



Faculte des Sciences de la Nature & de la Vie
Departement de Biologie

THÈSE

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT ES SCIENCES

Filiere: Biologie

Option : Biochimie

THÈME

**L'EFFET ANTIOXYDANT DE QUELQUES PLANTES MÉDICINALES
SUR LA NEUROTOXICITÉ ET LES MALADIES
NEURODÉGÉNÉRATIVES DUES AUX MÉTAUX LOURDS
(ALUMINIUM ET PLOMB) :
« ÉTUDE EXPÉRIMENTALE CHEZ LA SOURIS »**

Présenté par :

M^{me} ZERROUKI Khayra

Devant le jury :

Président :	Pr .Lotmani Brahim	Professeur	Univ Mostaganem
Rapporteur :	Pr. Djebli Noureddine	Professeur	Univ Mostaganem
Examineur :	Pr Atik Bekkara Fawzia	Professeur	Univ Tlemcen
Examineur:	Pr. Bendimerad Nassima	Professeur	Univ Tlemcen
Examineur :	Pr. Ilkay Erdogan Orhan	Professeur	Univ Gazi-Ankara-Turquie

Remerciements

*Soyons reconnaissants aux
personnes qui nous donnent du bonheur ; elles sont les charmants jardiniers par qui
nos âmes sont fleuries. Marcel Proust*

Le temps met tout en lumière. Thalès

Tous d'abords je remercie nôtre DIEU le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.

J'aimerais remercier en premier lieu mon directeur de thèse, Professeur DJEBLI Nouredine, pour m'avoir appris à être une « bonne candidate » et plus autonome tout au long de ce travail de recherche. Nonobstant, sa relecture finale méticuleuse de chacun des chapitres m'a sans aucun doute permis de préciser mon propos.

Ce travail a été réalisé a plusieurs laboratoire ; Laboratoire de Pharmacognosie et Api-Phytothérapie de l'université de Mostaganem , laboratoire de Biotechnologie végétale: d'université Hassiba BEN BOUELI Chlef ; laboratoire de Pharmacognosie de l'université de Gazi à Ankara, Laboratoire de Pharmacognosie de l'université d'Ankara, et le laboratoire de Phytothérapie et Pharmacognosie de l'université d'Istanbul ; Nombreux sont ceux qui ont contribué d'une façon ou d'une autre à l'aboutissement de ce travail et que je les remercie vivement. Je remercie en particulière Mme GADOUCHE Leila, je la remercie vivement pour son soutien, tout au long de la réalisation de ce travail.

Ma première pensée va tout naturellement au président de jury, Professeur LOTHMANI Brahim, qui m'a fait l'honneur de présider le jury.

Mes sincères remerciements vont également aux membres du jury professeur ATIK BEKKARA Fawzia et professeur BENDIMERAD Nassima de l'université de Tlemsen, qui ont accepté de nous honorer pour juger ce travail, je remercie également Professeur ILKAY Orhan ERDOGAN, de l'université de GAZI, pour leur soutien durant mon stage à son laboratoire, et d'avoir accepté d'être parmi nous pour juger ce travail.

J'ai agréable d'exprimer mes remerciement aux membres de ma famille, qui m'ont assisté tout au long de mon parcours. Je dédié ce modeste travail à ma famille, mes parent, source de tendresse et de courage, à mes frères, sœurs et amis.

Résumé

L'objectif de la présente étude était de mettre en évidence les effets de différents extraits des plantes choisies doté de propriétés antioxydant confirmé *in vitro* sur quelque anomalie et maladies induites par l'exposition à certains contaminants (métaux lourds : Aluminium et Plomb, ainsi que des agents stressants dans cette étude) y compris les désordre neurotoxiques, la maladie d'Alzheimer et la maladie de parkinson. Le pouvoir antioxydant *in vitro* a été évalué par différentes méthodes (DPPH, Blanchissement de β carotène, DMPD, Chélation métallique, FRAP, PRAP, et CUPRAC). L'activité antioxydant *in vivo* a été évaluée par l'induction des maladies en même temps que la prise du traitement qui est les l'extraits des plantes testées. Les méthodes de l'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* montrent que tous les extraits des plantes étudiées présentent des propriétés antioxydantes à différents niveaux et par différents mécanismes. Confirmé par l'étude *in vivo* suite à une étude du comportement et de mémoire sur les maladies induites par aluminium et Plomb. Les résultats obtenus pour les deux espèces d'*hypericum* testés sur la maladie d'Alzheimer induite par l'exposition au chlorure d'aluminium et au D-Galactose, montrent une amélioration significative du comportement, du mémoire ainsi qu'une réduction évidente de lésion de tissus nerveux. L'étude de la résine boswellique sur la maladie d'Alzheimer a montré une correction de comportement et de mémoire très significative, de même cette espèce a amélioré les lésions tissulaire induites par l'exposition au plomb. Les tremblements de la maladie de parkinson sont corrigés à une courte durée de traitement par le *Quercus suber*, de même le stress *in vivo* induit a été clairement chassé par cette plante, résultat visible par étude histologique. La même étude *in vitro* a été menée sur *Salvia officinalis*, dont les résultats étaient importants à l'échelle biochimique et histologique.

Mots clé : Stress oxydatif, Alzheimer, Parkinson, antioxydant, *Hypericum*, résine de *Boswellia*, *Quercus suber*, *Salvia officinallis*

Abstract

The aim of this study was to demonstrate the effects of various extracts of some selected plants that have a confirmed antioxidant properties in vitro, on some anomalies and diseases induced by exposure to certain contaminants (heavy metals: Aluminum and Lead, as well as some stressors in this study) including neurotoxic disorders, Alzheimer's disease and Parkinson's disease. The in vitro antioxidant capacity was evaluated by various methods (DPPH, β -carotene bleaching, DMPD, metal chelation, FRAP, PRAP, and CUPRAC). The in vivo antioxidant activity was evaluated by the induction of the diseases at the same time as taking the treatment which is the plants extracts tested. The methods of evaluating antioxidant activity in vitro show that all the extracts of the studied plants exhibit antioxidant properties at different levels and by different mechanisms, confirmed by the in vivo study with a reference to behavior and memory studies after inducing diseases by aluminum and lead. The results obtained for the two species of *Hypericum* tested on Alzheimer's disease induced by exposure to aluminum chloride and D-galactose show a significant improvement in behavior, memory and an obvious reduction in lesion of nervous tissues. The study of boswellic resin on Alzheimer's disease has mounted a very significant correction of behavior and memory, so this species has improved the tissue damage induced by exposure to lead. The tremors of the parkinson's disease are corrected to a short duration of treatment by *Quercus suber*, so the induced stress in vivo was clearly hunted by this plant, visible result by histological study. The same in vitro study was conducted on *Salvia officinalis*, with significant biochemical and histological findings.

Key words: oxidatif Stress, Alzheimer, Parkinson, antioxydant, *Hypericum*, resin of *Boswellia*, *Quercus suber*, *Salvia officinallis*

الملخص

الهدف من هذه الدراسة كان إثبات آثار مستخلصات مختلفة من النباتات المختارة ذات خصائص مضادة للأكسدة مأخوذة في المختبر على بعض الحالات الشاذة والأمراض الناجمة عن التعرض لبعض الملوثات (المعادن الثقيلة كالألومنيوم والرصاص و بعض المواد المؤكسدة في هذه الدراسة) نذكر منها اضطراب الأعصاب، ومرض الزهايمر ومرض باركنسون. تم تقييم القوة المضادة للأكسدة في المختبر عن طريق وسائل مختلفة: DPPH، تبييض β كاروتين، DMPD، عملية إزالة المعادن، FRAP، PRAP و CUPRAC) تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة في الجسم الحي من قبل تحريض المرض في نفس الوقت مع أخذ العلاج الذي هو مستخلصات من النباتات التي تم اختبارها. نتائج طرق تقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر أثبتت أن جميع العينات من النباتات المختارة لديهم خصائص مضادة للأكسدة على مختلف المستويات، وبأليات مختلفة. وهذا ما أكدته الدراسة المجراة في الوسط الحيوي بعد دراسة السلوك والذاكرة اثر الأمراض الناجمة عن الألومنيوم والرصاص. نتائج كلا النوعين Hypericum على مرض الزهايمر الناجم عن التعرض لفلوريد الألومنيوم و- D- Galactose ، تظهر تحسنا كبيرا في السلوك والذاكرة وانخفاض واضح في الآفات على مستوى الأنسجة العصبية. أعطت دراسة صمغ boswellic على مرض الزهايمر تصحيح السلوك والذاكرة بنسبة كبيرة جدا، كما انقص تلفه الأنسجة الناجمة عن التعرض للرصاص. تم تصحيح هزاز مرض الباركنسون في وقت قصير اثر العلاج بالسنديان الفليني، كما اثبتت مقاومة الأكسدة في الوسط الحي بشكل واضح ، نتائج واضحة على مستوى الأنسجة. وقد أجريت الدراسة نفسها فيما يتعلق بالأكسدة في الوسط الحي مع استعمال المريمية وأعطت نتائج مهمة على مستوى الكيمياء الحيوية والدراسة النسيجية.

الكلمات المفتاحية: توتر الأكسدة، الزهايمر، الباركنسون، مضاد الأكسدة، Hypericum ، صمغ Boswellia، السنديان

الفليني، المريمية

Liste des figures

Figure 1: Effet de l'aluminium sur le système nerveux central	08
Figure 2: implication de l'aluminium dans les pathologies neurotoxique et dans la MA.....	10
Figure 3. Rôle de radicaux libre dans la maladie d'Alzheimer	12
Figure 4 : effets du plomb sur les enzymes antioxydants et leurs cofacteurs induisant l'inactivation.	16
Figure 5 : effets du plomb sur la biosynthèse de l'hème.....	17
Figure 6: Structure composition de hypericin , hyperforin et paxantone compounds de <i>hypericum perforatum</i>	22
Figure 7: l'arbre à encens (Boswellie)	24
Figure 8 : la résine de <i>Boswellia sp</i>	25
Figure 9 : structures chimiques des 6 principaux acides boswelliques triterpéniques pentacycliques.....	27
Figure 10 : Arbre de <i>Quercus suber</i> L. et caractéristiques des feuilles et des fruits.....	33
Figure11 : représente les feuilles de <i>Quercus suber</i>	34
Figure 12 : les fleurs de <i>Quercus suber</i>	35
Figure 13 : Les glands oblongs, enveloppés sur la moitié de leur longueur par les cupules, sont réunis par deux sur des pédoncules courts et renflés.	35
Figure 14 : Photographies de <i>Salvia officinalis</i> L.	38
Figure 15 : Structures chimiques de quelques composés identifiés dans les feuilles de <i>Salvia officinalis</i>	40
Figure 16: photo de deux espèces de l' <i>Hypericum</i> prise de l'herbier (Flora of Turkey).....	43
Figure 17 : photographies des deux extraits	44
Figure 18: Cage numéroté pour le test de l'activité locomotrice	49
Figure 19 : dispositif pour le test de trous	49

Figure 20 : Dispositif pour le test des deux compartiments noir/blanc.....	50
Figure 21 : Dispositif utilisé pour le test de croix.....	51
Figure 22: Cage remplie d'eau utilisée pour le test de Persolt.....	51
Figure 23: Photo de labyrinthe à 08 bras.	52
Figure 24: Photo de 02 bras de labyrinthe utilisés.....	52
Figure 25 : Photo des bras avec indice utilisés de labyrinthe pour le test de distinction de position.....	53
Figure 26 : Dispositif utilisé pour MST et MSR.....	54
Figure 27: Chromatogramme de l'extrait méthanolique de l' <i>H.thymbrifolium</i>	55
Figure 28: Résultat de test de l'activité locomotrice chez les souris pour l'étude de l' <i>Hypericum thymbrifolium</i>	59
Figure 29: Résultat de test de curiosité chez les souris pour l'étude de l' <i>Hypericum thymbrifolium</i>	60
Figure 30: résultat de test d'anxiété chez les souris pour l'étude de l' <i>Hypericum thymbrifolium</i>	60
Figure 31 : résultat de test de labyrinthe à deux bras surélevé chez les souris pour l'étude de l' <i>Hypericum thymbrifolium</i>	61
Figure 32: résultat de test de la nage forcée chez les souris pour l'étude de l' <i>Hypericum thymbrifolium</i>	62
Figure 33 : résultat de test de mémoire spatiale de travail (nombre d'erreurs) chez les souris pour l'étude de l' <i>Hypericum thymbrifolium</i>	63
Figure 34: résultat de test de mémoire non spatiale de préférence conditionnée chez les souris pour l'étude de l' <i>Hypericum thymbrifolium</i>	64
Figure 35: résultat de test de distinction de position chez les souris pour l'étude de l' <i>Hypericum thymbrifolium</i>	65
Figure 36: résultat de test de piscine de Morris « mémoire spatiale de référence » chez les souris pour l'étude de l' <i>Hypericum thymbrifolium</i>	66

Figure 37: résultat de test de piscine Morris « mémoire spatiale de travail » chez les souris pour l'étude de <i>l'Hypericum thymbrifolium</i>	67
Figure 38: étude microscopique de tissus nerveux pour l'étude de <i>l'Hypericum thymbrifolium</i>	68
Figure 39: LC chromatogramme de l'extrait méthanolique de <i>l'H. perforatum</i>	69
Figure 40 : Activité locomotrice chez les souris pour l'étude de <i>l'Hypericum perforatum</i>	72
Figure 41 : Test curiosité (trou) chez les souris pour l'étude de <i>l'Hypericum perforatum</i>	72
Figure 42: le test d'anxiété (Comportement éclairé et non éclairé) chez les souris pour l'étude de <i>l'Hypericum perforatum</i>	73
Figure 43: le test de labyrinthe en croix surélevée chez les souris pour l'étude de <i>l'Hypericum perforatum</i>	74
Figure 44: le test de la nage forcée chez les souris pour l'étude de <i>l'H. perforatum</i>	74
Figure 45 : le test de Mémoire spatiale de travail (nombre d'erreurs) chez les souris pour l'étude de <i>l'Hypericum perforatum</i>	75
Figure 46: le test de mémoire non spatiale de préférence conditionnée chez les souris pour l'étude de <i>l'Hypericum perforatum</i>	76
Figure 47: le test de Distinction de position chez les souris pour l'étude de <i>l'Hypericum perforatum</i>	76
Figure 48 : le test de Mémoire spatiale référentielle chez les souris pour l'étude de <i>l'Hypericum perforatum</i>	77
Figure 49: le test de Mémoire spatiale de travail chez les souris pour l'étude de <i>l'Hypericum perforatum</i>	78
Figure 50: Etude microscopique du cortex cérébrale/Hippocampe effectuée par la coloration(H.E) chez des souris pour l'étude de <i>l'Hypericum perforatum</i>	79
Figure 51: résine de <i>Boswellia</i>	90
Figure 52 : schéma du dispositif du test du labyrinthe en croix surélevé.....	102

Figure 53: (A) Schéma du dispositif du double –H. (B) Photographie du dispositif du test du double H	105
Figure 54: schéma du premier protocole du labyrinthe du double –H.....	106
Figure 55: schéma du deuxième protocole du labyrinthe du double –H.....	108
Figure 56: test des saponosides	114
Figure 57: test des alcaloïdes	114
Figure 58: test des terpènes.....	114
Figure 59: Chromatogramme de l’huile essentielle de la résine boswellique.....	115
Figure 60: Comparaison entre les pourcentages d'inhibition du radical DPPH des différents antioxydants (huile essentielle de <i>Boswellia sp</i> et Acide ascorbique).....	117
Figure 61 : Figure montrant le pourcentage d'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique par les différents antioxydants (l’huile essentielle, acide ascorbique)	118
Figure 62: pourcentages d’inhibition des deux extrait éthanolique et méthanolique de la résine boswellique comparé au contrôles positives.....	120
Figure 63: Test de l’activité locomotrice chez les souris pour l’étude de <i>Boswellia</i> et toxicité d’aluminium	122
Figure 64 : Test de l’activité locomotrice chez les souris pour l’étude de <i>Boswellia</i> et toxicité d’aluminium.....	122
Figure 65: Test de curiosité chez les souris pour l’étude de <i>Boswellia</i> et toxicité d’aluminium.....	123
Figure 66 : Test de curiosité chez les souris pour l’étude de <i>Boswellia</i> et toxicité d’aluminium.....	124
Figure 67: Test de l’anxiété chez les souris pour l’étude de <i>Boswellia</i> et toxicité d’aluminium.....	124
Figure 68: Test de l’anxiété chez les souris pour l’étude de <i>Boswellia</i> et toxicité d’aluminium.....	125
Figure 69 : Test de labyrinthe en croix surélevé chez les souris pour l’étude de <i>Boswellia</i> et toxicité d’aluminium.....	126

Figure 70 : Test de labyrinthe en croix surélevé pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium.....	126
Figure 71 : Test de Persolt chez les souris pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium.....	127
Figure 72 : Test de Persolt chez les souris pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium.....	127
Figure 73 : Test de mémoire spatial de travail chez les souris pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium.....	128
Figure 74: Test de mémoire spatial de travail chez les souris pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium.....	129
Figure 75 : Test de mémoire non spatial de préférence conditionnée chez les souris pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium.....	129
Figure 76 : Test de mémoire non spatial de préférence conditionnée chez les souris pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium.....	130
Figure 77: Test de distinction de position chez les souris pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium.....	131
Figure 78 : Test de distinction de position chez les souris pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium	131
Figure 79: Test de piscine de Morris (mémoire spatiale de travail (MST) pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium.....	132
Figure 80 : Test de piscine de Morris (mémoire spatiale de travail (MST) pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium.....	133
Figure 81: Test de piscine de Morris (mémoire spatiale de référence (MSR) pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium.....	133
Figure 82 : Test de piscine de Morris (mémoire spatiale de référence (MSR) pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium.....	134
Figure 83 : Test du bras nord(N) chez les souris pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium.....	135
Figure 84 : Test du bras nord(N) chez les souris pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium.....	135

Figure 85: Test du bras Sud (S) chez les souris intoxiquées pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium.....	136
Figure 86: Test du bras Sud (S) chez les souris pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium.....	136
Figure 87: Test du bras nord- est (NE) chez les souris pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium.....	137
Figure 88: Test du bras nord- est (NE) chez les souris pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium.....	137
Figure 89: Test du bras sud-est (SE) chez les souris pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium.....	138
Figure 90: Test du bras sud-est (SE) chez les souris pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium.....	138
Figure 91: concentration de l'aluminium mesuré par spectroscopie d'absorption atomique pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium.....	139
Figure 92: concentration de l'aluminium mesuré par spectroscopie d'absorption atomique pour l'étude de Boswellia et toxicité d'aluminium.....	139
Figure 93: Résultat de test de morsure chez les souris pour l'étude de Boswellia et toxicité du plomb.....	140
Figure 94: Résultat de test de toilettage chez les souris pour l'étude de Boswellia et toxicité du plomb.....	141
Figure 95: Résultat de test de reniflement chez les souris pour l'étude de Boswellia et toxicité du plomb.....	141
Figure 96 : Effet du Plomb sur l'activité locomotrice des souris pour l'étude de Boswellia et toxicité du plomb.....	142
Figure 97 : Effet du Pb sur la nage forcée (test de stress) des souris pour l'étude de Boswellia et toxicité du plomb.....	143
Figure 98 : Résultats de test d'anxiété chez les souris intoxiquées (I) par le Pb.....	144
Figure 99: Taux de TGO en UI/L chez les souris intoxiquées (I) par le Pb.....	145
Figure 100 : Taux de TGP en UI/L chez les souris intoxiquées (I) par le Pb.....	145

Figure 101: concentration du Plomb mesuré par spectroscopie d'absorption atomique....	146
Figure 102: Etude microscopique de tissus nerveux effectuée par la coloration(H.E).....	147
Figure 103 : les feuilles de <i>Quercus suber</i> et la poudre après broyage.....	155
Figure 104: pourcentages d'inhibition de l'extrait de <i>Quercus suber</i> comparé aux contrôles positifs et control négatif.....	163
Figure 105 : Résultats de test de nage forcée chez les souris parkinson.....	165
Figure 106 : résultats de test de l'activité locomotrice chez les souris parkinson.....	166
Figure 107 : résultats de l'hémoglobine chez les souris parkinson.....	167
Figure 108 : résultats de nombre de globules blancs chez les souris parkinson.....	167
Figure 109 : résultats de nombre de globules rouges chez les souris parkinson.....	168
Figure 110 : résultats de nombre des plaquettes chez les souris parkinson.....	168
Figure 111 : résultats de MCHC chez les souris parkinson.....	169
Figure 112 : résultats de monocytes chez les souris parkinson.....	169
Figure 113 : résultats de lymphocytes chez les souris parkinson.....	170
Figure 114: Variation de glycémie chez les souris témoins (T), intoxiqué par l'acide trichloroacétique(CCl_3COOH).....	171
Figure 115: Variation de bilans lipidiques chez les souris témoins (T), intoxiqué par l'acide trichloroacétique(CCl_3COOH).....	171
Figure 116: Variation du bilan rénal «urée, créatinine » chez les souris Témoins(T), Intoxiqué par l'acide trichloroacétique(CCl_3COOH).....	172
Figure 117 : coupes histologiques du foie des souris Témoins (T), Intoxiqué par l'acide trichloroacétique(CCl_3COOH).....	173
Figure 118: Partie utilisé de <i>Salvia officinalis</i>	179

Figure 119: pourcentages d'inhibition de l'extrait de <i>Salvia officinalis</i> comparé aux contrôles positifs et control négatif.....	183
Figure 120 : Paramètres hématologiques chez les souris intoxiquée par (CCl ₃ COOH)	185
Figure 121 : Variation de la glycémie chez les souris (T), (I) et (S).....	186
Figure 122 : variation de triglycéride et de cholestérol chez les souris (T),(I)et (S).....	186
Figure 123: Variation de bilan rénal chez les souris (T), (I) et (S).....	187
Figure 124 : Observation microscopique des coupes histologiques du foie.....	188

Liste de tableaux

Tableau 1 : Les propriétés chimiques de l'Al à différents pH.....	06
Tableau 2 : Propriétés physicochimiques du plomb.....	14
Tableau 3 : constituant majeurs de l' <i>H.perforatum</i>	20
Tableau 04 : Principes actifs et Propriétés.....	24
Tableau 5 : Noms vernaculaires de <i>Quercus suber</i> par Leger.....	32
Tableau 6 : classification botanique de <i>Salvia officinalis</i>	36
Tableau 7 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i>	38
Tableau 8 : Principales classes de composés phénoliques identifiées dans les feuilles de <i>Salvia officinalis</i>	38
Tableau 9 : le % des composants chimique de l' <i>H.thymbrifolium</i>	55
Tableau 10 : composants extractibles totaux (EC), composants phénoliques totaux (PC) (par équivalent d'acide gallique) et les flavonoides totaux (CE) (par équivalen de catechine) en <i>H.thymbrifolium</i>	56
Tableau 11 : Les valeurs de l'EC50 de l'activité antioxydantes de <i>H.thymbrifolium</i>	57
Tableau 12 : % Valeurs de la composition chimique de l' <i>H. perforatum</i>	69
Tableau 13 : composants extractibles totaux (EC), composants phénoliques totaux (PC) (par équivalent d'acide gallique) et les flavonoides totaux (CE) (par équivalen de catechine) en <i>H.perforatum</i>	69
Tableau 14 : Les valeurs de l'EC50 de l'activité antioxydantes de <i>H.perforatum</i>	70
Tableau 15 : les tests phytochimiques.....	93

Tableau 16 : résultats des tests phytochimiques.....	114
Tableau 17: molécules identifié de l'huile essentielle de la résine boswellique.....	115
Tableau 18: activités antioxydants des deux extrait éthanolique(B.etOH) et méthanolique (B.meOH).....	119
Tableau 19 : pourcentage d'inhibition de l'AChE et la BChE de l'huile essentielle.....	120
Tableau 20 : pourcentage d'inhibition de l'AChE et la BChE des deux extraits EtOH et MetOH.....	121
Tableau 21: activités antioxydants de l'extrait de Quercus suber.....	163
Tableau 22 : pourcentage d'inhibition de l'AChE et la BChE.....	164
Tableau 23: activités antioxydants de l'extrait de Salvia officinalis.....	183
Tableau 24 : pourcentage d'inhibition de l'AChE et la BChE.....	184

Liste des abréviations

AA% : activité antioxydante

Ab : Anti body

Abs : absorbance

ACh : Acétylcholine

ACH: Chlorhydrate d'Aluminium

AChE : Acétylcholine Estérase

ADN : acide désoxyribonucléique

ADN : acide désoxyribonucléique.

