



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Larbi Tébessi –Tébessa-

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

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة  
FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES  
ET DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

MEMOIRE DE MASTER

Domaine: **Sciences de la nature et de la vie**

Filière: **Sciences Biologiques**

Option: **Pharmacologie-Toxicologie**

Thème

*Étude de l'impact de nickel sur les paramètres  
cardiovasculaire et le rôle protecteur d'un extrait  
d'une plante médicinale*

Présenté par:

**Mm. KHALFALLAH Oumaima & M<sup>lle</sup>. GUERGAH Ichrak**

Devant le jury :

<b>M<sup>lle</sup>. DJERMANE Nadia</b>	MCB	Université de Tébessa	Présidente
<b>M. GASMI Salim</b>	MCB	Université de Tébessa	Encadreur
<b>M. SOLTANI Nadjmeddine</b>	MCB	Université de Tébessa	Examineur

2020/2021

## **Remerciement**

*Je remercie d'abord le bon dieu qui m'a donné le courage et la volonté  
d'achever ce travail*

*Nos sincères remerciements vont à notre encadreur monsieur **GASMI Salim**  
pour la confiance qu'il a voulu nous accorder pour réaliser ce modeste  
travail : pour ces précieux conseils : sa grande disponibilité pour  
l'aboutissement de ce travail et d'avoir accepté l'encadrement  
Nous remercions Docteur **BOUSSEKINE Samira** maître de  
conférences A à l'université de Larbi tebessi –Tébessa – pour sa  
contribution et son aide concernant la réalisation de notre étude  
pratique. Qu'elle trouve ici mes sentiments de gratitude et de différence*

*Le grand remerciement pour notre co-encadreur monsieur **SAKER**  
**Hichem** pour sa patience et sa disponibilité*

*Nous remercions **M<sup>lle</sup> DJERMANE Nadia** d'avoir accepté d'assurer la  
présidence de jury de notre projet fin d'étude*

*Et bien sûr un grand merci pour **Mr SOLTANI Nadjme eddine**  
d'avoir accepté de juger ce modeste travail*

# *Dédicace*

*Au nom de dieu le clément et le miséricordieux louange à Allah le tout puissant.*

*Je dédie ce modeste travail en signe de respect, reconnaissance et de*

*remerciement :*

*A la mémoire de mon cher oncle*

*Que vous reposiez dans le paradis du seigneur.*

*A mon adorable mère*

*Source inépuisable de tendresse, de patience et de sacrifice. Ta prière et ta bénédiction m'ont  
été un grand secours tout au long de ma vie.*

*A mon cher père*

*De tous les pères, tu es le meilleur. Tu as été et tu seras toujours un exemple pour moi par tes  
qualités humaines, ta persévérance et ton perfectionnisme.*

*A mon mari*

*Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon amour et mon attachement à toi.*

*Depuis, que je t'ai connu, tu n'as cessé de me soutenir et de m'épauler. Tu me voulais  
toujours le meilleur.*

*A toi ma grand-mère*

*Ceci est ma profonde gratitude pour ton éternel amour, que ce mémoire soit le meilleur  
cadeau que je puisse l'offrir.*

*A ma sœur et mes frères*

*Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.*

*A Mes deux anges ma joie de la vie « omnia » et « yanis djoud » que dieu les protège*

*A tous ce qui ont participé à l'élaboration de ce modeste travail et tous ceux qui nous sont  
chers.*

*Oumaima*

# Dédicace

*À l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie*

*Je dédie ce travail :*

*À mes adorables parents, que Dieu les garde pour moi pour ce jour-là, qui ont toujours été à mes côtés pour leur encouragement.*

*À mon cher père « **Ramdan** » qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements, que Dieu vous garde et vous procure tout puissant te garde santé, longue vie et bonheur afin que vous demeuriez le soleil qui illumine notre vie.*

*À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère « **Dalila** » qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.*

*À mes très chers frères et sœurs : « **Abd El Djalil** », « **Baha Eddine** » « **Abla** »*

*« **Romaissa** », « **Chadha** » et « **Takwa** » pour leurs encouragements, qui m'ont soutenu depuis toujours. Je vous souhaite du bonheur et du succès dans toute votre vie.*

*À la femme de mon frère et ma sœur « **Marwa** », je vous remercie pour votre soutien constant. À proches de mon cœur, à bourgeons de ma famille, les enfants de mon frère « **chadie** », « **ishak** » et les enfants de ma sœur « **Anas** », « **Mirals** ».*

*À ma tante : « **Nadjwa** » mes remerciements ne pourront jamais égaler ton grand cœur qui m'a apporté du soutien au moment où j'avais besoin d'aide. Merci encore.*

*À mes oncles et tantes, aux enfants de mes tantes et oncles et à mes cousins, je vous souhaite de réussir dans votre vie.*

*À ma binôme « **Oumaima** » que j'ai passé avec vous des moments agréables, qui a travaillé dur avec moi pour compléter ce travail.*

*À tous mes amis Je garderai de vous les bons souvenirs.*

*À toute ma famille **Guergah** et **Necib** .*

*À tous mes amis que j'ai passés avec eux des moments.*

*À toute la promotion " **Master 2 pharmacotoxicologie** "*

*À toutes celles et ceux qui m'ont soutenu tout au long de ma mémoire.*

*Ichrak guergah*

## Résumé

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet bénéfique et protecteur de l'extrait méthanolique obtenu à partir des feuilles d'une plante médicinale ; le Romarin (*Rosmarinus officinalis*), contre la cardiotoxicité provoquée par le chlorure de nickel chez les rats Wistar. Pour cela, des expérimentations in vivo ont été effectués pendant 28 jours sur 20 rats males. Les rats ont été séparés en 4 groupes de 5 rats pour chaque un. Le premier groupe servant comme un témoin, le deuxième est traité par le chlorure de nickel avec une dose de 10mg/Kg/j, le troisième est traité par l'extrait de la plante avec une dose de 100mg/Kg/j et le quatrième est traité par la mixture de l'extrait de Romarin (100 mg/Kg/j) et de chlorure de nickel (10 mg/Kg/jour) ; le traitement des rats est par voie oral.

Les résultats obtenus montrent que le NiCl<sub>2</sub> provoque des problèmes métaboliques qui se traduisent par une modification des paramètres métabolique confirmée par une augmentation de la concentration des protéines tissulaires, et des paramètres enzymatique confirmée par une augmentation de la teneur en glutathion réduit (GSH) et en malondialdéhyde (MDA), une diminution de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) et une augmentation de l'activité enzymatique de la glutathion-S-transférase (GST).

Nos résultats confirment le rôle bénéfique de la plante et que le traitement des rats par l'extrait méthanolique de Romarin améliore les paramètres de la fonction cardiaque, ainsi que les paramètres de la défense anti oxydante. Ces résultats révèlent que la plante à un effet antioxydant vis-à-vis la cardiotoxicité induit par le NiCl<sub>2</sub>.

---

**Mots clés :** *Rosmarinus officinalis*, Chlorure de nickel, Cardiotoxicité, Stress oxydant

## Abstract

The objective of this work is to evaluate the beneficial effect of methanolic extract obtained from the leaves of the medicinal plant *Rosmarinus officinalis* against cardiotoxicity caused by nickel chloride in rats of the Wistar Albinos strain. For this purpose, in vivo experiments were carried out for 28 days on 20 male rats. The rats were separated into 4 groups of 5 rats for each one. The first group used as a control, untreated, the second is treated with nickel chloride at a dose of 10 mg/kg/day, the third is treated with plant extract at a dose of 100 mg/Kg/day and the fourth is treated with the mixture of *Rosmarinus officinalis* extract and nickel chloride at a dose of 10 mg/Kg/day (oral treatment).

The results obtained show that NiCl<sub>2</sub> causes metabolic problems that result in a change in metabolic parameters confirmed by an increase in tissue protein concentration, and enzymatic parameters confirmed by an increase in the content of reduced glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA), a decrease in the enzymatic activity of glutathione peroxidase (GPx) and an increase in the enzymatic activity of glutathione-S-transferase (GST) (oxidative stress parameters). Our results confirm the beneficial role of the plant and that the treatment of rats with the methanolic extract of *Rosmarinus officinalis* improves the parameters of heart function, as well as the parameters of the antioxidant defense. These results show that the plant has an antioxidant effect vis-à-vis the cardiotoxicity induced by NiCl<sub>2</sub>.

---

**Key words:** *Rosmarinus officinalis*, nickel chloride, cardiotoxicity, oxidative stress.

## ملخص

ان الهدف من هذا العمل هو تقييم التأثير الايجابي للمستخلص الميثانولي الماخوذ من اوراق نبات اكليل الجبل ضد السمية المؤثرة على القلب و بعض وظائفه التي يسببها كلوريد النيكل لذكور جرذان الويستر . حيث تم اجراء التجارب في الجسم الحي لمدة 28 يوم ل 20 جرذ قسمناهم لاربعة مجموعات , 5 جرذان في كل مجموعة تكون المجموعة الاولى كشاهدة لم تتلقى اي علاج و الثانية عولجت بمستخلص اكليل الجبل بجرعة 100ملغ / كغ / يوم و المجموعة الثالثة عولجت بكلوريد النيكل جرعة 10ملغ/كغ / يوم اما المجموعة الاخيرة ف بمزيج من المستخلص و الكلوريد بنفس جرعة كلوريد النيكل ( العلاج عن طريق الفم ).

اظهرت النتائج ان كلوريد النيكل سبب اضطرابا في بعض المعايير الايضية و الانزيمية , كارتفاع نسبة البروتينات النسيجية و كذا الغلوتاتيون المختزل و الغلوتاتيون الناقل و انخفاض النشاط الانزيمي للغلوتاتيون المؤكسد

تؤكد النتائج المتحصل عليها الدور الايجابي لنبته اكليل الجبل و ان علاج الجرذان بمستخلصها الميثانوليكي حسن منوظيفة القلب و تنشيط انزيمات الدفاع المضاد للاكسدة مما يثبت ان لهذه النبتة مفعول مضاد للاكسدة .

## ***LISTE DES TABLEAUX***

<i><b>N°</b></i>	<i><b>Titre</b></i>	<i><b>Page</b></i>
<i><b>01</b></i>	Propriétés physiques et chimiques du nickel	<i><b>04</b></i>
<i><b>02</b></i>	Classification botanique de <i>Rosmarinu officinalis</i>	<i><b>12</b></i>
<i><b>03</b></i>	Protocole utilisé pour le dosage de l'activité enzymatique du catalase	<i><b>26</b></i>
<i><b>04</b></i>	Evaluation d'activité de protéines tissulaire des rats dans les différents lots expérimentaux.	<i><b>28</b></i>
<i><b>05</b></i>	Activités de peroxydation lipidique et des enzymes antioxydants dans le cœur des rats testés et témoins	<i><b>29</b></i>



## *LISTE DES FIGURES*

<i>N°</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
<b>01</b>	Photographie de <i>R.officinalis</i>	<b>12</b>
<b>02</b>	Les conditions d'élevage des rats	<b>18</b>
<b>03</b>	La localisation de la wilaya de Tébessa	<b>19</b>
<b>04</b>	Les étapes de macération	<b>20</b>
<b>05</b>	Le sacrifice des rats et la récupération des organes	<b>21</b>
<b>06</b>	Variation de l'activité de protéines tissulaire chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours.	<b>28</b>
<b>07</b>	Variation de l'activité de Glutathion réduit (GSH) cardiaque chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours.	<b>30</b>
<b>08</b>	Variation de l'activité de Glutathion peroxydase (GPx) cardiaque chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours.	<b>31</b>
<b>09</b>	Variation de l'activité de (GST) cardiaque chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours.	<b>32</b>
<b>10</b>	Variation de l'activité de (CAT) cardiaque chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours.	<b>33</b>
<b>11</b>	Variation de l'activité de (MDA) cardiaque chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours.	<b>34</b>

## *LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES*

<b>%</b>	Pourcentage
<b>μ</b>	Micro
<b>μg</b>	Microgramme
<b>ADN</b>	L'acide désoxyribonucléique
<b>BBC</b>	Bleu Brillant de Coomassie
<b>BHT</b>	L'hydroxytoluènebutylé
<b>BSA</b>	L'albumine de sérum bovin
<b>°C</b>	Degré celsius
<b>CAT</b>	Catalase
<b>CDNB</b>	1-Chloro2,4-dinitrobenzène
<b>Co</b>	Monoxyde de carbone
<b>Cr</b>	Le chrome
<b>DTNB</b>	Le réactif d'Ellman
<b>DO</b>	Densité optique
<b>EDTA</b>	Acide ethylène diamine tetra acétique
<b>ERO</b>	Espèces Réactives d'oxygène
<b>Etc.</b>	Et cetera
<b>E</b>	Extrait
<b>G</b>	Gramme
<b>GPx</b>	Glutathion peroxydase
<b>GSH</b>	Glutathion réduit
<b>GSSG</b>	Disulfure de glutathion (Glutathion oxydé)
<b>GST</b>	Glutathion S-transférase
<b>HCL</b>	L'acide chlorhydrique
<b>H</b>	Heurs
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Monoxyde de dihydrogène
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>HIV</b>	Virus de l'Immunodéficience Humaine

<b>IIA</b>	alcalino-terreux
<b>J</b>	Jour
<b>Kg</b>	Kilogramme
<b>L</b>	Litre
<b>M<sup>3</sup></b>	Mètres cubes
<b>MDA</b>	<i>Malondialdehyde</i>
<b>Mg</b>	Milligrammes
<b>ml</b>	<i>Millilitre</i>
<b>NaCl</b>	Le chlorure de sodium
<b>Na<sup>2</sup>HPO<sub>4</sub></b>	L'hydrogénophosphate de sodium
<b>Ni</b>	Nickel
<b>Ni<sup>2+</sup></b>	Nickel cation
<b>NiCl<sub>2</sub></b>	Le chlorure de nickel
<b><sup>1</sup>O<sub>2</sub></b>	L'oxygène singulet
<b>OH</b>	L'hydroxyde
<b>ORL</b>	oto-rhino-laryngologie
<b>Ph</b>	Le potentiel hydrogène
<b>P</b>	Poids
<b>ROS</b>	Reactive oxygen species
<b>SH</b>	Thiol
<b>SOD</b>	La Superoxydedismutase
<b>SSA</b>	L'acide sulfosalicylique
<b>T</b>	Témoin
<b>TBS</b>	Tampon Tris-salin
<b>TCA</b>	L'acide tri chloro-acétique
<b>Tris-HCL</b>	<i>Tris hydrochloride</i>
<b>TP</b>	Le taux de prothrombine
<b>VIA</b>	Les sulfurides

