyées en présence d'azote liquide (-196° C), permettant d'obtenir des broyats à une température inférieure à -50°C. Constituées de particules extrêmement fines, ces dernières seront mises en suspension dans l'éthanol afin d'obtenir une concentration de 30% (en poids). (**Jean Raynaud, 2006**).

- **Les macérats glycérinés**

Les macérats glycérinés sont la forme galénique classique de la gemmothérapie. (**Halfon, 2005**) mais ils peuvent faire l'objet d'une prescription en phytothérapie.

Les bourgeons et les organes jeunes sont macérés dans un mélange eau-alcool-glycérine ou dans un mélange alcool-glycérine pour l'obtention du macérât mère décrit par la Pharmacopée qui peut ensuite être dilué au dixième pour obtenir le macérât glycériné. Son titre alcoolique est de 38° (**Jean Raynaud, 2006**).

6-3 Formes utilisées en usage externe

- **Pommades**

La pommade est préparée à l'aide d'un mélange de plante choisie, sous forme de poudre ou suc, avec une substance grasse comme la vaseline, huile de coco, huile d'olive, huile d'amande ou même des graisses animales (**Delille et al., 2007**). Elles sont destinées à être appliquées sur la peau ou sur les muqueuses. (**Jean Raynaud, 2006**).

- **Liniments**

Un liniment est une préparation semi-solide pour application uniquement cutanée en friction, appartenant à la catégorie des crèmes lipophiles.

Chapitre II : La phytothérapie

Il est composé d'huile ou de graisse, ainsi que d'un ou plusieurs principes actifs comme des extraits de plantes ou des huiles essentielles (**Jean Raynaud, 2006**).

- **Les crèmes**

Pour la crème, le principe est le même que pour la préparation de l'onguent, puisqu'on utilise la même méthode et les mêmes ingrédients. La seule différence est l'ajout de l'eau (**Nogaret, 2003**).

Chapitre III : Activité anti-oxydante

Chapitre III : Activité anti-oxydante

1- Stress oxydant

1- Définition

Le stress oxydatif est caractérisé par un déséquilibre entre la production des espèces radicalaires et les capacités de défense antioxydante de l'organisme (BEAUDEUX et DURAND , 2011). La production d'espèces réactives de l'oxygène est utile mais peut être néfaste pour l'organisme lors d'une production excessive et en l'absence de mécanismes de défense. C'est ce que l'on appelle le stress oxydatif.

Celui-ci peut favoriser la survenue de pathologies (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies dégénératives) ainsi qu'un vieillissement prématuré. (BELAÏCH et BOUJRAF, 2016). Une des principales fonctions déclenchées par le stress oxydatif est la mort cellulaire programmée ou apoptose.

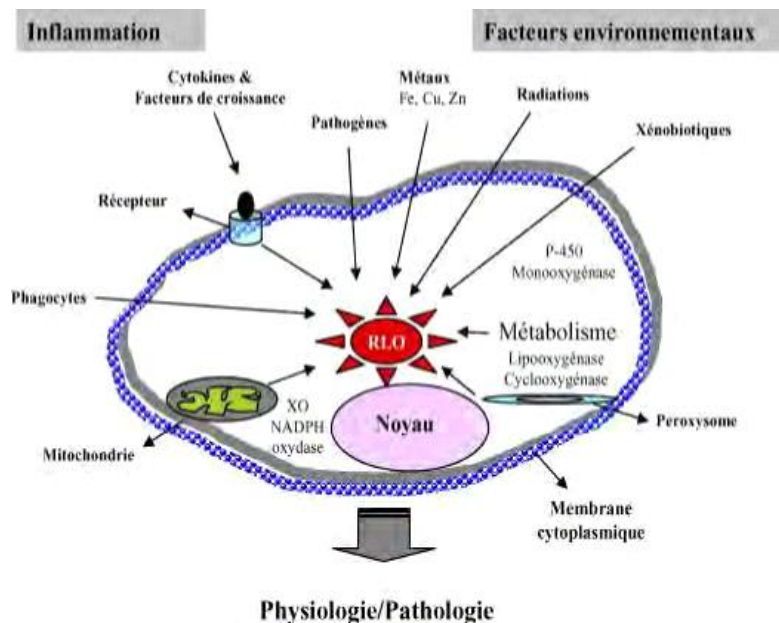


Figure 12 : Origine extracellulaire et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène (AFONSO ; CHAMPY *et al.*, 2007).

Chapitre III : Activité anti-oxydante

2- Radicaux libres

2-1 Définition:

Un radical libre est un atome ou une molécule qui porte sur sa couche électronique périphérique un ou plusieurs électrons non appariés, c'est-à-dire non couplés à un électron de spin opposé. Cela entraîne une très haute réactivité chimique avec les éléments voisins (**ROCHETTE, 2008 ; LEVERVE, 2009**).

Les espèces radicalaires sont électrophiles et vont chercher à arracher un électron à une molécule voisine afin d'apparier leur électron célibataire. Cet état est donc seulement transitoire, de l'ordre de la microseconde (**GAMBINI et GRANIER, 2013**), car le radical va soit accepter un autre électron, soit transférer le ou les électrons libres sur une autre molécule (lipide, protéine, acide nucléique) afin de rapparier son ou ses électrons célibataires et d'obtenir ainsi un état plus stable. (**FONTAINE, et al., 2002**).

Il s'agit donc d'un intermédiaire de réaction. Cela va entraîner une réaction en chaîne qui va produire de nouveaux radicaux libres car la molécule agressée par le radical libre devient à son tour radicalaire.

Les radicaux libres sont indispensables à la vie car ils participent à de nombreuses fonctions physiologiques lors de la croissance ou de la défense de l'organisme.

En effet, ils participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à l'apoptose des cellules tumorales, au cycle cellulaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes. (**FAVIER, 2003**) L'organisme en produit en continu.

2-1-1 Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)

On distingue alors deux grands groupes de molécules réactives impliquées dans le stress oxydant: les espèces radicalaires et les espèces non-radicalaires. La réactivité d'un radical libre varie d'un radical à un autre et dépend de l'environnement où ils se trouvent. Leurs constantes de vitesse réactionnelle sont très élevées (**Delattre et al., 2005**).

Chapitre III : Activité anti-oxydante

2-1-1-1 Les espèces oxygénées réactives radicalaires :

- **L'anion radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$)** est le résultat de l'apport d'un électron supplémentaire à la structure initiale de l'oxygène. Malgré une réactivité moyenne, ce radical a quelques cibles privilégiées telles que le cytochrome c (Fe^{3+}), l'ascorbate et surtout le superoxyde dismutase. Plus réactif que le précédent, le radical perhydroxyle $HO_2 \cdot$ est obtenu après protonation de ce dernier à pH inférieur à 4,8 ($pK_a (HO_2 \cdot / O_2 \cdot^-) = 4,8$).

La réduction monoélectronique du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 donne naissance au radical hydroxyle $HO \cdot$ et à l'anion basique non radicalaire OH^- en présence d'un catalyseur (réaction de Fenton : $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow HO \cdot + Fe^{3+} OH^-$). Cette espèce chimique particulièrement réactive joue un rôle majeur dans la peroxydation lipidique et la destruction du matériel génétique (**Hennebelle., 2006**).

- **Le radical peroxyde $RO_2 \cdot$** est un radical secondaire issu de l'addition de l'oxygène sur les radicaux centrés sur le radical $R \cdot$. Sa réactivité se situe entre l'anion radical superoxyde et le radical hydroxyle.

- **Le radical secondaire alkoxydes $RO \cdot$** est produit suite à la décomposition de l'hydroperoxyde RO_2H , issu de l'oxydation de substrat RH , par des cations métalliques.

2-1-1-2 Les espèces oxygénées non radicalaires

- L'oxygène singulet 1O_2 , qui est la forme diamagnétique $^1\Delta_g$ de l'oxygène, est produit en présence de rayonnement UV ou par les leucocytes. Bien qu'il ne soit pas un radical, il joue un rôle dans le vieillissement cutané et certaines maladies liées à l'âge (**Choe et Min., 2005; Hennebelle, 2006**). Sous sa forme moléculaire, le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 est également toxique, en particulier à cause de sa transformation en radical hydroxyle en présence de cations métalliques Fe^{2+} et Cu^{+} , lors de réactions de type « Fenton » (**Wardman et Candeias, 1996**).

La myéloperoxydase 20 convertit le peroxyde d'hydrogène en acide hypochlorique ($HOCl$) à des concentrations physiologiques. Ce dernier peut réagir avec les fonctions aminées des protéines pour former des chloramines (**Sumaya Martinez, 2004**).

Chapitre III : Activité anti-oxydante

2-1-2 Les espèces réactives azotées (ERN):

Espèces radicalaires azotées -19 Diamagnétique : se dit des corps qui, soumis à un champ magnétique, prennent une aimantation proportionnelle au champ, mais plus faible et dirigée en sens inverse -20 Myéloperoxydase : enzyme hémique présentant une activité de chloration,

- **Le monoxyde d'azote (NO •)** a pris une place considérable en biologie. Malgré son rôle protecteur vis-à-vis du stress oxydant en limitant la lipoperoxydation et ses effets anti-inflammatoires, il est paradoxalement impliqué dans de nombreuses pathologies telles que le diabète, l'athérosclérose, le cancer et les lésions neuronales dégénératives.

2-1-3 Espèces non radicalaires azotées

Caractérisé par sa grande faculté de diffusion dans les membranes cellulaires et sa réactivité moyenne (de l'ordre de quelques secondes *in vivo*), le monoxyde d'azote radicalaire peut aisément réagir avec la plupart des espèces oxygénées et se transformer en dioxyde d'azote (NO_2)($2 \cdot \text{NO} + \text{O}_2 \rightarrow 2 \text{NO}_2$), lequel peut donner du trioxyde d'azote (N_2O_3)($\cdot \text{NO} + \text{NO}_2 \rightarrow \text{N}_2\text{O}_3$) pour enfin aboutir à un ion nitrate stable (NO_2^-)($\text{N}_2\text{O}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{NO}_2^- + 2\text{H}^+$). De plus, le monoxyde d'azote forme avec l'ion superoxyde le peroxyde d'azote (ONOO^-)($\cdot \text{NO} + \text{O}_2 \cdot^- \rightarrow \text{ONOO}^-$), moins réactif que son précurseur azoté, mais responsable de l'oxydation de nombreuses biomolécules (protéines, lipides et acides nucléiques).

3- Mécanismes d'action :

Les EOR et ERN sont connues pour jouer un double rôle dans les systèmes biologiques, puisqu'ils peuvent être à la fois nocifs mais aussi bénéfiques, voire indispensables pour les organismes vivants (**Valko et al., 2004**).

- Bénéfiques, lorsqu'ils sont impliqués dans des rôles physiologiques au niveau des réponses cellulaires telles que la lutte contre des agents infectieux et leur fonction dans les systèmes de signalisation cellulaire.

- Nocifs, lorsqu'il y a un déséquilibre entre la balance des ERO et ERN et les systèmes de défense, avec comme conséquence l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour la cellule (ADN, protéines, lipides) en lien avec l'apparition de nombreuses maladies graves (cancer,

Chapitre III : Activité anti-oxydante

artériosclérose, arthrite, maladies neurodégénératives) : c'est le stress oxydatif (**Evans et Halliwell, 1999**).

Quelles que soient leurs fonctions, ces molécules jouent donc un rôle indispensable chez tous les êtres vivants.

4- Rôle des radicaux libres chez l'homme

De nombreux ligands extracellulaires sont capables d'induire la production cellulaire d'ERO, après interaction avec leur récepteur spécifique. Ces ERO contribuent donc à la transduction du signal, mais assurent également l'amplification de ce signal. Par exemple, cela va se traduire par l'activation de la NAD (P)H oxydase qui formera l'anion superoxyde, et contribuera à l'activation de phosphorylases, dont les cibles sont des protéines.