Afssa = agence française de sécurité des produits de santé

AGPI : Acide gras polyinsaturé

AINS : anti-inflammatoire

AKBA : acide 3-o-acetyl-11-keto- β -boswellique

Al: Aluminium

ALAT : Aspartate Amino Transférase ou Glutamate Oxaloacétique Transaminase

AlCl₃ = trichlorure d'aluminium

AlF₃= fer d'aluminium

AlPO₄= Phosphate d'Aluminium

ApoE = apoprotéine E

APP = amyloïd précurseur de la protéine

APP: Protéine Précurseur Amyloïde

ASAT : Alanine Amino Transférase ou Glutamate Pyruvate transaminase

A β = amyloïde β

BChE: Butylcholinestérase

BHA = le butylhydroxyanisole

BHA : butylhydroxyanisoles

BHT = butylhydroxytoluène

CAT : catalase

CCl₃COOH : acide trichloroacétique

CCl₄ : tétrachlorure de carbone

CCMH : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

CCMH : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

CG-SM: Gaz chromatography Mass Spectrophotométry.

ChAT = la choline acétyltransférase

ChAT = la choline acétyltransférase

CHCl₃ = chloroforme

CRP : C-Réactive Protéine

DL50 = dose létale 50 %

DNA : Acide Desoxyribose Nucleique

DNF: Dégénérescence Neurofibrilaire

DPPH : 2,2-diphenyl -1-picrylhydrazyl

EDTA: Acide Ethylène Diamine Tetracyclique

ERA OU RNS : Espèce réactive de l'azote

ERO ou ROS: Espèce réactive d'oxygène

FH: Filament helicoidales

FNS : formule de numération sanguine

FNS : formule de numération sanguine.

GB : globule blanc

Glu : Glucose.

GPx : glutathion peroxydases.

GPX : glutathion peroxydase

GPX : Glutathion peroxydase

GR : globule rouge

GSH : glutathion réduit.

GSH: rapport glutathion réduit

GSSG : glutathion oxydé.

GSSG: glutathion oxydé

H = *Hypericum*

HAP:Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques

Hb : hémoglobine

HE : Hématoxyline-Eosine

HE :huile essentiel

HMC: Hydroxy Methyl Glutamate

HO : radical hydroxyle

HT : hématocrite

HT : hématocrite

I : intoxiqué

IONOX-100 : di-tertbutyl-4-hydroxyméthylphénol

IP : injection intra péritonéale.

IRM: Imagerie Resonance Magnétique

ISTE = l'Université d'Istanbul, Faculté de Pharmacie

LDH : lactate déshydrogénase

LDL : low density lipoprotein

LMW = de bas poids moléculaire

LY : lymphocyte

MA: Maladie d'Alzheimer

MCI = Mild Cognitif Impairment

MeOH : méthanol

MIC_s : Concentrations inhibitrices minimums

MO : monocytes

MP : Maladie de Parkinson

MSR = mémoire spatiale de référence

MST = mémoire spatiale de travail

NADPH : Nicotine Amide Adenine Dineclotide Phosphate

NDGA : acide nordihydroguaiaretique

OG : gallate d'octyle

ORAC: Oxygen Radical AntioxidantCapacity

PEV: Potentiels évoqués visuels

POX : Peroxydase

PRX : Peroxyre doxines

PS = plaques séniles

ROOH : hydroperoxyde lipidique

ROO· : radical peroxyde

S : traité par *salvia officinalis*.

S officinalis : *salvia officinalis*

SOD : superoxydes dismutases

T : témoin.

TBHQ : tertiarybutylhydroquinone

THBP : 2, 4,5-trihydroxybutyrophénone

TNF α : Tumor Necrosis Factor α

VGM : volume globulaire moyen des hématies

VGM : volume globulaire moyen des hématies.

VitE: Vitamine E

XO : xanthine oxydase.

Table de matières

Introduction	01
Partie bibliographique	
Chapitre I : les métaux lourds	03
1. L'aluminium.....	03
1.1.L'aluminium dans la vie quotidienne.....	03
1.2.Propriétés chimiques et spéciation de l'aluminium.....	05
1.3.L'aluminium et les maladies neurodégénératives.....	06
1.4.L'aluminium et le stress oxydatif.....	10
1.5.L'acétylcholinestérase et l'aluminium.....	12
2. Le plomb.....	12
2.1.Le plomb dans la vie quotidienne.....	12
2.2.Propriétés chimiques du plomb.....	14
2.3.Les conséquences neurodégénératives du plomb.....	14
2.4.Le plomb et le stress oxydatif.....	15
Chapitre II : les plantes médicinales	18
1. Phytothérapie.....	18
1.1. Quelques plantes.....	19
1.1.1. <i>Hypericum (perforatum et thymbrifolium)</i>	19
1.1.2. <i>Boswellia</i>	23

1.1.3. <i>Quercus suber</i>	32
1.1.4. <i>Salvia officinalis</i>	36

Partie expérimentale

Introduction	42
---------------------------	----

Chapitre I : L'*Hypericum* et la maladie d'Alzheimer

I- Matériel et méthodes	
I.1. L'étude <i>in vitro</i>	43
I.1.1. Extraction	43
I.1.2. Etude de la composition chimique (HPLC)	44
I.1.3. Evaluation de l'activité antioxydant	45
I.1.3.1. Test de DPPH.....	45
I.1.3.2. Peroxydation des lipides	45
I.1.3.3. Réduction du fer FRAP.....	46
I.1.4. Evaluation de la cytotoxicité <i>in vitro</i>	46
I.2. Etude <i>in vivo</i>	48
I.2.1. Matériel animal.....	48
I.2.2. Répartition des lots.....	48
I.2.3. Les paramètres étudiés.....	48
II.2.3.1. Activité locomotrice	48
I.2.3.2. Curiosité (essai de trous).....	49
I.2.3.3. Etude portant sur l'anxiété	49
I.2.3.3.1. Test de compartiment noir/blanc.....	50
I.2.3.3.2. L'épreuve du labyrinthe en croix surélevé.....	50
I.2.3.3.3. Test de Persolt.....	51

I.2.3.4. Tests de mémoire.....	51
I.2.3.4.1. Le labyrinthe à 8 bras.....	51
I.2.3.4.2. Piscine de Morris.....	53
I.2.3.5. Sacrifice et étude histologique.....	54
I.3. Résultats	55
I.3.1. Résultats de l'étude <i>in vitro</i>	55
I.3.1.1. Composition chimique.....	55
I.3.1.2. L'activité antioxydant <i>in vitro</i>	56
I.3.1.3. La cytotoxicité <i>in vitro</i>	58
I.3.2. Résultats de l'étude <i>in vivo</i>	58
I.3.2.1. Les paramètres comportementaux.....	58
I.3.2.1.1. Teste de l'activité locomotrice.....	58
I.3.2.1.2. La curiosité (trous).....	59
I.3.2.1.3. Test d'anxiété.....	60
I.3.2.1.4. Test de croix.....	61
I.3.2.1.5. Test de nage forcée.....	61
I.3.2.2. Test de mémoire	62
I.3.2.2. 1. Labyrinthe radiaire à 8 bras.....	62
I.3.2.2. 1. La piscine de Morris.....	65
I.3.2.3. Etude histologique	67
I-3.3. <i>Hypericum perforatum</i>	69
I.3.3.1. Résultats de l'étude <i>in vitro</i>	69
I.3.3.1.1. Composition chimique.....	69
I.3.3.1.2. L'activité antioxydant <i>in vitro</i>	70

I.3.3.1.3. La cytotoxicité in vitro	71
I.3.3.1.3. Les paramètres comportementaux	71
I.3.3.1.3.1. Activité locomotrice.....	71
I.3.3.1.3.2. Test de curiosité (trou).....	72
I.3.3.1.3.3. Test d'anxiété (Comportement éclairé et non éclairé).....	73
I.3.3.1.3.4. Test de labyrinthe en croix surélevée	73
I.3.3.1.3.5. Test de la nage forcée	74
I.3.3.1.4. Test de la mémoire	75
I.3.3.1.4.1. Labyrinthe radiaire à 8 bras	75
I.3.3.1.4.2. La piscine de Morris	77
I.3.3.1.5. L'étude histologique	78
• Discussion.....	80

Chapitre II : Boswellia, la maladie d'Alzheimer et l'intoxication au Plomb

II.1. Matériel et méthodes.....	90
II.1.1 Etude <i>in vitro</i>	90
II.1.1.1. Echantillonnage.....	90
II.1.1.2. L'extraction des huiles essentielles par hydro-distillation.....	90
II.1.1.2.1. La distillation.....	90
II.1.1.2.2. Décantation.....	91
II.1.1.2.3. Elimination du solvant	92
II.1.1.2.4. Conservation des huiles essentielles	92

II.1.1.3. Extraction alcoolique	92
II.1.1.4. Les tests phytochimiques sur la résine boswellique	93
II.1.1.5. Identification de la composition chimique par CG/MS.....	94
II.1.1.6. Evaluation de l'activité antioxydant in vitro (HE/les extraits alcoolique).....	95
II.1.1.6.1. Test du DPPH.....	95
II.1.1.6.2. Test de blanchissement du β -carotène.....	95
II.1.1.6.3. Le test au DMPD	96
II.1.1.6.4. Méthode de chélation du métal.....	97
II.1.1.6.5. FRAP.....	98
II.1.1.6.6. PRAP (phosphormolybden reducing power).....	98
II.1.1.6.7. CUPRAC.....	98
II.1.1.6.8. Traitement des données pour des dosages d'activité anti-oxydante	98
II.1.1.6.9. L'activité anticholinestérasique.....	99
II.2. Etude <i>in vivo</i>	99
II.2.1. Matériel animal	99
II.2.2. Intoxication à l'aluminium et maladie d'Alzheimer.....	100
II.2.2.1. Répartition des lots expérimentaux	100
II.2.2.2. Test de toxicité aigüe de la résine de <i>Boswellia</i>	101
II.2.2.3. paramètres étudiés	101
II.2.2.3.1. Evaluation comportementale	101
II.2.2.3.1.1. L'activité locomotrice	101
II.2.2.3.1.2. Test de compartiment noir et blanc (test de stress).....	102
II.2.2.3.1.3. Test de curiosité (Le test de la planche à trous)	102
II.2.2.3.1.4. Anxiété et dépression	102

II.2.2.3.1.4.1. Evaluation de l'anxiété dans le test du labyrinthe en croix surélevée (Elevated plus maze)	102
II.2.2.3.1.4.2. Test de Persolt.....	103
II.2.2.3.1.5. Test de mémoire	103
II.2.2.3.1.5.1. Le labyrinthe a 8 bras	103
II-2-1-2-1-5-2- La piscine de Morris	104
II.2.2.3.1.5.3. Le test du labyrinthe en double –H	104
II.2.2.3.3. Dosage de l'aluminium dans le cerveau par SAA	108
II.2.3. L'intoxication au plomb	109
II.2.3.1. Répartition et traitements des lots.....	110
II.2.3.2. Les paramètres étudiés.....	110
II.2.3.2.1. Comportement stéréotypé (morsure, toilettage, reniflement)	110
II.2.3.2.2. L'activité locomotrice.....	111
II.2.3.2.3. Test de la nage forcée.....	111
II.2.3.2.4. Test de compartiment noir/blanc (test de stress).....	111
II.2.3.2.5. Sacrifice et prélèvement sanguin et d'organes.....	111
II.2.3.2.5.1. Analyses biochimiques.....	112
II.2.3.2.5.1.1. Evaluation de l'activité hépatique (dosage des transaminases).....	112
II.2.3.2.5.1.2. Dosage du plomb dans le cerveau par SAA	113
II.2.3.2.5.1.3. L'étude histologique	113
II.3. Résultats	114
II.3.1. Résultats de l'étude in vitro.....	114
II.3.1.1. Les tests phytochimiques sur la résine boswellique	114

II.3.1.2. Résultat de la composition chimique par CG-MS.....	115
II.3.1.3. Activité antioxydante de l'huile essentielle.....	117
II.3.1.3.1. Piégeage du radical DPPH.....	117
II.3.1.3.2. Blanchissement du Béta carotène.....	118
II.3.1.4. Activité antioxydante des deux extrait meOH et EtOH	119
II.3.1.5. Activité inhibitrice du cholinestérase.....	120
II.3.2. Etude <i>in vivo</i>	121
II.3.2.1. Intoxication à l'aluminium	121
II.3.2.1.1. Les paramètres neurologiques	121
II.3.2.1.1.1. Test de comportementaux	121
II.3.2.1.1.1.1. Test de l'activité locomotrice	121
II.3.2.1.1.1.2. Test de curiosité	123
II.3.2.1.1.1.3. Test d'anxiété	124
II.3.2.1.1.1.4. Test de croix.....	125
II.3.2.1.1.1.5. Test de la nage forcée	127
II.3.2.1.1.2. Test de mémoire	128
II.3.2.1.1.2.1. Labyrinthe radiaire à 8 bras	128
II.3.2.1.1.2.2. Piscine de Morris	132
II.3.2.1.1.2.3. Le test du labyrinthe en double –H	134
II.3.2.1.2. Spectrophotométrie d'absorption atomique SAA	139
II.3.2.2. L'intoxication au plomb.....	140
II.3.2.2.1. Résultat de test de toxicité aigüe	140
II.3.2.2.2. Etude comportementale.....	140
II.3.2.2.2.1. Comportement stéréotypé (morsure, toilettage, reniflement)	140

II.3.2.2.2.2. L'activité locomotrice	142
II.3.2.2.2.3. Test de la nage forcée.....	143
II.3.2.2.2.3. Test de compartiment noir et blanc (test d'anxiété).....	143
II.3.2.2.3. Les résultats des analyses biochimiques.....	144
II.3.2.2.3.1. L'évolution de TGO chez les souris.....	144
II.3.2.2.3.2. L'évaluation de TGP chez les souris.....	145
II.3.2.2.4. Résultats du dosage du plomb cérébral.....	146
II.3.2.2.5. Etude histologique	146
• Discussion	148

Chapitre III : Quercus suber, la maladie de parkinson et le stress oxydatif *in vivo*

III.1. Matériel et méthodes.....	155
III.1.1. Etude <i>in vitro</i>	155
III.1.1.1. L'extraction à polarité croissante.....	155
III.1.1.2. Evaluation de l'activité antioxydante	156
III.1.1.2.1. Le test au DPPH	156
III.1.1.2.2. Le test au DMPD	156
III.1.1.2.3. Méthode de chélation du métal.....	156
III.1.1.2.4. FRAP.....	156
III.1.1.2.5. PRAP (phosphormolybden reducing power).....	157
III.1.1.2.6. CUPRAC.....	157
III.1.1.2.7. Traitement des données pour des dosages d'activité anti-oxydante.....	157
III.1.2. Etude <i>in vivo</i>	157
III.1.2.1. Matériel animal.....	157
III.1.2.2. Toxicité aigüe.....	157
III.1.2.3. Etude de l'activité antiparkinsonienne.....	158
III.1.2.3.1. Répartition des lots.....	158

III.1.2.3.2. Les paramètres étudiés.....	158
III.1.2.3.2.1. Etude comportementale	158
III.1.2.3.2.1.1. Test de Porsolt.....	158
III.1.2.3.2.1.2. Activité locomotrice.....	158
III.1.2.3.2.1.3. Sacrifice et analyses biologiques	159
III.1.2.3.2.1.3.1. Analyse hématologique.....	159
III.1.2.4. Etude de l'activité antioxydant <i>in vivo</i>	159
III.1.2.4.1. Répartition des lots.....	159
III.1.2.4.2. Sacrifice et analyses biologiques	160
III.1.2.4.2.1. Dosage des paramètres biochimiques.....	160
III.1.2.4.2.2. Etude histologique.....	162
III.2. Résultats	163
III.2.1. Etude <i>in vitro</i>	163
III.2.1.1. Activité antioxydant	163
III.2.1.2. Activité inhibitrice du cholinestérase	164
III.2.2. Etude <i>in vivo</i>	164
III.2.2.1. Activité antiparkinsonienne	164
III.2.2.1.1. Test de toxicité	164
III.2.2.1.2. Les tests comportementaux.....	164
III.2.2.1.2.1. Test de Porsolt.....	164
III.2.2.1.2.2. Activité locomotrice	165
III.2.2.1.3. Analyses hématologique	166
III.2.2.1.3.1. FNS.....	166
III.2.2.2. Activité antioxydant :.....	170

III.2.2.2.1. Etude biochimique.....	170
III.2.2.2.2. Etude histologique.....	172
• Discussion	174

Chapitre VI : *Salvia officinallis* et le stress oxydatif aigu *in vivo*

IV .1. Matériel et méthodes	179
IV.1.1. Etude <i>in vitro</i>	179
IV.1.1.1. Extraction	179
IV.1.1.1.1. Broyage de la plante	179
IV.1.1.1.2- Extraction à polarité croissante.....	179
IV.1.1.1.3- Elimination du solvant organique	179
IV.1.1.2. Etude de l'activité antioxydant.....	180
IV.1.2. Etude <i>in vivo</i>	180
IV.1.2.1. Répartition des lots	180
IV.1.2.2. Sacrifice et analyses biologiques	180
IV.1.2.2.1. Analyse hématologique	181
IV.1.2.2.2. Analyse biochimique	181
IV.1.2.3. Etude histologique	182
IV.2. Résultats	183
IV.2.1. Etude <i>in vitro</i>	183
IV.2.1.1. Activité antioxydant	183
IV.2.1.2. Activité inhibitrice du cholinestérase	184
IV.2.2. Etude <i>in vivo</i>	184
IV.2.2.1. Test hématologique	184
IV.2.2.2. Tests biochimiques	185
IV.2.2.3. Etude histologique.....	187

• Discussion	189
Conclusion	192
Référence bibliographique	196

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION

Introduction générale

Depuis ces dernières décennies, les effets de l'industrialisation ont rompu l'équilibre existant entre la nature et l'humain. L'utilisation brutale et massive de métaux lourds y compris l'aluminium et le Plomb ont peu à peu conduit à l'apparition de risques nouveaux, encore mal évalués, d'où on peut citer les désordres neurologiques.

Bien que les risques d'intoxication par de faibles niveaux de métaux lourds ne soit toujours pas pris très au sérieux par la majorité des médecins conventionnels, le danger existe bel et bien. De nouvelles recherches ont montré que ces métaux s'accumulent dans l'organisme et que, pour cette raison, ils peuvent avoir des effets très néfastes. Le plomb et l'aluminium notamment, augmentent les risques de maladies cardio-vasculaires ou rénales, l'hypertension et les cancers, et diminuent la fertilité et la mémoire. [1-3]. La biodisponibilité des métaux étrange de l'organisme contribue généralement à l'apparition de certaines espèces dit les espèces réactives de l'oxygène, regroupent l'ensemble des dérivés radicalaires de l'oxygène mais également d'autres composés non-radicalaires très réactifs. Certaines espèces réactives de l'azote (ERA ou RNS en anglais pour Reactive Nitrogen Species) sont parfois mentionnées comme appartenant à cette classification puisqu'elles possèdent un atome d'oxygène et qu'elles se comportent de manière similaire (espèces généralement radicalaires, ont un pouvoir oxydant important, qui sont générées et régulées par l'organisme) aux ERO vis-à-vis du stress oxydant [4].

Dans l'organisme, il existe plusieurs types de molécules à activité antioxydante : les enzymes antioxydantes directement synthétisées par l'organisme (superoxydodismutases, glutathion peroxydases, catalase) et les composés antioxydants d'origine exogène c'est-à-dire alimentaire (les vitamines A, C et E ; les caroténoïdes comme le lycopène et la lutéine; la taurine ; les polyphénols ; certains minéraux et oligoéléments comme le magnésium, le zinc, le sélénium et le manganèse). Ces systèmes antioxydants interviennent en protégeant les cellules des dommages oxydatifs induits par les radicaux libres causant du cancer, l'artériosclérose, le paludisme, la polyarthrite rhumatoïde, les maladies neurodégénératives et les processus de vieillissement. Le principe de leur emploi pour prévenir l'apparition et le développement de

certaines maladies dans lesquelles sont impliqués des phénomènes oxydatifs semble séduisant [5].

L'apparition de stress oxydant important peut ainsi déséquilibrer les systèmes antioxydant naturel de défense, ce qui induit un désordre général peut toucher les barrières d'enzyme antioxydant et même d'autre système tel que le système nerveux central notamment de leurs rôle dans la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et la sclérose latérale amyotrophique (maladie de Lou Gehrig)...etc. [6,7]

Des solutions thérapeutique était mis en évidence, mais ces dernier n'ont pas montré une résolution satisfaisante à cause du faible rendement d'efficacité en plus des effets indésirables peuvent ainsi donnent naissance à de nouvelles anomalies.

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antioxydants, les polyphénols et surtout les flavonoïdes sont des antioxydants puissants susceptibles d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules.

L'objectif de ce travail consiste à la recherche des activités biologiques des extraits naturels de certaines plantes choisis sur la base des connaissances traditionnelle et d'élucider leur effets scientifiquement *in vitro* comme *in vivo* sur certaines maladies neurodégénérative lié au stress oxydant résultant de l'existence de certains métaux pertinemment l'aluminium et le plomb, qui garde encore un potentiel de biodisponibilité important.

Ce travail a été divisé en deux parties, la première étant une brève revue bibliographique des deux métaux, l'aluminium et le Plomb, présentant la problématique de la thèse, suivie d'un deuxième chapitre de la phytothérapie, considéré comme solution ; La deuxième partie est l'expérimentation, divisée à son tour à quatre chapitres, chacun étant réservé pour une plante différente expliquant ainsi ses effets biologique sur les différentes anomalies provoquées.

CHAP I : MÉTAUX LOURDS



I. Métaux lourds

Présents naturellement dans notre environnement et utilisés industriellement, les métaux lourds sont émis dans l'air sous forme de très fines particules et finissent par retomber sur le sol contaminant ainsi les animaux et les végétaux. La plupart se retrouvent donc dans notre alimentation d'une façon spontanée ou industrielle. Certains sont essentiels au bon fonctionnement de notre organisme tandis que d'autres n'ont aucune fonction biologique, présentent des risques pour la santé.

On appelle métaux lourds les éléments métalliques naturels dont la masse volumique est supérieure à 5 g/cm³. Leur réactivité et leur toxicité ne dépendent pas seulement de leur concentration. Leur capacité à s'accumuler ou à se transformer dans les organismes vivants et leurs propriétés éco-toxicologiques ou toxicologiques dépendent aussi de leur spéciation, c'est à dire la forme chimique sous laquelle ils sont présents dans notre environnement. Focus sur les métaux lourds les plus toxiques y compris l'aluminium et le plomb.

1. L'aluminium

1.1. L'aluminium dans la vie quotidienne

Les métaux se produisent naturellement dans l'environnement, mais dès la révolution industrielle, la distribution et la disponibilité des métaux aux systèmes biologiques ont augmenté significativement [8]. L'abondance normale d'aluminium (Al) et le développement à la fin du dix-neuvième siècle de son amélioration électrolytique ont conspiré à faire de l'Al le métal le plus extensivement utilisé et différemment appliqué de notre époque. Derrière ses larges applications réussies est ses propriétés chimiques extrêmement souples qui se prêteront à l'utilisation continue et variée d'Al à l'avenir conduit à des changements environnementaux [9], tel que l'acidification du sol, par exemple, le dépôt acide affecte l'agriculture, et l'utilisation quotidienne de l'Al dans les différents domaines de vie a augmenté son abondance dans le biosphère relativement le lithosphère et, concomitant, son biodisponibilité ou son potentiel de participation dans les processus vitales[10].