## Sommaire

<b>Remerciement</b>	
<b>Dédicace</b>	
<b>Résumé</b>	
<b>liste des tableaux</b>	
<b>liste des figures</b>	
<b>liste des abréviations</b>	
<b>Introduction général</b> .....	<b>1</b>

### *Partie Bibliographique*

#### **Chapitre 1: Nickel et stress oxydatif**

<b>1. Nickel</b> .....	<b>3</b>
1.1. Introduction .....	3
1.2. Définition du Nickel .....	3
1.3 Propriétés physico-chimique .....	3
1.3.1 Propriétés physique .....	3
1.3.2 Propriétés chimiques .....	4
1.4. Utilisations et Sources d'exposition .....	5
1.4.1 Utilisations .....	5
1.4.2 Sources d'exposition .....	5
1.5 toxicocinétiques de nickel .....	6
1.5.1 Absorption.....	6
1.5.2 Distribution .....	6
1.5.3 Elimination.....	7
1.6 toxicodynamique de nickel .....	7
1.7 Toxicité (effets sur les grandes fonctions de l'organisme) et Traitement .....	8
1.7.1 Toxicité aiguë.....	8
1.7.2 Toxicité chronique .....	8
1.7.3 Traitement .....	9
<b>2. Généralité sur le stress oxydatif</b> .....	<b>9</b>

#### **Chapitre 2: Plantes Médicinales**

<b>1. Généralités</b> .....	<b>11</b>
<b>2. Définition</b> .....	<b>11</b>
<b>3. Classification botanique</b> .....	<b>12</b>
<b>4. Propriétés biologiques, pharmacologiques et thérapeutiques du romarin</b> .....	<b>13</b>

5. Utilisation .....	14
5.1 .Parfumerie et cosmétique .....	14
5.2. Industrie agro-alimentaire.....	15
5.3. Alimentation .....	15
6. Pharmacocinétique .....	15
6.1. Usage interne .....	15
6.2. Usage externe .....	15
7. Toxicité du romain .....	16
7.1. Toxicité en usage externe .....	16
7.2. Toxicité en usage interne .....	16

## *Partie Experimentale*

### **Matériels et méthodes**

1. Cadre et objectifs de l'étude .....	18
2. Matériels .....	18
2.1. Matériels biologique .....	18
2.2. Matériels végétal.....	18
2.3 .Appareillage et produits chimiques .....	19
2.3.1 .Appareillage .....	19
2.3.2 .Produits chimique .....	19
3. Méthodes .....	19
3.1. Méthode d'extraction.....	19
4. Traitement des rats .....	20
4.1. Sacrifices des rats et récupération du cœur .....	21
5. les paramètres de dosage .....	21
5.1. Préparation de l'homogénat.....	21
5.2. Dosage de paramètre de stress oxydatif .....	21
5.2.1. Dosage de Glutathion GHS.....	21
5.2.2 Dosage de l'activité enzymatique de la Glutathion peroxydase (GPx) .....	22
5.2.3 .Dosage de l'activité enzymatique de la Glutathion S-transférase (GST) .....	23
5.2.4. Dosage du malondialdéhyde (MDA) .....	24
5.2.5. Dosage des protéines tissulaires.....	25
5.2.6 .Dosage de l'activité enzymatique de la catalase.....	26

### **Résultats Et Discussion**

<b>1. Résultats</b> .....	28
1.1. Étude des biomarqueurs de croissance (taux de protéine .....	28

1.2 Étude des biomarqueurs de stress oxydatif.....	29
1.2.1. Glutathion réduit (GSH).....	29
1.2.2. Glutathion peroxydase (GPx).....	30
1.2.3. Glutathion- S- transférane (GST) .....	31
1.2.4. Catalase(CAT).....	32
1.2.5. Malondialdéhyde (MDA).....	33
<b>2. Discussion</b> .....	<b>34</b>
2.1 Discussion sur les paramètres métabolique .....	35
2.1.1 Effet de traitement sur la croissance .....	35
2.2 Effet de traitement sur les paramètres de stress oxydatif .....	35
2.2.1 Effet sur la GSH.....	35
2.2.2 Effet sur la GPx.....	35
2.2.3 Effet sur la GST .....	36
2.2.4 Effet sur le catalase .....	36
2.2.5 Effet de MDA .....	37
<b>Conclusion</b> .....	<b>38</b>
<b>Références Bibliographiques</b>	
<b>Annexe</b>	

# *INTRODUCTION*

## **Introduction**

Une des caractéristiques fondamentales des organismes vivants est leur capacité à se reproduire et à assurer ainsi la continuité de la vie (**kaddour et moumen, 2019**). Classiquement on définit deux grandes catégories de facteurs pouvant influencer la fonction de reproduction, les facteurs intrinsèques (propres à l'animal) et les facteurs extrinsèques (environnementaux) (**kaddour et moumen, 2019**).

Dans notre environnement nous sommes exposés à un nombre des substances naturelles ou artificielles peuvent être causées des effets toxiques, et les métaux lourds parmi ces substances nocives (**Basketter et al., 1999**). On s'intéresse dans notre travail au nickel, qu'est l'un des substances toxiques, et des constituants majeurs de l'écorce terrestre. Il est abondant dans les sols et de lithosphère et avec faible quantité dans les nutriments et l'eau. À l'état naturel le nickel n'existe pas sous forme de métal mais se trouve toujours combiné à d'autres éléments sous forme d'oxyde, de chlorure ou de silicates (**Edwige, 2014 ; Barbara, 2009**).

Des études et des expériences animales suggèrent que l'exposition excessive est élevée au Ni pendant le premier stade du développement embryonnaire peut provoquer une foetotoxicité (**Kruger Pc, 2010 ; Rim, 2008**).

De ce fait, la valorisation des ressources naturelles est une préoccupation qui devient de plus en plus importante dans de nombreux pays (**AbougheAngone et al., 2015**). L'Algérie, pays connu pour ses ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement riche et variée. Environ 3 000 espèces de plantes dont 15% endémiques et appartenant à plusieurs familles botaniques (**Dif et al., 2015**). Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques décroît (**Berkanen, 2015**).

Parmi les plantes médicinales, on a le romarin ou le *Rosmarinus officinalis*, plante si abondante et si commune dans la région méditerranéenne. Elle est considérée comme une espèce très importante de la flore algérienne pour son utilisation et son efficacité en médecine traditionnelle et aussi pour ses propriétés thérapeutiques et antioxydantes. Ces dernières sont assurées probablement grâce à la présence de plusieurs principes actifs responsables de son activité (**Baba Aissa, 1999**).



Dans ce contexte, nous sommes intéressés à évaluer l'effet protecteur d'extrait de *Rosmarinus* sur la cardio-toxicité induite par le nickel.

Ce travail comporte deux parties importantes :

- Étude bibliographique qui présente quelques connaissances sur :
    - Chapitre I généralités sur le nickel.
    - Chapitre II généralité sur les plantes médicinales (*Rosmarinus Officinalis*).
  - Une partie expérimentale regroupe l'ensemble des matériels et méthodes suivent de résultats et discussions.
- Enfin, une conclusion générale qui résume notre travail.

# Partie Bibliographique



# *Chapitre 1*

## *Nickel et stress oxydatif*

## **1. Nickel**

### **1.1 Introduction**

A la différence de la plupart des contaminants organiques, Les métaux lourds sont définis comme étant les éléments métalliques chimiques qui ont une gravité spécifique au moins cinq fois supérieure à celle de l'eau. Ils sont ingrédients innés de la couche externe de la terre et se trouvent dans des concentrations variables dans tous les écosystèmes (**Das et al., 2019**). Les métaux lourds constituent des parties importantes du tableau périodique et comprennent des métaux des groupes IIA (la plupart des métaux alcalino-terreux) à VIA (chalcogènes comme le sélénium, le polonium, le tellure, etc. (**Das et al., 2019**)). Parmi Les métaux lourds polluants de l'environnement, le nickel est considéré comme un risque pour la santé industriel et professionnel, car de nombreux composés de nickel sont accessibles dans l'environnement humain. En 1751, le chimiste suédois Axel Cronstedt a été le premier à obtenir du nickel purifié, le 28<sup>e</sup> élément du tableau périodique (**Das et al., 2019**).

### **1.2 Définition du Nickel**

Le nickel est un métal blanc grisâtre brillant relativement dur malléable et ductile; il occupe le 24<sup>e</sup> rang et le huitième groupe de transition avec le fer et cobalt. Il est abondant dans les météorites et à l'intérieur du globe terrestre (manteau et noyau) (**Barbara et al., 2009**). Il est l'un des micronutriments essentiels pour la croissance et le développement des plantes et il est également un oligo-élément essentiel pour l'organisme, dont les carences sont graves. La dose quotidienne de nickel ingéré se situe idéalement entre 100 et 300 µg/jour, mais peut varier de 100 à 800 µg selon les habitudes alimentaires. C'est un allergène puissant, ubiquitaire et un carcinogène prouvé (**Stoltz et al., 2003**).

## **1.3 Propriétés physico-chimique**

### **13.1 Propriétés physique**

Le nickel peut se présenter sous la forme massive d'un métal blanc-bleuâtre, brillant, malléable (c'est-à-dire qu'il présente la propriété de pouvoir être facilement déformé par laminage), ductile (c'est-à-dire étirable en fils ou en barres, sans se rompre) ou sous la forme d'une poudre grise. C'est un bon conducteur électrique et thermique, doué de propriétés magnétiques. Il possède aussi la propriété de fixer les gaz et notamment l'hydrogène (**Robert., 1988**).

### 1.3.2 Propriétés chimiques

À température ordinaire, le nickel n'est pratiquement pas attaqué par l'oxygène ; à chaud, il se recouvre d'une pellicule de monoxyde de nickel, seul produit de la réaction entre 300 et 700°C. (Bonnard et al., 2009). Le nickel en poudre obtenu par réduction de l'oxyde par l'hydrogène entre 250 et 350°C est pyrophorique ; le produit obtenu à 450°C s'oxyde à l'air à 50°C avec explosion. À froid et en absence d'humidité, le métal résiste bien aux halogènes ; en présence d'eau, il est attaqué en surface avec formation d'halogénures ; à chaud, les halogènes réagissent sans incandescence. Dans un courant d'oxyde de carbone, le nickel se volatilise entre 45 et 70°C pour donner du nickel carbonyle, réaction utilisée pour l'affinage du métal (Bonnard et al., 2009).

**Tableau 01:** Propriétés physiques et chimiques du nickel (Cotton et Wilkinson, 1988 ; Campo et al., 2021).

Symbole chimique	Ni
Etat Physique	Solide
Numéro atomique	28
Masse atomique	58,71
Densité (à 20°C)	8,9
Structure cristalline	Cubique à face centrée (a=0,352 nm)
Température de fusion	1452°C
Température d'ébullition	2732°C
Structure cristalline	Cubique à face centrée (a=0,352 nm)
Solubilité	Insoluble dans l'eau (1,13 mg/L à 37 °C) et dans les solvants organiques. Se dissout lentement dans les acides forts.
Isotopes les plus stables	58 Ni (68,0769 %) 60 Ni (26,10 %) 61 Ni (1,13 %) 62 Ni (3,59 %) 64 Ni (0,91 %)

## **1.4 Utilisations et Sources d'exposition**

### **1.4.1 Utilisations**

- Production d'aciers inoxydables et d'autres aciers spéciaux, la présence de nickel dans ces produits améliorant leurs propriétés mécaniques et leur résistance à la corrosion et à la chaleur (**Campo et al., 2021**).
- Préparation d'alliages non ferreux (avec le cuivre, le chrome, l'aluminium, le molybdène...), notamment pour la fabrication de pièces de monnaie, d'outils, de pièces pour l'industrie aérospatiale et d'ustensiles de cuisine et de ménage.
- Revêtement électrolytique des métaux (nickelage).
- Catalyse en chimie organique (hydrogénation d'huiles et de graisses, désulfuration de produits pétroliers, polymérisation ou décomposition d'hydrocarbures, réduction d'oxydes d'azote) (**Campo et al., 2021**).
- ❖ Fabrication de :
  - noyaux magnétiques (aimants, ferrite) ;
  - batteries alcalines Nickel-Cadmium ;
  - pigments minéraux pour émaux et céramiques.

Le nickel à usage métallurgique est fourni soit sous forme massive de nickel pur (cathodes, billes), soit sous forme massive de ferronickel (25 à 35 % de nickel), soit encore sous forme d'oxyde de nickel brut (**Campo et al., 2021**).

### **1.4.2 Sources d'exposition**

Le nickel est une substance que l'on retrouve dans le milieu naturel, essentiellement dans les minerais sulfurés extraits des sous-sols et dans les minéraux silicates se trouvant en surface. Dans l'environnement, le nickel est surtout combiné à l'oxygène (oxydes) et au soufre (sulfures). (**Brun, 1979; Echevarria et al., 2006**). La croûte terrestre contient environ 0,009 % de nickel. De plus, le nickel est présent dans l'air, dans les particules en suspension, après avoir été rejeté par des activités humaines ou des phénomènes naturels, comme les éruptions volcaniques, les incendies de forêts et les météorites provenant de la haute atmosphère (**Brun, 1979; Echevarria et al., 2006**). La présence de nickel dans la nourriture est due à deux facteurs principaux : l'absorption par les plantes et la contamination secondaire des aliments par l'utilisation d'ustensiles en acier inoxydable, pour leur préparation, cuisson, conservation,

transformation et ce d'autant plus que ces derniers sont plus acides (**Schollhammer et al., 1994**).

### **1.5 Toxicocinétiques de nickel**

Le nickel et ses composés sont modérément absorbés quelle que soit la voie d'administration. Ils sont transportés dans le sang via un complexe ternaire albumine nickel-histidine. Le nickel absorbé est éliminé majoritairement dans les urines. En cas d'ingestion, la plus grande partie du nickel n'est pas absorbée et est directement excrétée dans les fèces. (**Campo et al., 2021**).

#### **1.5.1 Absorption**

Les études expérimentales ont mis en évidence la biodisponibilité relativement faible des composés du nickel après inhalation, mais la quantité de nickel retrouvée dans la circulation sanguine à partir des poumons dépend de la solubilité dans l'eau des composés. À partir des données disponibles dans une étude sub-chronique de 13 semaines menée chez le rat, pas plus de 6 % de la dose inhalée sont absorbés (**Campo et al., 2021**).