En résumé, les mécanismes d'action principaux des ERO sont alors de déclencher ou d'amplifier un signal intracellulaire par deux mécanismes principaux (par modification de l'équilibre rédox intracellulaire et par modification oxydative des protéines) (**Delattre et al., 2005**).

5- Rôle des radicaux libres chez les plantes

Les ERO sont continuellement produits chez les plantes selon les métabolismes aérobie, En fonction de leur nature, certaines, très toxiques, sont rapidement détoxifiées par divers mécanismes enzymatiques et non enzymatiques (**Smirnoff, 2005**)

Alors que les végétaux génèrent pléthore de processus pour combattre la croissance des ERO produits dans les conditions de stress abiotique (choc thermique, irradiation excessive, couche ozone, sécheresse, salinité...) dans d'autres circonstances, ils peuvent tout aussi engendrer délibérément des ERO ou de molécules signal afin de contrôler de nombreux phénomènes comme la défense contre des pathogène (stress biotique), la morte cellulaire programmée (apoptose) et le comportement stomatique (**Apel et Hirt, 2004 ; Smirnoff, 2005**).

6- Effets sur l'organisme du stress oxydant

Les Espèces Réactives de l'Oxygène réagissent avec de nombreuses molécules, ce qui entraîne certaines modifications de ces dernières. Elles perdent alors leur activité au sein de la cellule et cela a un impact sur le fonctionnement cellulaire physiologique.

Chapitre III : Activité anti-oxydante

- **Altération des membranes lipidiques** : lors de la peroxydation lipidique, les radicaux libres peuvent arracher un atome d'hydrogène aux chaînes latérales d'acides gras des lipides pour former des radicaux alkyles. Ceux-ci vont ensuite réagir avec l'oxygène moléculaire pour former des radicaux peroxytes. La peroxydation lipidique entraîne notamment une désorganisation des lipides membranaires, ce qui peut mener à une lyse cellulaire.

- **Altération de l'ADN** : les bases puriques et pyrimidiques de l'ADN ainsi que le s désoxyriboses peuvent être la cible des radicaux libres, notamment le radical hydroxyle OH•. Par exemple, la guanine peut réagir avec ce radical pour former la 8-OH-désoxyguanosine qui va s'apparier à l'adénine au lieu de s'associer normalement à la cytosine. Cela entraîne des mutations au sein de l'ADN (**HALENG *et al.*, 2007**).

Il existe des systèmes de réparation de l'ADN mais lorsqu'ils sont débordés, ces systèmes ne sont plus suffisants et cela entraîne des altérations du matériel génétique qui peuvent engendrer des mutations, des cancers...

- **Altération des protéines** : les protéines sont formées d'acides aminés qui peuvent réagir avec les radicaux libres. Les acides aminés les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine (**HALENG *et al.*, 2007**)

Les radicaux libres peuvent interagir avec différents types de protéines : celles de soutien comme le collagène (vieillesse), les protéines circulantes (transferrine, albumine), les enzymes protéiques... les acides aminés les plus sujets à des attaques radicalaires sont ceux possédant des chaînes latérales aromatiques (phénylalanine, tyrosine, histamine, tryptophane) et les acides aminés soufrés (méthionine, cystéine).

7- Antioxydant

7-1 Définition

L'organisme a développé des systèmes de défense très efficaces contre la production des radicaux libres. Les molécules contrôlant cette production sont désignées par le terme « antioxydant » (**Abuja et Albertini, 2001**).

Chapitre III : Activité anti-oxydante

Un antioxydant est par définition une espèce chimique plus ou moins complexe, diminuant le stress oxydant au sein de l'organisme. Un antioxydant peut donc soit prévenir la synthèse de radicaux libres, en inhibant l'initiation des chaînes réactionnelles ou bien désactiver directement les ERO (**Rhichard *et al.*, 1997**).

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation (**Rice-Evans *et al.*, 1995**).

7-2 Classification des antioxydants :

Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (exogènes ou endogènes) (**Delattre *et al.*, 2005**).

7-2-1 Antioxydants endogènes :

La production physiologique des ERO est contrôlée au sein des cellules par les systèmes de défense enzymatiques et non enzymatiques (**Matés *et al.*, 1999**).

7-2-1-1 Antioxydants enzymatiques :

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydantes : Superoxyde dismutase (SOD), Catalase (CAT) et Glutathion peroxydase (GPX) (**Matés *et al.*, 1999**). Elles sont élaborées par notre organisme avec l'aide des certains minéraux (comme le zinc et sélénium). Elles sont présentes en permanence dans l'organisme, mais leur quantité diminue avec l'âge (**Mika *et al.*, 2004**).

L'activité de ces antioxydants enzymatiques et leurs localisations dans la cellule sont complémentaires et assurent l'élimination des anions superoxyde et du peroxyde d'hydrogène dans tous les compartiments intracellulaires (**Fig. 12**) (**Haleng *et al.*, 2007**).

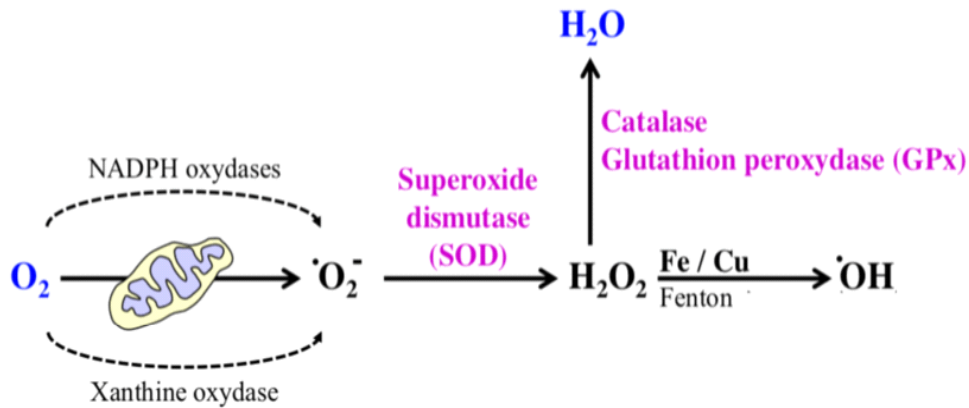


Figure 13 : principales défenses antioxydantes enzymatiques (Roussel, 2013).

7-2-1-2 Antioxydants non enzymatiques :

Ces composés antioxydants sont produits dans les cellules de l'organisme et parmi lesquels on peut citer le glutathion, l'acide lipoïque, L-arginine, l'ubiquinone, l'acide urique, la mélatonine, la transferrine (Pham-Huy *et al.*, 2008), la bilirubine (Algeciras-Schimmich *et al.*, 2007) et le coenzyme Q10 (Fig. 13) (Haleng *et al.*, 2007).

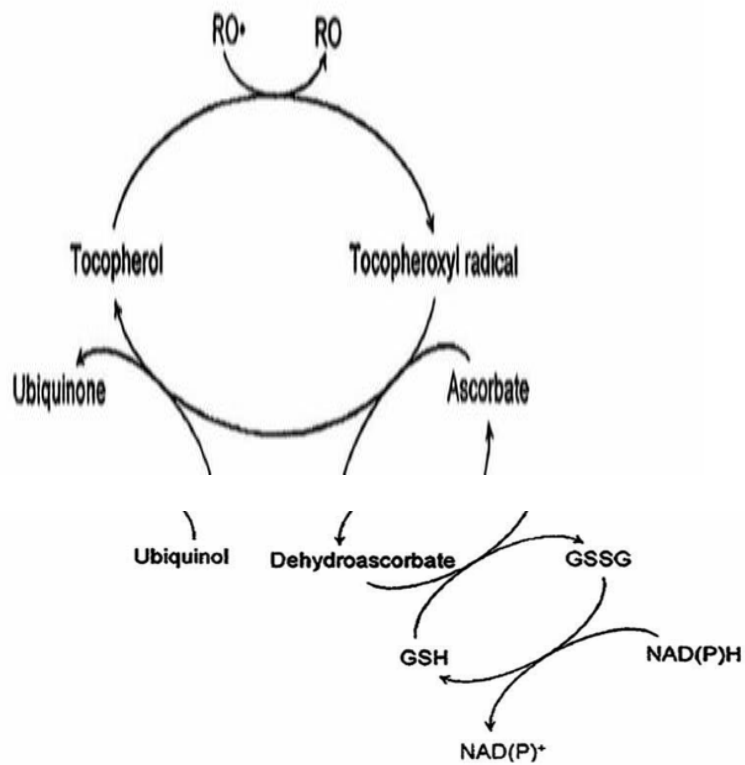


Figure 14 : réseau d'interactions d'antioxydants non enzymatiques (Pinnell, 2003).

De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion qui protège, non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le monoxyde d'azote (Fig. 14) (Favier, 2003).

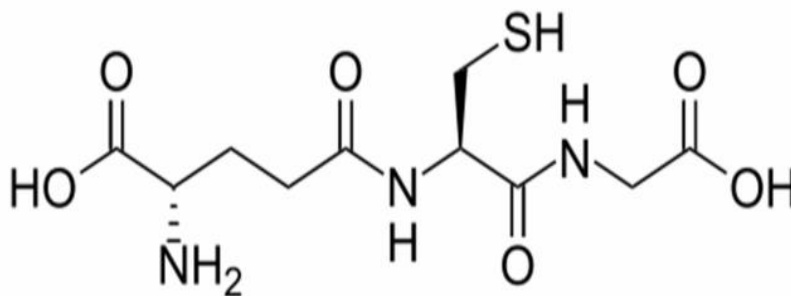


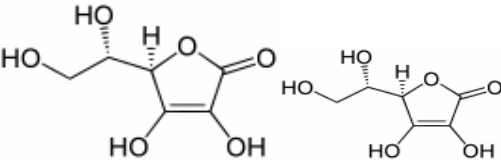
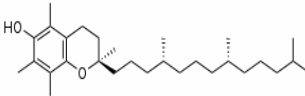
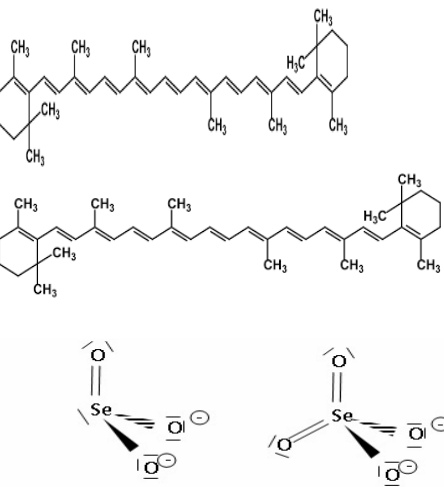
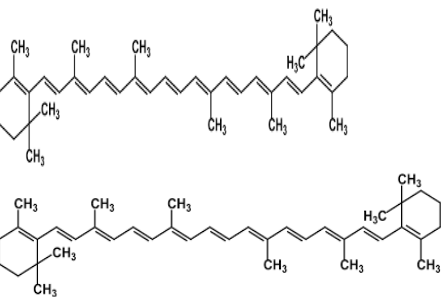
Figure 15: structure de l'antioxydant glutathion (Sies, 1999).