Les processus géochimiques commandant le cycle et la disponibilité de l'aluminium sont significativement modifiés sous l'influence de l'activité anthropogène. Ces changements sont bien documentés de la littérature [9], tandis que l'impact de la plus grande disponibilité biologique de l'aluminium dans la biosphère, aussi bien ne sont pas connus.

L'utilisation répandue des produits faits à partir ou contenant l'Al assure l'omniprésence d'Al dans nos corps. Il est peu probable que l'Al soit absent de n'importe quel organe, tissu, fluide de corps ou même cellule dans notre corps. [11]

Cependant, l'apparition d'Al comme toxine environnementale n'a pas encore reçu l'identification sérieuse en toxicologie humaine. [12]

Il est clair que beaucoup égalisent l'omniprésence d'Al avec une influence bénigne sur la santé. On raison pour laquelle la toxicité d'Al peut seulement être comme résultat d'une exposition aiguë au métal et qu'un événement de cette sorte sera extrêmement rare dans la population générale. Il est vrai que l'absorption systémique de l'Al par le corps humain soit limitée et que ceci réduira la probabilité d'une exposition aiguë. [13] Il n'y a aucune commande homéostatique de la concentration d'Al dans l'environnement intracellulaire ou extracellulaire. [14]. L'aluminium se retrouve également :

- ❖ Les additifs communs contenant l'aluminium sont le phosphate en aluminium de sodium acide, un agent de levage, et le phosphate en aluminium de sodium de base, un émulsifiant. L'aluminium est également trouvé dans des colorations de nourriture, et les agents anti agglutinants peuvent contenir des aluminosilicates. Le fromage traité et le pain de maïs sont les contributeurs principaux aux expositions en aluminium élevées dans le régime alimentaire. La teneur en aluminium élevée de ces nourritures est en grande partie due aux additifs. Une autre source diététique significative d'aluminium est des produits laitiers à base de soja, qui contribuent pas moins 2.1 du magnésium d'aluminium/jour, basés sur la prise typique d'un enfant en bas âge ; cette exposition est d'intérêt particulier pour des enfants en bas âge souffrant de l'insuffisance rénale [15].
- ❖ Des cannettes de boisson en aluminium sont généralement enduites d'un polymère qui empêche le lessivage. La concentration moyenne de l'aluminium dans des boissons de

kola s'est avérée seulement en ustensile de cuisine 0.1pg/g. en aluminium, cependant, peut être lessivé l'aluminium dans les substances alimentaires acides et les bases forts. La sauce tomate cuite dans des casseroles en aluminium s'est avérée pour accumuler 3-6mg en aluminium par portion de 100 g [15].

- ❖ Certains médicaments au-dessus des contraintes pharmaceutiques telles que les antiacides et l'aspirine contiennent suffisamment d'aluminium pour augmenter la dose quotidienne de manière significative. Beaucoup d'antiacides se composent d'un mélange d' $\text{Al}(\text{OH})_3$ et d'autres hydroxydes, tels que le magnésium. Les comprimés supplémentaires forte de Maalox, par exemple, contiennent 400 mg d' $\text{Al}(\text{OH})_3$ et 400 mg de $\text{Mg}(\text{OH})_2$. [8]. La dose recommandée pour le soulagement du malaise gastrique est jusqu'à huit comprimés par jour ; c'est-à-dire, une dose en aluminium de 3.2 g d' $\text{Al}(\text{OH})_3$, ou de 1.1 g, qui est une augmentation 30 fois au-dessus de l'exposition moyenne venant de la nourriture et de l'eau potable seulement. Les patients présentant l'insuffisance rénale prennent souvent de grandes quantités d'aluminium contenant dans les antiacides au phosphate. L' AlPO_4 résultant est insoluble, facilite l'excrétion du phosphate par les fèces. D'autres expositions potentiellement significatives, cependant probables pour être à court terme, peuvent se produire par l'utilisation des solutions intraveineuses : le gluconate de calcium et le phosphate du potassium sont avérés pour contenir 5.1 mg d'aluminium/g et 17 mg/g, respectivement. [15]
- ❖ Le vaccin de Diphtérie-pertussis et de tetanus, administré largement aux enfants et aux adultes, contient un adjuvant en aluminium [16].
- ❖ Des dialysés peuvent être exposés à de grandes quantités d'aluminium par l'intermédiaire de leur liquide de dialyse. Cette exposition a été responsable des épisodes notables de neurotoxicités [17,18]. La toxicité liée au liquide de dialyse peut être en grande partie réduite en enlevant l'aluminium du fluide. Certains ont passé en revue constaté que le traitement de l'eau de dialysat avec l'osmose inverse a mené aux diminutions en aluminium de sang. [15]
- ❖ L'exposition par inhalation d'aluminium en poussière de la population générale est aussi haute que 0.14 mg/jour, basé sur la limite supérieure de 5000 ng/m³ [en air urbain et d'estimation typiques d'exposition (1 l air/souffle et 20 souffle/min). En

revanche, des mineurs, les fondeurs, et d'autres ouvriers en métal peuvent être exposés aux niveaux toxique de l'aluminium à travers et des aérosols et la poussière. Un groupe de soudeurs en aluminium, par exemple, a été exposé à 2.4 mg/m³ d'aluminium [15], (moyenne 8h /poids moyen), qui résulte dans l'inhalation de 23mg au-dessus d'un décalage de 8hr.

- ❖ L'exposition par l'intermédiaire de l'inhalation à la poussière en aluminium comme mesure prophylactique étaient délibéré [19].
- ❖ Avant que chaque décalage, les mineurs aient été exposés aux 20.000 à 34.000 pg/mn en poussières d'aluminium dans un secteur fermé, pendant 10 minutes, ayant pour résultat des expositions moyennes estimées de 375 mg/an. Les mineurs exposés et non exposés n'ont pas différencié de manière significative dans l'incidence des désordres neurologiques, mais les mineurs exposés ont réalisé les points inférieurs aux examens cognitifs et avaient des déficiences en mémoire. [15]

1.2. Propriétés chimiques et spéciation de l'aluminium

L'aluminium peut prendre plusieurs formes en solution, dépendantes du pH présenté en tableau N°1.

Tableau N°1 : Les propriétés chimiques de l'Al à différents pH. [16]

pH	Propriétés et aspect
7,0	<ul style="list-style-type: none"> • Soluble quand il est hydrolysé • Existe en forme de Al(OH)₃ facilement redissoute • Précipité en solution de complexification
≤ 6,0	<ul style="list-style-type: none"> • Très soluble, • Sous forme hexahydraté [Al(H₂O)₆]³⁺, • abrégé en Al³⁺.
≥ 7,5	<ul style="list-style-type: none"> • Insoluble

Le complexe électro-neutre de maltolate d'Al- (Al(mal)₃) [17] semble être idéal, puisque ce composé peut livrer une quantité significative d'Al aqueux libre à pH physiologique [16].

Différemment, la plupart des autres sels d'Al, tels que l' AlCl_3 , produisent les complexes insolubles à *pH* neutre [16]. Le maltolate d'Al augmente la concentration soluble en Al comparativement à d'autres sels organiques d'Al comme le lactate d'Al ou l'Al-aspartate. Le maltolate d'Al possède la stabilité hydrolytique à *pH* 7.0 et il n'a aucun problème de propriétés chimiques [17]. Le maltolate d'Al convient au-dessus d'autres composés d'Al en raison de sa très haute solubilité en fraction minérale à *pH* 7.0, et les restrictions cinétiques en avant au ligand échangeant des réactions dans la solution neutre [18,19].

1.3.L'aluminium et les maladies neurodégénératives

Le cerveau semble être l'un des emplacements cible les plus importants pour la toxicité de l'aluminium.

La barrière hémato-encéphalique est normalement perméable seulement à de petites molécules, ou à plus grandes molécules, telles que des protéines, par des mécanismes de transport actif. En raison de cette basse perméabilité, il est important de comprendre les mécanismes par lesquels l'aluminium imprègne la barrière. Les complexes d'Aluminium-protéine sont peu susceptibles d'imprégner la barrière hémato-encéphalique directement en raison de leur taille, bien que la prise négociée par récepteur soit un mécanisme possible [13]. Des récepteurs de transferrine sont trouvés en un certain nombre de types de cellules de CNS, y compris des neurones, oligodendrocytes, astrocytes, cellules épendymaire (trouvées dans le cordon médullaire), et cellules de plexus choroïde [20]. La transferrine est censée pour jouer un rôle dans le développement des cellules myélinisées. En présence d'autre, de plus petits complexes, tel que l'aluminium ont pu croiser la barrière hémato-encéphalique.

Une étude de cas a été rapportée de plusieurs patients urémiques dialysés souffrant de la toxicité de l'aluminium d'os qui ont été traités avec le des ferrioxamine, une drogue de chélation qui chélate également et efficacement l'existence de l'aluminium.

Les sujets de dialyse ont éprouvé des symptômes neurologiques ressemblant à la démence; plusieurs d'eux sont morts. Les investigateurs ont conjecturé que le complexe résultant de la desferrioxamine-aluminium, qui est beaucoup plus petit et plus soluble que les complexes en aluminium de protéine, avait distribué dans le cerveau [15,20].

La perméabilité de l'aluminium était non saturable, suggérant un processus non spécifique tel que la diffusion ou la pinocytose de petite molécule d'aluminium plutôt que l'attache des récepteurs de surface cellulaire d'aluminium-transferrine.

La perméabilité de l'aluminium dans le cerveau pourrait, cependant, être une combinaison spécifique et des processus non spécifiques et apparaître toujours en combinaison non saturable, tellement là peuvent encore être un rôle pour la transferrine (figure 1).

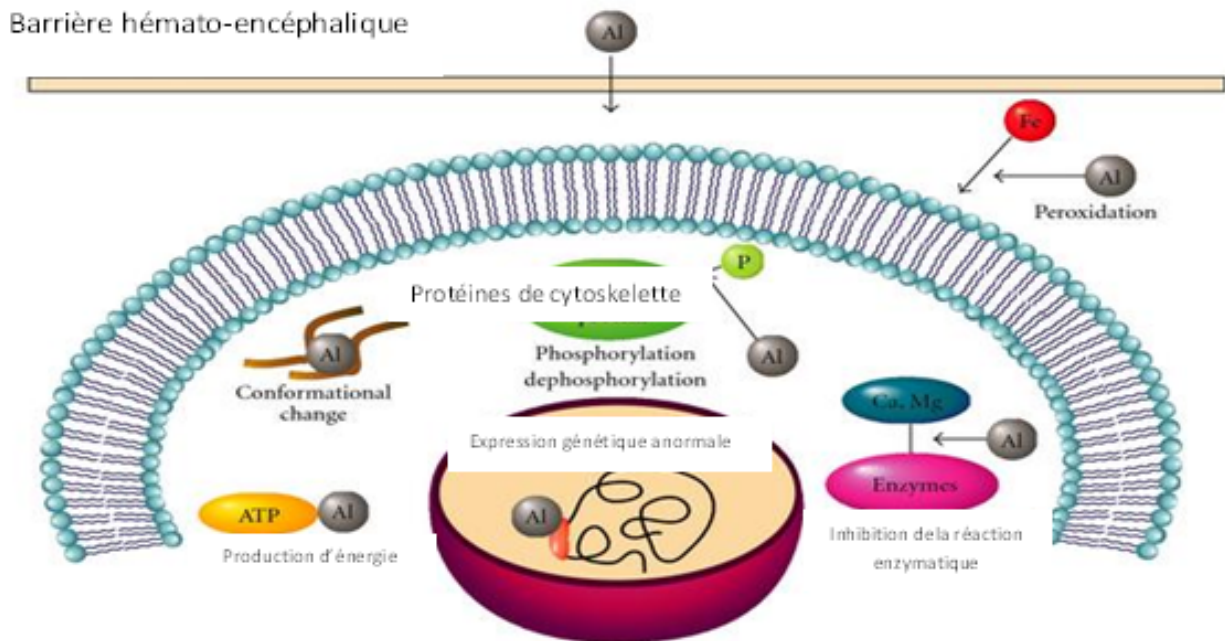


Figure 1: Effet de l'aluminium sur le système nerveux central. [20]

L'aluminium semble être pris d'une mode non saturable (c.-à-d., non spécifique), au moins aux capillaires cérébraux [15].

La liaison de la transferrine (aluminium-transferrine) et de fer sont examinés au cerveau homogénéisé de rat et le résultat a trouvé l'évidence d'un récepteur qui lie les deux [20]. Les constantes de dissociation (K_d) étaient 5.7nM pour le complexe fer-transferrine et 13.1 nM pour le complexe aluminium-transferrine. L'affinité de ce récepteur pour l'aluminium-transferrine, bien qu'inférieure à cela pour le complexe fer-transferrine, est encore plus haute que l'affinité des récepteurs des autres cellules (telles que des hépatocytes et des lymphocytes) pour le complexe fer-transferrine.

La toxicité de l'aluminium dans le cerveau pourrait comporter, au moins en partie, la rupture de l'homéostasie normale de fer et les processus cellulaires fer-dépendants.

L'aluminium peut interférer sur la liaison de fer au ferritine, une protéine de stockage du fer [20].

Les similitudes, biochimiques, morphologiques et fonctionnelles, existent entre les circonstances où la toxicité de l'aluminium est connue comme agent causal de la maladie animale ou humaine (telle que l'encéphalopathie d'aluminium dans l'insuffisance rénale) et la maladie d'Alzheimer. Ces similitudes fournissent ce qui est devenu un corps de plus en plus grand d'évidence soutenant le rôle de l'aluminium dans la genèse de la maladie d'Alzheimer :

1. L'aluminium peut empêcher le métabolisme de tétrahydrobioptérine, qui est important dans la production de plusieurs neurotransmetteurs, et le métabolisme de tétrahydrobioptérine est connu pour être diminué dans la maladie d'Alzheimer.

2. Quand la transferrine, la protéine responsable du transport du fer dans la circulation sanguine et un chélateur normal puissant d'aluminium, est ajoutée à l'homogénat de cerveau des patients qui étaient morts avec la maladie d'Alzheimer une certaine inversion de l'inhibition métabolique de tétrahydrobioptérine se produit. Clairement il peut y avoir d'autres explications pour cet effet autre que le déplacement de l'aluminium, mais il soutiendrait la vue que l'aluminium peut être impliqué et que sa toxicité n'est pas médiée simplement par la mort neuronale de cellules.

3. Plusieurs études de différents groupes ont indiqué que l'aluminium est associé aux lésions pathologiques trouvées à l'autopsie dans les cerveaux des patients présentant la maladie d'Alzheimer. L'aluminium semble Co-localiser au centre même de la plaque pathologique et dans des neurones soutenant la dégénérescence neurofibrillaire caractéristique. Le fait que l'aluminium est trouvé au noyau de telles lésions pourrait suggérer un rôle causatif.

4. Un grand nombre d'études ont été rapportées chez les chats et d'autres mammifères en utilisant l'aluminium en tant qu'un des moyens d'induction modèle comportemental (et neuropathologie) pour la maladie d'Alzheimer.

5. Dans un nombre relativement petit de cerveaux des patients mourant de l'encéphalopathie d'aluminium, on a identifié des changements neuropathologiques qui sont semblables bien que non identique à ceux dans la maladie d'Alzheimer. La différence dans l'embrouillement peut résulter du fait que l'intoxication aiguë d'aluminium chez les patients

hémodialysés est très importante comparativement à l'intoxication chronique ou supposé à vie des patients destinés pour développer le syndrome d'Alzheimer issue de l'empoisonnement d'aluminium, dans le contexte de l'échec rénal et d'autres, les effets cliniques causals qui sont souvent semblables à ceux vus dans la maladie d'Alzheimer (figure 2). [21]

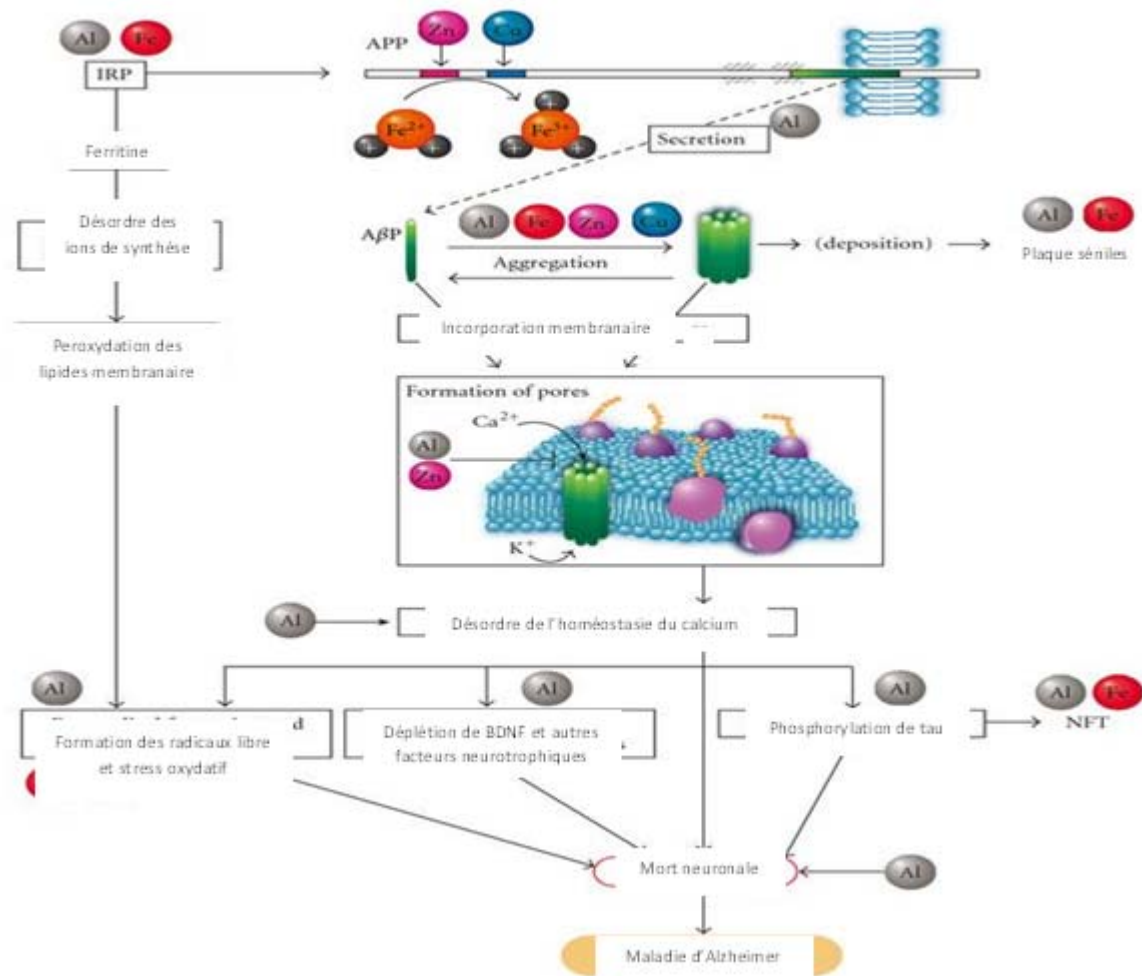


Figure 2: implication de l'aluminium dans les pathologies neurotoxique et dans la MA [20,22]

1.4.L'aluminium et le stress oxydatif

Des dommages oxydants de protéines, de lipides et de l'ADN sont provoqués par l'espèce fortement réactive de l'oxygène et d'azote (ROS, RNS). Il y a une production constante de ROS et RNS dans les cellules et dans des conditions homéostatique accumulant le ROS et le

RNS sont efficacement détoxifiés par les systèmes de défense antioxydants efficaces qui incluent les structures biochimiques telles que des vitamines (vitamine E et vitamine C) et des enzymes antioxydantes *{par exemple. la peroxydase, catalase de glutathion}*. [23]

Pour la maladie d'Alzheimer (MA) ils ont découvert beaucoup de facteurs qui induire directement ou indirectement la perturbation de l'homéostasie oxydante, y compris la protéine d'amyloïde β ($A\beta$), qui est une protéine principale en neuropathologie. [23]

Les manifestations des dommages de radicaux libres observés dans la MA récemment ont été détaillé [24,25].

En général, il peut récapituler qu'on peut observer des changements oxydants spécifiques des désordres neurodégénérative pathologiques. Ceux-ci incluent :

- Les niveaux oxydative des métabolites changés apparus généralement en cas de maladie neurodégénérative. [26]
- Les cellules affligées dans des désordres neurodégénérative montrent des caractéristiques spécifiques d'une réponse au stress oxydatif.
- On peut observer des perturbations du métabolisme énergétique, particulièrement en ce qui concerne les mitochondries, qui sont accompagnées d'une plus grande production des radicaux libres.

Les modèles animaux reproduisant des caractéristiques neuropathologiques spécifiques de la maladie neurodégénérative montrent simultanément des signes de stress oxydant.

- Certains désordres neurodégénératives peuvent présenter en tant que formes sporadiques ou familiales. Dans certaines de ces formes familiales, de mutations des enzymes antioxydantes ou de mutations en protéines qui servent indirectement à maintenir l'homéostasie radicale de l'oxygène ou d'azote ont été trouvées.

Le fait que beaucoup de processus neurodégénérative dans le cerveau sont caractérisés par oxydation et destruction oxydante suggèrent que le cerveau soit particulièrement vulnérable aux dommages oxydants. [26]

En effet, il peut discuter que le cerveau est en effet plus prédisposé à l'oxydation parce qu'il a des besoins en énergie élevée et un taux physiologique élevé de consommation de l'oxygène. D'ailleurs le cerveau est enrichi dans les chaînes latérales non saturées d'acide gras dans ses

membranes cellulaires diverses, il contient les niveaux élevés des métaux de transition qui peuvent agir en tant que catalyseurs pour la formation du ROS et il a un niveau bas relatif des antioxydants, comparés à d'autres tissus dans le corps [27].

Des marqueurs quantitatifs de stress oxydatif dans le cerveau de la MA ont été décrits et incluent ; [27].

- Peroxydation de lipide (par exemple hydroperoxides de lipide, 4-hydroxynonanal, isoprostanes)
- Oxydation de protéine *{par exemple. carbonyliques, nitrotyrosine de protéine}*
- Oxydation d'ADN
- Glyco-oxydation *{par exemple. produits finals de glycation avancée}*.

Pendant la peroxydation de lipide les chaînes latérales non saturées d'acide gras d'hydrate de carbone des phospholipides de membrane se peroxydent pendant l'attaque par les ROS. En effet les marqueurs de la peroxydation de cerveau ont été la conclusion biochimique la plus étudiée de stress oxydatif dans la maladie d'Alzheimer (MA). Dans des études post mortem quantitatives la peroxydation de lipide a été mesurée en mesurant des niveaux de malonedialdeyde. En outre, l'hydroperoxyde de lipide et les niveaux d'isoprostane ont été mesurés dans le tissu en maladie d'Alzheimer (MA). L'oxydation de protéine a comme conséquence la formation des carbonyliques ou du nitrotyrosine de protéine. Encore des études post mortem quantitatives peuvent être préformées en utilisant des analyses normalisées d'oxydation et avoir été présentées dans diverses études [27].