Chez le rat, l'absorption gastro-intestinale dépend de la solubilité dans l'eau du composé : la fraction absorbée est de 34 % pour le nitrate de nickel, 10 - 11 % pour le sulfate et le chlorure, < 1 % pour le disulfure de trinickel, < 0,1 % pour le nickel métal et de l'ordre de 0,01 % pour l'oxyde de nickel (**Haber et al., 2000**).

Comme chez l'homme, le nickel et ses composés peuvent traverser lentement la barrière cutanée : une partie du chlorure de nickel déposé sur la peau atteint des couches plus profondes de l'épiderme puis est absorbée. L'augmentation des concentrations en nickel dans le foie et les reins de cochons d'Inde, suite à une exposition cutanée au sulfate de nickel pendant 15 ou 30 jours, est le signe de son absorption (**Campo et al., 2021**).

#### **1.5.2 Distribution**

Après des expositions répétées par voie orale à des composés solubles (gavage, nourriture ou eau de boisson, rat et souris), le nickel se distribue principalement dans les reins, mais il est également retrouvé au niveau du foie, des poumons, du tissu adipeux, du système nerveux périphérique et du cerveau (**EFSA, 2015**). Suite à une exposition par inhalation de rat et de souris, le nickel est principalement retrouvé dans le tractus respiratoire (poumons, sinus) et les reins (**Dunnick et al., 1989**).

Après une exposition unique par inhalation de rats au monoxyde de nickel, pendant 70 minutes, à une dose de 9,9 mg Ni/m, la fraction inhalée déposée dans le tractus respiratoire est de 13 % avec 8 % déposés dans les voies aériennes supérieures et 5 % dans les voies inférieures. Pendant les 180 jours de post-exposition, le nickel n'est pas détecté dans d'autres tissus que les poumons (**Benson et al., 1993**).

Dans le sang des rongeurs, le nickel absorbé est en partie libre, mais surtout lié à des protéines (albumine,  $\alpha$  –macroglobuline, métalloprotéines) et à l'histidine. Un complexe ternaire albumine-nickel-histidine intervient dans le transport (**Benson et al., 1993**).

### **1.5.3 Elimination**

Quelle que soit la voie d'exposition, le nickel absorbé est excrété dans l'urine, à des taux très variables, et le nickel non absorbé est excrété via les fèces. Ainsi, en cas d'ingestion, la plus grande partie du nickel est éliminée en une journée par les fèces (94 à 97 % chez le rat, correspondant au nickel non absorbé), et seulement 3-6 % dans les urines (**ECHA, 2018 ; Campo et al., 2021**).

Après une exposition respiratoire au monoxyde de nickel chez le rat (composé peu soluble dans l'eau), le nickel est excrété uniquement dans les fèces indiquant que le mécanisme d'élimination pulmonaire prédominant de ce composé est médié par les macrophages, plutôt qu'un phénomène de dissolution/absorption. Pour les composés plus solubles dans l'eau, le phénomène de dissolution/absorption au niveau pulmonaire semble jouer un rôle plus important (**Benson et al., 1993**).

### **1.6 Toxicodynamique de nickel**

Une fois entré dans la cellule, les effets du nickel dépendent de sa solubilisation et des doses présentes d'ions Ni<sup>2+</sup> (**Hansen et Stern, 1984**). La capacité de captage par les cellules est directement corrélée à la capacité des dérivés du nickel à élever les taux intracellulaires. Les structures cristallines de NiS sont accumulées dans les vacuoles cytoplasmiques en périphérie du noyau où il se produit une acidification progressive avec dissolution puis relargage de Ni<sup>2+</sup> à la périphérie du noyau où ont lieu des interactions préférentielles avec les régions hétéros chromatiques, Il se forme alors des complexes ADN- protéines et des cassures de brins (**Snow et costa, 1998**).



Une autre interaction est l'inhibition de la transcription des gènes suppresseurs de tumeurs consécutive à la méthylation de l'ADN et aux modifications structurales de la chromatine (**Lee et al., 1995**).

## **1.7 Toxicité (effets sur les grandes fonctions de l'organisme) et Traitement**

### **1.7.1 Toxicité aiguë**

L'intoxication aiguë accidentelle par voie orale provoque essentiellement des troubles digestifs (nausées, vomissements, diarrhée, douleurs abdominales), neurologiques (des céphalées et une asthénie) associée parfois à une bradycardie et à une légère hypothermie, Plus le risque de développer un cancer des poumons, du larynx et de prostate. Ces signes cèdent souvent assez rapidement mais dans certains cas peuvent persister quelques jours (**Campo et al., 2021**).

Selon **Bonnard et al (2009)**, Après l'inhalation d'une concentration estimée à plusieurs centaines de mg/m<sup>3</sup> pendant une heure et demie, un salarié a présenté une détresse respiratoire sévère qui s'est avérée mortelle au bout de 13 jours. Plusieurs intoxications anciennes liées à l'inhalation de poussières de nickel sont rapportées, dont certaines mortelles.

L'absorption cutanée est faible et aucun effet général n'est noté par cette voie, les contacts oculaires n'induisent pas de lésions notables en dehors d'un effet mécanique habituel aux poussières, le nickel et ses oxydes ne sont pas irritants pour la peau saine (**Bonnard et al., 2009**).

### **1.7.2 Toxicité chronique**

Le nickel est connu depuis longtemps comme l'allergène le plus courant pour la peau. Une étude de 1979 indique que la prévalence de la sensibilisation au nickel dans la population générale est élevée, 9% chez la femme et 1% environ chez l'homme (**Cavelier et Fousereau, 1996**). La sensibilisation est le plus souvent due au contact journalier avec des objets usuels (bijoux, boutons, pièces de monnaie, ustensiles divers...). 20% des allergies seraient liées à la seule exposition professionnelle. 40 à 50% des personnes sensibilisées au nickel développent, par contact répété avec le métal et ses composés, des dermatoses eczématiformes récidivantes (**Cavelier et Fousereau, 1996**).

L'inhalation de sels de nickel a provoqué des cas d'asthme, associés ou non à des rhinites et des urticaires, ces pathologies surviennent parfois chez des sujets présentant un eczéma. Les

expositions au nickel ou ses oxydes sont rarement en cause ; on retrouve ces réactions dans le traitement de surface par nickelage électrolytique (**Dupas, 2008**). Les crises, pouvant apparaître dans les minutes qui suivent l'exposition ou bien après plusieurs heures, n'ont pas de caractéristiques particulières, dans certaines opérations il faut noter l'exposition à d'autres allergènes respiratoires comme le chrome ou le cobalt. Les effets chroniques respiratoires du nickel ont été largement étudiés, certaines études indiquent un excès de bronchites chroniques ou de perturbations des fonctions respiratoires (**Dupas, 2008**).

### **1.7.3 Traitement**

En cas d'intoxication au nickel, le repos absolu et le maintien sous contrôle médical pendant plusieurs jours sont préconisés, de graves complications pulmonaires pouvant survenir avec un temps de latence. L'administration de diéthylthiocarbamate de sodium a été recommandée dans le traitement de l'intoxication de nickel carbonyle (**Bradberry et vale, 1999 ; Hoet, 2007**).

Les études expérimentales montrent que le diéthylthiocarbamate est un antidote efficace en cas d'intoxication aigue au nickel carbonyle quand il est administré par voie parentérale peu après exposition (**Bradberry et vale, 1999 ; Hoet, 2007**). Cependant, les données chez l'homme sont insuffisantes pour proposer un schéma thérapeutique. Le disulfirame a également été suggéré, mais les données sont insuffisantes pour le recommander (**Bradberry et vale, 1999 ; Hoet, 2007**).

les crèmes à base d'acide diéthylène triamine penta-acétique (chélateur) sembleraient pouvoir prévenir la dermatite due au nickel ( **Sarry et al., 2005**).

Quoi qu'il en soit, le traitement le plus efficace reste la prévention et donc l'éviction de tout contact avec le nickel et ses composés. ( **Sarry et al., 2005**).

## **2. Généralité sur le stress oxydatif**

Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre entre la production et l'élimination des radicaux libres (**Lü et al., 2010 ; Uno et al., 2010**), ces derniers sont des molécules ou des atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe (**Gardès-Albert et al., 2006**), formés par la perte ou le gain d'électrons à partir d'un composé non radicalaire (**Berger, 2006; Fontaine, 2007**). Les radicaux libres sont souvent des molécules possédant un électron non appariée à son orbite externe ce qu'il le rend instable,

donc il va augmenter son pouvoir oxydant et tentera de prendre un électron des substrats biologiques environnants. Les ROS possèdent deux sources de production, exogène comme les produits de radiation, les médicaments, les polluants d'air, les pesticides et les solvants organiques (**Vergely et Rochette, 2005 ; Flora et al., 2008**), et les sources endogènes notamment résident dans la mitochondrie, via sa chaîne respiratoire (**Favier, 2003**). En effet, environ 2 à 5 % de l'oxygène font l'objet d'une réduction monovalente suite à une fuite des électrons dans la matrice mitochondriale au cours de leurs transfert du complexe I au cycle des quinones (**Balaban et al., 2005; Vergely et Rochette, 2005**). Cette fuite est plus importante dans le cerveau à cause de ses demandes énergétiques élevées (20% de l'O<sub>2</sub> consommé) (**Halliwell, 2006**). En effet, pendant la réduction de l'oxygène par les cytochromes ils se forment les ROS comme l'O<sub>2</sub><sup>•</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et HO<sup>•</sup> sous l'effet des complexes I et III considérés comme générateurs potentiels de ces radicaux libres.

# *CHAPITRE 2*

## *PLANTES MEDICINALES*

## 1. Généralités

La région méditerranéenne d'une manière générale, avec son climat doux et ensoleillé est particulièrement favorable à la culture des plantes aromatiques et médicinales. Ces dernières, selon (Farnsworth et al., 1989) sont des drogues végétales dont au moins une partie qui considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments ; elles sont utilisées pour prévenir, soigner ou soulager divers maux .

Les plantes aromatiques et médicinales constituent une grande source d'antioxydants naturels pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Paradiso et al., 2006).

L'Algérie par sa position biogéographique offre une très grande diversité écologique et floristique, estimé à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15% endémiques reste très peu explorée sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique (Hanifi , 1991). Parmi cette plantes la *Rosmarinus officinalis* qui est très répandue en Algérie .Le mot romarin (*Rosmarinus*) Dérive du latin (*Rosmarinus*) qui se compose de Ros : rose et marinus : marin, donc qui signifie (rose de la mer). En effet, le Romarin est une plante que l'on retrouvera seulement dans les régions où s'étend la rosée venant de la mer (Marion, 2015).

## 2. Définition

Le Romarin est un arbrisseau de la famille des Lamiaceae (Lamiacees) qui se trouve dans les lieux rocheux de la région méditerranéenne et même un peu plus au sud jusqu'aux confins sahariens. Le romarin était utilisé en médecine depuis l'antiquité particulièrement par les égyptiens ; les grecs et les romains (Moussaoui , 2005), Il a été employé essentiellement pour améliorer et stimuler la mémoire et soulager la douleur , ainsi que pour son activité anti-infectieuse, anti-inflammatoire et anticancéreuse (Alessandro et al., 2020).



Figure 01 : Photographie de *R.officinalis* (Ayadi et al., 2011).

### 3. Classification botanique

Tableau 02: Selon Cronquist (1988), *Rosmarinus officinalis* est classée comme suit:

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Division</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Classe</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Ordre</b>	<i>Lamiales</i>
<b>Famille</b>	<i>Lamiaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Rosmarinus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Rosmarinus officinalis</i> L. 1753
<b>Période de floraison</b>	Février à Avril
<b>Couleur des fleurs</b>	Bleu / Mauve
<b>Noms communs</b>	Romarin, Encensier, Herbe aux couronnes, Rose des marins, Rose de la mer, Rose-Marine
<b>Exposition</b>	Soleil
<b>Hauteur</b>	150cm
<b>Habitat et origine</b>	Plante vivace, arbustive, originaire des maquis, garrigues et rocailles du bassin méditerranéen, aujourd'hui répandue un peu partout sous les climats tempérés qui connaissent des hivers doux. La plante aime le plein soleil et tolère modérément la sécheresse. Sous les climats plus nordiques, on la traite comme une annuelle que l'on cultive par semis ou par bouturage, car elle ne résiste pas aux hivers rigoureux.

#### 4. Propriétés biologiques, pharmacologiques et thérapeutiques du romarin

Le romarin a fait l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutique et agroalimentaire. Il possède des propriétés anti-inflammatoires et antispasmodiques (Gianmario *et al.*, 2007). Et une action sur le système nerveux (Gonzalez *et al.*, 2007). Le romarin possède d'excellentes propriétés anti-oxydante et antimicrobienne (Jones, 1998; Thoresen et Hildebrand, 2003). Le romarin, comme toutes les plantes aromatiques et médicinales, contient des composés chimiques ayant des propriétés reviennent à ses principaux constituants qui sont :

**\*Les flavonoïdes :** Les flavonoïdes présents chez *Rosmarinus officinalis* sont dérivés de la flavone. De nombreuses molécules ont été identifiées par (Semrau , 1958) et (Brieskorn *et al.*, 1973) .L'apigénine et la lutéoline ont été isolés par chromatographie sur colonne (Sandra *et al.*, 1969).

**\*Acides phénoliques :** acide vanillique, acide caféique, (Ibañez *et al.*, 2003).

**\*Les Huiles essentielle :** Les huiles essentielles du *Romarin* contiennent: de l'a -pinène (7 à 80%), de la verbénone (1 à 37%), du camphre (1 à 35%), de l'eucalyptol (1 à 35%), du bornéol (4 à 19%), de l'acétate de bornyle (jusqu'à 10%) et du camphène. (Bellakhdar ; 1997).

Cette plante est utilisée en médecine en raison de ses différentes propriétés :

- Anti spasmolytiques, diurétiques, hépato protectrices, soulagement des désordres respiratoires (Lemonica *et al.*, 1996 ).
- Antibactériennes, anti-mutagéniques, antioxydantes, chémo-préventives(Ibañez *et al.* , 2000).
- Anti-inflammatoires, anti-métastasiques (Cheung et Tai , 2007).
- Inhibition de la genèse des tumeurs mammaires (Singletary et Nelshoppen, 1991) et la prolifération des tumeurs cutanées (Huang *et al.*, 1994).
- D'autres études montrent que les composants du romarin inhibent les phases d'initiation et de promotion de cancérogénèse (Offord *et al.* , 1995). Carnosol du romarin possède une activité antivirale contre le virus du SIDA (HIV) (Aruoma *et al.*, 1996). Alors que l'acide carnosique a un effet inhibiteur très puissant contre la protéase de HIV-1 (Paris *et al.*, 1993).