Chapitre III : Activité anti-oxydante

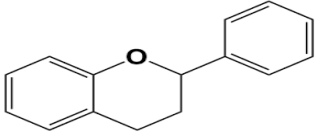
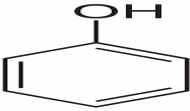
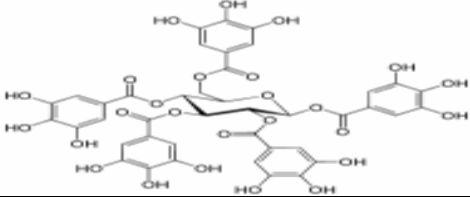
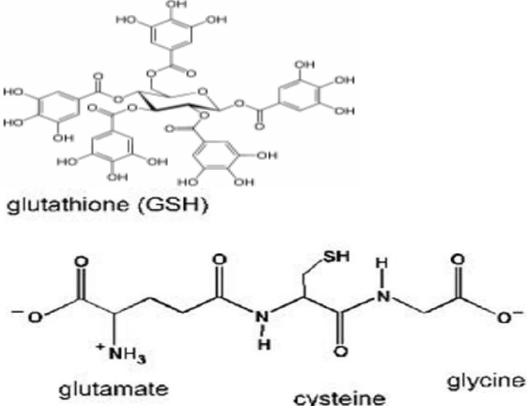
7-2-2 Antioxydants exogènes :

L'organisme possède une seconde ligne de défense «les piègeurs de radicaux libres», qui sont des composés pour la plupart apportés par l'alimentation et dont le rôle essentiel est de neutraliser les effets toxiques des ERO, limitant ainsi toute atteinte de l'intégrité cellulaire. Les principaux antioxydants exogènes sont cités dans le tableau ci-dessous (**Tab.01**) (**Koechlin Ramonatxo, 2006**).

Tableau 01: Principaux antioxydants exogènes et sources alimentaires associées (**Koechlin Ramonatxo, 2006**).

Principe antioxydant	Sources alimentaires	Structure chimiques
Vitamine E	Agrumes, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron.	
Vitamine C	Huile : de tournesol, de soja, de maïs Beurre, œufs, noix.	
Sélénium	Légumes et fruits orangés, et vert foncés.	
Flavonoïdes	poissons, œufs, viande, céréales, volaille.	

Chapitre III : Activité anti-oxydante

Acides phénoliques	Fruits, légumes, thé vert.	
Tanins	Céréales complètes, baies, cerises.	
Tanins	Lentilles, thé, raisins, vin.	
Métabolisme de cystéine, glutathion	Caséine, Lactalbumine (petit-lait), produits laitiers, œufs, poissons, viande	 <p>glutathione (GSH)</p> <p>glutamate cystéine glycine</p>

8- Mécanismes d'action des antioxydants :

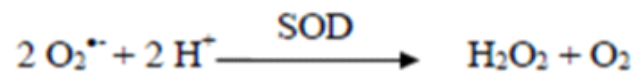
Selon leur mode d'action, les antioxydants sont classés en deux catégories : primaire et secondaire (**Buettner, 1993**).

8-1 Système de défense primaire :

- **Superoxyde dismutase (SOD)**

Elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en hydrogène peroxyde (H_2O_2) et en oxygène, suivant la réaction ci-dessous :

Chapitre III : Activité anti-oxydante



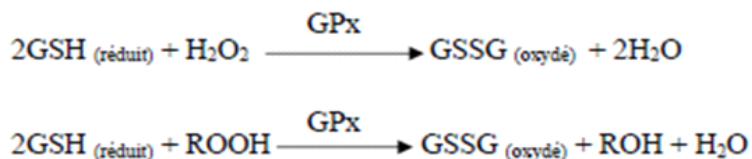
Chez l'être humain, il y a 3 isoformes des SOD à cofacteurs métallique (Cu-SOD, ZnSOD, Mn-SOD) et sont localisés dans le cytoplasme et la mitochondrie (**Landis et Tower, 2005**).

- **Catalase** Cette enzyme est localisée essentiellement dans les peroxysomes (**Valko et al., 2006**). Elle permet de convertir deux molécules de H₂O₂ en H₂O et O₂ suivant la réaction ci dessous :



- **Glutathion peroxydase**

C'est une enzyme à cofacteur de sélénium, qui se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité la dégradation des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (**Valko et al., 2006**), suivant les deux réactions suivantes :



8-2 Système de défense secondaire :

- **Vitamine E (tocophérol)**

Elle est considérée comme le principal antioxydant attaché à la membrane, utilisé par la cellule pour inhiber la peroxydation lipidique. Durant la réaction antioxydante, l'alpha-tocophérol est converti en radical alpha-tocophérol beaucoup plus stable, en perdant un hydrogène arraché par une espèce radicalaire (radical peroxy) (**Fig. 15**) (**Pryor, 2000 ; Valko et al., 2006**).

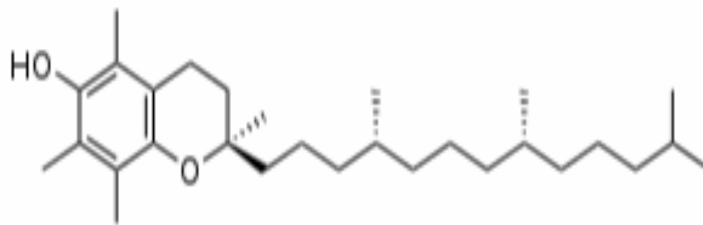


Figure 16: structure chimique de la vitamine E (Halliwell, 1995).

- **Vitamine C (acide ascorbique)**

Les propriétés antioxydantes de la vitamine C sont attribuées à sa capacité d'être réduit en radical ascorbyle, après la perte d'un électron ou d'un proton. Ce radical peut facilement s'oxyder en captant l'anion superoxyde et certaines espèces radicalaires (perhydroxyles et peroxydes) (Fig. 16) (Valko *et al.*, 2006, Van Antwerpen, 2006).

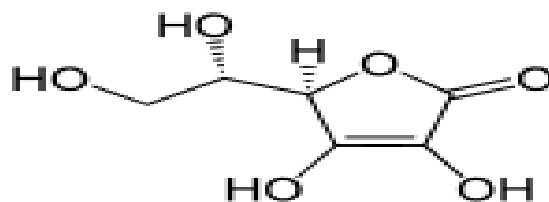


Figure 17: structure chimique de l'acide ascorbique (Vitamine C) (Vertuani, 2004).

- **Caroténoïdes**

L'activité antioxydante de ces molécules repose principalement sur la présence de nombreuses doubles liaisons conjuguées au sein de leur structure (Mortensen *et al.*, 2001).

Généralement, elles interagissent avec les radicaux libres (ROO^+ , R^+) par 3 mécanismes, soit par l'abstraction d'hydrogène, transfert d'électrons ou addition du radical (El-Agamey *et al.*, 2004).

Chapitre III : Activité anti-oxydante

- **Composés phénoliques :**

Ces substances sont très utilisées dans la médecine traditionnelle et moderne pour leurs activités antioxydantes (**Rice-Evans *et al.*, 1996 ; Kolesnikov et Gins, 2001**). Vu leurs propriétés redox les plus élevées, les polyphénols agissent comme des agents réducteurs, donneur d'hydrogène, en piégeant les radicaux libres et en chélate les ions (**Rice-Evans *et al.*, 1995; Cook et Samman, 1996; Valko *et al.*, 2006**).

Chapitre IV :
Modèle Botanique a des effets anti-
oxydants contre les nanoparticules
« Aloé vera »

1-Présentation de l'Aloé Vera

1-1 Historique

Le mot Aloe vient de l'arabe « alloeh » signifiant brillant et amer. Il fait référence au goût amer du latex d'*Aloe vera*. Le mot Vera quant à lui vient du latin, signifiant vérité (**Boudreau et Beloud, 2006**).

Les premières traces de l'utilisation de l'Aloès ont été retrouvées en Mésopotamie sur des tablettes d'argiles datant de 2100 avant J-C. Pas moins de douze papyrus ont par la suite été retrouvés mentionnant son usage. Surnommée la « plante de l'immortalité » par les égyptiens, elle est présente dans de nombreux mythes et légendes faisant même référence à son utilisation par les deux reines Cléopâtre et Néfertiti. Mais la réputation de l'*Aloe vera* ne se cantonne pas à l'Egypte puisque la plante était utilisée dans de nombreuses médecines traditionnelles notamment arabe, chinoise, grecque ou romaine. Quelques physiciens considérés comme les pères de la médecine moderne (Pline l'Ancien et Galien) l'utilisaient déjà dans leurs recettes thérapeutiques (**Atherton, 1998**).

Le principal aloès utilisé depuis les années 90 est l'*Aloe vera* dont les propriétés sont mises en avant par de grandes compagnes marketing afin de le présenter comme une alternative aux médecines classique (**Morin, 2008**).

1-2 Systématique

En botanique, il existe plusieurs systèmes de classification, la classification traditionnelle étant à distinguer de la classification APG (Angiosperm Phylogeny group).

L'*Aloe vera* n'appartient pas à la même famille selon le système de classification utilisé.

1-2-1 Selon la classification de CRONQUIST (1981)

La classification de *Cronquist* est une classification des Angiospermes. Elle est la dernière version des classifications majeures. Elle repose essentiellement sur des critères morphologiques, anatomiques et chimiques. Ainsi, les végétaux présentant un nombre élevé de ressemblance sont réunis au sein d'une même famille.

L'*Aloe vera* est donc classé comme suit :

Le règne des Plantes (Plantae)

Le sous-règne des Trachéophytes (Trachéobionta)

L'embranchement des Spermaphytes (Spermatophyta)

Le sous-embranchement des Angiospermes (Magnoliophyta, plantes à fleurs)

La classe des Monocotylédones (Liliopsida)

La sous-classe des Liliidae

L'ordre des Liliales

La famille des Aloaceae

Le genre Aloe L.

L'espèce : Aloe Vera (L.) Burm.f.

1-2-2 Classification APG III (2009)

Il s'agit de la troisième version de la classification moléculaire et cladistique des Angiospermes, établi par l'Angiosperms Phylogeny Group, version revisitée de la classification APG de 1998 et APG II de 2003. Plus récente, cette classification est basée sur deux gènes chloroplastiques et un gène nucléaire du ribosome.

- Le clade des Angiospermes

- Le clade des Monocotylédones

- L'ordre des Aspara

- La famille des Xanthorrhoe

- La sous-famille des *Asphodeloideae* (APGIII, 2009)

1-3 Description botanique

L'Aloès se distingue par des feuilles lancéolées, charnues, avec des bords épineux en dents de scie ; ces feuilles poussent en rosette et fournissent une résine amère employée en médecines comme laxatif et purgatif. Ses fleurs sont tubulaires et poussent autour d'une hampe centrale (Nacef et djerroumi, 2012).

Après 4 à 5 ans, la plante peut atteindre jusqu'à un mètre de hauteur. La feuille est la partie de l'*Aloe Vera* la plus utilisée, une écorce en recouvre la totalité (l'épiderme), sous cette écorce, une mince couche vasculaire se présente sous forme de gel jaune (le latex). Puis, à l'intérieur se trouve une pulpe blanche (le gel) (Eshun, 2004) (Fig. 18) et (Fig. 19).



Figure 18 : Photo présente la Plante d'Aloe vera

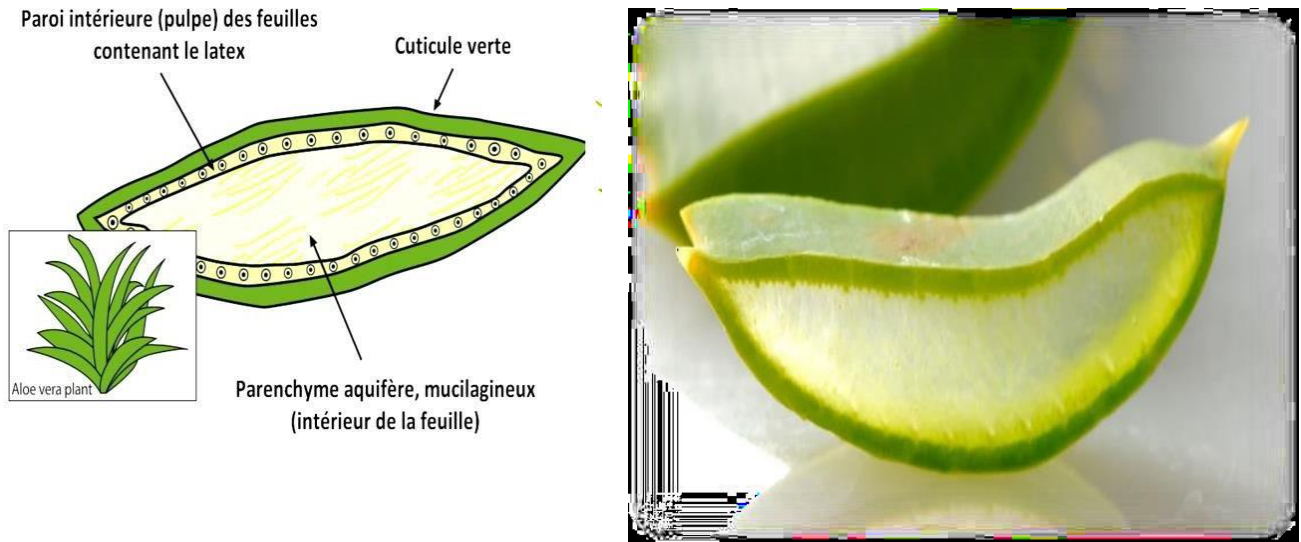


Figure 19 : Coupe transversale d'une feuille d'*Aloe Vera* (Eshun, 2004).