Les résultats plus récents que les marqueurs de stress oxydatif précèdent l'aspect d'autre, caractéristiques pathologiques spécifiques préférables de la maladie, a été de grande valeur en prouvant un rôle causatif de stress oxydatif dans la maladie d'Alzheimer (MA) (figure 3). [26,27]

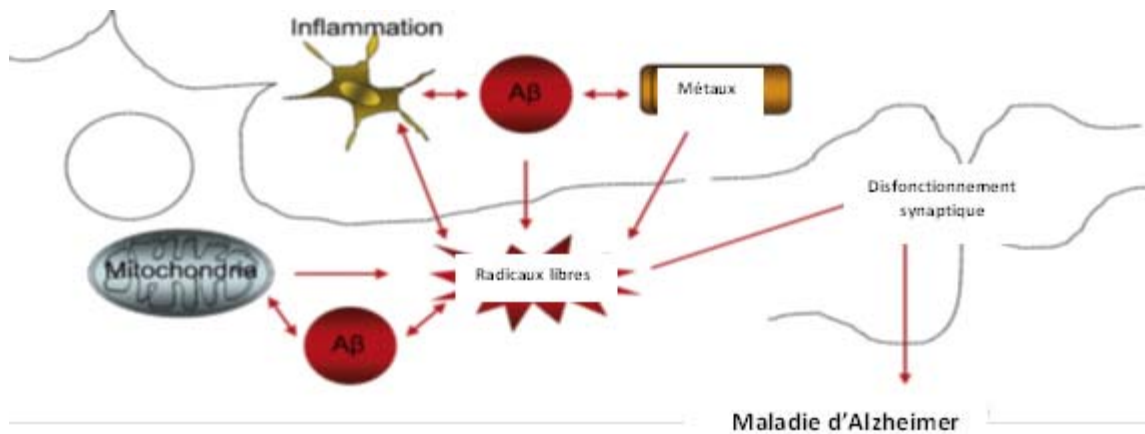


Figure 3. Rôle de radicaux libre dans la maladie d'Alzheimer [23]

1.5.L'acétylcholinesterase et l'aluminium

Il existe chez l'homme deux cholinestérases de famille de protéines largement distribuées à travers le corps aussi bien dans le tissu nerveux que non nerveux, différant par leur origine, leur lieu de synthèse, leur structure, leur spécificité d'action, leur fonction physiologique et l'indication de la mesure de leur activité : Acétylcholinestérase ou cholinestérase globulaire ou encore cholinestérase vraie et Butyrylcholinestérase ou cholinestérase sérique ou pseudocholinestérase. [28].

La lésion massive des neurones cholinergiques du télencéphale basal, impliqués dans le phénomène de mémorisation, est à l'origine de l'hypothèse cholinergique dans la maladie d'Alzheimer [29] et du développement des molécules inhibant l'acétylcholinestérase.

L'aluminium a été considéré depuis un siècle un agent neurotoxique. Il est considéré de manière controversée un facteur à risques potentiels dans la maladie d'Alzheimer et est connu d'avoir un sérieux effet négatif sur la capacité d'apprentissage [30, 31].

L'aluminium peut franchir la barrière hématoencéphalique et même augmente la perméabilité de ce barrière [32, 33,34]. L'aluminium peut exercer un effet nuisible sur l'activité de plusieurs enzymes clé impliquées dans le métabolisme de l'acétylcholine y compris la choline acétyltransferase et l'ACHé. [35].

2. Le plomb

2.1. Le plomb dans la vie quotidienne

Le plomb a été largement employé depuis des siècles à travers le monde. Il a été utilisé entre autres pour les canalisations d'eau, la verrerie, des peintures, des céramiques, des toitures, des additifs de carburants, des batteries, des composants électroniques, divers alliages.... Les romains l'utilisaient sous forme d'acétate de plomb pour conserver leur vin.

L'exposition au plomb peut se produire en respirant l'air ou des poussières sur un lieu de travail, en mangeant des aliments contaminés ou en buvant de l'eau contaminée. Un travail ou des loisirs tels que la fabrication de vitraux augmentent le risque d'exposition au plomb. Certains produits de soins de santé ou des remèdes folkloriques peuvent contenir du plomb. Les enfants peuvent être exposés en mangeant des écailles de peinture au plomb ou en jouant sur des sols contaminés. Le plomb peut endommager le système nerveux, les reins et l'appareil reproducteur. L'EPA (*Environmental Protection Agency*) limite à 15 µg/l la concentration maximale en plomb dans l'eau potable [36,37]

Le retrait du plomb de peintures, des éléments de plomberie et de l'essence a réduit considérablement l'exposition et la biodisponibilité de ce dernier. [38]. Cette diminution de l'exposition a entraîné une réduction significative du niveau de plomb retrouvé dans le sang (plombémie) [39].

2.2. Propriétés chimiques du plomb

Le plomb (Pb) est un élément trace métallique (ETM), de couleur gris bleuté, est un élément ubiquitaire que l'on trouve naturellement dans les sols à la moyenne de 16 ppm.

L'eau déminéralisée, ou légèrement acide, attaque, en présence d'air, les canalisations en plomb et peut ainsi provoquer des intoxications [40].

De même, les acides organiques (acide acétique, tartrique etc...) peuvent dissoudre le plomb ce qui interdit son emploi dans les ustensiles culinaires [41].

Le plomb existe sous forme métallique, inorganique et organique. Le plomb métallique est insoluble dans l'eau, très malléable et résistante à la corrosion [41]. Le plomb prend une forme inorganique lorsqu'il s'associe à certains composés pour former des sels de plomb. Parmi les sels de plomb les plus fréquemment rencontrés, on retrouve ceux du chlorure, du chromate, du nitrate, de l'oxyde, du phosphate et du sulfate. Quant au plomb organique, il se présente le plus souvent sous forme de plomb tétraméthyle ($\text{Pb}(\text{CH}_3)_4$) et de plomb tétraéthyle ($\text{Pb}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_4$) [41].

Tableau 2 : Propriétés physicochimiques du plomb [42]

Propriétés	Valeurs
Masse molaire	207,2 g/mol
Pression de Vapeur	$4,21 \cdot 10^{-2}$ Pa à $327,6^\circ\text{C}$
Solubilité dans l'eau	Non soluble à 20°C
Etats d'oxydation	3(0, +2, +4)

2.3. Les conséquences neurodégénératives du plomb

L'exposition au plomb peut entraîner des effets nocifs sérieux sur la santé, et peut même être mortelle à de fortes doses. Le plomb peut s'accumuler dans le corps, et son exposition, même à de très faibles doses, peut s'avérer dangereuse, il peut nuire de façon permanente le développement des enfants, y compris le développement intellectuel et le développement comportemental [43].

Le plomb passe la barrière hémato-méningée, modifiant éventuellement sa perméabilité, et se fixe dans tout le cerveau, mais plus particulièrement au niveau du plexus choroïde, des méninges [44] de la substance grise frontale et occipitale, de la queue et du thalamus [45].

Certaines modification biochimiques peuvent être produite d'où on peut citer

-Une diminution de l'activité cholinestérasique [46, 47].

-Une augmentation de l'activité dopaminergique : Les effets neurotoxiques du Pb incriminent une augmentation de la dopamine sous l'effet du Ca^{++} dont la liaison est augmentée au niveau du noyau caudé sous l'influence du Pb [48].

-Une diminution de l'activité de l'acide γ amino-butyrique (GABA) [49].

Les principaux effets observés expérimentalement sont une diminution de la mémorisation [50], [51], de l'acquisition des tests d'apprentissage chez le singe [52], d'orientation et de discrimination chez le rat [53].

Certains auteurs ont mis en évidence une diminution de l'activité chez la souris [54] ou le rat [55] pour de faibles expositions.

Chez des ouvriers exposés, quelques études ont révélé une action du Pb sur l'apparition: de troubles psychiques [56], de troubles de l'équilibre [57] et d'une différence significative de la vitesse psychomotrice et de mémoire à long terme [58], [59], avec une bonne corrélation avec la plombémie et les PPZ.

2.4. Le plomb et le stress oxydatif

Une fois ingéré, le plomb peut rester dans le tube digestif une durée importante (20 jours chez les oiseaux) [60]. Pendant ce temps, Pb peut être dissous absorbé par le tractus intestinal pour arriver à la circulation sanguine, le Plomb peut ensuite être déposés et accumulés dans les tissus mous tels que le foie ou les reins et, finalement, dans l'os [60]. Le plomb agit à au niveau moléculaire et peut donner lieu à une gamme d'effets sub-létaux et aigus qui ont été largement reconnus chez le gibier d'eau [60]. De cette façon, les valeurs seuil de concentration du plomb Pb au niveau tissulaire est prise comme critère de diagnostic, qui ont été rapportés selon l'altération des fonctions biologiques et les signes cliniques d'intoxication [60]. Contrairement à d'autres tissus, le sang peut être utilisé pour la biosurveillance, car c'est un système non-destructif [61]. Le plomb dans le sang a une haute affinité pour le groupe sulfhydryle (SH) et peut donc inhiber certains enzymes comportant ce groupe fonctionnel, et possède également une activité antagonistique avec certains métaux essentiels nécessaires pour le bon fonctionnement des enzymes à activités antioxydante [61].

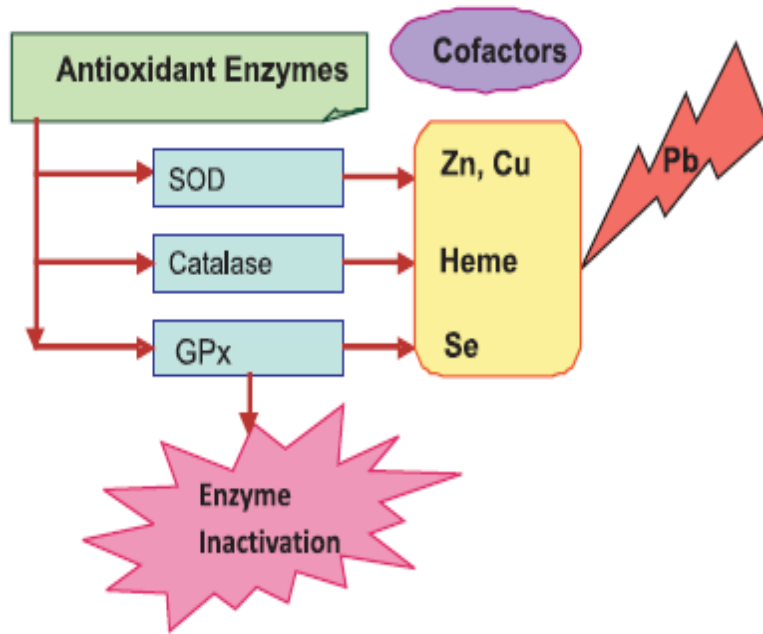


Figure 4 : effets du plomb sur les enzymes antioxydants et leurs cofacteurs induisant l'inactivation.

L'enzyme d-aminolévulinique déshydratase (ALAD) est la première qui est inhibée par le plomb Pb, via la liaison directe de Pb aux groupes SH, qui sont essentiels pour l'activité catalytique de l'enzyme [62,63]. L'ALAD est impliqué dans la première étape de la voie mitochondriale de biosynthèse de l'hème pour maintenir le taux d'hémoglobine contenu dans les érythrocytes [63].

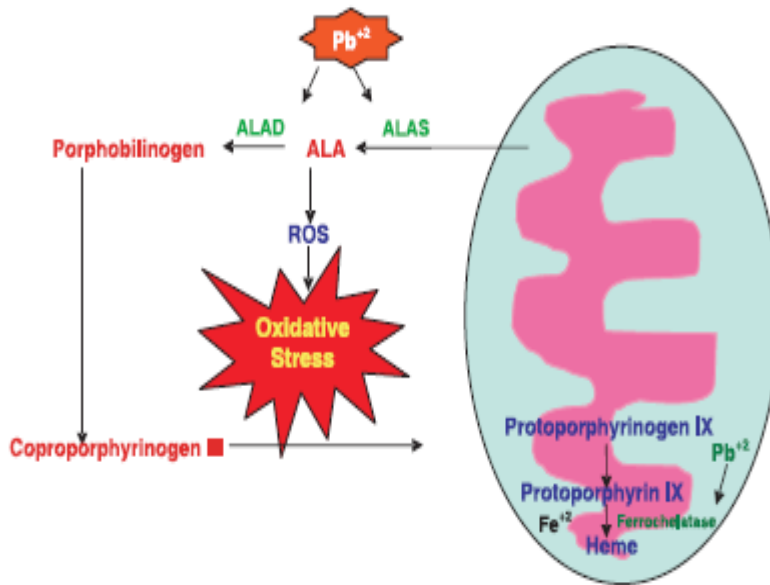


Figure 5 : effets du plomb sur la biosynthèse de l'hème

Plus loin, en plus l'activité de l'ALAD est corrélée négativement avec la concentration sanguine du plomb (plombémie) utilisé comme biomarqueur spécifique pour le plomb Pb [64,65]. Ici, en même temps que l'activité du plomb Pb lui-même, l'accumulation cellulaire d'acide d-aminolévulinique (ALA) en raison de la l'inhibition de l'activité de l'ALAD, induit la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), ce qui déclenche une altération de l'équilibre antioxydant/oxydant et ainsi le stress oxydatif cellulaire [66], le plomb pb induite les ERO peut oxyder les acides gras de la membrane initiant la peroxydation lipidique, modifier les protéines, oxyder les protéines qui n'ont pas de groupe SH et endommagent l'ADN [66]. Le piégeage des radicaux libre, la prévention des dommages et de réparation sont fournis par voie enzymatique désactivateurs chimiques et fixateurs, qui, ensemble, composent le système antioxydant [66].

CHAP II : PLANTES MÉDICINALES



II. Plantes médicinales

Les soins par les plantes sont utilisés traditionnellement depuis des millénaires pour soigner les maux les plus courants. Ces soins permettent soit de prévenir l'apparition de maux, de favoriser la régulation et le soutien de l'organisme ou même de guérir certaines anomalies.

1. Phytothérapie

Le traitement actuel de la toxicité aux métaux lourds se base surtout sur la chélation métallique ; en plus de quelques correcteurs enzymatiques et hormonales, mais cette dernière présente d'autres complications et inconvénients d'où on peut citer :

- Les agents chélateurs ne mobilisent pas le métal osseux.
- En cas d'intoxication grave on utilise des agents de chélation comme l'EDTA ou le succimer par perfusion. Ces traitements vont accélérer l'élimination urinaire du métal mais éliminant aussi le fer Fe, le calcium Ca, le magnésium Mg, et le zinc Zn- [67].
- Tous les traitements médicamenteux présentent des effets secondaires par exemple l'EDTA (Néphrotoxicité, toxicité gastro-intestinale (supplémenter en Zn), augmentation des troubles occasionnelle, ne peut pas dépasser 5 jours ou 2 g par jour en une prise) [68].
- Le nombre de séances de traitement dépend de la gravité de l'intoxication. Ce nombre est limité car les agents de chélation se lient aussi avec les minéraux indispensables, comme le fer et le zinc et certains peuvent être toxiques pour la fonction rénale [67].

Malgré les multiples progrès de la médecine moderne, il y'a un net regain d'intérêt vis-à-vis de la phytothérapie. Selon l'OMS plus de 80% de la population mondiale ont recours à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de la santé [69].

De même les recherches récentes sont orientées vers la phytothérapie considérée comme un traitement plus efficace et moins dangereux.

Dans notre société l'utilisation des plantes et les produits à base des plantes sont augmentés de façon très rapide.

1.1. Quelques plantes

1.1.1. *Hypericum* :

1.1.1.1. Description et propriété

Hypericum (Hypericaceae) est l'une des plantes utilisées traditionnellement dans la médecine [70].

L' *Hypericum* contient un certain nombre de composés biologiquement actifs : naphthodianthrones (hypéricine et pseudohypéricine), phloroglucinols (hyperforine et adhyperforine), des flavonoïdes, des procyanidines, les tanins, les huiles essentielles, les acides aminés, les phénylpropanoïdes, les xanthones et d'autres composants hydrosolubles [71]. Les expériences pharmacologiques ont montré que cette espèce a des activités antiulcérogènes, anti-inflammatoires, anti-tumoraux antimicrobiennes et antioxydantes [72,73].

Hypericum est l'un des neuf genres qui forment la famille Hypericaceae [74,75]. Ce genre se compose d'environ 500 espèces d'arbustes, d'herbacées et quelques arbres. Les membres de *Hypericum* sont distribués dans le monde entier, avec un centre principal de la richesse en espèces dans les régions tempérées de l'hémisphère Nord. Dans les régions tempérées froides *Hypericum* est originaire principalement des plaines et les zones montagneuses, tandis que dans les régions tropicales et les régions tempérées chaudes, il est presque toujours confiné aux habitats de montagne de haute altitude. *Hypericum* se produit dans presque tous les types d'habitats tempérés, mais il est rare de trouver dans l'eau sauf dans de très faibles profondeurs [74].

Les espèces du genre peuvent être généralement reconnus par leurs feuilles (opposée, stipules manquent simples et entières), des fleurs jaunes avec pétales libres et plusieurs

étamines en 3 ou 5 fascicules, styles libres, et la présence de pâle et parfois sécrétions glandulaire rouge à noir (glandes). Le fruit est, en général, une capsule déhiscente, contenant petite lumière cylindrique brune à grains noirs. [76-78].

- Règne : Plantae - Plants

- Sous-règne: Tracheobionta- Vascular plants

- SuperdivisionSpermatophyta -Seed plants

- Division : Magnoliophyta- Flowering plants

- Classe : Magnoliopsida - Dicotyledons

- Sous-classe : Dilleniidae

- Ordre : Theales

- Famille : Clusiaceae – Mangosteen

- Genre: *Hypericum* L. – St. John’s wort

1.1.1.2. Origine du nom

Malgré les tentatives de certains lexicographes à dériver d'hypo ou hyper (au-dessous ou au-dessus) et ereikon (la lande), i. e. une «plante qui se développe dans la lande» [79], le sens et la dérivation de *Hypericum* est très claire. Le nom υπερεικον (upereikon) a été donné par les Grecs à une plante qui ils ont accroché au-dessus de leurs personnalités religieuses pour conjurer les mauvais esprits (υπερ = dessus, εικων = l'image). Car depuis les temps anciens, les dépressions (ou des conditions similaires) ont été expliqués par des démons maléfiques qui habitent la personne malade. *Hypericum* était un remède commun pour ce que nous appelons aujourd'hui une dépression, qui a été considéré comme ayant «le pouvoir de chasser les mauvais esprits» chez l'homme. [79].

le nom est d'abord mentionné par Nikander dans le deuxième siècle avant JC, puis 250 ans plus tard par Dioscoride [80].

1.1.1.1.3. Phytochimie et pharmacologie

Un mélange complexe de métabolites secondaires bioactifs dans plusieurs espèces d'*Hypericum* les rend précieux comme des médicaments à base de plantes [81-83]. *Hypericum perforatum* (millepertuis commun St. John), certainement le représentant le plus abondant et le plus connu dans le monde entier, est aujourd'hui l'espèce la plus étudiée du genre [84].

1.1.1.2. *Hypericum perforatum* :

Tiges 10-110 cm, debout, parfois enracinement, 2 doublés, avec des branches croissant

Feuilles 5-35 mm, étroitement ovales ou lancéolées à elliptiques-oblongues ou linéaires, parfois oblancéolés, sessiles ou presque sessiles, avion, toujours gros points translucides.

Sépales lancéolées à oblong ou elliptique, aigu à acuminé ou Shortyaristate, entière, sans ou avec quelques points noirs superficiels. petals 8-15 mm, avec quelques points noirs marginaux et des stries noires parfois superficielles.

Capsule 5-9 mm, ovoïde à pyramidale, avec vittae dorsale et des vésicules latéraux.

Habitats secs dans les régions mésophytes, près de l'eau ailleurs, -2500m

[85].

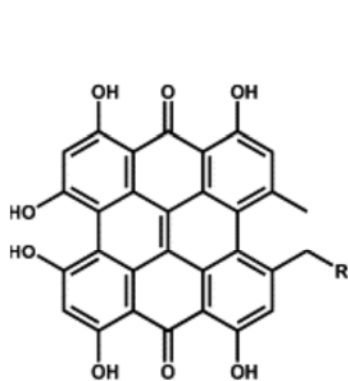
- Règne : Plantae -Sous-règne : Tracheobionta
- Division : Magnoliophyta
- Classe : Magnoliopsida -Sous-classe : Dilleniidae

- Ordre : Theales
- Famille : Clusiaceae
- Genre : *Hypericum*

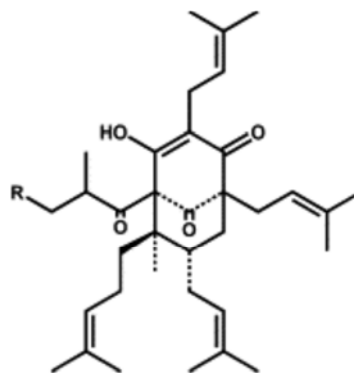
1.1.1.2.1. Identification chimique constituants de *H.perforatum* [86].

Tableau 3 : constituant majeurs de l'*H.perforatum*

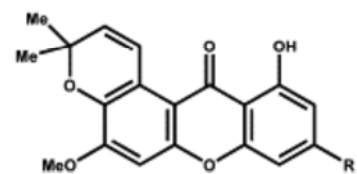
Naphtho-dianthrones	Flavonoids	Proanthocyanidins	Biflavones	Xanthones	Phlorolucinos	Aminoacide Derivatives
-Hypericin	Hyperoside	Catechin	13, 118-biapigenin	1, 3, 6,7-tetrahydroxy-xanthone	Hyerforin	GABA
-Pseudohypericin	Rutin	Epicatechin	amentoflavone		Adhyperforin	Melatonin
-Cyclopseudohypericin	Quercetin	Procyanidin B2				
-Isohypericin	Quercetrin					
-Protohypericin	Isoquercetrin					
	Campherol					
	Luteolin					
	Mangiferin					



Hypericin, R = H
Pseudohypericin, R = OH



Hyperforin, R = H
Adhyperforin, R = CH₃



Paxanthone, R = OH
3-Methoxypaxanthone, R = OMe

Figure 6: Structure composition de hypericin , hyperforin et paxantone compounds de *hypericum perforatum* [86].

1.1.1.3. *Hypericum thymbrifolium*

1.1.1.3.1. Description botanique :

Tiges 9-22 cm, dressée, glabre, parfois rouge glande pointillés. Les feuilles sur les tiges principales 7-13 mm, linéaire, révoluté, habituellement mucronat, papilleuses - pubérulent ou subglabre, cylindrique inflorescence ou étroitement pyramidal, beaucoup fleuri. Sépales ± étroitement oblongs à ovaies-lancéolées, aiguës, avec des glandes sessiles ou marge glandulaire-denticulate. Pétales 5-7 (-9) mm. Capsule 3-4,5 mm

Subglobose, steppe peu rostrate.FL.6.Calcareous,920-1500 m.

La classification botanique est identique à l'espèce précédente (H. perforatum)

Endémique; liée à H. pseudolaeve et H.lydium. IR-Tur.element.

1.1.2. *Boswellia* :

Boswellia (encens) est un modéré-à-grand arbre d'embranchement trouvé en l'Inde, l'Afrique nordique, et le moyen-Orient. Des bandes de l'écorce de *Boswellia* sont épluchées loin, rapportant une oléorésine gommeuse. Des extraits de cet exsudat gommeux ont été traditionnellement employés dans le système d'Ayurvédique de la médecine en tant qu'un antiarthritique, astringent, l'expectorant, et antiseptique

Le genre *Boswellia* regroupe une vingtaine d'espèces d'arbre ou d'arbustes de la famille de Burceraceae originaire d'Afrique ou d'Asie, produisant une résine aromatique. La résine de plusieurs espèces est exploitée sous le nom d'encens ou oliban [87].

1.1.2.1. Historique de la boswellie :

En Inde, en Chine et en Afrique du Nord, on emploie la résine de boswellie depuis des millénaires. Les Égyptiens s'en servaient notamment pour l'embaumement.

Traditionnellement, on faisait brûler la résine de diverses espèces de *Boswellia* durant les cérémonies religieuses. On dit que la fumée de ces résines induit un état propice à la méditation, à la prière et à l'expérience spirituelle. [87].

1.1.2.2. Description :

Les feuilles caduques des *Boswellia* sont alternes, composées et imparipennées. Les petites fleurs blanches, vertes, jaunes ou roses sont réunies en racèmes ou en panicules et comportent cinq pétales et un calice à cinq dents.



Figure 7: l'arbre à encens (Boswellie) [88]

1.1.2.3. Classification botanique

Noms communs : boswellie, boswellia, arbre à encens.

Nom botanique : *Boswellia sp.*

Famille : burséracées.

Noms anglais : *boswellia*, *frankincense*, *indian frankincense*.