- On le recommande dans les asthénies, les troubles du foie, contre les dyspepsies atoniques ainsi que contre les céphalées et les migraines d'origine nerveuse, les vertiges et les troubles de mémoire (**Poletti, 1988**).
- Il a été également employé en tant qu'analgésique, antiépileptique, diurétique, (**Soyal et al., 2007**) . Ainsi que pour traiter l'ictère et sa fumée a été employée contre la peste (**Heinrich et al., 2006**).

Il est connu pour ces multiples propriétés. En raison de sa teneur en Huile essentielle, en médecine traditionnelle, le romarin aide à la digestion, traite les céphalées et les migraines, les blanchîtes, les coliques, améliore les fonctions hépatiques et biliaires en cas de troubles digestifs. Il est utilisé en usage externe pour soigner les rhumatismes et les troubles circulatoires (**Teuscher, 2005**). C'est un hypoglycémique, il soigne les affections oculaires (**Bnouham et al., 2002**) .Et est utilisé comme antiseptique, cholagogue, antispasmodique, vulnéraire et diurétique(**Koubissi, 2002**). L'acide rosmarinique développe une activité antiinflammatoire in vivo chez le rat (**Anton et Wichil, 1999**). L'infusion de feuilles de romarin, calme les nerfs, surtout au moment de la ménopause (**Volak et Stodola, 1983**). Aussi permet de lutter contre certains agents pathogènes : antimycosique et antibactérien, les affections de la peau : infections, plaies, nettoyage de la peau et des zones génitales. Accélère la pousse des cheveux. L'huile essentielle de Romarin peut déclencher des convulsions et des crises d'épilepsie.

## **5. Utilisation**

### **5.1 .Parfumerie et cosmétique**

Selon **Martini (2011)**, le romarin entre dans la composition de parfums surtout les parfums masculins, les eaux de Cologne, ainsi que dans la formulation des pommades dermiques. Grâce à la capacité de stimulation des terminaisons nerveuses cutanées, le romarin est employé comme tonique dans des bains moussants, et comme liniment pour muscles fatigués à une dose de 1 à 2% .Il a des propriétés dermo-purifiantes qui permettent son utilisation dans la préparation de déodorants, et en lotion et shampooing.



## **5.2. Industrie agro-alimentaire**

Les extraits végétaux du romarin présentent un pouvoir antioxydant important et peuvent être appliqués à la conservation des aliments et des huiles lipidiques. Ces propriétés sont dues aux acides poly phénoliques (rosmarinique, caféique) (**Zoubeidi, 2004**).

## **5.3. Alimentation**

L'épice et l'huile de romarin sont largement utilisés en alimentation, l'épice est utilisée dans les aliments cuits, viande, les aliments industriels, avec le niveau maximum utilisé d'environ 0,41% dans les aliments cuits. L'huile est utilisée dans les desserts glacés, confiseries, gélamines (**Zoubeidi, 2004**).

Le romarin est utilisé en infusions, sous forme de poudres, extraits sec ou autres préparations galéniques pour usage interne et externe, principalement contre les douleurs d'estomac (**Zoubeidi, 2004**).

Les feuilles et fleurs de Romarin peuvent être prises régulièrement en tisane Afin de soulager les femmes de leurs pertes blanches (**Lais, 2014**).

## **6. Pharmacocinétique**

### **6.1. Usage interne**

Le romarin est un stimulant antispasmodique et cholagogue. On l'indique pour ses qualités stimulantes dans les dyspepsies atoniques, les fermentations intestinales, les asthénies, le surmenage, les états adynamiques des fièvres typhoïdes ou muqueuses, de la grippe. En sa qualité d'antispasmodique, il est bénéfique dans le catarrhe chronique des bronches, la coqueluche, les vomissements nerveux ; c'est un bon cholagogue utilisé dans les cholécystites chroniques, certaines ascites et cirrhoses, les ictères ; c'est aussi un emménagogue (aménorrhée dysménorrhée) et un diurétique (hydropisies), un anti-VIH et anti-cancer (**Bousbia, 2011**).

### **6.2. Usage externe**

Pour les traitements externes (entorses, foulures, contusions, torticolis), on emploie les sommités infusées dans de l'alcool. L'extrait alcoolique lui-même agit sur les ulcères, les plaies, les dermatoses parasitaires. La décoction aqueuse s'utilise en gargarismes (angines) et en bains de bouche (aphtes) ou elle est ajoutée à des bains stimulants, soigne les blessures, soulage les maux de tête, améliore la mémoire et la concentration, fortifie les convalescents, combat les

effets du stress et de la fatigue, traite l'inflammation des voies respiratoires et de la sphère ORL (Dias *et al.*, 2000 ; Bousbia, 2011).

## **7. Toxicité du romarin**

### **7.1 .Toxicité en usage externe**

L'huile essentielle utilisée dans le bain peut causer un érythème. Les eaux de toilette contenant de l'huile essentielle de romarin peuvent provoquer des dermatoses ou une hypersensibilité individuelle (Hoefler, 1994).

### **7.2 .Toxicité en usage interne**

L'huile essentielle employée à des doses supérieures de 2 à 3 gouttes/jour provoquerait des risques de néphrites et de gastro-entérites. Les feuilles et les sommités fleuries auraient le même effet à des doses excessives (Fournier, 1948). D'après (Cadeac et Meunier, 1889) (cités par Fournier, 1948), l'huile essentielle administrée "en quantité exagérée" (60 mg/kg) serait épiléptisante chez le chien. Lewin (cité par Garnier et coll, 1961) signale que, chez le lapin, la dose létale est de l'ordre de 1,2 g l'animal avec des symptômes de convulsion, de paralysie des centres respiratoires, d'une abolition de l'excitabilité réflexe et d'une hypotension. Un empoisonnement chronique provoquerait des hémorragies stomacales, une albuminurie, une cylindrurie, une stéatose du foie et des reins (Schreiber, 1878 cité par Garnier et coll., 1961). Plus récemment, (lamothe, 1984) a montré sur des tests de toxicité chez l'animal que l'huile essentielle de *R. officinalis* provoquerait des crises "électro corticales" chez le rat à la dose de 1 ml/kg par voie intra-péritonéale. Les premières manifestations critiques apparaissent 15 minutes après l'injection et la crise généralisée dure environ 20 minutes. Une deuxième crise succède presque immédiatement à la première instaurant "un état de mal". (Delaveau, 1987) précise que 3 prises d'infusé par jour pendant plusieurs semaines peut entraîner une hypertension.

Selon Aouadhi (2010), le romarin peut s'avérer extrêmement toxique à certaines doses, provoquer des irritations et des hémorragies gastro-intestinales, attaquer le foie et les reins (la néphrite), provoquer l'épilepsie...

L'huile essentielle est neurotoxique vu la présence du *camphre*, elle ne devrait donc pas être utilisée par voie orale. Il est également déconseillé d'utiliser les préparations à base de feuilles de romarin au cours de la grossesse et en cas d'hypertension ou d'épilepsie (**Aouadhi, 2010**).

# *PARTIE EXPERIMENTALE*



*MATERIELS*  
*ET*  
*METHODES*

## 1. Cadre et objectifs de l'étude

Cette étude a été réalisée entre janvier et mars 2021 au niveau du laboratoire de toxicologie de l'université de Tébessa, et au cours de cette étude, nous sommes intéressés à évaluer l'effet protecteur d'extrait de *Rosmarinus* sur la cardio-toxicité induite par le chlorure de nickel.

## 2. Matériels

### 2.1. Matériels biologique

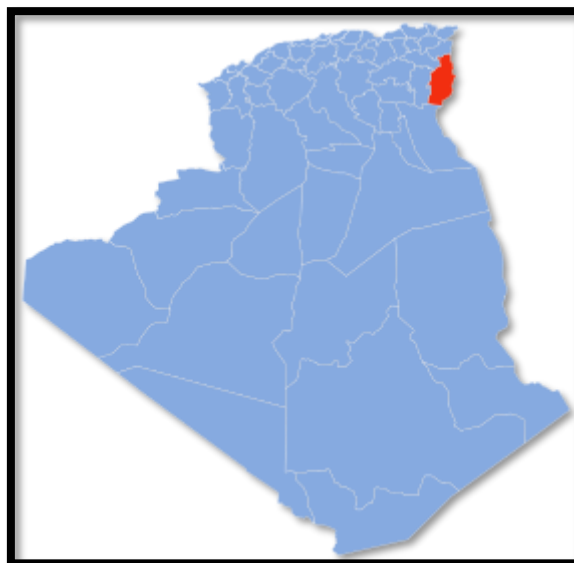
Il s'agit des souches de rats *wistar* Albinos de sexe mâle, et dont le poids est de  $220 \pm 25$  g, ils ont été fournis de l'institut Pasteur (**centre d'élevage d'El-Kouba, Alger**). Les rats obtenus ont été répartis en cinq rats par lot. Ils ont été soumis à une période d'adaptation de 14 jours dans notre animalerie, dont les conditions d'élevage sont les suivantes : les cages utilisées sont spéciales en polyéthylène tapissées de litière constituée par des copeaux de bois renouvelés chaque jour jusqu'à la fin de l'expérimentation, équipés par des biberons d'eau et un accès libre à la nourriture, la température de l'animalerie voisine de  $25^{\circ}\text{C}$ , une photopériode naturelle de 12/12h.



**Figure 02 : Les conditions d'élevage des rats (Photo personnel).**

### 2.2. Matériels végétal

Dans la présente étude on a utilisé les feuilles de plante nommé *Rosmarinus officinalis*. Les feuilles sont fraîchement récoltées, séchées pendant 15 jours puis conservées jusqu'au besoin. Elles ont été prélevées à Hammamet sachant que cette dernière se situe dans la wilaya de Tébessa dans le nord-est de l'Algérie.



**Figure 03 : La localisation de la wilaya de Tébessa (Wikipédia)**

## **2.3 .Appareillage et produits chimiques**

### **2.3.1 .Appareillage**

Étuve ; balance de précision ; spectrophotomètre ; des tubes a essais ; des portoirs ; des béchers ; des fioles ; agitateur magnétiques ; centrifugeuse ; bain marie ; évaporateur rotatif ; réfrigérateur ; des bains de glace.

### **2.3.2 .Produits chimique**

NaOH, BSA, CDNB - Acide orthophosphorique (à 85 %), DTNB, ASS (Acide sulfosalicylique), EDTA (Acide éthylène diamine tétracétique), BBC (Bleu Brillant de Coomassie), GSH, Tris - Méthanol absolu, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, TCA (Trichloro acétique), TBA, NaCl.

## **3. METHODES**

### **3.1. Méthode d'extraction**

☞ L'extraction est une opération qui consiste à séparer certains composés d'un organisme végétal selon diverses techniques. Il s'agit dans notre étude d'extraire des substances (composés phytochimiques) présente dans un solide (mélange de feuilles sèches) pour la faire passer dans un solvant liquide (chloroforme, méthanol et eau).

☞ Extraction solide-liquide L'extraction solide-liquide est une opération de transfert de matière entre une phase qui contient la matière à extraire «solide», et un solvant d'extraction

«liquide». Le but de cette opération est d'extraire et de séparer un ou plusieurs composants mélangés à un solide dans un solvant.

☞ La macération : Dans ce processus, les feuilles sont placés dans un récipient avec le solvant et on laisse reposer à la température ambiante pendant une période d'au moins 3 jours en agitant fréquemment jusqu'à ce que la matière soluble soit dissoute. Le mélange est alors tendu, le marc (la matière solide humide) est pressé, et les liquides combinés sont clarifiés par filtration ou décantation après repos. (Florent, 2016)

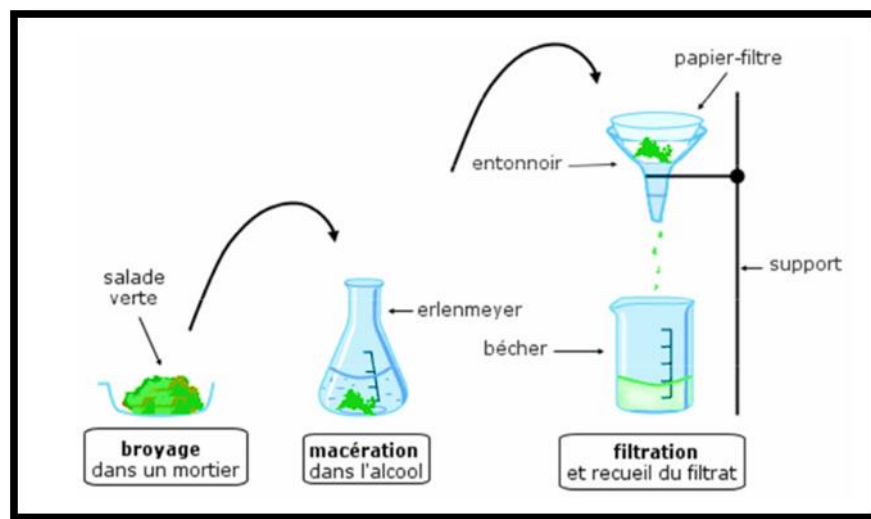


Figure 04 : Les étapes de macération (Florent, 2016)

#### 4. Traitement des rats

20 rats ont été répartis en 4 lots de 5 rats pour chacun, comme suit :

- ❖ **Lot T** : lot témoin (T) non traités
- ❖ **Lot N** : lot nickel (N) traité par chlorure de nickel à la dose de 10mg/kg/jour, voie orale pendant une durée de 28 jours.
- ❖ **Lot E** : lot extrait (E) traité par l'extrait recevant 100mg/kg/jour, voie orale pendant une durée de 28jours
- ❖ **Lot E+N** : lot mixture (E+N) traité par la mixture de chlorure nickel avec une dose de 10mg./kg/j et l'extrait avec une dose de (100mg/kg/j) pendant une durée de 28 jours.

##### 4.1.Sacrifices des rats et récupération du cœur

Après 28 jours de traitement, les rats des 4groupes ont été sacrifiés par décapitation.



Après une dissection thoraco-abdominale longitudinale des rats sacrifiés, le cœur est prélevé, rincé avec l'eau physiologique à 0.9%, pesé puis conservés au congélateur pour le dosage des paramètres (**protéine, GST, GSH, GPx CAT, MDA**) du stress oxydant.