1-4 Origine, habitat et distribution géographique

L'*Aloe vera* pousse actuellement à l'état naturel en Afrique du Nord, en Afrique orientale et Afrique du Sud, en Turquie, sur les îles de Canari, à Madère, sur les îles de Cap Vert, dans le Caucase, dans les Caraïbes, en Amérique du Sud, en Amérique Centrale, dans le sud des Etats-

Chapitre IV :Modèle Botanique a des effets anti-oxydants contre les nanoparticules

Unis (Californie, Texas, Arizona et Floride), en Polynésie, en Inde, au Sri Lanka, en Chine méridionale et en Australie.

Dans la plupart de ces pays, l'Aloe vera est également cultivée pour répondre à la demande internationale, en constante augmentation.

Pour l'Afrique et autres pays en développement, cela pourrait donc devenir une manne financière.

La qualité, en termes de valeur nutritionnelle, est toutefois très variable d'une provenance à l'autre, car elle dépend beaucoup de la nature du sol, températures et du degré d'ensoleillement.

Les aloès sont des plantes des zones tropicales et subtropicales ils sont originaires d'Afrique : 144 espèces viennent d'Afrique du Sud et 45 de Madagascar . Quant à l'*Aloe vera* le plus septentrional de tous, il serait originaire d'Afrique du Nord (**Fleurentin, 2004 ; Helle, 2006**).

2- Utilisation de la plante

L'*Aloe Vera* est une plante à plusieurs usages et utilisations parmi ceux-ci nous citons:

2-1 Utilisations alimentaires

Les Aloés sont des plantes riches en différent nutriment de haute valeur nutritionnelle, telle que : les vitamines, les minéraux, les sucres et les protéines...etc. (**Bassetti et Sala, 2005**).

Le gel des Aloés est utilisé comme une source nutritionnelle (complément alimentaire) dans l'industrie agroalimentaire, surtout pour la préparation des boissons de santé sans effets laxatif, il est aussi utilisé comme ingrédients dans divers produits alimentaires par exemple, produits laitiers, crème glacée, la confiserie ...etc. (**Ramachandra et Rao, 2008**).

L'*Aloe Vera* peut être consommée comme légume (au Japon) et être transformé en nourriture ou boissons (**Chang et al., 2011**).

2-2 Utilisations cosmétiques

L'industrie des produits cosmétiques utilise de plus en plus le gel des Aloés pour ses propriétés (hydratantes) dans la formulation des baumes pour les lèvres, des masques, de crèmes et produits solaires pour éviter et guérir les brûlures. Aussi bien dans les dermatites obtenues après irradiation par les rayons que dans les brûlures accidentelles. Le gel accélère la guérison plus ou moins selon leur gravité, ainsi l'Aloès en crème de peau a les propriétés de supprimer les

Chapitre IV :Modèle Botanique a des effets anti-oxydants contre les nanoparticules

boutons, la poudres d'Aloès dans les produits et les savons de douche a un excellent effet anti-irritant et de désodorisant (Li, 2009).

2-3 Utilisation comme produits de santé

Les produits de santé d'aloès peuvent être employés extérieurement ou intérieurement (Schweizer, 2006). Il y a des capsules et des comprimés d'*Aloe vera* au marché (Li, 2009).

En Afrique du sud, une décoction de feuilles est administrée aux femmes pour faciliter leur accouchement, en Italie des jus de feuille d'*Aloe vera* sont commercialisés comme des boissons curatives (Fakim et Schmelzer, 2008).

3- Composition chimique

Le suc et le gel qui sont contenus dans la feuille d'*Aloe vera* ont un aspect et des compositions chimiques différentes. Les composants contenus dans la feuille sont décrits dans (Tab. 02).

Tableau 02 : Résumé de la composition chimique des feuilles d'Aloé vera (Gel et Sec)

Antrhanones	Aloïne Aet B (ou barbaloinés), aloé-émodyne, acide aloétyque, acide chrysophanique, aloé-ulycine, anthracène et anthranol, émodyne d'aloès, ester d'acide cinnamique, huile éthyryale, résestanol
Chromones	8-C-glucosyl-(2'-O-cinnamoyl)-7-O-methylaloediol A,8-C-glucosyl- (S)-aloesol, 8-C-glucosyl-7-O-methyl-(S)-aloesol,8-C-glucosyl-7-O-methylaloediol, 8-C-glucosyl-noreugenin, isoaleresin D, isorabaichromone, neoaloesin A
Mono- et polysacharides	Glucose, mannose, cellulose, aldo-pentose, L-rhamnose, acemannan, aloéride
Acides aminés essentiels	Isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, valine.
Acides aminés secondaires	Acide aspartique, acide glutamique, alanine, arginine, cystine, glycine, histidine, proline, hydroxyproline, sérine, tyrosine
Minéraux et oligoéléments	Calcium, chlore, cuivre, chrome, fer, lithium, magnésium, manganèse, phosphore, potassium, sodium, zinc
Vitamines	A, B1, B2, B3, B6, B9, B12, C, E
Enzymes	Phosphatase alacaline, amylase, bradykinase, carboxypeptidase, catalase, cellulase, lipase, peroxydase
Composants organiques et lipides contenus dans le sel	Stérols (béta-sitostérol, lupéol, campestérol, cholestérol), acide salicylique, gibbérelline, lupéol, lignines, acide urique, acide arachidoniques.

3-1 Composition de suc

Aussi appelé latex ou sève, il est contenu dans l'épiderme supérieur et inférieur (cellules péricycliques) de la feuille d'*Aloe vera*. Cette sève jaune et amère renferme 20 à 40% de dérivés anthracéniques également appelés anthraquinones, et aussi des chromones. Absorbées en grande quantité, les anthraquinones ont un effet laxatif, mais en faible concentration elles sont des puissants antimicrobiens et faciliteraient l'absorption intestinale (SIMS *et al.*, 1971). Elles sont également fortement analgésiques.

Les dérivés anthraquinoniques ont souvent été détectés et identifiés (Koshioka *et al.* 1982 ; Grindlay et Reynolds, 1986 ; Holzapfel *et al.* 1997).

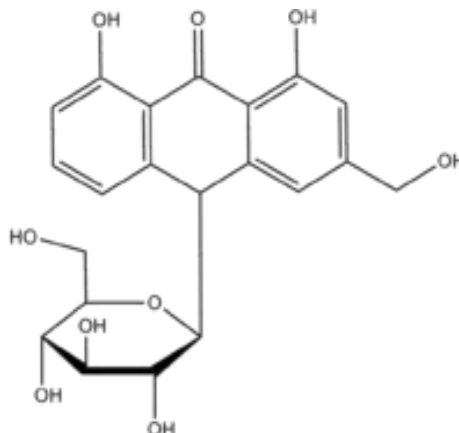
Ils sont présents en grand nombre et leurs propriétés thérapeutiques diffèrent entre elles :

- **Aloïne** (glucoside de l'aloé-émodyne) qui représente 15-40% du suc, et qui en s'hydrolysant dans le tube digestif, libère l'aloé-émodyne (Fig.). Il s'agit des aloïnes A et B, connues sous le nom de barbaloïnes, composants majeurs de la sève qui possèdent des propriétés analgésiques, antibactériennes, antivirales. L'aloïne a été identifié comme le composant actif aux propriétés laxatives.

- **Aloé-émodyne** : stimulant irritant du tube digestif, qui est également antifongique, antibactérien, hépatoprotecteur, antiviral et antitumoral (REUTER *et al.*, 2008).

. Cette dernière propriété thérapeutique serait liée à l'inhibition de la sécrétion d'urokinase et la formation de tubules dans les cellules endothéliales (deux mécanismes clés dans l'angiogenèse) (CÁRDENAS *et al.*, 2006).

- **Aloé-émodyne-9-anthrone** : métabolite de l'isobarbaloïne, puissant agent laxatif.



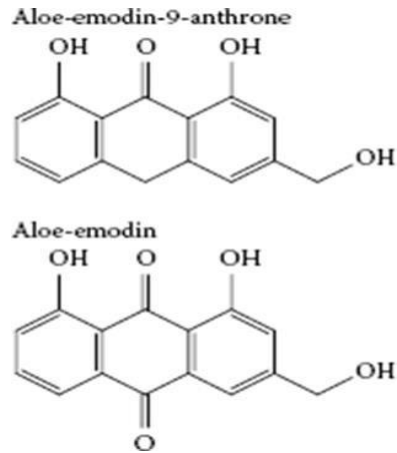


Figure 20 : Structure chimique respectives de l'Aoine, de l'Aloe-emodine contenue dans la sève d'Aloe Vera (ASHUTOSH, 2003)

- **Acide aloétique** : ses propriétés sont encore peu connues, mais il aurait un effet antibiotique naturel, en particulier quand il est associé aux autres anthraquinones présentes dans le suc.
- Acide chrysophanique : stimule la sécrétion de bile, fongicide (champignons cutanés).
- Aloe-ulcine : inhibition des sécrétions gastriques.
- Anthracène et anthranol : formes réduites des anthraquinones.
- Ester d'acide cinnamique : aurait un rôle dans le processus inflammatoire, en agissant tant qu'analgésique et anesthésique.
- Huile étheriale : analgésique.
- Resestanol : bactéricide et anti-inflammatoire, son action serait équivalente à celle d'un corticoïde naturel.

A doses élevées, ces molécules peuvent être toxiques pour les cellules.

Des anthraquinones similaires ont été trouvées dans la rhubarbe, la cascara, et le séné, qui sont connus pour leurs vertus laxatives et digestives.

Des chromones sont également présentes dans le suc d'*Aloe vera*. Une étude a isolé 8 chromones différentes, ayant des propriétés inhibitrices de l'activité de l'enzyme béta-sécrétase BACE1, impliqué dans la maladie d'Alzheimer : isoaloérésine D, allo-aloérésine D, rebaichromone, 8-C-glucosyl- 7-methoxy-(R)-aloesol, 8-C-glucosyl-(R)-aloesol, aloesine, 8-C-glucosyl-7-O-methylaloeol, la 8ème chromone étant le plus puissant inhibiteur de BACE1(C₂₀H₂₄O₈) (LV et al., 2008).

3-2 Composition de gel

Le gel est contenu à l'intérieur des cellules polyédriques de la zone centrale de la feuille. On le prélève avec soin en retirant l'épiderme.

La description de l'intérieur de la feuille peut porter à confusion car on trouve de nombreux termes pour le désigner : pulpe interne, parenchyme ou tissu mucilagineux, gel ou gelée mucilagineuse, gel interne. En réalité, le terme « pulpe » ou « parenchyme » désigne la partie intacte charnue de la feuille d'*Aloe vera*, contenant entre autre la paroi des cellules et les organites, alors que le terme « gel » ou « mucilage » se réfère au seul liquide visqueux contenu dans les cellules (NI et al., 2004).

Le gel contient de nombreux polysaccharides, dont la plus forte concentration se trouve juste sous la surface de la feuille.