Partie utilisée : la résine qui exsude du tronc, aussi appelée encens, encens d'Inde ou oliban.

Habitat et origine : grand arbre originaire de l'Inde et implanté également en Afrique du Nord et au Moyen-Orient.

a. Gout et Odeur

Gout de *Boswellia sp* amer, bonbon, Astringent, doux et effet digestif de poteau piquant.

L'odeur des espèces de *Boswellia sp* possèdent un arôme résineux balsamique et frais plaisant, doux et profond. Il est comparé avec les notes fruitées et de citron et la pomme verte et les notes d'épice [89].

b. Matière première

La substance utilisée est la résine de l'arbre *Boswellia Sp*. La résine est une substance pâteuse de couleur jaune translucide. Elle suinte de l'écorce de l'arbre. La résine est extraite de l'arbre par raclage d'une portion de l'écorce, de 15 à 20 cm de large. Chaque arbre donne environ 1 kg de résine par an. Par un procédé industriel d'extraction l'on obtient un extrait final représentant environ 12% du matériel initial. Le constituant majeur est l'acide boswellique, il représente 30% des acides boswelliques contenus dans l'extrait [90].



Figure 8 : la résine de *Boswellia Caarterii* [89]

1.1.2.4. Composition chimique de la résine boswellique

1.1.2.4.1. Les constituants

La résine de *Boswellia sp* se compose de trois parties différentes :

- L'huile essentielle
- Les terpénoides
- La gomme

a.L'huile essentielle

L'huile est de couleur jaune pâle et possède une odeur agréable [90]. L'huile représente 16% de la résine totale. Elle contient essentiellement des monoterpènes (13.1%), des sesquiterpènes (1%), et des diterpènes (42.5%) [91].

Des analyses chromatographiques ont révélé une douzaine de constituants différents dont les proportions sont variables en fonction de l'arbre source. Sur le plan biologique, elle semble avoir un effet immunostimulant en activant la prolifération lymphocytaire.

b. Les terpénoïdes

Ils sont extraits à partir de la fraction non-volatile de la résine par précipitation avec de l'hydroxyde de Baryum.

Les analyses de la fraction non volatile de la résine ont révélé la présence de 5 constituants essentiels [92] :

- les acides terpéniques

- les composés neutres: methylchavicol, α et β -amyrines, serratol, alcool diterpénique, phytostérol et β -sitostérol.

- les acides triterpéniques tetracycliques

- les acides triterpéniques pentacycliques dont l'acide boswellique qui est identifié comme étant les composés responsables de l'activité anti-inflammatoire et anti-arthritique de l'extrait de *Boswellia sp* [93].

c. La gomme

La gomme est composée d'eau, d'acides glucuroniques et de sucres: glucose, arabinose, rhamnose, galactose, fructose et idose [93].

d. Les acides boswelliques

Des acides boswelliques sont extraits à partir de la gomme-résine de *Boswellia sp*, le *Boswellia sp* se compose des 6 acides importants α - acide boswellique, acide β -boswellique, acide AKBA de β boswellique.

Dans le *Boswellia sp* conventionnel de ces acides de commandant AKBA est présent dans la gomme de 0.1 à 3% seulement. Les acides boswelliques présentent les propriétés anti-inflammatoires efficaces démontrées in vitro et in vivo. Les triterpènes en acide boswellique réduisent la synthèse des leukotriènes dans les neutrophiles intacts en empêchant la 5-

lipoxgénase, l'enzyme principale impliquée dans la biosynthèse des leukotriènes qui négocient la forme d'inflammation.

La résine contient à mélange des terpénoïdes composées de six acides pentacycliques de triterpène : acide β -boswellique (β BA, le plus abondant), l'acide 11-kéto- β -boswellique (KBA), l'acide 3-acétyl- β -boswellique (A β BA), l'acide 3-acétyl-11-kéto- β -boswellique (AKBA), l'acide α -boswellique (α BA) et l'acide 3-acétyl- α -boswellique (A α BA).

Les triterpénoïdes sont les constituants actifs et sont acides boswellique collectivement 43% acides boswellique [94].

d.1. Les acides triterpéniques pentacycliques

L'acide β -boswellique est le plus abondant des acides triterpéniques pentacycliques boswelliques présents dans l'extrait de *Boswellia sp.*

La figure 08 décrit les structures chimiques des 6 acides boswelliques triterpéniques pentacycliques les plus importants impliqués dans l'activité et le métabolisme de l'extrait de *Boswellia sp* (y compris β BA) [94].

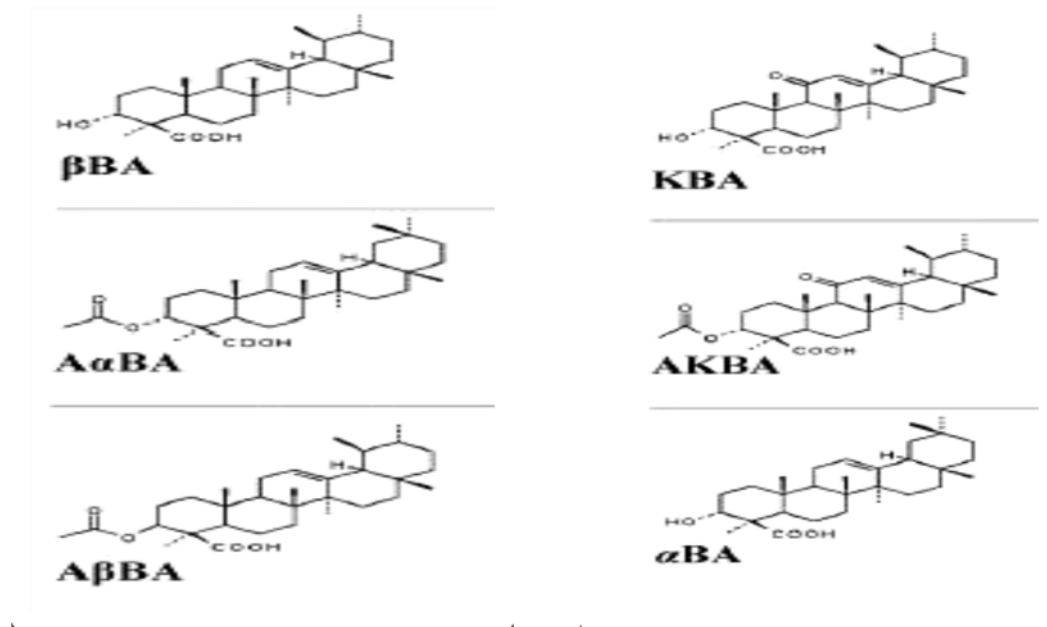


Figure 9 : structures chimiques des 6 principaux acides boswelliques triterpéniques pentacycliques [95]

d.2. Les acides triterpéniques tétracycliques (E, F, G et H) [96]

1.1.2.4.2. Extraction des acides boswelliques

Le procédé d'extraction des acides boswelliques commence par un dégraissage de la résine à température ambiante. Ce procédé permet d'éliminer 40% des graisses et des huiles essentielles.

L'extrait subit ensuite une lixiviation, une extraction sélective, un fractionnement puis une concentration sous vide qui donne une poudre de couleur crème. L'extrait final représente environ 12% du matériel initial.

Ce procédé d'extraction donne une mixture d'acides triterpéniques pentacycliques dérivés de l'acide boswellique [93].

1.1.2.4.3. Propriétés de la plante :

- ✓ Anti-inflammatoire de type non stéroïdien [97]
- ✓ Inhibition de la 5 -lipoxygénase [97]

Tableau 04: Principes actifs et Propriétés. [97]

Principes actifs :	Propriétés :
Acides tri terpéniques (acides boswelliques)	Anti -inflammatoires puissants, agissent sur la production d'anticorps et l'immunité à médiation cellulaire, immunomodulants, stimulation de la prolifération lymphocytaire, anti-élastases
Glycosaminoglycanes : 4-O- méthyl -glucuronoarabinogalactane	Lubrification, consolidation des articulations

Acide uronique, stérols, tanins	Elimination des molécules toxiques, anti-oxydant
---------------------------------	--

1.1.2.4.3.1. L'effet anti-inflammatoire

Une dose orale de 50 à 200 mg / kg d'un extrait alcoolique de *Boswellia serrata* administrée à des rats et souris produit une inhibition marquée de l'œdème de la patte induit par une injection de carraghénane [97].

De plus, les acides boswelliques s'opposeraient à l'adhérence des globules blancs aux sites où ils causent l'inflammation [97].

L'extrait alcoolique de *Boswellia serrata* a eu un effet inhibiteur évalué de 42 à 60% sur la perméabilité vasculaire induite par de l'acide acétique chez la souris [98].

Parmi les acides boswelliques présents dans l'extrait, ce sont l'acide 11-kéto- β -boswellique

(AKBA) et le 11-kéto- β -boswellique (KBA) qui montrent la plus forte activité [97].

On a récemment démontré que l'extrait de *Boswellia serrata* agissait positivement en réduisant de manière significative l'œdème cérébral péri-tumoral accompagnant les gliomes, à la dose maximale de 3 x 1200 mg. L'état clinique des patients s'est légèrement amélioré. [95], [99].

1.1.2.4.3.2. L'effet antiarthritique

Une administration orale de 50 à 200 mg/kg d'acides boswelliques donne une efficacité antiarthritique comparable à celle de la phénylbutazone. Les acides boswelliques inhibent significativement l'afflux de cellules sanguines inflammatoires dans l'articulation. Ils permettent également une diminution du taux de transaminases plasmatiques qui sont des marqueurs de l'inflammation [100].

1.1.2.4.3.3. L'effet antipyrétique

Il a été indiqué que de faibles doses d'extrait non phénolique d'oléorésine de *Boswellia sp* ne modifient pas la température rectale chez des rats, alors qu'une dose de 300 mg/kg provoque une baisse de 2°C en 30 minutes et de 2,5°C en 60 min, puis la température retrouve son niveau normal en 2 heures [101].

1.1.2.4.3.4. L'effet hépatoprotecteur

Traditionnellement, les extraits de *Boswellia sp* ont plutôt bonne réputation concernant l'incidence sur le foie.

Il était signalé que les acides boswelliques donnés à fortes doses pouvaient toutefois présenter des effets néfastes sur le foie.

L'extrait de *Boswellia sp* présente donc un bon effet hépatoprotecteur à faible dose (87,5mg / kg), appuyé par les modifications histologiques et biochimiques constatées [102].

1.1.2.4.3.5. L'effet hypolipémiant

Une étude montre que la fraction soluble de *B. sp* diminue le taux de cholestérol total de 38-48% et augmente le taux de HDL chez des rats nourris avec une nourriture athérogène, illustrant son potentiel hypolipidémique [103].

L'administration intragastrique d'extrait brut à la dose de 100 mg / kg P.V. à des coqs, des lapins et des rats nourris avec un régime riche en cholestérol réduit le taux de cholestérol sérique de 25 à 45 % ainsi que les taux de triglycérides [104].

1.1.2.4.3.6. L'effet anti-ulcérogène

Il a été démontré que face à plusieurs modèles expérimentaux de déclenchement d'ulcères gastriques ou duodénaux, les acides boswelliques ont une action anti-ulcérogène chez des rats, par un mécanisme sans doute multifocal qui pourrait agir en augmentant la résistance de la muqueuse gastrique et/ou en favorisant la synthèse de prostaglandines locales cytoprotectrices et/ou en inhibant la synthèse des leucotriènes [105].

1.1.2.4.3.7. L'effet anti-carcinogène

L'extrait alcoolique de *Boswellia sp* a montré une activité anti-carcinogène sur certains types de cancers chez la souris, a inhibé la croissance tumorale par action sur la prolifération et la croissance cellulaire. En application topique elle peut réduire le nombre de tumeurs provoquées expérimentalement.

Sur le gliome, elle a montré un pouvoir anti-œdémateux péri-tumoral et a inhibé la prolifération des cellules du gliome de manière dose-dépendante [99].

Elle pourrait aussi induire l'apoptose cellulaire [103] et des études récentes montrent que chez l'homme elle inhiberait les topoisomérases humaines I et II de certaines cellules malignes (enzymes clefs du contrôle et des modifications de l'ADN dans de nombreuses phases importantes de la réplication, de la transcription...), inhibant ainsi la croissance tumorale [106].

Les auteurs suggèrent que les triterpénoïdes pourraient contenir des anti-oxydants capables de protéger contre les agents mutagènes par des mécanismes variés mais encore hypothétiques tels qu'anti-oxydants, anti-radicaux libres (par capture), inhibition de l'effet genotoxique, de la prolifération cellulaire et/ou de la modulation du signal de transduction... [107].

1.1.2.4.3.8. L'effet antibactérien

La forte activité anti-inflammatoire des acides boswellique a été bien connue dans la dernière décennie. Mais il y eu peu de travaux effectués sur les différents effets pharmaceutiques d'oliban tel que les activités antibactériennes, antioxydantes, antivirales, etc. L'activité antibactérienne de différentes huiles essentielles de *Boswellia* contre des *candidats albicans* a été confirmée, de même pour les Streptocoques. Les différentes fractions préparées à partir de l'oliban (huile essentielle, fraction acides) a fournis un avantage pour le criblage des constituants des espèces de *Boswellia* [108].

1.1.2.4.3.9. Effet antioxydant

Lors de la photosynthèse, les plantes fabriquent des substances anti oxydantes pour se protéger des effets délétères des radiations solaires, par conséquent, des vitamines (C, E, caroténoïdes) et des enzymes (catalases, peroxydase) sont synthétisées, de plus, ces plantes élaborent des flavonoïdes qui préviennent l'oxydation, ces substances jouent deux rôles au niveau de la plante: celui d'un filtre solaire et celui d'un antioxydant vis-à-vis des radicaux libres produits par les radiations, tous ces antioxydants sont directement assimilables par notre organisme quand on consomme des végétaux ou de produits dérivés de ceux-ci, il existe une forte corrélation entre la consommation de légumes et de fruits et une moindre incidence des maladies cardio-vasculaires et les cancers. Les antioxydants végétaux ont des propriétés protectrices en matière de vaisseaux sanguins, leurs vertus anti-âge et

leur implications probables dans la prévention des pathologies liées au stress oxydatif, les potentiels antioxydants, comparés à celui de la vitamine E, les plus élevés pour les fruits et légumes sont respectivement ceux de la fraise et l'ail [108].

1.1.2.4.3.10. Autres effets

D'autres activités liées à l'extrait de *Boswellia serrata* ont été remarquées comme le pouvoir hypoglycémiant chez le rat, la baisse de la pression artérielle chez le chien, des effets antiasthmatiques, analgésique, anti-diarrhéiques, immunomodulateurs, une activité antifongique significative contre *C. albicans* et *C. tropicalis*... [103], [96].

1.1.2.4.4. Mode d'action du principe actif de la résine de *boswellia*

1.1.2.4.4.1. Action sur la lipo-oxygénase

Plusieurs études ont montré que les acides boswelliques inhibent de façon dose-dépendante la formation de leucotriènes à partir de l'acide arachidonique [109], [110].

Ces études indiquent que ces composés agissent directement sur la 5-lipo-oxygénase, prévenant ainsi spécifiquement la formation des leucotriènes.

L'inhibition de la lipo-oxygénase par plusieurs dérivés issus d'une mixture d'acides boswelliques a été étudiée. Les résultats ont montré que la meilleure inhibition est apportée par l'acide acétyl-11-kéto-boswellique [109].

1.1.2.4.4.2. Action sur la cyclo-oxygénase

Des expérimentations ont montré que ces acides boswelliques n'affectent pas le fonctionnement de la cyclo-oxygénase et ne modifient, par conséquent, pas la synthèse des prostaglandines [109].

Les études menées jusque récemment affirmaient que les acides contenus dans l'extrait de *Boswellia serrata* n'agissaient pas sur l'enzyme COX [111].

1.1.2.4.4.3. Action sur les élastases leucocytaires

Une étude menée sur des leucocytes humains mis en culture a montré que l'adjonction d'extrait de *Boswellia sp* inhibait la formation de leucotriènes ainsi que l'activité des élastases leucocytaires dans la culture cellulaire [112]. Ces élastases sont des enzymes proinflammatoires et leur inhibition pourrait bien contribuer à l'effet anti-inflammatoire des acides boswelliques.

1.1.2.4.4.4. Activité anti-complémentaire

Des études *in vitro* menées sur des érythrocytes de moutons montrent que les acides boswelliques peuvent inhiber l'effet destructeur du complément sur ces cellules. L'hémolyse provoquée par les anticorps anti-hématies de moutons, contenus dans le sérum de cochon d'Inde, est inhibée avec l'ajout de 100 µg d'acides boswelliques.

Cet effet semble être dû à une inhibition de la C3-convertase qui intervient dans la voie classique d'activation du complément [113].

1.1.2.4.5. Etude toxicologique

En cas de toxicité aiguë la dose toxique d'extrait de *Boswellia sp* a été évaluée chez la souris et le rat. La LD50 dans ces espèces est supérieure à 2 g / kg, par voie orale ou intra péritonéale [97].

Des études de la toxicité chronique menées chez le rat et les primates ont montré que l'administration d'acides boswelliques pendant 3 mois à 10 fois la dose recommandée ne montre aucun effet néfaste [94]. Une autre étude menée chez le rat montre qu'une administration de 1g/kg d'extrait de *Boswellia sp* pendant 4 mois n'entraîne aucune modification biochimique ni hématologique.

1.1.3. Quercus suber L

Le Q. suber est une espèce de climat tempéré. Pour prospérer, il a besoin d'une forte insolation, d'hivers doux, d'une humidité atmosphérique d'au moins 60% toute l'année et d'une pluviométrie comprise entre 500 et 1200 mm par an. De plus, le Q. suber préfère les sols siliceux et acides aux sols calcaires, il est calcifuge. Grâce à son système racinaire pivotant performant, le Q. suber peut pousser sur des sols peu fertiles, superficiels ou fortement argileux mais il affectionne les sols légers et riches en matière organique [114].

1.1.3.1. Biotope et répartition

Le chêne-liège est circonscrit à la région de la méditerranée occidentale et déborde le long du sud de la façade atlantique, où les influences de la mer et de l'océan permettent de tempérer la grande amplitude des oscillations thermiques et l'aridité de la saison d'été du climat méditerranéen au sens strict [114]. Le chêne-liège est une essence endémique de la méditerranée occidentale débordant sur les côtes atlantiques [115,116].

1.1.3.2. Systématique *Quercus suber* L

Quercus suber est connu dans le monde par plusieurs noms vernaculaires figure 7 et tableau 3.



Figure 10 : Arbre de *Quercus suber* L. et caractéristiques des feuilles et des fruits

[117]

Tableau 5 : Noms vernaculaires de *Quercus suber* .

Fra	Chêne liège, Corcier, Surier, Suve
Eng	Cork Oak, Cork Tree, Cork-oak
Ara	بلوط الفليني او السنديان الفليني

Selon la classification de Quezel et senta 1962 :

Embranchement : Spermaphytes.

Sous embranchement : Angiospermes.

Classe : Eudicots Ordre : Rosidées

Famille : Fagacées

Genre : Quercus

Espèce : Quercus suber L [118]

1.1.3.3. Description botanique

Le chêne-liège est un arbre de grandeur moyenne, atteignant une hauteur de 10 à 15 mètres (parfois 20 mètres et plus) et une circonférence de 5 mètres. En peuplement mélangé, Il se trouve essentiellement associé au chêne vert, au chêne pédonculé et au pin maritime dans le cadre d'une futaie irrégulière ou d'un taillis sous futaie [118].

Le chêne liège est un arbre de taille moyenne, ne dépassant guère les 13 m. Il peut atteindre de 10 à 12 m de hauteur en France et de 15 à 20 m en Afrique du Nord et au Portugal [119].

- **Le tronc** est court et le houppier est étalé dans les peuplements denses et sa circonférence atteint en général 70 cm entre 30 et 40 ans selon les conditions de végétation [120,121].
- **Les feuilles** sont plus polymorphes coriaces et arrondies, plus ou moins dentées ; elles sont d'un vert brillant au-dessus et pubescentes sur la face inférieure. Elles sont renouvelées au printemps figure10 [122].



Figure11 : représente les feuilles de *Quercus suber* [119].

Les feuilles, petites (de 3 à 5 cm), alternes, coriaces, ovales-oblongues, sont bordées de dents épineuses et cotonneuses sur leur face inférieure, et persistent sur l'arbre pendant

deux à trois ans. Les fleurs jaunâtres s'épanouissent vers avril-mai, les fleurs mâles, en chatons, et femelles, minuscules, sont séparées sur le même pied. Les glands oblongs, enveloppés sur la moitié de leur longueur par les cupules, sont réunis par deux sur des pédoncules courts et renflés. L'écorce épaisse, isolante et crevassée peut atteindre 25 cm d'épaisseur.

- **Les fleurs** mâles pendent en chatons à l'extrémité des rameaux de l'année [123]. Les fleurs femelles sont souvent solitaires ou groupées par trois, s'insérant à l'aisselle du rameau de l'année. La floraison principale se déroule en printemps figure 11.



Figure 12 : les fleurs de *Quercus suber* [117]

- **Les glands** sont des tailles variables, allongés à point courte et velue. L'arbre fructifie à partir de 15 à 20 ans et se poursuit parfois jusqu'à un âge avancé, au-delà de 100 ans figure 12 [124,125].



Figure 13 : Les glands oblongs, enveloppés sur la moitié de leur longueur par les cupules, sont réunis par deux sur des pédoncules courts et renflés. [124, 125].

1.1.3.4. Composition chimique

La composition chimique du liège de *Quercus suber* L. a été déterminée pour le liège vierge et pour liège de reproduction. Composition chimique moyenne de liège mâle est : extractibles totales de 15,3%, 38,6% subérine, lignine 21,7% et 18,2% des polysaccharides. La composition d'hydrate de carbone montre que le glucose représente 50,6% de tous les monosaccharides, xylose 35,0%, l'arabinose et le galactose 7,0% et le mannose, respectivement, 3,6% et 3,4%. Liège de reproduction a une composition similaire à liège vierge. Pour les cas étudiés, liège de reproduction avait pourtant moins extractives et un montant plus élevé de la subérine. Des différences significatives ont été trouvées pour la composition chimique du liège mâle par rapport à l'emplacement des industries extractives et le contenu de polysaccharide. La variabilité entre-arbre était grande et une variation dans l'arbre a également été enregistrée [126].

1.1.3.5. Domaines d'application et intérêts

1.1.3.5.1. Usage Interne

En usage interne, le Chêne peut être utilisé pour traiter les hémorroïdes, les leucorrhées, les hémorragies, les hémoptysies, les diarrhées tenaces, les selles sanglantes, les

gastralgies persistantes, la paresse digestive, la dysenterie, et l'incontinence urinaire. Il sert aussi comme traitement d'appoint de la tuberculose [126]

1.1.3.5.2. Usage Externe

En usage externe, le Chêne peut être utilisé pour soigner les angines, les stomatites, les pharyngites, les ulcères atones, les engelures, les dermatoses, la transpiration des pieds, les fistules anales, les métrites et la blennorragie [127].

1.1.4. Etude de la Sauge (*Salvia officinalis*)

1.1.4.1. Classification botanique

La classification botanique de *Salvia officinalis* [128] est présenté dans le tableau 1.

Tableau 6 : classification botanique de *Salvia officinalis* [128].

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Magnoliophytes
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Salvia</i>
Espèce	<i>Salvia officinalis</i>

1.1.4.2. Description Botanique

1.1.4.2.1. Famille des Lamiacées

La famille des Lamiacées (labiées) comprend près de 200 genres et 4000 espèces, dont la plupart ont une importance économique due à leur production d'huiles essentielles. Des études biologiques d'huiles essentielles des espèces *Salvia spp* ont montré des activités antimicrobiennes, anti-inflammatoires, en plus de leurs utilisations en cosmétique et agroalimentaire. Un très grand nombre de genres de la famille des Lamiaceae sont des sources riches en terpénoides, flavonoides et iridiodes glycosylés [129].

Le genre *Salvia* (sauge) contient près de 900 espèces majoritairement riches en diterpénoides [130,131,132].