**Figure05 : Le sacrifice des rats et la récupération des organes (photo personel).**

## **5. les paramètres de dosage**

### **5.1. Préparation de l'homogénat**

Un gramme du cœur de chaque rat, a été utilisé. Après le broyage et l'homogénéisation des tissus dans le TBS (Tris 50 mM, NaCl 150m M, pH 7.4), le mélange est mis dans des glaçons et centrifugé (9000 tours/min, 4°C, 15 min), le surnageant obtenu est aliquote dans des tubes ependorfs, puis conservés à -80°C en attendant d'effectuer les dosages des paramètres du stress oxydatif.

### **5.2. Dosage de paramètre de stress oxydatif**

#### **5.2.1. Dosage de Glutathion GHS**

##### **❖ Principe**

Le dosage du glutathion est effectué selon la méthode de (**Weckbeker et Cory, 1988**). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance de l'acide 2-nitro-5-mercapturique, ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion.

##### **❖ Protocole d'expérience**

-Prélever 0.8ml de l'homogénat (broyage de 200mg de l'échantion (cytosol/matrice) + 8 ml de solution d'EDTA à 0,2M).

- Ajouter 0.2ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) à 0.25%.
- Agiter et laisser pendant 15min dans un bain de glace.
- Centrifuger pendant 5min à 1000t/min.
- Prélever 0.5ml du surnageant
- Ajouter 1ml de tampon tris-HCL+EDTA (0.02M), pH 9.6.
- Ajouter 0.025ml de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01M dissous dans le méthanol absolu.
- Laisser le mélange pour reposer pendant 5min à température ambiante.
- Mesurer l'absorbance (A) à 412nm.

➤ **Calcul**

$$[GSH] = \frac{D_0 \times 1 \times 1,525}{13100 \times 0,8 \times 0,5mgP_t} nMGSH/mgP_t$$

- **D0** : Densité optique.
- **1** : Volume total des solutions utilisées de la déprotéinisation. (0.8 ml homogénat +0.2ml SSA).
- **1.525** : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 ml surnageant+1 ml Tris-EDTA+0.025 ml DTNB).
- **13100** : Coefficient d'absorbance (contenant le groupement-SH à 412 nm).
- **0.8** : Volume de l'homogénat après déprotéinisation trouvé dans 1 ml.
- **0.5** : Volume du surnageant trouvé dans un 1.525 ml.

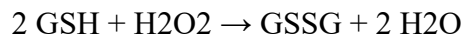
On que la concentration de GSH est mesuré par apport à 1 mg de protéine. C'est pour cela ce dosage doit être accompagne par le dosage des protéines.

### 5.2.2 Dosage de l'activité enzymatique de la Glutathion peroxydase (GPx)

❖ **Principe**

L'activité enzymatique de la GPx est mesurée par la méthode de (Flohe et Gunzler, 1984), en utilisant du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) comme substrat. Elle est basée sur la

réduction du (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en présence de glutathion réduit (GSH) pour former le (GSSG) sous l'action de la GPx selon la réaction suivante:



#### ❖ Protocole d'expérience

- Prélever un volume de 0.2ml de cytosol/matrice.
- Ajouter 0.4ml de GSH 0.1mM et 0.2ml de tampon phosphate 0.067M, pH 7.8.
- Incuber au bain marie à 25°C pendant 05min.
- Ajouter 0.2ml d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1.3mM pour initier la réaction et laisser pendant 10 min.
- Rajouter 1ml de TCA 1% (acide tri chloro-acétique) dans le but d'arrêter la réaction et laisser le mélange dans un bain de glace pendant 30min.
- Centrifugé durant 10min à 3000t/mn.
- Prélever un volume de 0.48 ml de surnageant.
- Ajouter un volume de 2.2ml de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.32M avec 0.32ml de DNTB 1mM.
- Mesurer la densité à 412nm chaque 30sec pendant 5min.

#### ➤ Calcul

La détermination (calcule) de l'activité de la GPx se fait de la façon suivante :

Activité de GSH consommée / min / gr de protéine

Blanc = 0.04 micro mole de GSH réduit ----- DO<sub>b</sub>

Extrait = 0.04 // // -----DO<sub>e</sub>

Donc la concentration de GSH réduit qui sera oxydée (disparue) = DO<sub>e</sub> – DO<sub>b</sub>

$$X = \frac{(DO_e - DO_b) \times 0,04}{DO_b} = \text{quantité de GSH réduite disparue (oxydée)}$$

$$L'activité de la GPx = X \times \frac{5}{\text{La concentration de protéine}}$$

### 5.2.3 .Dosage de l'activité enzymatique de la Glutathion S-transférase (GST)

#### ❖ Principe

L'activité enzymatique de glutathion S-Transférase (GST) est déterminée selon la méthode de (**Habig et al., 1974**), cette méthode est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, généralement le CDNB (1-Chloro2,4-dinitrobenzène), la conjugaison

entraîne la formation d'une molécule nouvelle ; 1-S-Glutathionyle 2-4Di nitrobenzène permettant de mesurer l'activité de GST. La valeur de la densité optique mesurée est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formé elle-même liée à l'intensité de l'activité GST.

#### ❖ Protocole d'expérience

-Centrifuger l'homogénat [échantillons +1ml de tampon phosphate (0.1M, pH6)] à 14000 t/min pendant 30 min.

-Prélever 200µl du surnageant

-Ajouter 1.2ml du mélange CDNB (1mM), GSH (5mM) [20.26mg CDNB, 153.65mg GSH, 1ml éthanol, 100ml tampon phosphate (0.1M, PH 6)].

-Lire les absorbances pendant une minute et chaque 15sec à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

#### ➤ Calcul

$$GST \text{ (nmol GST /min/mgprotéine)} = \frac{DO(\text{min}) \times V_A}{e \times V_s} / \text{mgde protéine}$$

- **DO** : Densité optique de l'échantillon /min.
- **DO/min blanc** : Densité optique du blanc /min
- **e**: Coefficient d'extinction molaire du CDNB = 9,6mM-1 cm-1
- **VA**: Volume totale dans la cuve (0,2ml.Surnageant + 1,2mélange).
- **Vs**: Volume du surnageant dans la cuve (0,2ml).

#### 5.2.4. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

##### ❖ Principe

Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode (**d'Esterbauer et al., 1992**). Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique pour former un complexe en couleur rose.

##### ❖ Protocole d'expérience

-Prélever 375µl de surnageant

- Ajouté un volume de 150µl de la solution TBS (tris 50mM, NaCl (150mM ; pH7.4) et un volume de 375µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%)
  - Agiter puis centrifuger à 1000t/min pendant 10min.
  - Prélever 400 µl du surnageant.
  - Ajoute 80µl du HCL 0.6M et 320µl de la solution tris-TBA (tris 26mM, TBA120mM).
  - Vortexer et incuber au bain marie à 80°C pendant 10minutes.
  - Lire les densités optiques des échantillons par spectrophotométrie à 530 nm.
- La concentration du MDA est calculée selon la loi de Beer-Lambert (DO = E.C.L) :

➤ **Calcul**

$$C \left( \frac{\text{nmol}}{\text{mg}} \text{deprotéine} \right) = \frac{DO. 10^6}{\epsilon. L. X. Fd}$$

- **C** : Concentration en nmoles /mg de protéines
- **DO** : Densité optique lue à 530 nm
- **ε** : Coefficient d'extinction molaire du MDA = 1.56 10<sup>5</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>
- **L** : Longueur du trajet optique = 0.779 cm
- **X** : Concentration de l'extrait en protéines (mg/ml)
- **Fd** : Facteur de dilution: Fd = 0.2083.

### 5.2.5. Dosage des protéines tissulaires

#### ❖ Principe

Les protéines réagissent avec un réactif coloré contenant de l'acide ortho phosphorique ; de l'éthanol aussi que le bleu de coomassie (BBC) ; ce réactif réagit avec le groupement (-NH<sub>2</sub>) des protéines, l'intensité de la couleur reflète la concentration des protéines se fait selon la méthode de **(Bradford , 1976)**.

#### **On prépare la solution comme suit :**

-100mg de bleu de coomassie G250 +50 ml éthanol 95 % +100ml d'acide ortho phosphorique a 85%, agiter 360 min puis compléter le volume a 1 litre par l'H<sub>2</sub>O (durée de conservation 1 mois)

#### ❖ Protocole d'expérience

- prélever 0.1 ml de l'homogénat
- ajoutez 5 ml du réactif coloré (BBC)
- agiter et laisser min pour la stabilisation de la couleur

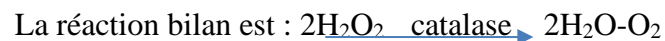
-mesurer l'absorbance optique à 595 nm contre une balance contenant l'eau distillée a la place de l'homogénat. La densité optique obtenue est rapportée sur la courbe d'étalonnage préalablement tracé.

### 5.2.6 .Dosage de l'activité enzymatique de la catalase

#### ❖ principe

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus. Ce sont des enzymes numériques, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH. Ces enzymes interviennent dans la défense de la cellule contre le stress oxydant en éliminant les espèces réactives et en accélérant la réaction spontanée de l'hydrolyse du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) toxique pour la cellule en eau et en oxygène (Achi, 1984).

La réaction se fait en deux étapes :



L'activité CAT est mesuré 240nm a l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation de peroxyde d'hydrogène ( H<sub>2</sub> O<sub>2</sub> ) en faisant réagir dans 100mMde tampon phosphate pendant 1 min a PH 7.4 200 µld'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ( 500Mm) sur 20 µl d'homogénat a une température d'incubation de 25 ° C. les résultats ont été exprimés en µ moles d' H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par minute et par mg de protéine .

#### ❖ protocole

**Tableau 03** : Protocole utilisé pour le dosage de l'activité enzymatique du catalase

	Blanc (µl)	Essai (µl)
TP (100mM, PH 7.5)	800	780
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 500mM	200	200
Homogénat (1 µ 1.5 mg de protéine / ml)	0	20

On note que:

- La quantité du surnageant (S9) doit être déterminée en fonction de la quantité desprotéines qui doit être comprise entre 1 et 1.5 mg/ml soit une quantité de 10 à 20 µl de S9.
- L'activité décroissant rapidement, il est important de mettre toujours le même temps entre le pipetage et le moment où on place la cuve au spectrophotomètre.

- La lecture de l'absorption se fait après 15 secondes de délai et durant 60 secondes de mesure à une longueur d'onde  $\lambda = 240\text{nm}$ .

*RESULTS  
ET  
DISCUSSION*



## 1. Résultats

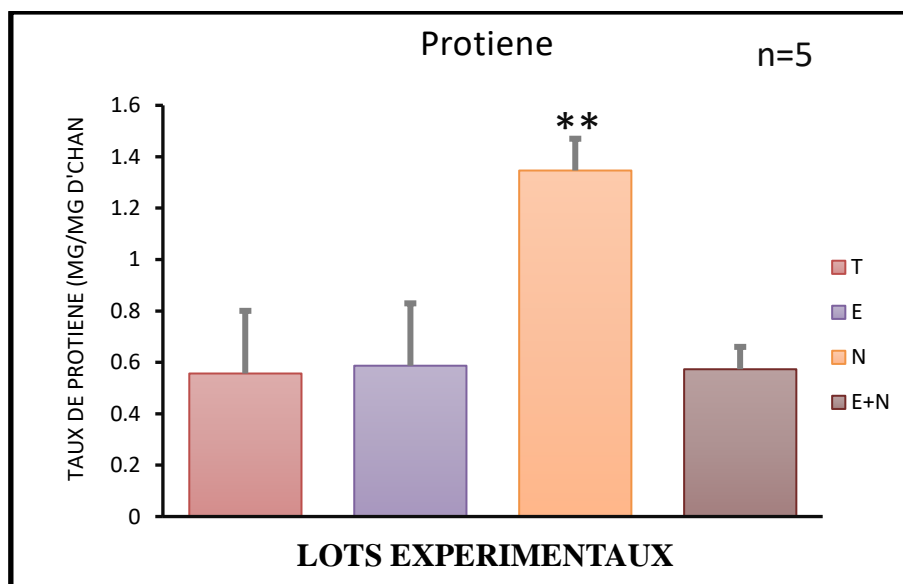
### 1.1. Étude des biomarqueurs de croissance (taux de protéine)

Les résultats obtenus suite à l'évaluation de taux des protéines montrent une augmentation hautement significative ( $p \leq 0.01$ ) de taux de protéines tissulaires chez le lot traité par le chlorure de nickel à dose de 10mg/kg/jour par rapport au lot témoin alors que pas de différence chez le lot traité par l'Extrait de la plante à dose de 100mg/kg/jour et l'extrait de la plante et chlorure de nickel à dose de 10mg/kg/jour pendant 28 jours. (selon le tableau 4 et figure 6)

**Tableau 4 :** Evaluation d'activité de protéines tissulaire des rats dans les différents lots expérimentaux.

	Témoin (T)	Extrait (E)	Chlorure de Nickel (N)	Mixture (E+N)
Protéine	0,55±0,24	0,58±0,24	1,34±0,12**	0,57±0,08

\* : Différence significative comparant au témoin ( $P \leq 0,05$ ). \*\* : Différence hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,01$ ). \*\*\* : Différence très hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,001$ ).



**Figure 06 :** Variation de l'activité de protéines tissulaire chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours.\* : Différence significative comparant au témoin ( $P \leq 0,05$ ). \*\* : Différence hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,01$ ). \*\*\* : Différence très hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,001$ ).