Les monosaccharides trouvés dans le gel sont le glucose, qui représente près de 95% des monosaccharides totaux et le mannose.

On trouve aussi des polysaccharides, qui confèrent au gel de nombreuses propriétés tels qu'un effet cicatrisant, hypoglycémiant, immunomodulateur, antifongique et anti-inflammatoire. Ces polysaccharides sont la cellulose, l'aldopentose, le L-rhamnose, mais aussi un polysaccharide particulier, lacemannan (Yaron, 1993 ; Femenia et al. 1999 ; Paez et al. 2000).

L'acemannan, mannose acétylé de chaîne moléculaire longue (Fig. 21), est très intéressant du fait de ses nombreuses propriétés :

- Activité antitumorale
- Stimulation du système immunitaire avec Stimulation de la production de macrophages et augmentation de la capacité des lymphocytes T.

- Effet antiviral (TIZARD et RAMAMOORTHY, 2004).

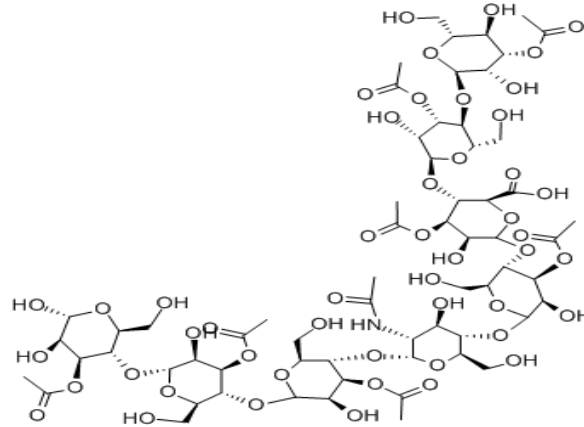


Figure 21: Structure chimique de L'ACEMANNAN
(LUTA G et MCANALLEY, 2005)

D'autres polysaccharides ont été isolés dans le gel :

-Un polysaccharide de haut poids moléculaire, l'aloéride, qui possède une activité immunostimulante importante.

Il a été isolé récemment dans les boissons commerciales à base d'*Aloe vera* (PUGH, 2001)

-Trois glucanes maloyl, veracylglucane A, B et C. Le veracylglucane B a montré *in vitro* des puissants effets anti-inflammatoires et antiprolifératifs, alors que le C a eu une action antagoniste et compétitive en favorisant la prolifération cellulaire. Le veracylglucane A a été isolé en plus petites quantités et est apparu instable (PARRA *et al.*, 2001)

Les acides aminés sont nécessaires à la synthèse des protéines, ont un rôle métabolique et peuvent jouer le rôle de neuromédiateurs. Le gel en contient 18, dont le plus abondant retrouvé est l'arginine (Waller *et al.*, 1978) puis l'acide glutamique (Kahn, 1983).

Selon les études, les proportions des minéraux et oligo-éléments diffèrent selon l'âge et la partie de la feuille utilisée. On notera seulement que le gel d'*Aloe vera* contient du calcium, du chlore, du cuivre, du chrome, du fer, du lithium, du magnésium, du manganèse, du phosphore, du

Chapitre IV :Modèle Botanique a des effets anti-oxydants contre les nanoparticules

potassium, du sodium, et du zinc ; les plus abondants étant le calcium, le potassium, le magnésium et le sodium.

On trouve de nombreuses vitamines dont :

- **La vitamine A ou rétinol** : essentielle pour la vision, la multiplication cellulaire et les trophicités épithéliale et tissulaire.

- **La vitamine B1 ou thiamine** : elle joue un rôle métabolique essentiel, nécessaire au fonctionnement cellulaire et à la transmission de l'influx nerveux.

- **La vitamine B2 ou riboflavine** : importante pour la santé de la peau et des tissus.

- **La vitamine B3 ou vitamine PP ou nicotamide** : aide à réguler le métabolisme.

- **La vitamine B6 ou pyridoxine** : intervient comme coenzyme dans de nombreuses réactions, notamment celles qui impliquent les acides aminés.

- **La vitamine B9 ou acide folique** : indispensable à la maturation des érythrocytes.

- **La vitamine B12** : essentielle pour le maintien de l'intégrité du système nerveux et pour l'hématopoïèse. Rappelons que la vitamine B12 existe rarement dans les plantes. Il semblerait que l'*Aloe vera* n'en contienne que des traces infimes et cela même reste controversé.

- **La vitamine C ou acide ascorbique** : stimule le système immunitaire et possède des propriétés anti-oxydantes.

- **La vitamine E ou tocophérol** : agit comme agent antioxydant et au niveau de la synthèse de l'hème.

Le gel contient certaines enzymes : phosphatase alcaline, amylase, bradykinase, carboxypeptidase, catalase, cellulase, lipase et peroxydase.

La bradykinase contribue à réduire l'inflammation excessive lorsqu'elle est appliquée sur la peau par voie topique, tandis que les autres aident à la dégradation des sucres et des graisses (**AMAR SURJUSHE, 2008**).

Chapitre IV :Modèle Botanique a des effets anti-oxydants contre les nanoparticules

On trouve dans le gel la présence de β -sitostérol, de lupéol (alcool triterpénique qui possède des propriétés antalgiques et antimicrobiennes), de campestérol (**Waller et al., 1978**).

De par leur structure similaire, ces phytostérols lorsqu'ils sont en présence de cholestérol, empêchent mutuellement leur solubilité respective. Une augmentation importante de la quantité de phytostérols entraîne donc une diminution de la solubilité du cholestérol et provoque une augmentation de sa précipitation et de son élimination fécale. Par conséquent, ils peuvent lutter contre l'excès de cholestérol [144].

Le gel contient d'autres constituants comme :

- **Lectines**, glycoprotéines aux propriétés immunostimulantes (**Winters, 1993**).
- **Acide salicylique**, composant ayant des propriétés antalgiques, antipyrétiques, et anti-inflammatoires.
- **Alprogène** : glycoprotéine ayant des propriétés antiallergiques.
- **Acide urique**, acide arachidonique
- **Gibbérelline** : phytohormone
- **Lignines** : pénètre facilement l'épiderme et permet le passage des autres constituants à travers la peau (**Paez et al. 2000**).

4- Propriétés thérapeutiques

Le tableau suivant résume toutes les propriétés thérapeutiques de différents constituants de suc et gel d'Aloé vera (**Tab. 03**).

Tableau 03 : Les différentes propriétés thérapeutiques d'utilisation d'Aloé vera

Les propriétés	Les cas et les maladies traitant
- Les propriétés anti-radicalaires	- Hydratation - Anti-Age
- Les propriétés cicatrisantes des divers affections dermatologiques	- Brûlures - Plaies - plaies cutanées - Plaies post Hemorroïdectomie

Chapitre IV :Modèle Botanique a des effets anti-oxydants contre les nanoparticules

	<ul style="list-style-type: none"> - Plaies chirurgicales - Plaies ischémiques - Ulcères de jambes - Dermatite due aux rayons X - Psoriasis - Gale - Erythème Fessier - Herpes Génital - Dermite séborrhéique
Propriétés thérapeutiques dans les maladies parodontales	
- Les propriétés des affections buccales	<ul style="list-style-type: none"> - Lichen plan buccal - Mucite induite par la radiothérapie - Plaque dentaire et gingivite - Les Aphtes
- Les propriétés Gastro-Intestinales	<ul style="list-style-type: none"> - Constipation - Ulcère gastrique - Colique ulcéreuse
- Les propriétés Anti-Infectieuses	<ul style="list-style-type: none"> - Anti-Bactérienne - Anti-Fongique - Anti-Virale
- Les propriétés Immunostimulantes	
- Les propriétés Anti-Allergique	
- Les propriétés Anti-Inflammatoires	
- Les propriétés Anti-Diabétiques et Anti-Cholesterolemiantes	
- Les propriétés Hépto-protection	
- Les propriétés Anti-Tumorales	
- Les propriétés Anti-Oxydant	

Chapitre IV :Modèle Botanique a des effets anti-oxydants contre les nanoparticules

Dans notre recherche bibliographique, on a intéressé par la propriété Anti-oxydante de différentes espèces de la plante (Aloè Vera) surtout contre la nanotoxicité due par les nanoparticules.

5- Composants ont effets antioxydants d'Aloé vera

Selon **Buttke et Trope**, ces ingrédients antioxydant sont constitués de polyphénols, flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, huiles essentielles responsables de l'activité antioxydant de la plante (**Dawidowicz et Olszowy, 2012**).

Dans une étude menée en **2017**, montré l'efficacité de l'espèce *Aloès Schureenfurthii* dans la conservation des cellules vivantes (**Mengong et al., 2020**).

La présence de polyphénols justifierait l'activité antioxydante du gel d'Aloé vera selon les travaux de (**Maleki et al., 2019**).

En effet, les travaux d'**Ebrahimzadeh et al.**, ont montré que les phénols, alcaloïdes et flavonoïdes possèdent des activités antioxydantes (**Ebrahimzadeh et al., 2010**).

Le mécanisme d'action antioxydant des flavonoïdes est variable; Ils peuvent avoir des effets prooxydants sur la peroxydation des lipides et sur l'ADN (**Daas Amiour et al., 2013**).

Les flavonoïdes en plus de leurs activités anti-oxydantes, présentent des activités anti-inflammatoires, antibactériennes, (**Maleki et al., 2019**) pouvant expliquer la survie pendant un temps prolongé des cellules parodontales.

Les résultats trouvés de l'étude des activités biologiques des composés phénoliques étudiés par **Amiour D et al** qui montrent que les acides phénols sont antioxydants de même que les flavonoïdes (**Daas Amiour et al., 2013**).

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire par la méthode de 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) montre que l'extrait aqueux du gel d'aloès Vera est actif et concentre des constituants chimiques.

Donc l'extrait possède la capacité de donner de l'hydrogène à un radical libre. Les polyphénols retrouvés dans l'extrait du gel d'aloès 50%, sont considérés comme un groupe majeur de composés qui contribue aux activités anti-oxydantes des Aloès en tant que piègeurs de radicaux libres en raison de leurs groupes hydroxyle (**Ekou Tchirioua et Kone Mamidou Witabouna, 2018**)

Pour certains auteurs le piégeage permet de balayer les dommages oxydatifs potentiels causés par les radicaux libres (**Jamila Hadj Salem, 2018**).

Chapitre IV :Modèle Botanique a des effets anti-oxydants contre les nanoparticules

En effet il a été démontré que les polyphénols possèdent de très intéressantes propriétés d'inhibition envers la peroxydation des lipides, ainsi que des propriétés capteurs de radicaux libres contre les anions superoxydes. L'évaluation de l'activité réductrice par la méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power Assay) a montré que l'extrait du gel d'Aloé Vera avait à une activité chélatrice de métaux avec un pouvoir réducteur de fer ferrique en fer ferreux. Ce pouvoir réducteur peut être dû à la présence des phénols et des acides flavonoïques.

Les composés phénoliques, les terpénoïdes et l'acide ascorbique sont de puissants antioxydants, des piègeurs de radicaux libres (EOR, radicaux hydroxyles et l'oxyde nitrique) qui peuvent agir comme donneurs d'électrons, agents réducteurs, chélateurs de métaux et quencheurs d'oxygène singulet (**Elumalai et al., 2015**).

Ces actions leur permettent ainsi d'éviter l'oxydation et par conséquent la mort cellulaire ; ce qui est un grand atout pour la survie des cellules parodontales.

De plus on reconnaît dans la littérature que l'Aloès Vera est constitué d'une grande variété en nutriments et possède des capacités de régénération et de réparation (**Tudose et al., 2009**).

Certains métaux sous forme libre, tels que le cuivre ou le fer, sont particulièrement promoteurs de dommages radicalaires. L'activité enzymatique permet de métaboliser un grand nombre de radicaux libre.