1.1.4.2.2. Espèce *Salvia officinalis*

Salvia officinalis est un sous arbrisseau de la région méditerranéenne, souvent cultivé dans les jardins [133]. Il possède de nombreuses tiges quadrangulaires ligneuses, velues, qui mesurent de 50 à 100 cm, recouvertes de feuilles vertes, finement crénelées, qui persistent en hiver grâce à leur revêtement de poils laineux. Les fleurs sont assez grandes, avec une longue corolle de 2 à 3 cm dont la lèvre supérieure est presque droite, d'un bleu violacé nuancé de rose, groupées en épis terminaux, comportant un calice campanulé et bilabié. L'androcée est réduit à deux étamines, son fruit est en forme de tétrakène ovoïde [134,135]. Elle pousse sur les terres chaudes des collines rocailleuses et calcaires, d'une façon spontanée sur des terres arides aux sols bien drainés des régions méridionales ensoleillées, et elle résiste à la sécheresse [136,137].

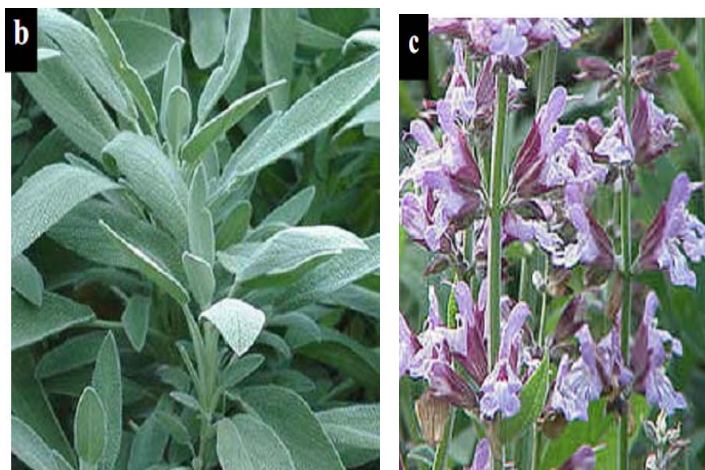


Figure 14 : Photographies de *Salvia officinalis* L. [138].

1.1.4.2.3. Noms vernaculaires

Français: Grande sauge, thé d'Europe, herbe sacrée [139].

Anglais: Sage, great sage, garden sage [139].

Arabe: Souak en nebi, salmia et maramia [140].

Berbère : Tazourt [141]

1.1.4.2.4. Distribution

La sauge officinale, d'origine méditerranéenne, est très abondante dans les montagnes dalmates et macédoniennes. Elle pousse sur les terres chaudes des collines rocailleuses et calcaires, d'une façon spontanée sur des terres arides aux sols bien drainés des régions méridionales tempérées et ensoleillées, et elle résiste à la sécheresse [142].

En Provence, il est possible de récolter la sauge toute l'année, elle est souvent cultivée dans les jardins comme une plante médicinale et condimentaire [133,140].

1.1.4.3. Composition chimique

1.1.4.3.1. Huile essentielle

L'analyse des extraits de *Salvia officinalis* a montré que cette espèce contient environ 1.0 à 2.8 % d'huile essentielle [143,144]. Les principaux constituants identifiés dans cette huile, par la GC-MS, sont illustrés dans le tableau :

Tableau 7 : Composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* [145].

Constituant	Quantité (%)	Constituant	Quantité (%)
α -thuyène	0,10	α -thuyone	24,88
α -pinène	3,5	β -thuyone	8,08
camphène	3,14	camphre	16,03
2- β -pinène	0,58	1-bornéole	4,31
β -myrcène	0,59	1,4-terpeniole	0,81
α -terpinène	0,89	Acetate	2,68
1,8-cinéole	9,79	d'endobornyl	0,82
γ -terpinène	0,15	Caryophyllène	3,9
veridiflorol	7,87	β -selinène	3,22
		manool	

1.1.4.3.2. Composés phénoliques

Tableau 8 : Principales classes de composés phénoliques identifiées dans les feuilles de *Salvia officinalis* [145] .

Classe	Composé
Acides Phénoliques	Acide gallique, Acide 3-0-caffeoylquinique, Acide 5-0-caffeoylquinique, Acide caféique, Acide rosmarinique, Acide salvianolique et dérivée, Melitrate A méthyl saugecoumarine, Acide saugerinique, Tanshinone II A,Acide lithospermique, Acide yunnanéiques, Acide A melitrique, Acide royleanonique et Acide oléanolique.
Diterpènes Phénoliques	Acide carnosolique, Rosmadials, Carnosote de méthyl,Carnosol, Epirosmanol, Epiisorosmanol methyl ether et Epiisorosmanol ethyl ether.
Flavonoïdes et dérivés	Hesperidine, Apigénine, Hispiduline, Cirsimaritine,Genkwanine, Lutéoline et Luteoline 7-glucoside.
Tannins	Catéchine et Salviatannins.

1.1.4.3.3. Polysaccharides et autres constituants

L'analyse de la partie aérienne de *Salvia officinalis*, par le spectre FT-IR, a décelé des bandes caractérisant la composition de la plante en polysaccharides, en protéines et en lipides [146,147].

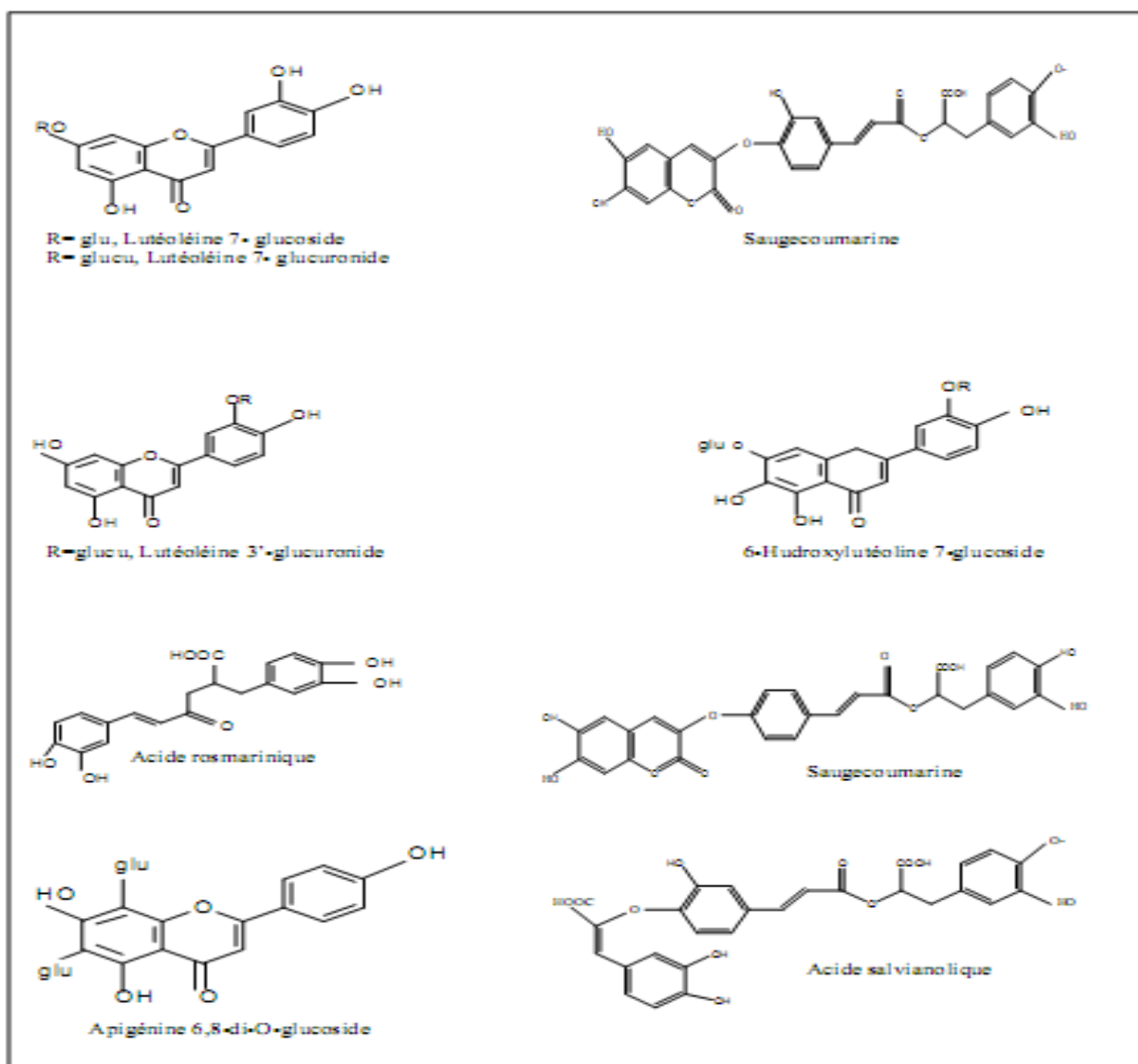


Figure 15 : Structures chimiques de quelques composés identifiés dans les feuilles de *Salvia officinalis* [148,149,150].

1.1.4.3.4. Quelques propriétés thérapeutiques

Les feuilles de la sauge sont communément très connues, non seulement comme herbe condimentaire, mais aussi elles possèdent de nombreuses propriétés très exploitées en médecine [151,152,153].

1.1.4.3.4.1. Activité antioxydante

Les effets antioxydants de la sauge, ont été attribués essentiellement à l'acide rosmarinique et l'acide carnosolique [154,155]. Cette activité est très appréciée comparée aux plantes ayant un fort pouvoir antioxydant telles que *Ginkgo biloba* et *Panax ginseng* [156].

1.1.4.3.4.2. Activité antimicrobienne

Une étude [145] a révélé des vertus bactéricides de *Salvia officinalis*, qui sont liées à la présence d'un acide diterpénique ; la salvine et son ester monométhyle. Cette activité a été confirmée par des tests microbiologiques sur des germes pathogènes tels que *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Salmonella enteridis* [157, 143]. Une activité antifongique est montrée contre *Aspergillus niger* [158, 159].

1.1.4.3.4.3. Autres utilisations

- La sauge, *salvia officinalis*, connue depuis des siècles pour ses propriétés stimulantes, Antispasmodique, diurétique, cholérétique, antiseptique, vermifuge, la sauge jouit d'une réputation universelle qui en fait une véritable panacée
- Les feuilles ont une odeur agréable qu'ont suscitée son utilisation culinaire, son usage stimule l'appétit et améliore dyspepsies et atonies gastro-intestinales.
- La sauge possède aussi un effet hypoglycémiant, emménagogue, cholagogue, vulnéraire et antiseptique. Cette dernière propriété est recherchée pour traiter les infections de la cavité buccale et lutter contre les hémorragies digestives. Attention son essence contient de la thuyone, cétone toxique également présente dans l'absinthe [160]
- Des examens histologiques sur les rats ont révélé la disparition de nécrose hépatique et l'infiltration des cellules inflammatoires après avoir traité ces animaux avec l'infusion aqueuse de *Salvia officinalis* [161,162].
- *Salvia officinalis*, est utilisée pour le traitement de la maladie d'Alzheimer ; elle augmente la disponibilité synaptique de l'acétylcholine, par inhibition de l'acétylcholine estérase, de ce fait, la sauge aide à améliorer les fonctions cognitives, chez les patients souffrant de cette maladie [151, 156].

PARTIE PRATIQUE

Introduction

Plusieurs études ont montré que le stress oxydatif peut être l'origine de certaines maladies neurodégénératives y compris la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, et d'autres désordres neurologiques. Les antioxydants captent et neutralisent les radicaux libres qui attaquent et abiment nos cellules par plusieurs mécanismes. Les plantes choisies dans notre expérimentation sont des plantes ayant un fort potentiel antioxydant grâce à leurs compositions riches.

Le choix des plantes de notre étude était basé sur les connaissances d'usage en médecine traditionnelle de deux pays (l'Algérie et la Turquie).

Les plantes sélectionnées pour cette étude sont :

- la plante *Hypericum* (02 espèces) : *thymifolium* et *perforatum* : provenant de la Turquie ;
laboratoire de pharmacognosie faculté de Pharmacie université d'Istanbul

Et trois autres plantes de provenance locale: La résine de *Boswellia carterii*, collectée de la région d'Adrar. Les feuilles de *Quercus suber*, de la région de Chréa (Blida)

Les feuilles de *Salvia officinalis*, de la région d'Oum Edrou (Chlef).

L'expérimentation animale a été basée sur le modèle le plus proche à l'être humain en fonctionnement neurologique et hépatique : les souris de souche (NMRI, Swiss), provenant de l'institut Pasteur d'Alger ont été exploitées dans notre expérimentation

Les paramètres ciblés dans l'étude de ces plantes étaient en générale basés sur l'activité antioxydante *in vitro* traduite par des effets stressants *in vivo* (maladie d'Alzheimer, neurotoxicité, maladie de Parkinson et le stress oxydatif *in vivo*).

L'étude *in vitro* a été réalisée au laboratoire de ressource végétale à l'université de Chlef, au laboratoire de pharmacognosie de l'université de Gazi et laboratoire de pharmacognosie de l'université d'Ankara. L'étude *in vivo* a été réalisée au laboratoire de pharmacognosie et Apiphytothérapie de l'université de Mostaganem, et une partie au laboratoire de Biologie animale de l'université de Chlef.

CHAP I : HYPERICUM



Hypericum (H.Thymifolium et H.perforatum)

I.1. Matériel et méthodes

I.1.1. L'étude *in vitro*

La partie aérienne floraison de l'*Hypericum Thymbrifolium* a été recueillie de l'est de l'Anatolie, connu par Malatya en 2012. Les spécimens ont été identifiés et des quittances ont été déposées dans l'herbier de l'Université d'Istanbul, Faculté de Pharmacie (ISTE) sous le numéro de code de l'ISTE 93194.

L'extrait de l'espèce de l'*Hypericum perforatum* provenant de la Faculté de Pharmacie, département de pharmacognosie Université d'Istanbul-Turquie. Les parties aériennes fleuries de la plante ont été recueillies de l'est de Anatolia,-Erzincan- (978m), en 2012. Les espèces ont été identifiées au niveau de l'herbier de l'Université d'Istanbul, Faculté de Pharmacie(ISTE), sous le numéro de code de l'ISTE 93197. Figure 16



Figure 16: photo de deux espèces de l'*Hypericum* prise de l'herbier (Flora of Turkey)

I.1.1.1. Extraction:

Le matériel végétal (plante) séché et raffiné en poudre (10 g), extraites par la suite à température ambiante avec 100 ml de l'éthanol (96%) par macération (3 x 24 h) et cette

opération a été répétée deux fois. L'extrait a été filtré et séché sous pression réduite à une température inférieure à 45 ° C. L'extrait d'éthanol brut à (1/3) est lyophilisé et stocké à (-20°C).

L'extrait éthanolique obtenue à partir des parties aériennes de *Hypericum thymbrifolium*: 8,13% en poids / poids. [163]



Figure 17 : photographies des deux extraits

I.1.1.2-Etude de la composition chimique :

Chromatographie liquide haute performance (HPLC/DAD-UV)

Les analyses HPLC/UV(DAD) ont été effectuées à l'aide d'une chaîne HPLC Agilent

Technologies 1200 Series munie d'une pompe binaire et d'un détecteur UV à barrettes de diodes (DAD-UV). Les analyses ont été réalisées en phase inverse avec une colonne HPLC de type Eclipse XDB-C18 (150mm× 4.6mm, 5 µm). Les solvants utilisés sont de qualité HPLC et le débit est fixé à 1 ml/min. Une phase mobile composée de deux éluants (acétonitrile et l'acide formique 40 Mm) a été utilisée pour la séparation avec gradient d'élution de débit de 1mL/min. tous les solvants ont été filtrés à travers un filtre Millipore de 0,45 µm. Avant l'utilisation, la longueur d'onde de détection a été fixée à 254nm pour la rutine et 330nm pour la vitexine. Le solvant d'injection est de composition identique à celui du solvant initial de l'analyse et le volume d'injection fixé à 20 µL. Les solutions standard de rutine (1-100 µg/mL) et vitexine (1-100 µg/mL) dont les standards ont été achetés de Sigma-Aldrich (Allemagne) et préparés dans le méthanol. Cinq niveaux de concentration différents la rutine et vitexine ont été soumis à une analyse de régression pour calculer l'équation d'étalonnage et

de corrélation. Chaque injection a été réalisée en triple pour voir la reproductibilité de la réponse du détecteur à chaque concentration. L'identification de la rutine et vitexine a été faite par comparaison de leur temps de rétention avec celui des étalons purs par rayons ultraviolets (UV). Tous les calculs concernant l'analyse quantitative ont été effectués avec étalonnage externe par la mesure du pic.

I.1.1.3-Evaluation de l'activité antioxydant

I.1.1.3.1- Test de DPPH :

L'activité anti radicalaire de l'extrait de la plante étudiée a été évaluée par la mesure de piégeage du DPPH (1,1-Di-phenyl -2-picryl-hydrazyl) comme un radical libre relativement stable, selon le protocole décrit par Fernandez et al. (2011). [164]

Dans ce test, les antioxydants réduisent le DPPH ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphenyl picryl hydrazine, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité réductrice des antioxydants présents dans le milieu [165]

La solution de DPPH est obtenue en dissolvant 0.004g de la poudre dans 100 ml de méthanol (MeOH). Un millilitre (1 ml) de cette solution est ajouté à 2,5 ml de l'extrait en solution dans du méthanol à différentes concentration. Après agitation, les tubes sont placés à l'obscurité, à la température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm par un spectrophotomètre.

Pour chaque dilution, on prépare un blanc .Le contrôle négatif est composé de 1 ml de la solution DPPH et de 2,5 ml de méthanol .Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que l'échantillon test.

L'activité antioxydante, qui exprime la capacité de piéger le radical libre est estimée par le pourcentage de décoloration du DPPH selon l'équation :

$$AA(\%) = [(Abs_{contrôle} - Abs_{échantillon}) / Abs_{contrôle}] \times 100$$

Où : AA(%) : l'activité antioxydante DPPH.

Abs : l'absorbance à la longueur d'onde 517 nm.

I.1.1.3.2. Peroxydation des lipides :

L'activité anti-oxydante par peroxydation des liposomes a été basée sur la méthode décrite par Duh et al., (1999) [166] . La lécithine à (300 mg) a été mis en suspension dans 30 ml/ L de tampon de phosphate à 10 m.moles (pH 7,4). Cette suspension a ensuite été soniquée avec une tige à ultrasons en utilisant un homogénéisateur (BANDELIN, Berlin, Allemagne) à des intervalles de 30s pendant 10 min jusqu'à ce qu'une suspension opalescente ait été obtenue.

La solution soniquées : (10 mg / ml) de FeCl₃, (0,125 à 5 mg / ml) d'acide ascorbique et (0,016 à 2,5 mg / ml) de la solution aqueuse des extraits ou (0,004 à 0,0625 mg / ml) de l'antioxydant de référence, dans cet étude le butyl-hydroxy toluène BHT) étaient mélangés pour produire une concentration finale de 3,08 mg/ ml en liposome ; en addition de 123,2 µmol / L de FeCl₃ et 123,2µmol / L d'acide ascorbique. Après 1 h d'incubation à 37 ° C, la formation de produits de la peroxydation des lipides a été dosée par la mesure des niveaux de malondialdéhyde (MDA) avec l'acide thiobarbiturique à 532 nm selon Buege et Aust (1978) [167]. En bref, 500 µl de ce mélange réactionnel a été mélangé avec 1000µl de réactif TCA TBA (composé de 15% p / v et 0,375% de TCA TBA dans HCl 0,25) et 14 µl butylatedhydroxytoluene (2% dans l'alcool absolu). Le mélange a été agité par tourbillonnement et chauffé pendant 20 min dans un bain marie. Après refroidissement, un volume égal de n-butanol a été ajouté et le mélange a été secoué énergiquement. La couche de n-butanol a été séparé par centrifugation à 3 000 t/mn pendant 10 min. L'absorbance de l'échantillon a été lue à 532 nm. Le pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique a été calculé en comparant les résultats étaient calculé par l'équation suivante:

Effet d'inhibition (en%) = (1- L'absorbance de l'échantillon à 532 nm / Absorbance de contrôle à 532 nm) x 100.

I.1.1.3.3. Réduction du fer FRAP

La méthode de pouvoir antioxydant de réduction ferrique FRAP (Ferric reducing antioxydant power) est basée sur la réduction des complexes de Ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ qui est presque incolore, et éventuellement légèrement jaunâtre. Ce produit chimique forme des

complexes ferreux verts après sa réduction. La méthode se résume en mélange des extraits/la référence qui est la quercitine (10µl) avec 25µl de $K_3Fe(CN)_6$ avec un tampon de phosphate de potassium (25µl). Cette réaction nécessite 30mn et la lecture a été faite à $\lambda = 700$ nm

I.1.1.4. Evaluation de la cytotoxicité in vitro :

Le bromure de 3- [4,5-diméthylthiazol-2-yl] -2,5-diphényl-tétrazolium MTT est une eau colorée jaune de sel de tétrazolium soluble. Une enzyme mitochondriale dans les cellules, succinate dehydrogenase, clive le noyau tétrazolium vivant, la conversion du MTT en formazan pourpre est le produit insoluble qui a été identifié par spectrophotométrie à 570 nm sur la base de l'absorbance linéaire au nombre de cellules vivantes en culture.

La lignée cellulaire de rein de rat NRK-52E (NRK-52E) a été obtenue de l'American Type de Culture Cellulaire (ATCC, USA). HeLa ligne (épithélioïde de col humain) des cellules cancéreuses a été fournie par le Département de Génétique, Université d'Istanbul, Turquie. Les cellules ont été cultivées dans un milieu Eagle modifié de Dulbecco (DMEM) / F12 supplémenté avec 10% de sérum de fœtus bovin (FBS) inactivé à la chaleur et 1% de streptomycine et de la pénicilline à 37 ° C et 5% de CO₂ dans un incubateur de cellules humidifiée. Le milieu de culture a été changé tous les 2 jours. Les cellules cultivées en monocouche à 75-85% de confluence ont été détachées avec de l'acide éthylènediaminetétratripsine pour rendre les suspensions de cellules isolées et les cellules viables ont été déterminées en utilisant le test d'exclusion du bleu trypan et on les dilue avec un milieu pour donner une densité finale de 105 cellules / ml. La plage de nombre de passages pour les deux lignées de cellules a été maintenue entre 20 et 25.

100 ul de suspension cellulaire par puits ont étéensemencées dans des plaques à 96 puits à une densité de placage de 105 cellules / puits et mis en incubation pour permettre la fixation des cellules à 37 ° C, 5% CO₂, 95% de O₂ et 85% d'humidité relative pendant 24 heures. Après 24 h, les cellules ont d'abord été dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) et dilués en outre un milieu exempt de sérum pour produire différentes concentrations. 10 pi de chaque concentration par puits a été ajouté à plaques pour obtenir des concentrations finales des extraits. Le volume final dans chaque puits était de 200 ul et les plaques ont été incubées aux mêmes conditions pendant 24 heures.

Lors du contrôle de la viabilité cellulaire, nous avons constaté qu'il n'y avait pas de différence dans la cellule comptées. Pour chaque composé, 4 concentrations ont été testées en triple et chaque test a été répété une fois. Au bout de 24 h, les cellules dans chaque puits ont été quantifiées par un test MTT.

La viabilité des cellules en pourcentage a été calculée par rapport au solvant de contrôle comme suit [168,169]

% Viabilité cellulaire = Abs Composés / Abs contrôle (Solvant) x 100

IC50 (concentration d'inhibition) valeurs ont été définies comme étant les concentrations des composés nécessaires pour réduire l'absorption de 50% des valeurs témoins.

I.1.2. Etude *in vivo* :

I.1.2.1. Matériel animal :

Un effectif de 25 souris adultes de poids moyenne de 36 g, issus de l'institut Pasteur d'Alger. Élevés à l'animalerie du laboratoire de Pharmacognosie et Api-Phytothérapie de l'université de Mostaganem, ils ont été installés dans des cages en plastique transparentes de dimension (55cm X 33cm X 19 cm) aux conditions de température 25±5 °C, et de cycle nyctéméral 12h/12h, une ration alimentaire journalière de 12g/jour/chaque souris avec accès libre à l'eau.