## 1.2 Étude des biomarqueurs de stress oxydatif

Non résultats obtenus chez les rats après traitement par le chlorure de nickel a dose de 10mg/kg/jour et l'extrait de *rosmarinus officinalis* à dose de 100mg/kg/jour aussi la mixture a dose de 10 mg/kg/jour pendant 28 jours sont présentés dans le tableau 05 et les figures 7, 8, 9, 10, 11

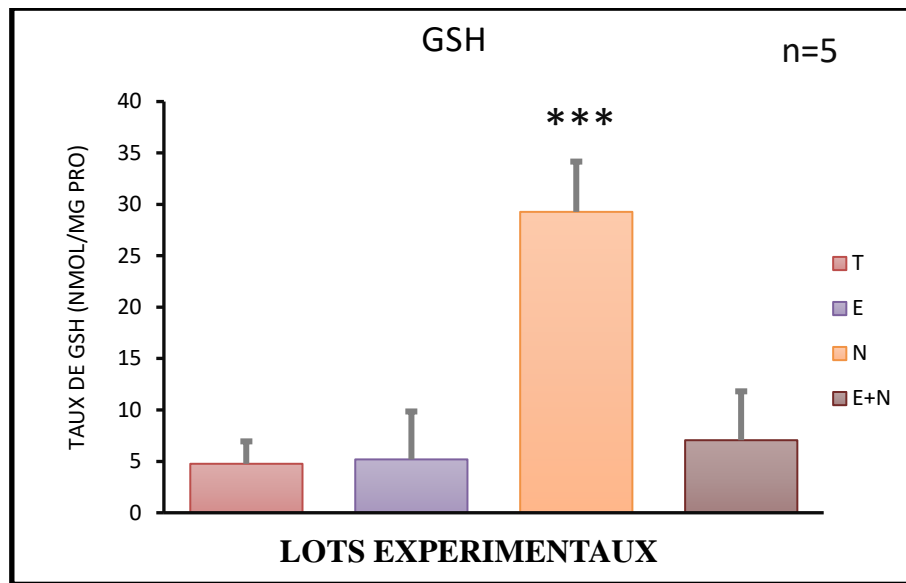
**Tableau 05** : Activités de peroxydation lipidique et des enzymes antioxydants dans le cœur des rats testés et témoins

	Témoin	Extrait	Chlorure Nickel	Mixture
<b>GSH</b>	4,76±2,17	5,19±4,66	29,27±4,88***	7,05±4,75
<b>MDA</b>	7,87±3,60	8,58±7,70	48,39±8,08**	17,66±7,86
<b>GST</b>	7,87±0,60	6,58±0,70	18,39±0,08*	11,66±0,86
<b>GPX</b>	0,54±0,09	0,65±0,08	0,13±0,08***	0,47±0,06
<b>CAT</b>	37,87±3,60	38,58±7,70	18,39±8,08**	35,66±7,86

\* : Différence significative comparant au témoin ( $P \leq 0,05$ ). \*\* : Différence hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,01$ ). \*\*\* : Différence très hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,001$ ).

### 1.2.1. Glutathion réduit (GSH)

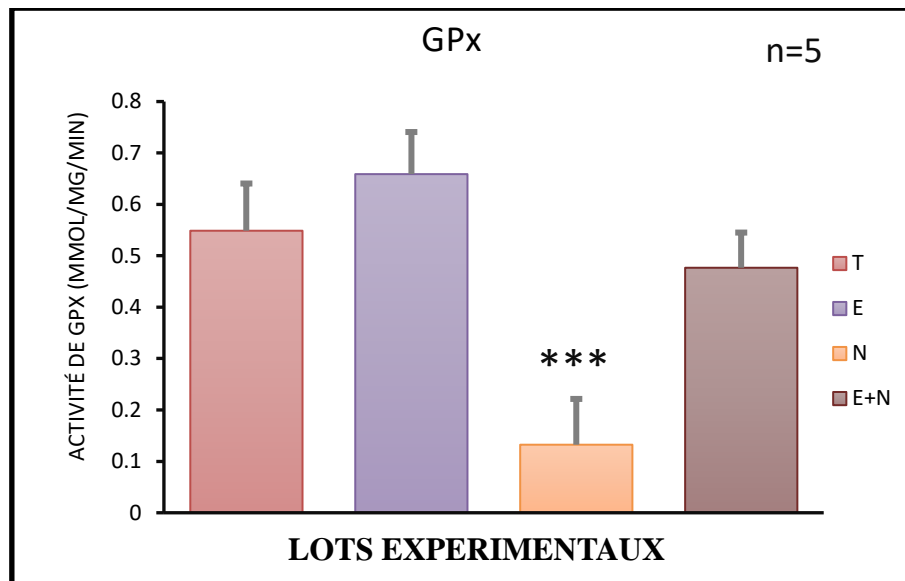
Suite au résultat obtenus le taux en GSH montre une augmentation très hautement significative ( $p \leq 0.001$ ) chez le groupe traité par le chlorure de nickel a dose de 10 mg/kg/ jour au niveau du cœur comparativement au groupe témoin, et significative ( $p \leq 0,05$ ) chez le lot traité par l'extrait + chlorure de nickel a dose de 10 mg/kg/ jour ,En revanche, on enregistre une amélioration significative du taux en GSH chez le lot traité par l'extrait de *rosmarinus officinalis* à dose de 100 mg/kg/ jour pendant 28 jours .(Tableau 05 et figure 07).



**Figure 07 :** Variation de l'activité de Glutathion réduit (GSH) cardiaque chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours. \* : Différence significative comparant au témoin ( $P \leq 0,05$ ). \*\* : Différence hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,01$ ). \*\*\* : Différence très hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,001$ ).

### 1.2.2. Glutathion peroxydase (GPx)

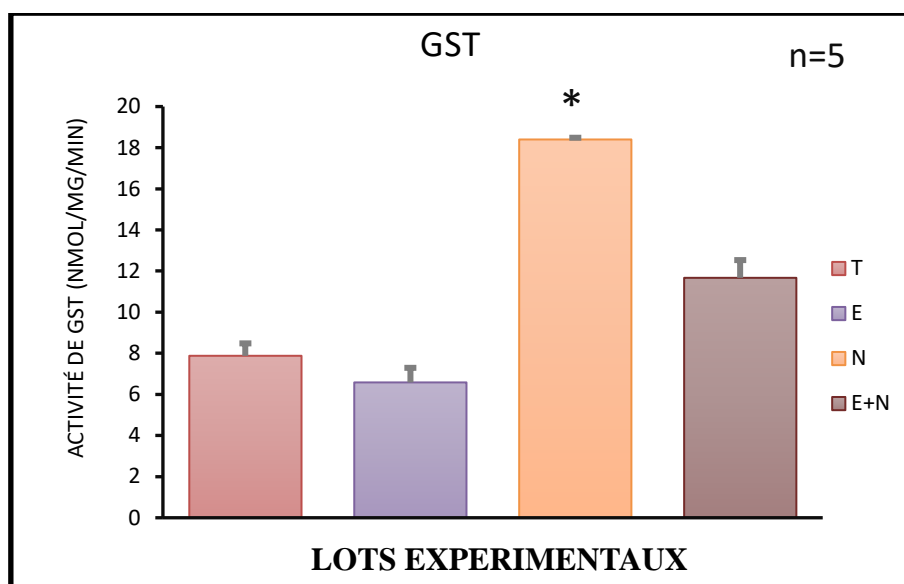
Non résultats montrent une diminution très hautement significative ( $p \leq 0.01$ ) de l'activité de glutathion peroxydase GPx cardiaque a été enregistrée chez les lots traités par le chlorure de nickel dose de 10 mg/kg/jour par rapport au groupe témoin. Par contre, aucune variation significative chez le lot traité par le *rosmarinus officinalis* à dose de 100 mg/kg/jour, et une diminution significative ( $p \leq 0,05$ ) enregistrée chez le lot traité par la combinaison d'extrait + le chlorure de nickel a dose de 10mg/kg/jour comparativement au lot témoin. (Traitement de 28 jours) selon le tableau 05 et figure 08.



**Figure 08 :** Variation de l'activité de Glutathion peroxydase (GPx) cardiaque chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours. \* : Différence significative comparant au témoin ( $P \leq 0,05$ ). \*\* : Différence hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,01$ ). \*\*\* : Différence très hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,001$ ).

### 1.2.3. Glutathion- S- transférase (GST)

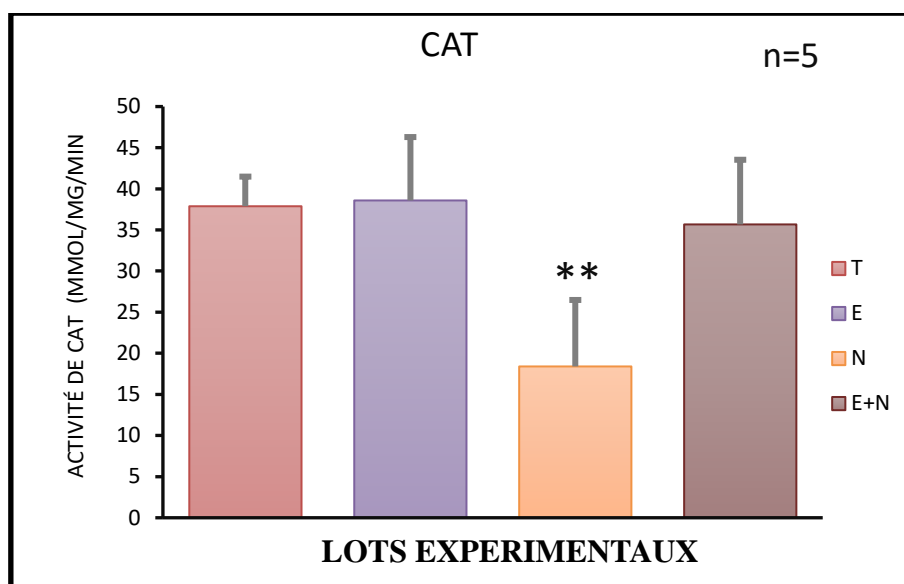
Cette fois ci nos résultats montrent une augmentation significative ( $p \leq 0,01$ ) de l'activité enzymatique de la glutathion-S- transférase (GST) cardiaque chez le lot traité par le chlorure de nickel à dose de 10mg/kg/jour en comparaison avec le lot témoin .Nous avons enregistré également une augmentation non significative ( $p \leq 0,05$ ) de l'activité enzymatique de la GST chez le lot traité par l'extrait + le chlorure de nickel à dose de 10mg/kg/jour par rapport aux lots témoins pendant 28 jours selon tableau 05 et figure 9.



**Figure 09 :** Variation de l'activité de (GST) cardiaque chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours.\* : Différence significative comparant au témoin ( $P \leq 0,05$ ). \*\* : Différence hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,01$ ). \*\*\* : Différence très hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,001$ ).

#### 1.2.4. Catalase(CAT)

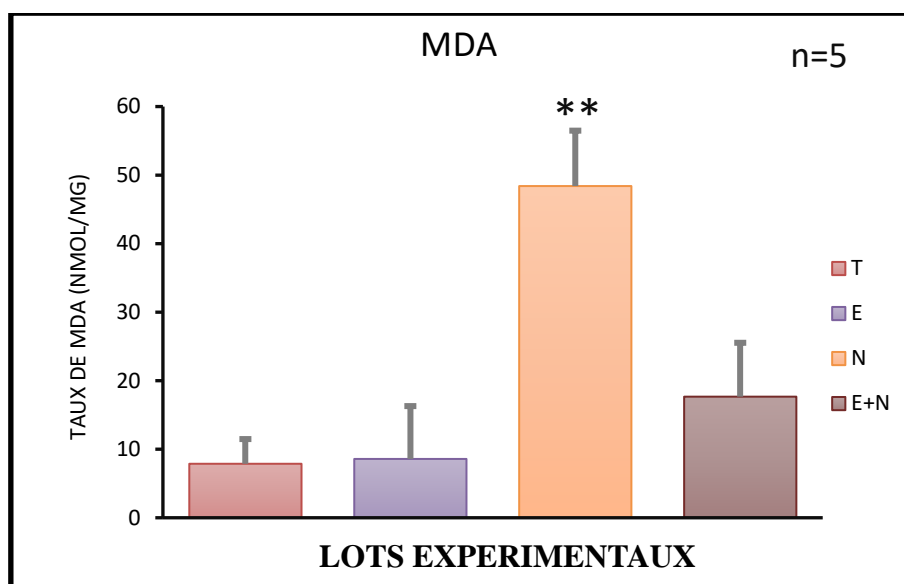
Nos résultats montrent une diminution hautement significative de l'activité de la catalase cardiaque a été observée chez le même groupe d'animaux par rapport à la valeur témoin. En revanche, l'activité de la catalase cardiaque a également été peut réduite dans le groupe qui a reçu l'extrait et le chlorure de nickel a dose de 10mg/kg/jour pendant 28 jours. Les activités de la catalase dans le cœur des rats traités avec l'extrait seulement n'étaient pas significativement différentes de celles du témoin. Ce qui montre le tableau 05 et figure 10.



**Figure 10 :** Variation de l'activité de (CAT) cardiaque chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours.\* : Différence significative comparant au témoin ( $P \leq 0,05$ ). \*\* : Différence hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,01$ ). \*\*\* : Différence très hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,001$ ).

### 1.2.5. Malondialdéhyde (MDA)

Nous avons obtenu, suite au traitement des rats par le chlorure de nickel a dose de 10mg/kg/jour, une augmentation très hautement significative ( $p \leq 0.001$ ) du taux de MDA dans le cœur enregistrée par rapport au groupe témoin et une augmentation significative ( $p \leq 0,05$ ) enregistrée chez les lots traités par l'extrait et le chlorure de nickel a dose de 10 mg/kg/jour et une diminution non significative enregistrée chez le groupe traité par l'extrait a dose de 100mg/kg/jour pendant 28 jours chez les rats wistar. (Tableau 05 et figure 11).



**Figure 11 :** Variation de l'activité de (MDA) cardiaque chez les rats témoins et les rats traités après 28 jours.\* : Différence significative comparant au témoin ( $P \leq 0,05$ ). \*\* : Différence hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,01$ ). \*\*\* : Différence très hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,001$ ).

## 2. Discussion

Les sciences dernièrement sont envahies par un nouveau concept, nommé «stress oxydant» qui est l'un des principaux mécanismes de toxicité associés à des xénobiotiques dans l'environnement, parmi lesquels, on retrouve les métaux lourds (**Gasmi, 2018**).

Nombreux travaux ont montré que les métaux lourds incluant le nickel sont capables d'induire des perturbations physiologiques, métaboliques, développementales, dont le stress oxydatif est une composante majeure (**Hattiwale et al., 2013**).

Cette partie a pour objectif de faire la synthèse des résultats obtenus lors de traitement des rats wistar par le chlorure de nickel. Les effets toxiques de ce métal sur le cœur ainsi que l'effet correcteur de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* sont mise à l'évidence par l'investigation des paramètres métaboliques, paramètres enzymatiques. Cette expérience nous a permis de mettre en évidence les relations entre l'exposition à un métal lourd et les effets toxiques qu'ils induisent en fonction de la matrice d'exposition au niveau du cœur. Les résultats de notre étude ont montré que le traitement orale des rats par le  $\text{NiCl}_2$  pendant 28 jours a entraîné une cardiotoxicité et a engendré une perturbation des paramètres métaboliques et enzymatiques.