5-1 Effets antioxydant et pro-oxydant des flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des composés avec une activité anti-oxydante prononcée (**Hodek et al., 2002**). Les flavonoïdes expriment les propriétés anti-oxydantes par : Le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ERO), La suppression de la formation des ERO par l'inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur production, La protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme (**Boudiaf, 2006**).

Les flavonoïdes sont des antioxydants mais il ne faut pas négliger leurs propriétés prooxydantes. Parfois les flavonoïdes jouent un rôle de pro-oxydants.

En effet, plusieurs d'entre eux ont été décrits comme responsables d'auto-oxydation et de la génération de radicaux oxygénés actifs, comme le peroxyde d'hydrogène. En définitive, certains flavonoïdes pourraient accélérer la survenue de l'atteinte oxydative de l'ADN, des protéines et des

glucides in vitro. Alors, le potentiel pro-oxydant de ces composés ne doit pas être négligé dans le mécanisme d'action des flavonoïdes (Milane, 2004).

5-2 Mécanismes et pouvoir antioxydant des polyphénols :

Plusieurs études épidémiologiques ont montrés qu'il y a un rapport inverse entre la prise d'aliments riches en polyphénols et le risque des maladies neuro-dégénératives (Hu, 2003 ; Bubonja-Sonja *et al.*, 2011).

Cette relation est liée au fait que les composés phénoliques possèdent des propriétés antioxydantes et sont capables de piéger les radicaux libres générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement tels que O₂ (Superoxyde anion), HO₂ (Superoxy radical), H₂O₂ (Hydrogène peroxyde), OH (Hydroxyle Radical), RO· (Alkoxy radical), ROO· (Peroxyde Radical) (Bors, 1990 ; Yamasaki *et al.*, 1996) ils formeraient des espèces radicalaires intermédiaires peu réactives (Laughton *et al.*, 1989 ; Puppo, 1992).

5-3 Dérivés anthraquinoniques :

L'aloé-émodyne, un dérivé anthraquinonique, a semblé être l'un des principaux composés qui a contribué à l'activité antioxydante, avec une capacité antioxydante de 78% comparée au 96% du composé synthétique de référence, BHA (ButylHydroxyAnisole). L'aloé-émodyne a également entraîné une réduction de l'hépatite aiguë induite par un dérivé chloré dans le foie de rat.

L'aloé-émodyne apparaît donc capable de protéger les hépatocytes de la réponse inflammatoire et de la mort, qui se produisent après la peroxydation lipidique. Les activités antioxydantes et « piégeurs de radicaux libres » de l'aloé-émodyne ont été proposées comme mécanisme de protection contre la peroxydation lipidique.

Certains dérivés quinoniques ont montré un léger effet sur la chélation du fer Fe²⁺. Apparemment, la chélation du fer est dépendante du nombre de groupes hydroxyles que possèdent les dérivés anthraquinoniques. Les anthrones et les anthraquinones d'*Aloe vera* ont montré une faible habilité à chélater le fer.

Conclusion

Conclusion

Conclusion :

Au terme de cette étude bibliographique, essentiellement consacré à l'étude de monde des nanoparticules, d'une part, de la phytothérapie et l'activité antioxydante d'un modèle botanique « Aloé vera », il nous parait important de dégager les principales observations.

D'abord, les nanoparticules bénéficient d'une chimie très inventive et prolifique, non seulement dans les laboratoires, mais aussi industrielle qui entraîne leur présence accrue dans notre environnement. La métrologie reste pour l'instant peu efficiente avec comme conséquence une toxicologie en manque de données d'exposition externe et interne, et une incertitude sur la qualification des dangers et la quantification des risques.

Bien que les recherches sur les risques sanitaires des nanoparticules se soient énormément développées ces dernières années, beaucoup reste à faire pour bien comprendre leurs effets biologiques et évaluer les dangers pour la santé.

La plupart des données existantes, obtenues expérimentalement chez l'animal et sur des cellules en culture, ne sont pas extrapolables directement à l'homme. Cependant, elles ont permis d'avancer considérablement dans la compréhension des interactions entre les nanoparticules et les organismes vivants. Les découvertes sur les capacités d'interaction des nanoparticules avec les fluides biologiques – mucus, surfactant et protéines du sérum – permettent de mieux comprendre leurs propriétés de passage des barrières biologiques – alvéolocapillaire, intestinale mais également hémato-encéphalique et placentaire. Il apparaît déjà que les propriétés de surface des nanoparticules jouent un rôle essentiel dans ces passages. Un autre facteur important, qui aura sûrement une valeur décisive dans les calculs d'analyse de risque pour la santé, est celui de l'accumulation de nanoparticules dans des organes cibles et de leur biopersistance, même si ce passage et cette accumulation sont très faibles.

On sait, depuis les crises sanitaires associées à la nanotechnologie, que l'accumulation de ces nanoparticules peut sur le long terme être à l'origine de pathologies aussi graves que la fibrose pulmonaire et les cancers du poumon et de la plèvre. Cet état de fait est certainement à prendre en compte de façon prioritaire dans la mesure où l'exposition aux nanoparticules, même si elle est faible, est quotidienne pour les travailleurs impliqués dans les industries et pour de nombreux consommateurs.

Dans le cadre pour combattre les risques des nanoparticules, beaucoup des recherches sont réalisées sur les plantes médicinales pour trouver leurs effets antioxydants contre les

Conclusion

nanoparticules. Au cours de cette recherche bibliographique menée sur les aloès et en particulier l'*Aloe vera*, montre que la composition chimique de sève et de gel d'Aloé vera possèdent des activités antioxydants.

L'activité anti-oxydante est un point important de l'activité pharmacologique de l'*Aloe vera*. Les dérivés anthraquinoniques et les chromones exercent une action directe en réduisant et en détruisant la production de radicaux libres. Le gel d'*Aloe vera* exerce également une activité anti-oxydante indirecte en augmentant la synthèse d'enzymes anti-oxydantes. Cette double action permet de maintenir l'intégrité des membranes lipidiques et de protéger l'ADN.

L'activité anti-oxydante semble être déterminante dans le contrôle du métabolisme glucidique. En effet, le gel réduit le stress oxydatif s'exerçant sur les cellules bêta pancréatiques et maintient ainsi l'intégrité de la fonction de régulation de la glycémie.

En fin, le climat, la saison, la nature du sol de culture, l'heure et la méthode de récolte, le processus et les conditions de stockage affectent la composition chimique et par conséquent l'activité biologique potentielle de la plante.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- Abuja P.M., and Albertini R. 2001:** Method for monitoring oxidative stress; lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica chimica acta*, 306, p 1-17.
- Aderem, A., and Underhill, D.M. 1999:** Mechanisms of phagocytosis in macrophages. *Annu. Rev. Immunol.* 17, 593–623.
- Aitken., 2004:** Nanoparticles : an occupational hygiene review.
- Akiyama, I., Ogami, A., Oyabu, T., Yamato, H., Morimoto, Y., and Tanaka, I., 2003:** Clearance of deposited silicon carbide whisker from rat lungs inhaled during a week exposure. *J. Occup. Health*
- Albanese, A., Tang, P.S., and Chan, W.C.W., 2012:** The effect of nanoparticle size, shape, and surface chemistry on biological systems. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 14, 1–16.
- Andre, P., Capo, C., Benoliel, A.M., Buferne, M., and Bongrand, P., 1990 :** Analysis of the topological changes induced on cells exposed to adhesive or mechanical stimuli. *Cell Biophys.* 16, 13–34.
- Arnida, Janát-Amsbury, M.M., Ray, A., Peterson, C.M., and Ghandehari, H., 2011:** Geometry and surface characteristics of gold nanoparticles influence their biodistribution and uptake by macrophages. *Eur. J. Pharm. Biopharm. Off. J. Arbeitsgemeinschaft Für Pharm. Verfahrenstechnik EV 77*, 417–423.
- Avelar-Freitas, B.A., Almeida, V.G., Pinto, M.C.X., Mourão, F. a. G., Massensini, A.R.,**

Reference bibliographiques

Martins-Filho, O.A., Rocha-Vieira, E., and Brito-Melo, G.E.A., 2014: Trypan blue exclusion assay by flow cytometry. Braz. J. Med. Biol. Res. Rev. Bras. Pesqui.

Médicas E, Biológicas Soc. Bras. Biofísica Al 47, 307–315.

Anne-Sophie Nogaret-Ehrhart., 2003 : La Phytothérapie Se Soigner Par Les Plantes

Groupe Eyrolles, 2003, ISBN 2-7081-3531-7. Suisse. P : 25-3

Ali-Dellile L., 2013 : Les plantes médicinales d'Algerie. Berti Edition Alger 6-11.

Apel, K. et H. Hirt., 2004: Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction." Annual Review of Plant Biology 55: 373-399.

Algeciras., Cook W.J., Milz T.C., Saenge A.K. and Karon B.S., 2007: Evaluation of hemoglobin interference in capillary heel-stick samples collected for determination of neonatal bilirubin. Clinical biochemistry, 40, p 311-1316.

B

Bézanger-Beauquesne L., Pinkas M., Torck M., 1986 : Les plantes dans la thérapeutique moderne, 2 ème édition révisée, Ed. Maloine éditeur.

Bézanger-Beauquesne L., Pinkas M., Torck M., 1975 : Les plantes dans la thérapeutique moderne, 1ère édition, Ed. Maloine S.A. éditeur.

Botineau M., 2011 : Guide des plantes médicinales. Paris : Belin., p239 .

Bunchorntavakul C, Reddy K.R., 2013: herbal and dietary supplement hepatotoxicity. Alimentary Pharmacology and Therapeutics, 37: 3-17.

Benhamza L., 2008 : Effets biologiques de la petite centauree erythraea centaurium, thèse de doctorat d'état, univ. Mentouri, Constantine, 55 p.

Reference bibliographiques

Brohan Yvan., 2012 : Remèdes, onguents, poisons : une histoire de la pharmacie. Paris :

La Martinière : Université Paris Descartes, 1 vol. 223 p.

Beloued A., 2001 : Médicinal plants in Algeria. University publications office, Algiers,

ISBN: 9961.0.0304.4, pp: 277.

Beaudeau J-L, Durand G., 2011 : Biochimie médicale - Marqueurs actuels et

perspectives (2e ed.)” . ; MÉDECINE SCIENCES PUBLICATIONS /

LAVOISIER ,Année 9/2011.

Belaich, R. and Boudjraf, S., 2016 : Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. Médecine des Maladies Métaboliques, 10(1), pp.38-42.

Buettner G.R., 1993: The pecking order of free radicals and antioxidants, lipid

Barolo, C., Yum, J.-H., Artuso, E., Barbero, N., Di Censo, D., Lobello, M.G., Fantacci, S., De Angelis, F., Grätzel, M., Nazeeruddin, M.K., 2013: A simple synthetic route to obtain pure trans-ruthenium(II) complexes for dye-sensitized solar cell applications. ChemSusChem 6, 2170–2180.

Barrán-Berdón, A.L., Pozzi, D., Caracciolo, G., Capriotti, A.L., Caruso, G., Cavaliere, C., Riccioli, A., Palchetti, S., and Laganà, A., 2013: Time evolution of nanoparticle-protein corona in human plasma: relevance for targeted drug delivery. Langmuir ACS J. Surf. Colloids 29, 6485–6494.

Benmerah, A., and Lamaze, C., 2002: Endocytose : chaque voie compte ! MS Médecine Sci. 18, 1126–1136.

Blidberg, K., Palmberg, L., Dahlén, B., Lantz, A.-S., and Larsson, K., 2012: Chemokine release by neutrophils in chronic obstructive pulmonary disease. Innate Immun. 18, 503–510.

Boca Raton, FL., 2007: CRC Press/Taylor & Francis, Nanomanufacturing handbook.

Reference bibliographiques

Boczowski, J., and Lanone, S., 2010: Nanoparticules : une prévention est-elle possible ? Rev. Fr. Allergol. 50, 214–216.