I.1.2.2. Répartition des lots:

Lot 1 : représente le lot témoin (n=5) ne reçoit aucun traitement.

Lot 2 : représente le model intoxiquées (n=5) exposées au chlorure d'aluminium (AlCl₃) à raison de (100 mg/kg) administrée par voie orale durant 12 semaines.

Lot 3 : représente le model Alzheimer provoqué par une administration orale de chlorure d'aluminium (AlCl₃) (n=5) à raison de (10mg/kg) administrée par voie orale et injection intra péritonéale (IP) de D-galactose de 0,1ml une fois par jour pendant 90 jours à une dose de 120mg/kg.

Lot 4 : model Alzheimer traité reçu le chlorure d'aluminium oral $AlCl_3$ à raison de (10mg/kg) administrée par voie orale et injection intra péritonéale de 0.1 ml (IP) une fois par jour pendant 45 jours à une dose de 120 mg/kg et après traité par *Hypericum thymbrifolium* à raison de 200mg/kg du poids corporel sous forme de solution par voie orale..

L'étude a été effectuée pendant une période de (12 semaines).

I.1.2.3. Les paramètres étudiés

I.1.2.3.1. Activité locomotrice :

Une plaque numérotée a été employée pour mesurer chaque déplacement des souris soit horizontal ou vertical est considéré comme un score.

Ce teste a été exécutés dans une cage de 32X32 cm² divisée 16 cases identique numérotée de 1 à 16, les souris sont inclus dans la cage, dont le nombre de cases visitées a été raccordé pour chaque souris durant une période de 20 minutes en quatre phases, 5min de chacune.

L'expérience doit être effectuée en silence et il est préférable de laisser un temps de repos entre les quatre phases de test et cela à fin de permettre à la souris d'explorer son nouvel environnement et d'éviter toute source de stress qui pourrait fausser les résultats. Figure 18



Figure 18: Cage numéroté pour le test de l'activité locomotrice

I.1.2.3.2. Curiosité (essai de trous)

Le test de la planche à trous a été conçu pour étudier le comportement de la souris confrontée à un nouvel environnement.

Dans l'essai de Trou décrit par Boissier et Simon, 1962, [170] a pour but d'évaluer l'effet d'une intoxication et/ou un traitement sur le comportement d'exploration manifesté par la souris.

La plaque en bois (60×45 cm), est de 50 centimètres au-dessus de la terre, parsemée 14 trous, d'un diamètre de 2 cm, espacé de 5 cm entre eux.

Le nombre de l'immersion principale des souris a été compté pendant 3phases ou répétition, 5mn chacune. Figure 19



Figure 19 : dispositif pour le test de trous.

I .1.2.3.3.Etude portant sur l'anxiété :

Deux épreuves qui sont complémentaires l'une de l'autre sont pratiquées :

- L'épreuve du double compartiment noir/blanc.
- L'épreuve du labyrinthe en croix surélevé.

I .1.2.3.3.1. Test de compartiment noir/blanc.

Comme décrit Costall et al, 1989 [171] .Ce test permet une évaluation simple et rapide de l'anxiété comportementale. Il consiste de déterminer le temps de séjour dans les deux compartiments.

Le test est composé de deux compartiments (50 x 40 x 20 centimètres). L'un éclairé et l'autre obscure, et un espace a relié les deux. Pendant l'observation, l'expérimentateur s'est assis toujours au même endroit.

Des souris ont été placées dans l'un des compartiments pour commencer la session d'essai.

Le temps de séjour dans les compartiments a été calculé pendant 4phases de 5 minutes. Figure

20



Figure 20 : Dispositif pour le test des deux compartiments noir/blanc.

I .1.2.3.3.2. L'épreuve du labyrinthe en croix surélevé.

Le labyrinthe est habituellement construit en forme en croix, avec deux bras ouverts et deux bras protégés, le tout est surélevé au-dessus du sol.

Le Labyrinthe en croix surélevé est couramment utilisé pour l'étude des comportements liés à l'anxiété chez les rongeurs (rats/souris).

Les fermés représente la sécurité alors que les bras ouvert offrent une valeur exploratoire un animal anxieux aura naturellement tendance à préférer les espaces clos et sombres aux espaces ouverts et éclairés. Figure 21

Partant de ce principe l'anxiété comportementale, est mesuré par le degré d'évitement des espaces ouverts du labyrinthe pendant 4phases de 5min chacune. [172]



Figure 21 : Dispositif utilisé pour le test de croix.

I.2.3.3.3. Test de Persolt

Le test de Persolt [173] ou de la nage forcée est un test de désespoir consiste à maintenir les souris dans un bain d'eau tiède 21°C de hauteur de 16cm où la souris nage pour maintenir sa tête hors de l'eau puis s'immobilise par désespoir.

Le but de ce test c'est de calculer le temps d'immobilité pour chaque souris pendant 5 min.

Figure 22



Figure 22: Cage remplie d'eau utilisée pour le test de Persolt

I.1.2.3.4. Tests de mémoire :

I.1.2.3.4.1. Le labyrinthe à 8 bras

- "Le labyrinthe radial à huit bras", proposé par Wan et al 1997 [174] est un de plus intensivement utilisé dans les laboratoires comportementaux, principalement en raison de la flexibilité de sa structure, permettant l'essai de la mémoire spatiale et non-spatiale de sélection liées avec les éléments de motivation.

A. Mémoire spatiale de travail :

Cette épreuve a été mise au point en 1981 par David Olton [175]

Dans cette version, la nourriture est déposée aux extrémités d'un bras des huit. La souris est ensuite placée sur la plateforme centrale avec un accès libre vers tous les couloirs.

La souris doit chercher la nourriture au fond de chaque couloir, une erreur est enregistrée si la souris visite deux fois le même couloir. Le nombre de bras répété et non répété pour chaque souris est comptabilisé pendant une période 5 jours 5 minutes par séance. Figure 23



Figure 23: Photo de labyrinthe à 08 bras.

B. Mémoire spatiale de préférence conditionnée :

Au cours de cette expérimentation, seulement deux bras du labyrinthe sont utilisés. Un bras éclairé avec un morceau de nourriture à son extrémité, l'autre bras est non éclairé.

Le sujet est ainsi déposé sur la plateforme centrale avec les deux bras fermés, puis les deux bras sont ouverts successivement pour qu'il puisse s'adapter à son nouvel environnement.

La souris est ensuite, remise dans le centre du labyrinthe et les deux bras sont ouverts simultanément, et c'est à ce moment-là que le test commence. Ainsi le temps de séjour dans le bras éclairé est mesuré pendant une période de 5 minutes/jour (essai) pendant 5 jours. Figure 24

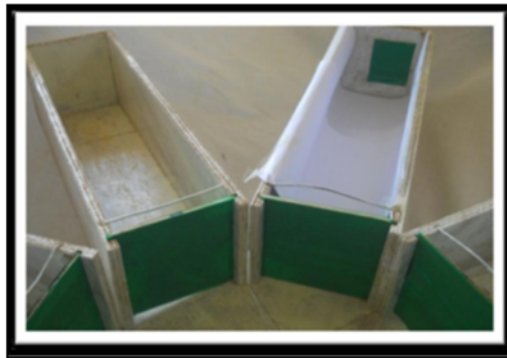


Figure 24: Photo de 02 bras de labyrinthe utilisés

C. Distinction de position :

Dans ce test six bras du labyrinthe sont utilisés.

La souris est déposée sur la plateforme centrale et les six bras sont ouverts l'un après l'autre trois avec nourriture et les autres sans nourriture. Après cette adaptation de l'animal (souris), le test sera réalisé par l'ouverture des bras en paire de bras appâté et non appâté (3 paires en total).

Le score effectué étant enregistré à chaque fois en raccordant le nombre de bars appâtés choisis par chaque souris. Figure 25



Figure 25 : Photo des bras avec indice utilisés de labyrinthe pour le test de distinction de position

I.1.2.3.4.2. Piscine de Morris :

La tâche consiste pour l'animal à localiser, à l'aide des indices distaux hétérogènes, une « plateforme refuge », dans un bassin rempli d'eau opacifiée par l'addition d'un colorant (colorant blanc ou la poudre de lait pour notre test). Pour mener à bien cette tâche la souris dispose uniquement d'indices extérieurs au dispositif.

Le but de ce test est de décrire brièvement l'enregistrement de l'animal et examiner sa mémoire. Cette tâche emploie une piscine de l'eau tiède dans laquelle une plateforme est submergée sous la surface. Durant la mémoire spatiale de référence (MSR), la plateforme est rendue invisible pour l'animal en étant légèrement immergée.

Dans le cas de la mémoire spatiale de travail (MST), la plateforme est apparente en étant émergée. Ces tests sont réalisés au cours de cinq séances à raison d'une séance par jour et de quatre essais successifs par séance.

Les performances sont évaluées à partir des mesures du temps nécessaires pour atteindre la plateforme « temps de latence ». Figure 26



Figure 26 : Dispositif utilisé pour MST et MSR

A- eau non colorée. **B-** Eau colorée.

I.1.2.3.5. Sacrifice et étude histologique

Après la réalisation des différents tests de mémoire et de comportement on a disséqué les souris afin de prélever les cerveaux pour l'étude histologique.

Etude histologique :

Etude histologique comporte sur le cerveau. Les coupes histologiques ont été réalisées au laboratoire d'anatomie pathologique de Dr TERKIA Djawed. La technique utilisée comporte les étapes suivantes :

- 1. Fixation**
- 2. Déshydratation**
- 3. Inclusion et réalisation des blocs**
- 4. Confection des coupes**
- 5. Coloration et montage**

Les détails de la technique sont en partie annexes.

I.3. Résultats

I.3.1. *Hypericum thymbrifolium*

I.3.1. Résultats de l'étude *in vitro*

I.3.1.1. Composition chimique :

Le chromatogramme de l'extrait méthanolique de *l'H.thymbrifolium* a donné de composition riche en antioxydant tel que l'hyperforine et la quercitrine

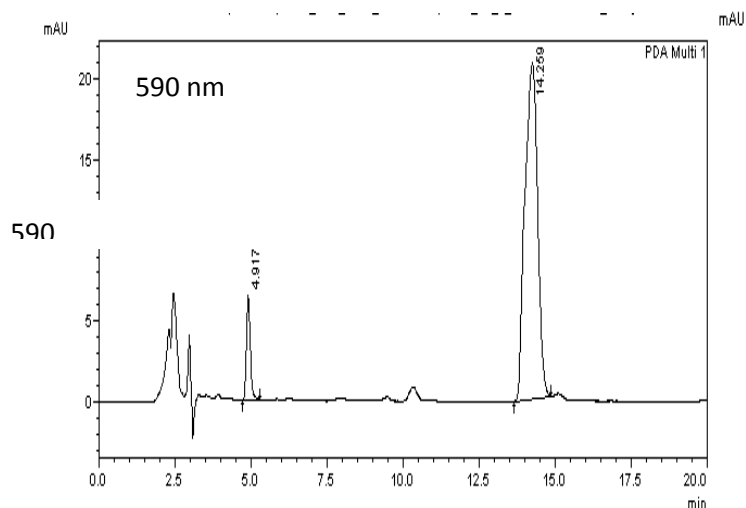


Figure 1a

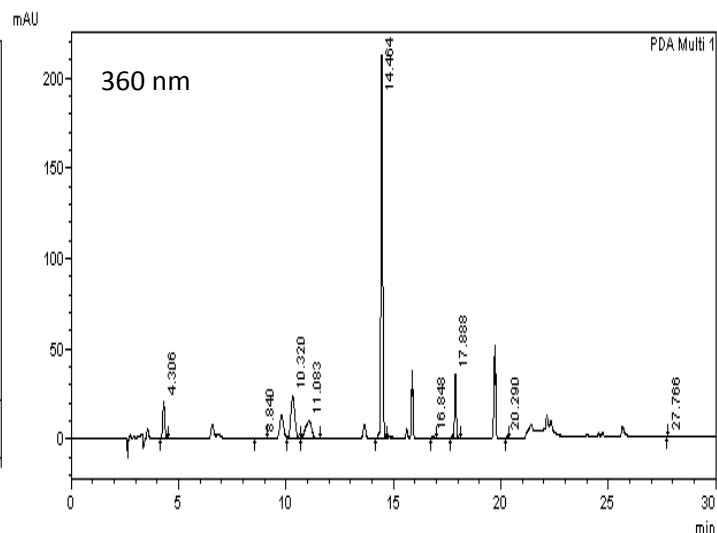


Figure 1b

Figure 27: Chromatogramme de l'extrait méthanolique de *l'H.thymbrifolium*
Fig a)* Pseudohypericin (1) ,hypericin (2) dans l'extrait méthanolique de *l'H.thymbrifolium* (Fig b)* acide Chlorogenicque (1), rutine (2), hyperoside (3), isoquercitrine (4), quercitrine (5), kaempferol (6), quercetine (7), amentoflavone (8) et l'hyperforine (9) dans l'extrait méthanolique de *l'H.thymbrifolium* (Fig b)

La composition chimique de l'extrait méthanolique de *l'H.thymbrifolium* présenté en Tableau9.

Tableau 9: le % des composants chimique de l'*H.thymbrifolium* (moyenne ± Ecart type standard; n=3), tr (trace)

composants	Temps de retention (min)	Equation de calibration	Regression linéaire(r ²)	Pourcentage %
Pseudohypericin	4.86	y= 2.582269e+007x+1741.874	0.9998	0.009±0.0007
Hypericin	13.93	y= 6.03411e+007x+297.2292	0.9999	0.004± 0.0001
Chlorogenicacid	4.33	y= 5110294x + 1490.398	0.9999	0.296± 0.06
Rutin	8.89	y= 1.383368e+007+5188.182	0.9999	0.010± 0.0006
Hyperoside	10.19	y= 2.849917e+007x+526.7023	0.9999	0.168± 0.03
Isoquercitrin	10.75	y= 1.671137e+007x – 3712.788	0.9999	0.304±0.07
Quercitrin	14.41	y= 1.205178e + 007 – 3518.974	0.9999	0.155± 0.01
Kaempferol	17.09	y= 5.183916e+007x + 4373.856	0.9999	0.001± 0.00003
Quercetin	17.84	y= 3.688175e+007+18905.43	0.9999	0.039± 0.001
Amentoflavon	20.27	y= 2.207879e+007+772.0972	0.9996	0.003± 0.0002
Hyperforin	27.75	y= 6212343x	0.9997	nd

I.3.1.2. L'activité antioxydant *in vitro*

Les résultats de composant phénoliques ont montré que la composition du contenu extractible en *Hypericum thymbrifolium* détermine à partir de l'équation de régression ($y = 0.0016x - 0.0478$) et exprimé en mg équivalent d'acide gallique (GAE) était de valeur 23.1 ± 2.2 mg GAE/g du poids secs (Tableau 2).

Les composant totaux extractible de l'*Hypericum thymbrifolium* déterminé à partir de l'équation de regression de calib était $22.44 \pm 0,3$ mg/g (Tableau 10).

Il y avait une grande corrélation entre les polyphénols et les flavonoids ($r^2 = 0.999$).

Tableau 10: composants extractibles totaux (EC), composants phénoliques totaux (PC) (par équivalent d'acide gallique) et les flavonoides totaux (CE) (par équivalen de catechine) en *H.thymbrifolium*. (la moyenne de trois répétition \pm la deviation standard. Les valeurs ayant de différents lettres dans la même colonne sont significative ($p < 0.05$) différent)

	<i>H.thymbrifolium</i>
EC (mg /g dryweight)	213.5
PC (mg GAE/g dry weight)	23.10 \pm 2.2*
PC (mg GAE/g extract)	108.0 \pm 11.3***
Flavonoid (mg CE/g dry weight)	22.44 \pm 0.3*
Flavonoid (mg CE/g extract)	105.3 \pm 1.6*
PC/EC (%)	10.0

Les valeurs de EC50 (EC50: concentration effective à laquelle les radicaux DPPH ont été piégés à 50%) de *H.thymbrifolium* et la quercétine 0,567 \pm 0,03 mg / ml et 0,064 \pm 0,001 mg / ml, respectivement. Sur la base des valeurs de EC50, l'activité de l'anti-péroxydation des liposomes de l'*H.thymbrifolium* était significative ($p < 0,05$) avec une EC50 de 2,80 \pm 0,28 mg / ml par comparaison avec la quercétine (0,059 \pm 0,001 mg / ml); l'activité de piégeage des radicaux superoxyde de l'*H.thymbrifolium* a été constaté similaire avec une valeur EC50 de 0,430 \pm 0,006 mg / ml par comparaison avec la quercétine (EC50 = 0,461 \pm 0,014 mg / ml); le pouvoir réducteur de l'*H.thymbrifolium* a été déterminé de manière significative ($p < 0,05$) avec une valeur EC50 de 0,533 \pm 0,03 mg / ml, en comparaison avec la quercétine (EC50 = 0,045 \pm 0,008 mg / ml). Tous les résultats sont représentés dans le tableau 11.

Tableau 11: Les valeurs de l'EC50 de l'activité antioxydantes de *H.thymbrifolium*. (* CE50: concentration effective à laquelle l'activité anti-oxydante était de 50% dont les radicaux DPPH et superoxydes ont été piégés de 50%, l'absorbance était de 0,5 pour pouvoir réducteur sur les ions ferreux chélates à 50%, respectivement ; les valeurs d'EC50 ont été obtenue par interpolation de l'analyse de régression linéaire. les valeurs sont les moyennes de trois répétitions ± écart-type. les valeurs étaient significatives ($p \leq 0,05$).

Test de l'activité antioxydant	Valeurs EC ₅₀	
	<i>H.thymbrifolium</i>	La Quercetine
DPPH	0.622 ± 0.05*	0.064 ± 0.001*
Anti-LPO	4.39 ± 0.08**	0.059 ± 0.001*
Pouvoir réducteur	0.571 ± 0.01*	0.045 ± 0.008*

1.3.1.3. La cytotoxicité *in vitro*

L'activité cytotoxique *in vitro* de l'*H.thymbrifolium* a été évaluée en utilisant le test colorimétrique MTT pour les lignées cellulaires HeLa et NRK-52E. L'*H.thymbrifolium* n'a montré aucune cytotoxicité contre le système de lignées cellulaires HeLa et NRK-52E avec des valeurs de CI50 de 1,276 mg / ml et 0,993 mg / ml, respectivement.

1.3.2. Résultats de l'étude *in vivo*

1.3.2.1. Les paramètres comportementaux :

1.3.2.1.1. Teste de l'activité locomotrice

Les résultats obtenus après une intoxication chronique au chlorure d'aluminium suivi d'un traitement par l'extrait de *l'hypericum thymbrifolium* montrent qu'il ya une hyperactivité chez les souris intoxiquées durant la première phase par contre les autres phases sont

légèrement différentes avec une hyperactivité de lot Alzheimer traité dans la premier et la troisième phase.

On note que l'activité d'Alzheimer a diminué durant les quatre phases comparativement au témoin. Figure 28

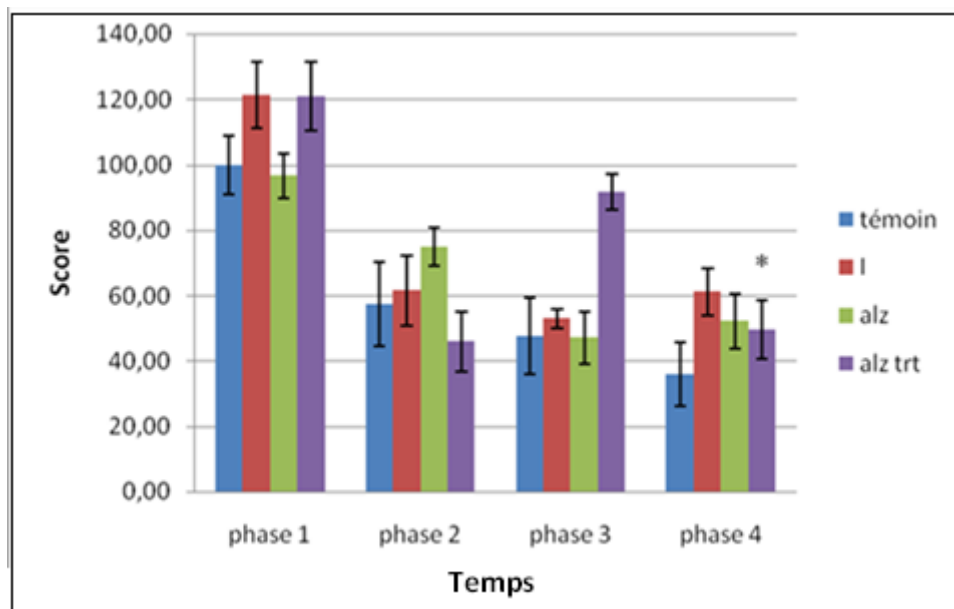


Figure 28: Résultat de test de l'activité locomotrice chez les souris intoxiquées (I) par l' AlCl_3 (10mg/kg V.O), Alzheimer (alz) provoqué par l' AlCl_3 (10mg/kg V.O) et le D-Galactose (120mg/Kg I.P) ; Alzheimer provoqué par l' AlCl_3 (10mg/kg V.O) le D-Galactose (120mg/Kg I.P) traitées par *Hypericum thymbrifolium* (200mg/kg V.O) (alz traité) ; et témoins durant 12 semaines .

I.3.2.1.2. La curiosité (trous).

Les résultats obtenus lors de test de curiosité prouvent qu'il y a une légère différence chez les souris intoxiquées contrairement aux lots Alzheimer et Alzheimer traité dont l'activité était décroissante. Figure 29

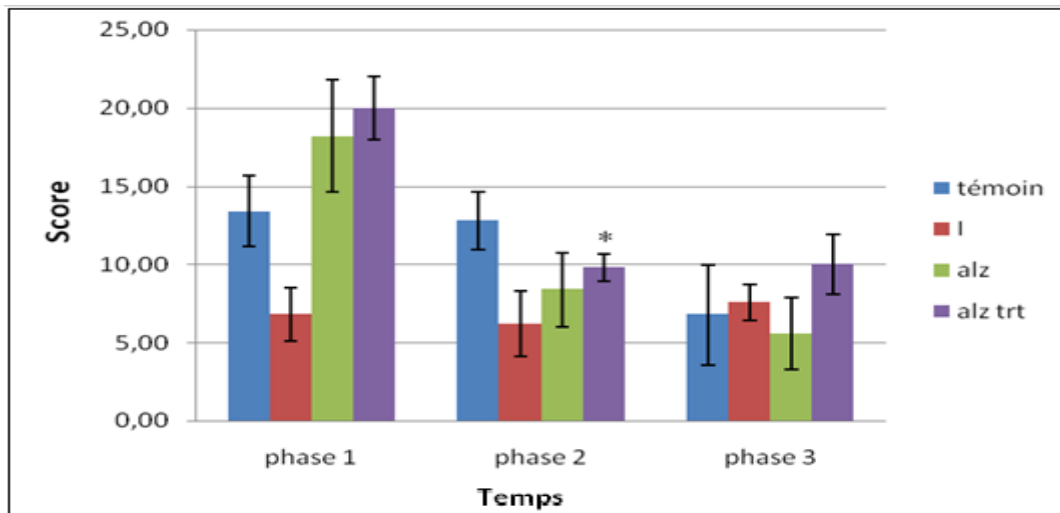


Figure 29: Résultat de test de curiosité chez les souris intoxiquées (I) par l'AlCl₃ (10mg/kg V.O) ,Alzheimer (alz) provoqué par l'AlCl₃ (10mg/kg V.O) et le D-Galactose (120mg/Kg I.P); Alzheimer provoqué par l'AlCl₃ (10mg/kg V.O) le D-Galactose (120mg/Kg I.P) traitées par l'*Hypericum thymbrifolium* (200mg/kg V.O) (alz traité) ; et témoins durant 12 semaines

I.3.2.1.3. Test d'anxiété :

D'après les résultats enregistrés, on remarque que les souris intoxiquées et le modèle Alzheimer préfèrent le compartiment obscur par contre le lot Alzheimer traité passent beaucoup plus de temps dans le compartiment éclairé. Figure 30

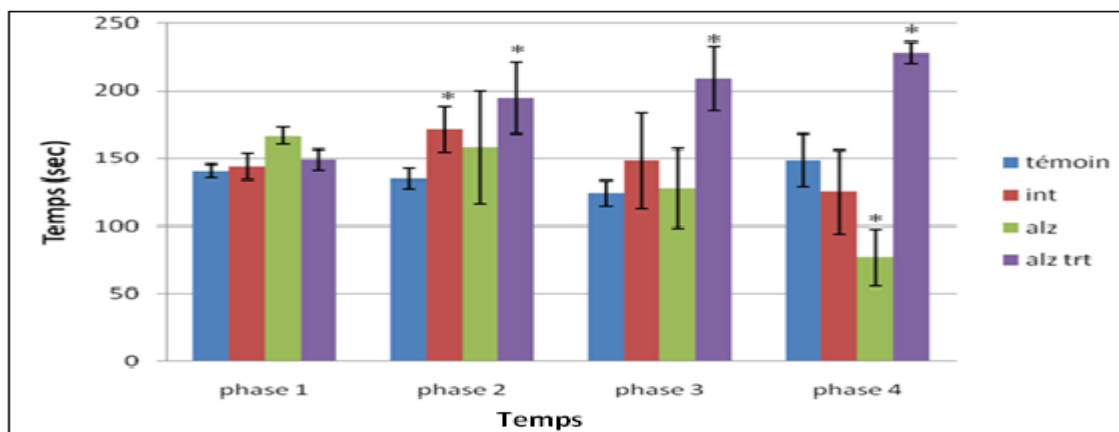


Figure 30: résultat de test d'anxiété chez les souris intoxiquées (I)par l'AlCl₃ (10mg/kg V.O) ,Alzheimer (alz) provoqué par l'AlCl₃ (10mg/kg V.O) et le D-Galactose (120mg/Kg I.P) ; (Alz T)Alzheimer provoqué par l'AlCl₃ (10mg/kg V.O) le D-Galactose (120mg/Kg I.P) et

traités par *l'Hypericum thymbrifolium* (200mg/kg V.O) (alz traité) ; et (T)témoins durant 12 semaines .