## **2.1 Discussion sur les paramètres métabolique**

### **2.1.1 Effet de traitement sur la croissance**

Comme nos résultats montrent une augmentation hautement significative dans le lot traité par le chlorure de nickel, qu'il prouve une toxicité de ce dernier aussi (**Boulila et al., 2014**) ont montré les mêmes résultats, de même (**Mongi et al., 2011**) ont signalé une augmentation de protéine chez le rat et cette toxicité pourrait être attribuée à ses radicaux libres induits dommages oxydatifs. De plus cette augmentation pourrait être dû à l'induction de la synthèse d'enzymes de détoxification et de métabolisation sous l'effet du stress oxydatif (**Nahid et al., 2015**) le Nickel peut modifier le métabolisme des protéines et les acides aminés et leurs synthèses (**Pari et Amudha, 2011**)

Nos résultats montrent le rôle bénéfique du *Rosmarinus* sur la fonction cardiaque, d'où nous avons enregistré une normalisation après le traitement des rats du Ni par *Rosmarinus*.

## **2.2 Effet de traitement sur les paramètres de stress oxydatif**

### **2.2.1 Effet sur la GSH**

Dans la première série d'analyse, les indices de cardiotoxicité au niveau des tissus cardiaque ont été importants. Le glutathion est un facteur major dans les mécanismes de détoxification de la cellule et constitue la première ligne de défense antioxydant. Le glutathion réduit a donc un rôle de protecteur des cellules contre les actions toxiques (**Saka et al., 2002**)

les changements des taux de GSH peuvent être considérés comme un indicateur particulièrement sensible du stress oxydant (**Senouci et al., 2009**). L'augmentation de taux de GSH reflète son participation à la défense cellulaire contre les ERO. A l'inverse, les dommages oxydatifs ont été réduits suite à la supplémentation du l'extrait. Une telle réduction pourrait être due à l'effet antioxydant de cette dernière.

### **2.2.2 Effet sur la GPx**

Les GPx constituent une famille d'enzymes capables de réduire des composés hydroperoxydes en composés hydroxyles correspondants en utilisant du glutathion ou des agents réducteurs équivalents comme co-substrats (**Gladyshef et al., 1998**).

La GPx est un enzyme antioxydant clé qui règle le niveau des ROS, elle est fortement dépendante de la concentration en glutathion, l'équilibre de ce système enzymatique peut être



essentiel d'éliminer anion superoxyde et peroxydes générés dans les tissus (**Bray et Taylor, 1993; Jung et Henke, 1996**). Nos résultats montrent une diminution de l'activité enzymatique de GPx. Cette diminution est due principalement à une surproduction de peroxyde d'hydrogène (**Käkelä et al., 1999**). En effet, l'augmentation de la peroxydation lipidique affaiblit aussi bien le fonctionnement des membranes par la baisse de leur fluidité que l'activité des enzymes membranaires et cytoplasmiques.

A l'inverse, Après l'addition du *Rosmarinus officinalis* cette diminution est significativement neutralisée par rapport au témoin.

### **2.2.3 Effet sur la GST**

L'activité de la GST a également été largement utilisé comme un biomarqueur de stress (**Fitzpatrick et al., 1997**)

La glutathion S-transférase est une enzyme ayant un rôle important dans la désintoxication des xénobiotiques et la protection contre les métabolites nocifs générés après la dégradation des macromolécules (**Hayes et Pulford., 1995**) qui prouve nos résultats qui ont l'augmentation de l'activité de GST dans les tissus cardiaux chez les rats traitée par le nickel ces résultats s'accordent aux travaux de (**Ognjanović et al., 2008**)

La réponse de l'activité de la GST dépend de plusieurs facteurs comme le type de xénobiotiques, la concentration, le temps d'exposition et de l'espèce (**Oruç et Üner, 2000**) Concernant la glutathion S-transférase (GST), cette enzyme joue un rôle important dans la désintoxication des xénobiotiques et elle a une grande capacité à réduire les peroxydes lipidiques (**Griffith,1999 ; Iscan et al., 2002**).

### **2.2.4 Effet sur le catalase**

La catalase (CAT) représente la deuxième étape du système de défense enzymatique. Elle prend en charge le peroxyde d'hydrogène précédemment produit par les SODs et le métabolise en eau (**Chakrabarti, 1982**).

Le Catalase joue un rôle important dans la protection de l'organisme contre les dommages du stress oxydant (**Cakmaket Horst, 1991**).

### **2.2.5 Effet de MDA**

Le malondialdéhyde (MDA) est l'un des indicateurs les plus fréquemment utilisés de la peroxydation lipidique où il est produit lors de la peroxydation des lipides polyinsaturés (**Geyu et al., 2014**).

Dans ce travail, nous avons mis en évidence une augmentation de MDA en présence des deux xénobiotiques testés et leurs mixtures cette augmentation est dose dépendante. Nos résultats confirment ceux de **Grara (2011)** sur les gastéropodes *Helix aspersa* ou encore **Zaouani (2010)** qui a mis en évidence une augmentation du taux de MDA chez des rats traités par des pesticides

Après l'addition du Romarin cette augmentation est significativement neutralisée par rapport au témoin.

L'amélioration remarquable des paramètres de stress oxydatif après le traitement par l'extrait de Romarin peut expliquer comme suite: la plante possède une activité antioxydant basé sur l'élimination des radicaux libre et la restauration de la présence de la balance oxydants/antioxydants durant la toxicité induite par ce métal. La présence des polyphénols et des flavonoïdes dans le Romarin pourrait être responsable de l'activité antioxydante. Les flavonoïdes sont des composés de métabolisme secondaires le plus important de la plante modulant la peroxydation lipidique. Les groupes phénoliques de polyphénols peuvent accepter un électron pour former les radicaux phénoxyles relativement stable, ce qui perturber les réactions d'oxydation en chaine des composants cellulaire (**Guillouty, 2016**).

*CONCLUSION*

## **Conclusion**

L'utilisation des métaux lourds provoquent quelques problèmes environnementaux et sanitaires et c'est le moment de faire lutter contre ces derniers et à travers ce projet de fin d'étude on a conclure que :

- L'administration orale de NiCl<sub>2</sub> (10 mg/kg/jour) pendant 28 jours a provoqué une perturbation des paramètres de la fonction rénale chez les rats. Cette perturbation est associée à une altération des tissus du cœur, ce métal la provoque une fibrose. De plus, le statut antioxydant a été affecté, suggérant ainsi que le NiCl<sub>2</sub> altère le système antioxydant au niveau cardiaque ce qui génère un état de stress oxydant.
- L'administration de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* concomitance avec le NiCl<sub>2</sub> a fait diminuer le niveau de la toxicité, en modulant les niveaux des biomarqueurs de stress oxydant, et en régulant l'activité des enzymes antioxydants.

Les résultats montrent clairement que l'extrait de la plante joue un rôle protecteur très important vis-à-vis la toxicité cardiaque provoquée par ses composés et qu'il a un effet antioxydant très puissant.

En effet, il ressort du présent travail que l'extrait de *Rosmarinus officinalis* est un produit fort intéressant et riche en possibilités thérapeutiques.

Nos résultats sont pour ouvrir dans le future des perspectives expérimentales qui devraient nous permettre d'identifier clairement les molécules impliquées dans l'effet cardiotoxique et antioxydant de l'extrait de la plante et d'avancer vers une meilleure connaissance des mécanismes moléculaires intervenant dans les effets pharmacologiques observée.

*REFERENCES*  
*BIBLIOGRAPHIQUES*

*A*

**Aboughe Angone, S., Aworet Samseny, R.R.R., et Eyele Mve Mba, C. (2015).** Quelques propriétés des huiles essentielles des plantes médicinales du Gabon. *Phytothérapie*, 13: 283–287.

**Alessandro Allegra , Alessandro Tonacci , Giovanni Pioggia et al (2020).**Anticancer Activity of *Rosmarinus officinalis* L.: Mechanisms of Action and Therapeutic Potentials *Nutrients* 2020, 12, 1739; doi:10.3390/nu12061739.

**Aruoma O. I., Spencer J. P., Rossi R., Aeschbach R., Khan A., Mahmood N et al( 1996).** An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosmar y and provençal herb. *Food and Chemical Toxicology* 34 (5):456.

**Aouadhi S (2010).**Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle étude de 57 plantes recommandées par les herboristes.mémoire de master : toxicologie.tunis, faculté de médecine

**Ayadi, S., Jerribi, C., and Abderrebba, M. (2011).** Extraction et étude des huiles essentielles de *Rosmarinus Officinalis* cueillie dans trois régions différentes de la Tunisie. *J Soc Alger Chim*, 21(1) : 25–33.

*B*

**Baba Aissa F(1999)** .Encyclopédie des Plantes Utiles : Flore d’Algérie et du Maghreb. Ed. Librairie Moderne., Rouïba: 243 -244.

**Background document in support of the Committee for Risk Assessment (RAC) for evaluation of limit values for nickel and its compounds in the workplace(2018).** ECHA,( [https://echa.europa.eu/fr/ 1](https://echa.europa.eu/fr/1)).

**Balaban RS (2005)** . Nemoto S, Finkel T (Mitochondria, Oxidants and Aging. *Cell* 120: 483-495

**Basketter,D.F., Gerberick, I, Illis, C.(1999).** Toxicology of contact dermatitis:Allergy and urticaria .Ed. *Current toxicology series*. P180

**Barbara, Southerland (2009).** Nickel(En Ligne).In :L’encyclopédie Canadienne.

**Bellakhdar, J. (2006).** Précis de phytothérapie moderne ; plantes médicinales au Maghreb et soin de base .*Edition le Fennec*. P : 294-295.

**Belakhdar J., (1997)** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Idis PRESS (Ed). Paris,764p

- Berkane Amina (2015).** La Détermination Des Propriétés Thermodynamiques D'huile Essentielle De *Rosmarinus Officinalis L.* mémoire de master :Chimie pharmaceutique et substances naturelles. Bounaama :Université Djilali Bounaama - Khemis Miliana, P66.
- Benson JM, Barr EB, Bechtold WE, Cheng Y-S et al (1993).** Fate of inhaled nickel oxide and nickel subsulfide in F344/N rats. *Inh Toxicol.* 1993 ; 167-183.
- Berger M (2006).** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme* 20: 48-53
- Bonnard, N., Brondeau, MT., Facy, M., Serre, P. (2009)** .Nickel et ses oxydes. *Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS)*. P : 07
- Boulila, S., El Feki, A., Oudadesse, H., Kallel, C., El Feki, H (2014).** Detoxification of rats subjected to nickel chloride by a biomaterial-based carbonated orthophosphate. *Ann. Pharm. Fr.* **72(5)**: 348-62.
- Bousbia N., (2011).** Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires. Thèse de doctorat , université d'Avignon et des Pays de Vaucluse et Ecole Nationale Supérieure Agronomique ,181 p.
- Brun, R (1979).** Nickel dans les aliments et eczéma de contact. *Dermatological.* 159:365-70.
- Bradberry sm (1999).** Vale ja therapeutic review : do diethyldithiocarbamate and disulfiram have a role in actuel nickel carbonyl poisoning ? *j toxicol clin toxicol* 1999 ;37 :259-64.
- Brieskorn H ., Michel H., Biechelew( 1973).** Flavones of rosemary leaves, *Deut Lebensm Rundsch*, 69,01,2445-246.
- Bradford M (1976)** .A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochemistry* 72: 248-254

## C

- Campo P, L. Coates, D. Jargot, B. La Rocca, et al (2021).** Nickel Et Composés , Base De Données Fiches Toxicologiques .5 Edition (Mise A Jour Complète) .P1-25.
- Cavelier, C., Foussereau, J(1996)** . Allergie de contact aux métaux et à leurs sels. Fiche d'allergologie-dermatologie professionnelle TA 57. Documents pour le médecin du travail. Paris (*INRS*). P 44

**Cotton, FA., Wilkinson, G. 1988.** Advanced Inorganic Chemistry Comprehensive Text Wiley-Interscience. New York John Wiley and Sons. 783-798.

**Chakrabarti s.k., BAI C.** Role of oxidative stress in nickel chloride-induced cell injury in rat renal cortical slices. *Biochem. Pharmacol.* 58,1501, 1999

**Cheung S. ET Tai J. (2007).** Anti-proliferative and antioxidant properties of *Rosmarinus officinalis*. *Oncology reports.* 17 (6): 1525-1531

**Claire Hoefler(1994).** Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis* L., et notamment des jeunes pousses : activités cholérétiques, antihépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques. Médecine humaine et pathologie. Université Paul Verlaine - Metz. Français.

**Cronquist A(1988).** The Evolution and Classification of Flowering Plants. Ed. The New York Botanical Garden, New York, 123 p.

## **D**

**Das Kusal K., R. Chandramouli Reddy, Ishwar B. Bagoji, et al( 2019) .** Primary concept of nickel toxicity – an overview. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 2019; 30(2): 141–152

**Delaveau , P (1987).** Les épices, Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments, PARIS : Ed Albin Michel, 371p.

**Dif, M., Benali-Toumi, F., Benyahia, M., et Becheikhi, F.A. (2015).** Enquête sur l'utilisation phytothérapeutique de 11 plantes médicinales poussant dans le Tessala. *Phytothérapie*, 13: 295–297.

**Dias P.C., Folio M.A., Posent A .et Carvalho J.E.,(2000).** Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extracts of *Rosmarinus officinalis* L.J. *Ethnopharmacologie*,(69): 57– 62.

**Dunnick JK, Elwell MR, Benson JM, Hobbs CH et al(1989).** Lung toxicity after 13-week inhalation exposure to nickel oxide, nickel subsulfide, or nickel sulfate hexahydrate in F344/N rats and B6C3F1 mice. *Fundam Appl Toxicol* ; 12 : 584–594.

**Dupas D.(2008).**Allergie respiratoire professionnelle au nickel. Fiche d'allergologie pneumologie professionnelle TR 41. Documents pour le médecin du travail. Paris. *INRS*. P6

## **E**

**Echevarria, G., Massoura, S.T., Sterckeman, T. et al. (2006) .**Assessment and control of the bioavailability of nickel in soils. *Environ. Toxicol. Chem.* 25(3). 643-51



**Edwige.Batiste, Bertrand Rihn (2014).** L'aluminium, Un Produit Dangereux Pour La Sante Present En Therapeutique Et En Cosmetique : Mythe Ou Realite,Universite De Lorraine,P9.

**Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jungens G (1992).** The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. Free Radic Biol Med 13: 341

## *F*

**Favier A (2003).** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique 108-115.

**Farnsworth N-R., Akerele O., Bingel A-S., Soejarto D-D., Guo Z. (1986).** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé, 64 (2) : 159-164

**Flora SJ, Mittal M, Mehta A (2008)** .Heavy metal induced oxidative stress and its possible reversal by chelation therapy. Indian Journal Med Res 128(4): 501-523.

**Flohe ., Gunzler (1984)** .Analysis of glutathione peroxidase, Methods Enzymol 105: 114-121

**Florent, TAHOUO Sekpa(2016).** Procédure D'extraction Globale Des Composés Phytochimiques Pour L'évaluation Analytique Des Médicaments A Base De Plantes. Thèse De Doctorat :Pharmacie.

**Fontaine E (2007)** .Radicaux libres et vieillissement. Cah Nutr Diét 42(2): 110-115

**Fournier P (1948).** Livre des plantes médicinales et vénéneuses de France, Tome 2,334-337, PARIS : Ed Lechevalier

## *G*

**Gardès-Albert M (2006)** .Stress oxydant: Aspects physico-chimiques des espèces réactives de l'oxygène. Ann Pharm Fr 64: 365-372.

**Garnef R, G. , bezanger-beauouesne. ,debraux, G(1961).** Ressources médicinales de la flore française, 2, PARIS : Ed Vigot Frères, 1211-1214.

**Gasmi S(2018).** Neurotoxicité de deux pesticides (Acetamipride et Deltamethrine) et la prévention de cette toxicité par la quercétine chez le rat. thèse de doctorat :Toxicologie. Tébéssa .Université de Larbi Tebessi.P217.

**Gonzalez-Trujano, M.E., Pena, E.I., Martinez, A.L., Moreno, J et al (2007)** .Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol.* 111: 476-482

## *H*

**Haber LT, Erdreicht L, Diamond GL, Maier AM et al.(2000)**. Hazard identification and dose response of inhaled nickel-soluble salts. *Regul Toxicol Pharmacol* ; 31 :210–230.

**Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB (1974)** .Glutathione-S-transferase the first step in mercapturic acid formation. *Journal of Biology and Chemistry* 249: 7130-7139

**Halliwell B (2006)** .Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now?. *Journal of Neurochemistry* 97(6): 1634–1658

**Hansen, B.H., Romma, S., Garmo, O.A., Olsvik, P.O., Andersen, R.A(2006)**. Antioxidative stress proteins and their gene expression in brown trout (*Salmo trutta*) from three rivers with different heavy metal levels.*Comp. Biochem. Physiol. Toxicol. Pharmacol.* 143. 263–274.

**Hanifi N (1991)**. Importance des ressources phylogénétiques et leur utilisation en Algérie. In conservation des ressources végétales. Publication d'actes éditions : 47-49.

**Heinrich, M., Kufer, J., Leonti, M., Pardo-de-Santayana, M. (2006)** .Ethnobotany and ethnopharmacology-Interdisciplinary links with the historical sciences.*JEthnopharmacol.*107: 157-160.

**Hoet, Perrine (2007)**. Nickel et composés.. In: Collectif, Encyclopedie Medico-Chirurgicale. Pathologie professionnelle et de l'environnement, p.16-004-A-10

<http://hdl.handle.net/2078.1/201730>

**Hoefler Claire (1994)**. Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis* L., et notamment des jeunes pousses : activités cholérétiques, antihépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques. Médecine humaine et pathologie. Université Paul Verlaine - Metz, 1994. Français.

**Huang M. T., Ho C. T., Wang Z. Y., Ferraro T., Lou Y. R., Stanber K.,et al (1994)**. Silencing of Hydroxycinnamoyl transferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *Plant cell.* 16 (4): 1446-1465

## *I*

**Ibañez E., Cifuentes A., Crego A. L., Señoráns F. J., Cavero S. et Reglero G.(2000)** . Combined use of supercritical fluid extraction, Micellar electrokinetic chromatography

and reverse phase high performance liquid chromatography for the analysis of antioxidants from Rosmary (*Rosmarinus officinalis* L). *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 48 (9): 4060-4065

**Ibañez E., Kubátová A., Señoráns F., Cavero S, Reglero G. et Hawthorne S. B(2003).** Subcritical water extraction of antioxidant compounds from rosemary Plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (2): 375-382.

## *K*

**Kaddour O, Moumen A (2019)** . Etude Comparative De L'effet Des Fortes Doses De Chlorure De Nickel Et Chlorure D'aluminium Sur Quelques Paramètres Chez La Lapine Gestantes.mémoire de master : Biologie et physiologie de reproduction .Universite larbi ben mhidi oum el bouaghi ,P47 .

**Käkelä Reijo, Anne Käkelä, Heikki Hyvärinen (1999).** Effects of nickel chloride on reproduction of the rat and possible antagonistic role of selenium. *Comparative Biochemistry and Physiology – C Pharmacology Toxicology and Endocrinology* 123(1):27-37.

**Kruger Pc, Schell Lm, Stark Ad, Parsons Pj (2010).** A Study Of The Distribution Of Aluminium In Human Placental Tissues Based On Alkaline Solubilization With Determination By Electrothermal Atomic Absorption. *Spectrometry. Met Integr Biometal Sci* 2010; 2:621–627.

## *L*

**Laïs E.,(2014)** Le livre des simples : les vertus des plantes médicinales. Paris : Rustica, 191p.

**Lamothe, P.,(1984).** Contribution à l'étude chimique et toxicologique de trois huiles essentielles de Labiées, Thèse de Doct. Pharm., MARSEILLE.

**Lemonica I. P., Damasceno D. C. et Di-Stasi L. C. (1996).** Study of the embryo toxic effects of an extract of Rosmary (*Rosmarinus officinalis*). *Brazilian journal of medical and biological research.* 29 (2): 223-227.

**Lee, Y., Klein, C., Kargalin, B.(1995)** .Carcinogenic nickel silences gene expression by chromatin condensation and DNAmethylation.Anewmodel forepigenetic carcinogens.*Mol. Cell. Biol.* (14):2547-2557

**Lü J, Lin PH, Yao Q, Chen C (2010)** .Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: Experimental approaches and model systems. *Journal Cell Mod Med* 14: 840-860.

## *M*

**Martini M.C( 2011)**. Introduction à la dermatopharmacie et à la cosmétologie. Ed. Lavoisier, p.358.

**Marion L(2015)**. Le Romarin, *Rosmarinus officinalis L.* une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale. Université d'Aix-Marseille – Faculté de Pharmacie, 229p.

**Moussaoui M (2014)**. Plantes médicinales de méditerranée et d'orient france sabil, 2014.137p

## *O*

**Offord E. A., Macé K., Ruffieux C., Malnoë A. ET Pfeifer A. M. (1995)** .Rosemary components inhibit benzo [a] pyrene-induced genotoxicity in human bronchial cells.*Carcinogenesis*. 16 (9): 2057-2062.

## *P*

**Pari, L & Amudha, K (2011)**. Hepatoprotective role of naringin on nickel-induced toxicity in male Wistar rats. *Eur. J Pharm.* 650 (2011): 364–370.

**Paradiso A.,Cecchini C., DeGara L., et D'egididom ., G(2006)**.functional,antioxydant and rheological properties of meal from immature durum wjet.*journal of Cereal Science*,Vol.43,n 2,p216-222.

**Paris A., Strukelj B., Renko M., Turk V., Pukl M., Umek A. et Korant B. D. (1993).** Inhibition effects of carnosic acid on HIV-I protease in cell free assays. *Journal of natural products*. 56 (8): 1426-1430.

**Poletti, A.( 1988)**. , Fleurs et plantes médicinales. 2ème Edition. Delachaux & Niestlé (Ed).Paris, 222p.

## *R*

**Robert, C (1988)**.Nickel .*CRC. Handbook of Chemistry and Physics.* (7): 23-33

## *S*

**Saka Saad., Aouacheri Ouassila., Abdenmour Cherif (2002)**. The capacity of glutathione reductase in cell protection from the toxic effect of heated oils. *Biochim.*; 84: 661-665.

**Saary j , qureshi r , palda v , dekooven j , pratt M, skotnicki-grant s ; et al (2005).** a systematic review of contact dermatitis treatment and preventio , j am acad dermatol 2005 ;53 :845 .

**Schollhammer, M., Guillet, M.H., Guillet, G(1994).**Nickel et peau.*Ann Dermatol Venereol.* 121: 338-45

**Senouci T, Ghomari H., Krouf D., Bouderbala S., Prost L., and Bouchenak M( 2009).** Antioxidant effect of Ajugaiva aqueous extract instreptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 16(6-7), pp.623-631.

**Sendra J., Sedil O ; Miedzobrodzaka J .,Zieba J(1969).** Chromatographic Analysis of flavonoids and triterpenes in folium Rosmarinus , Dissert Pharm Pharmacol, 21'12l, 185-191

**Semrau R (1958)** IJber die Flavone in der Familie der Labiaten, Inaug Dissert,Mûns che7, 1.

**Singletary K. W. et Nelshoppen J. M. (1991).** Inhibition of 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene (DMBA) induced mammary tumorigenesis and of in vivo formation of mammary DMBA-DNA adducts by rosemary extract. *Cancer lettres.* 60 (2) : 169-175.

**Stoltz, A., Sauvage, C., Lamblin, C et al (2003).** Urticaire chronique par allergie alimentaire au nickel. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique.* 43 :492-496.

**Snow, E.T., Costa, M (1998).** Nickel toxicity and carcinogenesis. Environmental and occupational medicine. ROM.W.N. *Lippincott-Raven. Philadelphia. USA.* (15): 1057-1064

**Scientific opinion on the risks to public health related to the presence of nickel in food and drinking water (2015).** Panel on contaminants in the food chain (CONTAM). EFSA, ( <https://www.efsa.europa.eu/>).

## U

**Uno K and Nicholls SJ (2010)** .Biomarkers of inflammation and oxidative stress in atherosclerosis.*Biomark Med* 4: 361-373

## V




**Vergely C and Rochette L (2005)** .Le stress oxydatif : Les radicaux libres, des composés à fonction biologique méconnue : à côté de leur action physiopathologique, ce sont des régulateurs avant d'être des destructeurs. *Affections Métaboliques AMC pratique* 114: 28-30

## Z

## *Références bibliographiques*

**Zoubeidi C.,(2004).** Etude des antioxydants dans le Romarins officinales .Labiatea .Thèse de magistère, université d'Ouargla,p.65.

## Annexe1 : matériels de laboratoires utilisés

Photos des matériels	Description des matériels
	<p><b>Pipette :</b> utilisé pour transporter un volume mesuré de liquide.</p>
	<p><b>Tubes de prélèvement et eppendorfs :</b></p> <p><b>Tube de prélèvement :</b> Le sang prélevé est réparti dans différents tubes selon les analyses à effectuer.</p> <p><b>Eppendorfs :</b> sont de petits tubes munis d'un capuchon à visser ou à clipser. Ils sont en matière plastique, le polypropylène, capable de résister aux hautes températures, aux basses températures ou aux solvants organiques.</p>
	<p><b>Mortier et Pilon :</b></p> <p>Le mortier est un récipient permettant de broyer des matières que l'on veut transformer en pâte ou en poudre grâce à l'action d'un pilon.</p>



**Fiolle :**

bouteille de verre à col étroit utilisée pour agiter un mélange, de conserver une solution ou de limiter l'évaporation.



**Balance de précision :**

Les balances de précision sont des équipements de base d'un laboratoire, utilisées dans tous les domaines de la biologie, principalement pour la préparation de réactifs et de colorants, et pour la pesée de certains produits biologiques à analyser.



**Bain marie :**

Liquide chaud dans lequel on met un récipient contenant ce que l'on veut faire chauffer.



**Centrifugeuse :**

Appareil permettant de soumettre des corps, des substances à une rotation très rapide pendant des intervalles de temps variables pour séparer ses composants.





**Spectrophotomètre :**

La spectrophotométrie est une méthode d'analyse qui permet de déterminer l'absorbance d'une substance chimique en solution, c'est-à-dire sa capacité à absorber la lumière qui la traverse.

L'absorbance d'une substance chimique dépend de la nature et de la concentration de cette substance ainsi que de la longueur d'onde à laquelle on l'étudie.



**Agitateur magnétique :**

permet d'homogénéiser un mélange de façon automatique en utilisant le champ magnétique.



**Réfrigérateur :**

Sa fonction est de maintenir, dans un environnement contrôlé (espace réfrigéré), divers fluides et substances, afin qu'ils soient maintenus en bon état.



### **Évaporateur rotatif :**

Utilisé pour évaporer rapidement des solvants après avoir été utilisés dans une extraction ou dans un milieu réactionnel. le plus souvent, l'évaporation du solvant est menée sous pression réduite (afin d'accélérer l'étape) que l'on obtient au moyen d'une trompe à eau ou d'une pompe à vide. L'évaporateur rotatif est souvent appelé, par abus de langage, Rotavapor ou "Büchi" (noms de deux marques très courantes).

## **Annexe2 : Préparation des solutions**

- **Solution du GSH (0.1 mM)**

Dissoudre 3.073 mg GSH dans 100 ml d'eau distillée

- **Solution TCA 1%**

Dissoudre 1g de TCA dans 100 ml d'eau distillée

- **Solution DTNB (0.1mM)**

Dissoudre 100 mg de DTNB dans 250ml de méthanol absolu

- **Solution de Bradford**

100 mg de bleu de coomassie G250+50ml éthanol 95%+100 ml d'acide ortho phosphorique à 85%, agiter 30 mn puis compléter le volume à 1 litre par l' H<sub>2</sub>O (durée de conservation 1mois)

- **Solution TBS : Tris (50mM), NaCl (150mM) et pH 7,4**

Dissoudre 8,775 g NaCl dans un litre d'eau distillé, puis poser 6,057 Tris et compléter le volume à 1 L par la solution NaCl 150 mM et ajuster le pH à 7,4 en ajoutant HCl ou NaOH.

- **Solution TCA-BHT(TCA20%, BHT 1%)**

Dissoudre 20g TCA dans 100 ml d'eau distillé pour obtenir la solution TCA 20% , puis poser 1 g de BHT et compléter le volume à 100 ml par la solution TCA 20 % et agiter à chaud.

- **Solution HCl 0.6 M**

51.56 ml d'HCl pur et compléter le volume à 1 L par l'eau distillé.

- **Solution TRIS-TBA (TRIS 26 mM ; TBA 10 mM)**

Dissoudre 3,149 g TRIS dans 1 L d'eau distillé, puis poser 17.299 g TBA et compléter le volume à 1 L par la solution TRIS (26mM).