Boisselier, E., and Astruc, D., 2009: Gold nanoparticles in nanomedicine: preparations, imaging, diagnostics, therapies and toxicity. Chem. Soc. Rev. 38, 1759–1782.

Boumahdi, N., 2009 : Approche pluridisciplinaire de l'étude de l'activité biologique de particules fines.

Bressenot, A., Marchal, S., Bezdetsnaya, L., Garrier, J., Guillemin, F., and Plenat, F., 2009: Assessment of Apoptosis by Immunohistochemistry to Active Caspase-3, Active Caspase-7, or Cleaved PARP in Monolayer Cells and Spheroid and Subcutaneous Xenografts of Human Carcinoma. J. Histochem. Cytochem. 57, 289–300.

Brown, D.M., Kinloch, I.A., Bangert, U., Windle, A.H., Walter, D.M., Walker, G.S., Scotchford, C.A., Donaldson, K., and Stone, V., 2007: An in vitro study of the potential of carbon nanotubes and nanofibres to induce inflammatory mediators and frustrated phagocytosis. Carbon 45, 1743–1756.

BOUDREAU, M.D.; BELAND, F.A., 2006: Evaluation of the biological and toxicological properties of Aloe barbadensis (Miller), Aloe vera, J. Environ. Sci. Health C., 24, 103-154.

Bruce, P.G., Scrosati, B., and Tarascon, J.-M., 2008: Nanomaterials for Rechargeable Lithium Batteries. Angew. Chem. Int. Ed. 47, 2930–2946.

Bruch, J., Rehn, S., Rehn, B., Borm, P.J.A., and Fubini, B., 2004: Variation of biological responses to different respirable quartz flours determined by a vector model. Int. J. Hyg. Environ. Health 207, 203–216.

C

Champion, J.A., and Mitragotri, S., 2009: Shape induced inhibition of phagocytosis of polymer particles. Pharm. Res. 26, 244–249.

Chandolu, V., and Dass, C.R., 2013: Treatment of lung cancer using nanoparticle drug delivery systems. Curr. Drug Discov. Technol. 10, 170–176.

Reference bibliographiques

Chen, B., Liu, Y., Song, W.M., Hayashi, Y., Ding, X.C., and Li, W.H., 2011: In vitro evaluation of cytotoxicity and oxidative stress induced by multiwalled carbon nanotubes in murine RAW 264.7 macrophages and human A549 lung cells. *Biomed. Environ. Sci.* 24, 593–601.

Chimini, G., and Chavrier, P., 2000: Function of Rho family proteins in actin dynamics during phagocytosis and engulfment. *Nat. Cell Biol.* 2, E191–196.

Chithrani, B.D., Ghazani, A.A., and Chan, W.C.W., 2006: Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells. *Nano Lett.* 6, 662–668.

Cho, E.C., Xie, J., Wurm, P.A., and Xia, Y., 2009: Understanding the role of surface charges in cellular adsorption versus internalization by selectively removing gold nanoparticles on the cell surface with a I₂/KI etchant. *Nano Lett.* 9, 1080–1084.

Cho, W.-S., Choi, M., Han, B.S., Cho, M., Oh, J., Park, K., Kim, S.J., Kim, S.H., and Jeong, J., 2007: Inflammatory mediators induced by intratracheal instillation of ultrafine amorphous silica particles. *Toxicol. Lett.* 175, 24–33.

Choi, J., Burns, A.A., Williams, R.M., Zhou, Z., Flesken-Nikitin, A., Zipfel, W.R., Wiesner, U., and Nikitin, A.Y., 2007: Core-shell silica nanoparticles as fluorescent labels for nanomedicine. *J. Biomed. Opt.* 12, 064007.

Choi, K.Y., Liu, G., Lee, S., and Chen, X., 2012: Theranostic nanoplatfoms for simultaneous cancer imaging and therapy: current approaches and future perspectives. *Nanoscale* 4, 330–342.

Chung, T.-H., Wu, S.-H., Yao, M., Lu, C.-W., Lin, Y.-S., Hung, Y., Mou, C.-Y., Chen, Y.-C., and Huang, D.-M., 2007: The effect of surface charge on the uptake and biological function of mesoporous silica nanoparticles in 3T3-L1 cells and human mesenchymal stem cells. *Biomaterials* 28, 2959–2966.

Chusuei, C.C., Wu, C.-H., Mallavarapu, S., Hou, F.Y.S., Hsu, C.-M., Winiarz, J.G., Aronstam, R.S., and Huang, Y.-W., 2013: Cytotoxicity in the age of nano: The role of fourth period transition metal oxide nanoparticle physicochemical properties. *Chem. Biol. Interact.* 206, 319–326.

Reference bibliographiques

Coccini, T., Barni, S., Manzo, L., and Roda, E., 2013: Apoptosis induction and histological changes in rat kidney following Cd-doped silica nanoparticle exposure: evidence of persisting effects. *Toxicol. Mech. Methods* 23, 566–575.

Capasso F, Gaginella T, Grandolini G, and al. *Phytotherapy*, 2003 : A quick reference to herbal medicine. New york : Springer-Verlag Berlin Heidelberg, p. 9-10.

Catherine Monnier, 2002: Les plantes médicinales : vertus et traditions, Ed. Privat.

CARILLON Alain, 2009 : Place de la Phytothérapie dans les systèmes de santé au XXIème siècle. Séminaire International sur les Plantes Aromatiques et Médicinales. Djerba.

CHAPMAN T., 2004 : Manuel pour l'extraction des herbes. Bruxelles : Centre pour le développement de l'entreprise, 38 p.

Charrié J-C, Hedayat K, Chastel B, Cieur-Tranquard C, Combe P, Damak M., Lapraz J-C., 2017 : éditeur. *Plantes médicinales: phytothérapie clinique intégrative et médecine endobiogénique*. Paris, France: Lavoisier Tec & Doc.

Chemar K., 2016 : Etude ethnobotanique de quelques plantes médicinales spontanées de la région EL Outaya. Mémoire de Mester, Univ. Med Khider, Biskra, 8-11

D

Delattre, J., J.-L. Beaudoux et D. Bonnefont- Rousselot, 2005a : "Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques." 1- 23.

Delattre, J., J.-L. Beaudoux et D. Bonnefont- Rousselot 2005b : "Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques." 45-60.

Dawidowicz AL., Olszowy M., 2012: Mechanism change in estimating of antioxidant activity of phenolic compounds. *Talanta*. 2012 Aug 15; 97:312-7. doi: 10.1016/j.talanta.2012.04.036. Epub 2012 Apr 26. PMID: 22841085.

Reference bibliographiques

Dai, Q., Walkey, C., and Chan, W.C.W., 2014: Polyethylene glycol backfilling mitigates the negative impact of the protein corona on nanoparticle cell targeting. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* 53, 5093–5096.

Dausend, J., Musyanovych, A., Dass, M., Walther, P., Schrezenmeier, H., Landfester, K., and Mailänder, V., 2008: Uptake mechanism of oppositely charged fluorescent nanoparticles in HeLa cells. *Macromol. Biosci.* 8, 1135–1143.

DELILLE L., 2007 : Les plantes médicinales d'Algérie. Éd.BERTI, Alger,122 P

Durrity B., 1994 : Intoxication rapportée à la phytothérapie chinoise dans les pays occidentaux: analyse des causes.

DEVOYER J., 2012: Stéphane Korsia-Meffre, rédacteur et coordinateur du Guide des plantes qui soignent (éd. Vidal). Publié le 28.09.2012)

Dell'Orco, D., Lundqvist, M., Oslakovic, C., Cedervall, T., and Linse, S., 2010: Modeling the time evolution of the nanoparticle-protein corona in a body fluid. *PloS One* 5, e10949.

Dive, C., Gregory, C.D., Phipps, D.J., Evans, D.L., Milner, A.E., and Wyllie, A.H., 1992: Analysis and discrimination of necrosis and apoptosis (programmed cell death) by multiparameter flow cytometry. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Res.* 1133, 275–285.

Dobrovolskaia, M.A., Patri, A.K., Zheng, J., Clogston, J.D., Ayub, N., Aggarwal, P., Neun, B.W., Hall, J.B., and McNeil, S.E., 2009: Interaction of colloidal gold nanoparticles with human blood: effects on particle size and analysis of plasma protein binding profiles. *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.* 5, 106–117.

Donaldson, K., Brown, D., Clouter, A., Duffin, R., MacNee, W., Renwick, L., Tran, L., and Stone, V., 2002: The pulmonary toxicology of ultrafine particles. *J. Aerosol Med. Off. J. Int. Soc. Aerosols Med.* 15, 213–220.

Daas Amieur, S., Alloui-Lombarkia, O., Bouhdjila, F., 2014 : Étude de l'implication des composés phénoliques des extraits de trois variétés de datte dans son activité antibactérienne. *Phytothérapie;* 135–142.

Reference bibliographiques

Drescher, D., Orts-Gil, G., Laube, G., Natte, K., Veh, R.W., Österle, W., and Kneipp, J., 2011: Toxicity of amorphous silica nanoparticles on eukaryotic cell model is determined by particle agglomeration and serum protein adsorption effects. *Anal. Bioanal. Chem.* 400, 1367–1373.

Delattre J., Beaudeau J.L., Bonnefont-Rousselot D., 2005 : Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. *L'actualité chimique*, p 108- 115.

E

Edition la Rousse, 2019: Phytothérapie Vélizy : Hachette Livre, [s.d.].

Disponible sur : <http://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/phytotherapie/15365>

(Consulté le 28.04.2019)

Evans, P. et B. Halliwell, 1999: "Free radicals and hearing: Cause, consequence, and criteria." *Annals of the New York Academy of Sciences* 884: 19-40.

El-Agamey A., Lowe G.M., Mc Garvey D.J., Mortensen V., Phillip D.M. and Truscott T.G. 2004: Evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28, p 25–30.

Elumalai M, Cholan P, Kaur R, Mangaiyarkarasi S., 2015: Benefits of Aloe vera in dentistry. *Journal of Manigandan Pharmacy and Bioallied Sciences*; p 257.

F

FIALON Charles Henri., 1920 : Histoire des mots "Pharmacien" et "Apothicaire". In: *Bulletin de la Société d'histoire de la pharmacie*, 8e année, n° 28, pp. 262-269.

FONTAINE, E., BARNOUD, D., SCHWEBEL, C. AND LEVERVE, X., 2002 : Place des anti- oxydants dans la nutrition du patient septique : Antioxidants in critically ill patients. *Réanimation*, 11(6), PP.411-420.

FAVIER A., 2003 : Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, *l'actualité chimique*, P 108- 115.

Reference bibliographiques

Favier A., 2003 : Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique,

G

Guéguen Y, Mouzat K, Ferrari L., 2006 : Les cytochromes P450 : métabolisme des xénobiotiques, régulation et rôle en clinique. *Annales de Biologie Clinique*; 64 (6) : 535-48.

Gagnon A.C, Groleau P, Korsia-meffre S., 2010 : Le guide des plantes qui soignent. Issyles-Moulineaux : Vidal, 465 p

Guitard EH., 1955 : La période arabe de la science médicale : BEN YAHIA Boubaker, Aperçu sur la « période arabe » de l'histoire de la médecine. In : *Revue d'histoire de la pharmacie*; 43 (144) : 30-32.

Gambillara E, Spertini F, Leimgruber A., 2010 : Réactions cutanées allergiques et toxiques aux plantes; 245 : 824-826.

Gambelli, F., Di, P., Niu, X., Friedman, M., Hammond, T., Riches, D.W.H., and Ortiz, L.A., 2004: Phosphorylation of tumor necrosis factor receptor 1 (p55) protects macrophages from silica-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.* P 279.

Garnett, M.C., and Kallinteri, P., 2006: Nanomedicines and nanotoxicology: some physiological principles. *Occup. Med. Oxf. Engl.* 56, 307–311.

Gaur, S., Wang, Y., Kretzner, L., Chen, L., Yen, T., Wu, X., Yuan, Y.-C., Davis, M., and Yen, Y., 2014: Pharmacodynamic and pharmacogenomic study of the nanoparticle conjugate of camptothecin CRLX101 for the treatment of cancer. *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*

GAMBINI, J., GRANIER, R., 2013 : Effets indésirables des rayons X. EMC - RADIOLOGIE ET IMAGERIE MÉDICALE : Principes et techniques – Radioprotection : 1-20

Ge, Y., Zhang, Y., Xia, J., Ma, M., He, S., Nie, F., and Gu, N., 2009: Effect of surface charge and agglomerate degree of magnetic iron oxide nanoparticles on KB cellular uptake in vitro. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 73, 294–301.

H

Haller CA, Benowitz NL., 2000: Adverse cardiovascular and central nervous system events associated with dietary supplements containing ephedra alkaloids. The New England Journal of Medicine; 343(25):1833-8

Hussain S. Patient Counseling about Herbal-Drug Interactions, 2011: African Journal of Traditional. Complementary and Alternative Medicines; 8(5): 152-163

Haleng J., Pincemail J. and defraigne J.O., 2007: Le stress oxydant. Rev Med Liege, 62, p 628-638.

Halfon R., 2005 : La gemmothérapie, la santé par les bourgeons, Ed. Trajectoire.

HALENG J, PINCEMAIL J, DEFRAIGNE JO, CHARLIER C, CHAPELLE JP., 2007: Le stress oxydant. Rev Med Liege. Oct;62(10):628-38

I

ISERIN P., MASSON M., 2001 : Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2ème édition de VUEF, Hong Kong:p.8.

J

Jean Raynaud., 2006 : Prescription et conseil en AROMATHERAPIE. Edition Technique et Documentation.

Jaji R. Asli F., 1998 : La pharmacopée d'Avicenne. In: Revue d'histoire de la pharmacie, 86 (317) : 8-28

Jourdain D., 1997 : dictionnaire des plantes médicinales : les plantes à travers les âges. Montréal : Québecor, p. 24.

K

KABELITZ L, BARBIN Y., 1999 : Les métaux lourds dans les plantes médicinales, STP pharma pratiques, vol.9, no 6. Disponible sur : (consulté le 13.09.2013)

Koechlin-Romonasto, 2006: Oxygen oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way of nutrition in respiratory diseases. Nutr, Clin et Metab, 20, p165-177.

L

LIN C.C, YANG C.C, PHUA D.H., 2010: An outbreak of Foxglove Leaf Poisoning. Journal of the Chinese Medical Association, 2010, vol. 73, n°2, p. 97-100. (Consulté le 22 mars 2017).

LEVERVE, X., 2009 : Stress oxydant et antioxydants ? Cahiers de Nutrition et de Diététique, 44(5), pp.219-224.

Landis G.N. and Tower J., 2005 : Superoxide dismutase evolution and life span regulation. Mech, Ageing Dev, 126, p 365-379.

M

Monopoli, M.P., Walczyk, D., Campbell, A., Elia, G., Lynch, I., Baldelli Bombelli, F., and Dawson, K.A., 2011: Physical–Chemical Aspects of Protein Corona: Relevance to in Vitro and in Vivo Biological Impacts of Nanoparticles. J. Am. Chem. Soc. 133, 2525–2534.

Maleki S., Crespo J, Cabanillas B., 2019: Anti-inflammatory effects of flavonoids, Food Chemistry 299; 1-11.

Monopoli, M.P., Åberg, C., Salvati, A., and Dawson, K.A., 2012: Biomolecular coronas provide the biological identity of nanosized materials. Nat. Nanotechnol. 7, 779–786.

MOULINIER Laurence, 1989 : La botanique d'Hildegarde de BINGEN. Plantes, mets et mots. Dialogues avec André-Georges Haudricourt. In: Médiévales. n°16-17, pp. 113-129

Reference bibliographiques

MANSOUR A., 2009 : Investigation phytochimique de l'extrait n-butanol de l'espece centaurea africana. Mémoire de magister, Univ. Constantine, 8 p.

MOREAU B., 2003 : maître de conférences de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de Nancy. Travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de 3ème année de doctorat de pharmacie

MIQUEL G., 2001 : Rapport sur les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Paris : Sénat.

Mates J.M., Prez-Gomez C. and Nunez de casteno I., 1999 : Antioxidant enzymes and humain diseases. Clin biochem 32. P 595-603.

Mortensen A., Skibsted L.H. and Truscott T.G., 2001: The interaction of dietary Carotenoid with radical species. Arch, biochem, biophys, 385(1), p 13-19.

N

NOGARET A.S., 2003 : La phytothérapie : Se soigner par les plantes. Ed.Groupe Eyrolles, Paris, 191 p.

N.NAHAL BOUDERBA, 2016 : Etude, ethnobotanique, écologique et activités biologiques de la coloquinte (*Citrulluscolocynthis .L*) et du contenu floristique de la région de Béchar, thèse, université Mustapha Stamboli –MASCARA p : 7

NI, Y.; TURNER, D.; YATES, K.M.; TIZARD. I., 2004: Isolation and characterisation of structural components of Aloe vera L. leaf pulp. Int. Immunopharmacol., 1745-1755.

P

Paris R.R., Moyse H., 1976 : Collection de précis de pharmacie sous la direction de M.-M. Janot : Matière médicale, 2ème édition tomes 1, 2 et 3, Ed. Masson, 1976 (et 1667, 1971)

PRESCRIRE., 2007 : Bien utiliser les plantes en situations de soins, numéro spécial été, T. 27, n° 286.

Reference bibliographiques

Posadzki P, Watson LK, Ernst E., 2013: Adverse effects of herbal medicines: an overview of systematic reviews. *Clinical Medicine*; 13(1) : 7-12 peroxidat, alpha-tocopherol and ascorbat. *Archives of biochemistry and biophysics*, 300, p 535-543.p 108-115.

Pinnell S.R., 2003: Coetaneous photodamage, oxidative stress and topical antioxidant protection. *J, AM, Acad Dermatol*, 48, P 1-19, quiz, p 20-12.

Pryor W.A., 2000: Vitamin E and heart disease. Basic science to clinical intervention trials, free radical biology and medicine, 28, p 141-164.

R

Robin M., 2011 : Les plantes Photosensibilisantes. [Thèse de Doctorat en Pharmacie]. Limoges : Université de Limoges, Faculté de Pharmacie.

Rice-Evans C. and Miller N.J., 1994: Total antioxidant status in plasma and body fluids methods .*Enzymol* 234, p 279-293.

Rice-Evans C.A., Miller N.J., Blwell P.G., Bramley P.M. and Pridham J.B., 1995: The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids. *Free had, res*, 22, p 375-383.

Richard M.J., Belleville F., Chalas J., Ceballos-PicotI., Vitoux D., Boyer M.J., Chaudière J. and Favien A., 1997 : Les glutathions peroxydases, intérêt de leur dosage en biologie clinique. *Laboratoire de biochimie CHU a-Michalon Grenoble*, vol(55), p 195-208.

Roussel H., 2013 : *PASP*, vol 125, p 1126.

Rochette L., 2008 : Stress oxydant et sepsis. *Réanimation*, 17(6), pp.1-4.

S

S Ghedabnia, M. K., 2008 : Inventaire de quelques espèces spontanées à caractère médicinale hypoglycémiant utilisées dans la région d'Ouargla.

Reference bibliographiques

S. JORTIE, 2015 : La phytothérapie, une discipline entre passé et futur : de l'herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel, thèse, université Bordeaux 2 p : 21-22.

Sanago R., 2006 : Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle.

S.GAHBICHE, 2009: La phytothérapies, école supérieure des sciences et techniques de la sante de sousse.Université Bamako (Mali): 53.

Schempp CM, Schopf E, Simon JC., 2002: Plant-induced toxic and allergic dermatitis (phytodermatitis).Hautarzt; 53 (2): 93-7

Smirnoff, N., 2005: Antioxidants and reactivés oxygen species in plants."

Sies H., 1991: Oxidative stress. From basic research to clinical application, A m J Med, 91, p 31S-38.

SIMS P, RUTH M, ZINMERMAN ER., 1971: Effect of aloe vera on Herpes simplex and Herpes virus (strains Zoster) Aloe vera of American Archive; 1:239-240.

T

TIZARD IR, RAMAMOORTHY L., 2004: Aloes and the immune system. Vol.38. In: REYNOLDS T, editor Aloes: the genus Aloe. Boca Raton: Medicinal Aromatic Plants - Industrial Profiles, p. 313.

V

Vidal-Tessier A.-M., 1988 : Maître de conférences en Pharmacognosie, Université Paris V. La lettre phytothérapique du Pharmacien – La galénique en Phytothérapie à l'officine, supplément au n°4. Revue critique sur les formes phytothérapiques, en particulier celles destinées aux préparations magistrales, p.8.

Valko, M., M. Izakovic, M. Mazur, C. J. Rhodes et J. Telser, 2004: Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence." Molecular and Cellular Biochemistry 266(1- 2): 37-56.

Reference bibliographiques

Valko, M., C. J. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic et M. Mazur, 2006: Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer." *Chemico-Biological Interactions* 160(1): 1-40.

Valko M.C.J., Rhodes J., Moncol M., Izakovic and M Mazur, 2006: Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), p 1-40.

Vertuani S; Angusti A; Nanfredini S., 2004: *Curr. Pharm, des*, 10, p 1677-1694.

Van-Antwerpen P., 2006 : Contribution a l'étude de pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique, ciblage du système myeloperoxydase/ peroxyde d'hydrogène/chlorure. Thèse de doctorat en science pharmaceutique Wallonie-Bruxelles.

W

Walkey, C.D., and Chan, W.C.W., 2012: Understanding and controlling the interaction of nanomaterials with proteins in a physiological environment. *Chem. Soc. Rev.* 41, 2780–2799.

Walkey, C.D., Olsen, J.B., Guo, H., Emili, A., and Chan, W.C.W., 2012: Nanoparticle size and surface chemistry determine serum protein adsorption and macrophage uptake. *J. Am. Chem. Soc.* 134, 2139–2147.

WICHTL M, ANTON R., 2003 : *Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique.* 2^{ème} édition. Paris : édition Tec and Doc, 2003. 692 p.

X

Xia, X.R., Monteiro-Riviere, N.A., Mathur, S., Song, X., Xiao, L., Oldenberg, S.J., Fadeel, B., and Riviere, J.E., 2011: Mapping the surface adsorption forces of nanomaterials in biological systems. *ACS Nano* 5, 9074–9081.

Xia, T., Kovoichich, M., Liang, M., Zink, J.I., and Nel, A.E., 2008: Cationic polystyrene nanosphere toxicity depends on cell-specific endocytic and mitochondrial injury pathways. *ACS Nano* 2, 85–96.

Y

Yu, S.S., Lau, C.M., Thomas, S.N., Jerome, W.G., Maron, D.J., Dickerson, J.H., Hubbell, J.A., and Giorgio, T.D., 2012: Charge-dependent non-specific uptake of PEGylated nanoparticles by macrophages. *Int. J. Nanomedicine* 7, 799–813.

Yu, Y., Duan, J., Yu, Y., Li, Y., Liu, X., Zhou, X., Ho, K.-F., Tian, L., and Sun, Z., 2014: Silica nanoparticles induce autophagy and autophagic cell death in HepG2 cells triggered by reactive oxygen species. *J. Hazard. Mater.* 270, 176–186.

Yue, Z.-G., Wei, W., Lv, P.-P., Yue, H., Wang, L.-Y., Su, Z.-G., and Ma, G.-H., 2011: Surface charge affects cellular uptake and intracellular trafficking of chitosan-based nanoparticles. *Biomacromolecules* 12, 2440–2446.

Z

Z.Mohammedi, 2013 : Etude phytochimique et activité biologiques de quelques plant médicinales de la région nord et sud ouest de l'Algérie, thèse, université de Tlemcen. p22