I.3.2.1.4. Test de croix

Le test de croix on note que les souris intoxiquées, l'Alzheimer, l'Alzheimer traité et le témoin ont passé beaucoup plus de temps dans le bras protégé avec une faible différence.

Figure 31

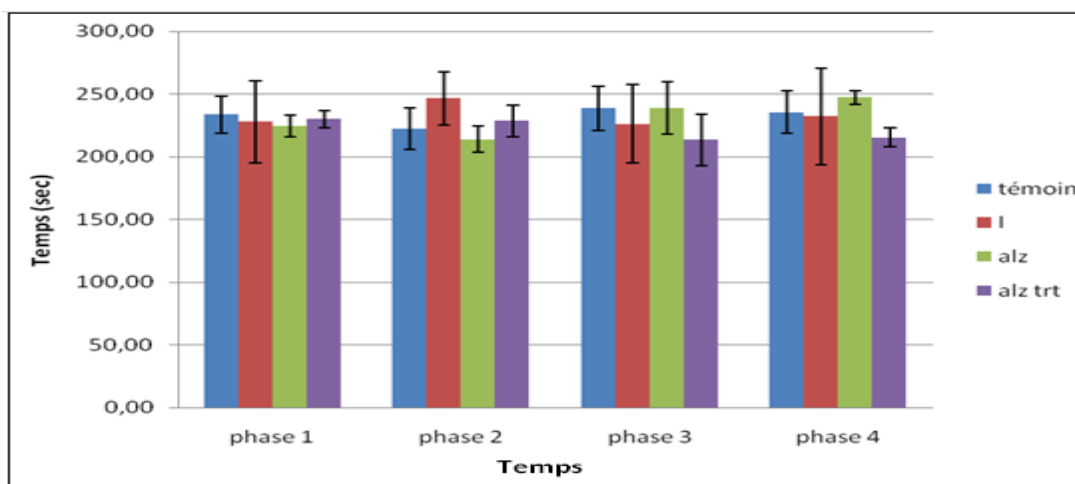


Figure 31 : résultat de test de labyrinthe à deux bras surélevé chez les souris intoxiquées (I) par l' AlCl_3 (10mg/kg V.O), Alzheimer (alz) provoqué par l' AlCl_3 (10mg/kg V.O) et le D-Galactose (120mg/Kg I.P) ; Alzheimer provoqué par l' AlCl_3 (10mg/kg V.O) le D-Galactose (120mg/Kg I.P) traitées par *l'Hypericum thymbrifolium* (200mg/kg V.O) (alz traité) ; et témoins durant 12 semaines .

I.3.2.1.5. Test de nage forcée

En test de la nage forcée on a remarqué que le temps enregistré par les souris de témoin et l'Alzheimer traité plus long que les souris intoxiquées et l'Alzheimer qui enregistrés un temps très court. Figure 32

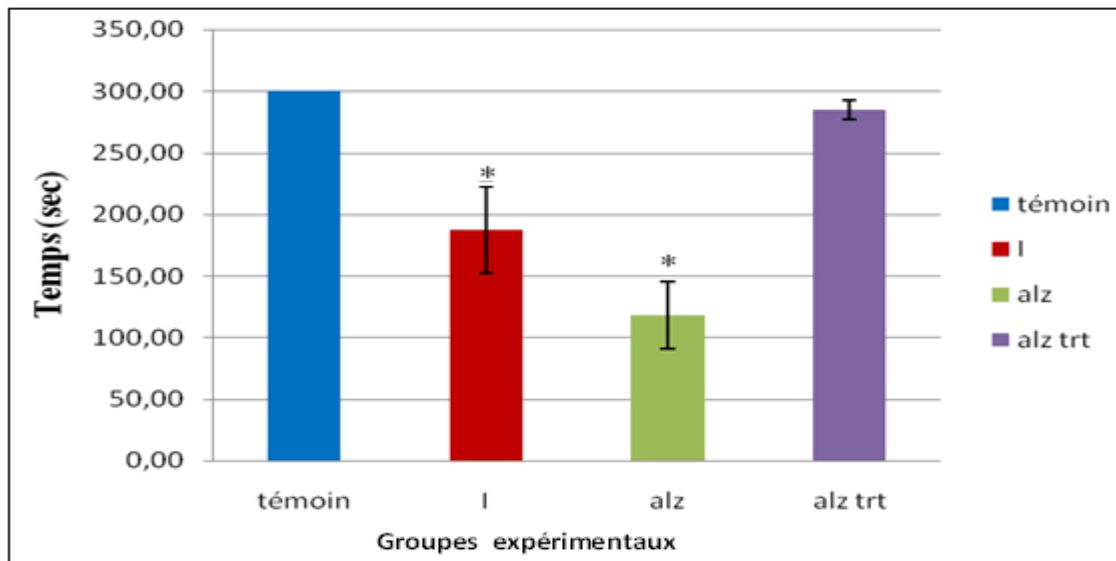


Figure 32: résultat de test de la nage forcée chez les souris intoxiquées (I) par l' AlCl_3 (10mg/kg V.O), Alzheimer (alz) provoqué par l' AlCl_3 (10mg/kg V.O) et le D-Galactose (120mg/Kg I.P) ; Alzheimer provoqué par l' AlCl_3 (10mg/kg V.O) le D-Galactose (120mg/Kg I.P) traitées par *l'hypericum thymbrifolium* (200mg/kg V.O) (alz traité) ; et témoins durant 12 semaines .

I.3.2.2. Test de mémoire :

I.3.2.2. 1. Labyrinthe radiaire à 8 bras :

A)-Mémoire spatiale de travail :

Les résultats obtenus durant les cinq jours d'apprentissage montrent que les souris témoins fréquentaient les couloirs non appâtés contrairement aux autres groupes Alzheimer, Alzheimer traité et intoxiqué. Figure 33

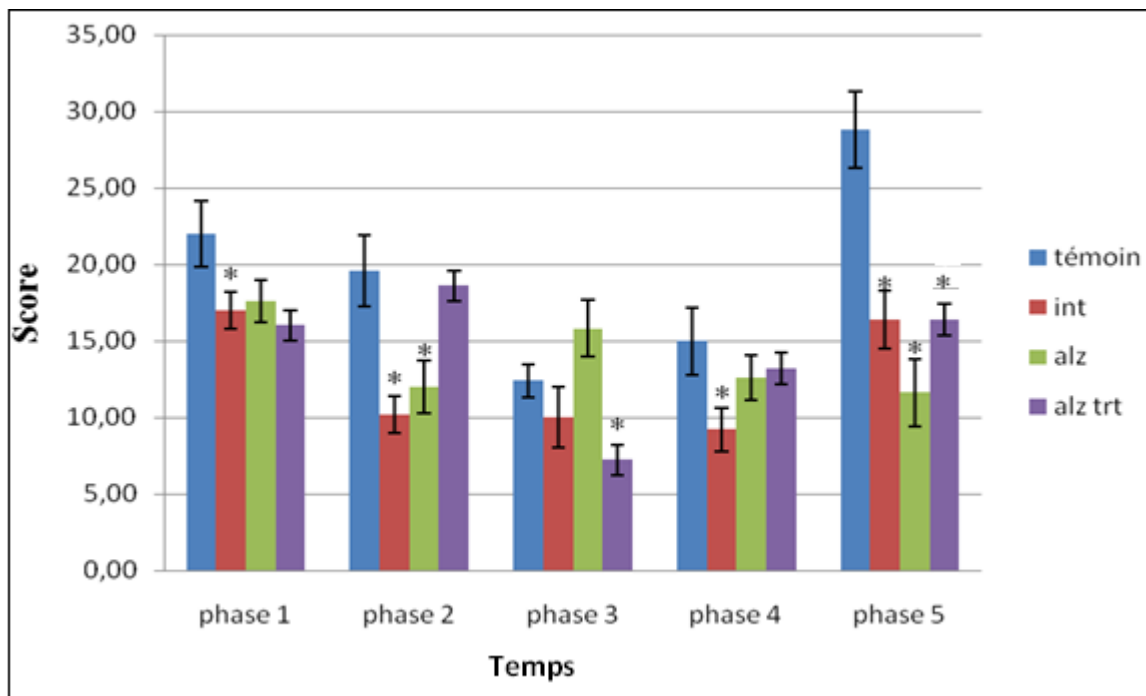


Figure 33 : résultat de test de mémoire spatiale de travail (nombre d'erreurs) chez les souris intoxiquées (I)par l' AlCl_3 (10mg/kg V.O) ,Alzheimer (alz) provoqué par l' AlCl_3 (10mg/kg V.O) et le D-Galactose (120mg/Kg I.P) ; Alzheimer provoqué par l' AlCl_3 (10mg/kg V.O) le D-Galactose (120mg/Kg I.P) traitées par l'*Hypericum thymbrifolium* (200mg/kg V.O) (alz traité) ; et témoins durant 12 semaines .

B)- Test de mémoire non spatiale de préférence conditionnée

Après une intoxication chronique à l' AlCl_3 on a observé durant les cinq jours d'expérimentales que les souris l'Alzheimer traités et Alzheimer nécessitent beaucoup plus de temps pour arriver à l'aliment du bras éclairé pendant les 5 jours d'expérimentation par contrairement aux souris intoxiquées en phase 2, 3et 4. Figure 34

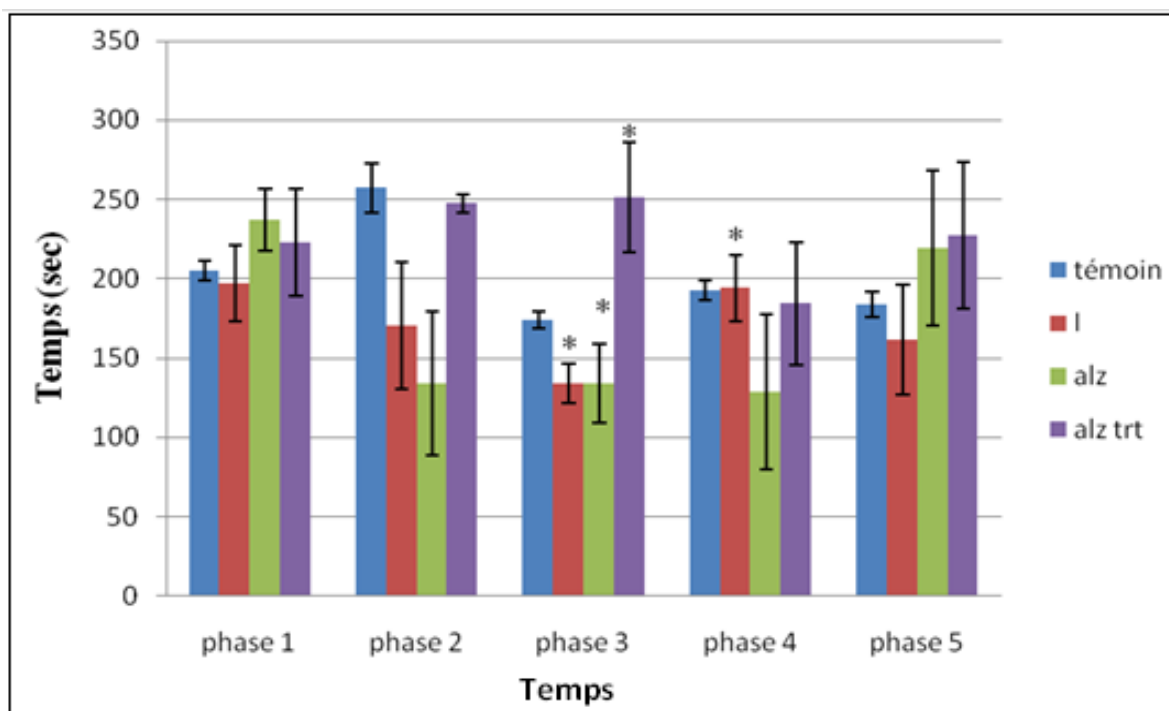


Figure 34: résultat de test de mémoire non spatiale de préférence conditionnée chez les souris intoxiquées (I) par l' AlCl_3 (10mg/kg V.O), Alzheimer (alz) provoqué par l' AlCl_3 (10mg/kg V.O) et le D-Galactose (120mg/Kg I.P) ; Alzheimer provoqué par l' AlCl_3 (10mg/kg V.O) le D-Galactose (120mg/Kg I.P) traitées par *l'hypericum thymbrifolium* (200mg/kg V.O) (alz traité) ; et témoins durant 12 semaines .

C)-Distinction de position :

Dans ce test on remarque que les souris témoin et Alzheimer traité enregistraient un taux d'erreur plus élevé contrairement aux souris intoxiquées et Alzheimer. Figure 35

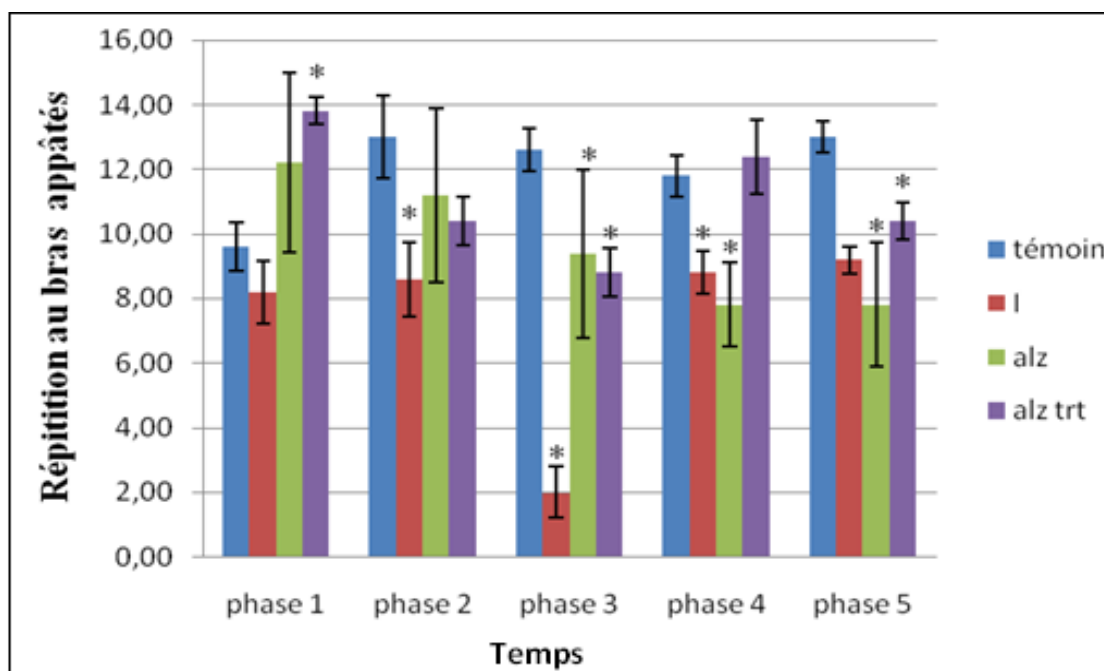


Figure 35: résultat de test de distinction de position chez les souris intoxiquées (I) par l' $AlCl_3$ (10mg/kg V.O) ,Alzheimer (alz) provoqué par l' $AlCl_3$ (10mg/kg V.O) et le D-Galactose (120mg/Kg I.P) ; Alzheimer provoqué par l' $AlCl_3$ (10mg/kg V.O) le D-Galactose (120mg/Kg I.P) traitées par *l'hypericum thymbrifolium* (200mg/kg V.O) (alz traité) ; et témoins durant 12 semaines .

I.3.2.2. 1. La piscine de Morris :

A)-Mémoire spatiale référentielle :

Les résultats obtenus de test de mémoire spatiale de référence montre que les souris Alzheimer enregistraient plus de temps en phases 1 et 2 pour arriver à la plateforme suivis des souris intoxiqués ,par contre aux autres groupes qui ont pris moins de temps surtout le lot Alzheimer traité. Figure 36

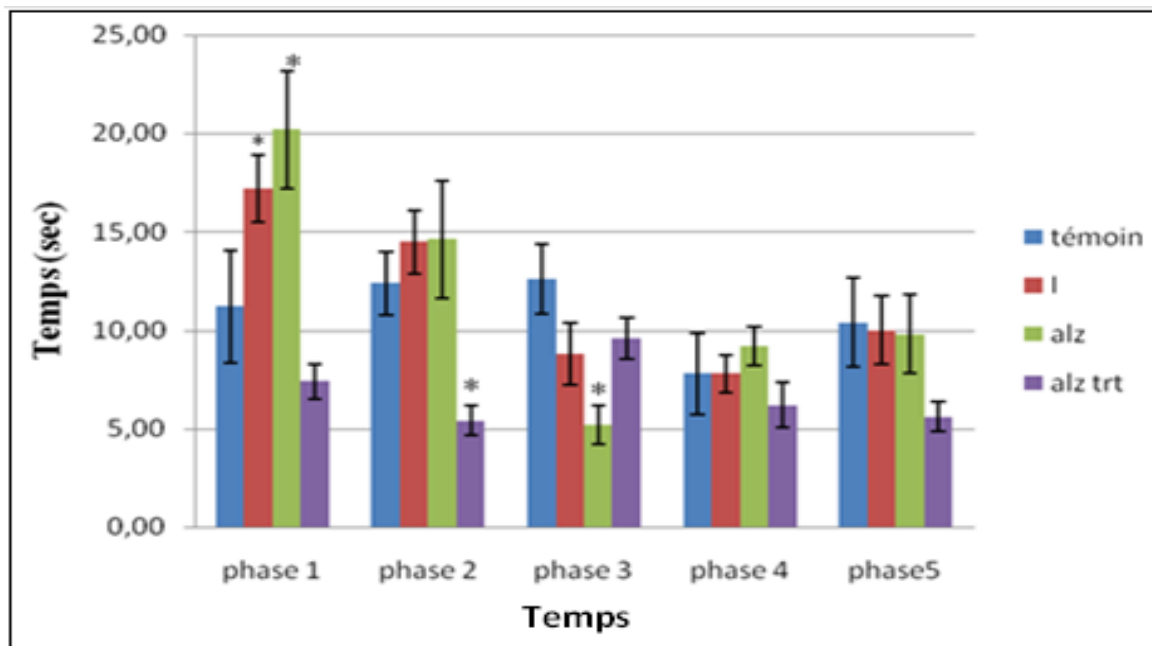


Figure 36: résultat de test de piscine de Morris « mémoire spatiale de référence » chez les souris intoxiquées (I) par l' $AlCl_3$ (10mg/kg V.O), Alzheimer (alz) provoqué par l' $AlCl_3$ (10mg/kg V.O) et le D-Galactose (120mg/Kg I.P) ; Alzheimer provoqué par l' $AlCl_3$ (10mg/kg V.O) le D-Galactose (120mg/Kg I.P) traitées par *l'hypericum thymbrifolium* (200mg/kg V.O) (alz traité) ; et témoins durant 12 semaines .

B)-Mémoire spatiale de travail :

Dans ce test on a remarqué que les souris Alzheimer et témoin prennent plus de temps pour arriver à la plateforme invisible pendant les phases 3 et 4, par contre pour les autres groupes ont prennent moins de temps à détecté la plate-forme invisible, résultats significative du groupe Alzheimer traité dans les phases 2et3. Figure 37

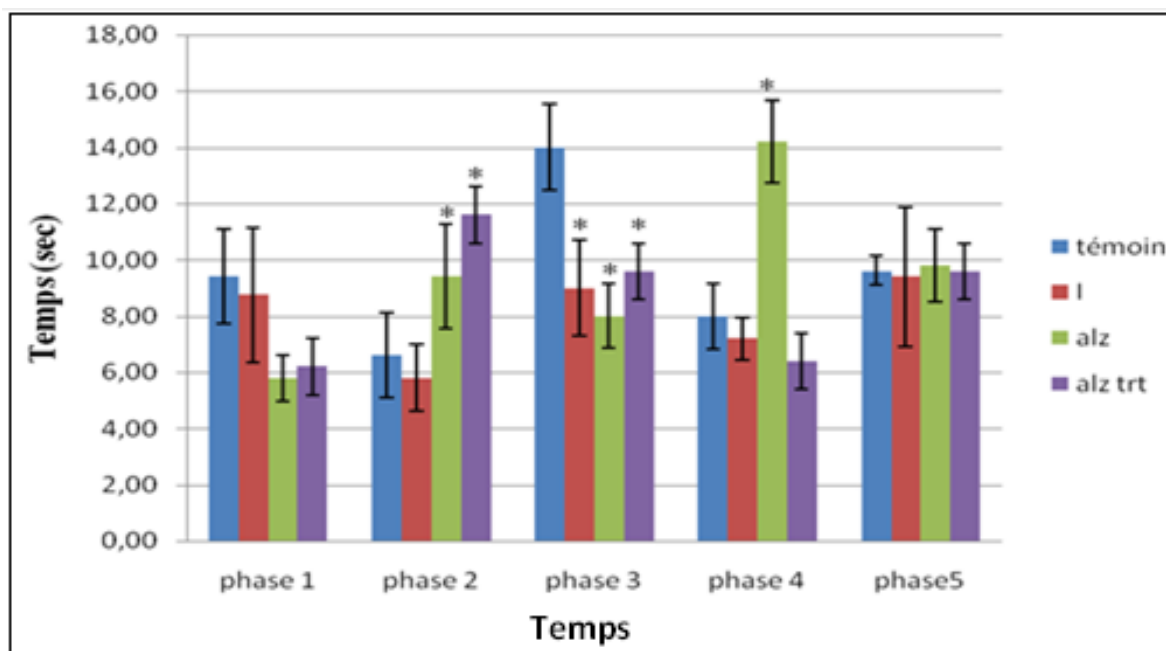


Figure 37: résultat de test de piscine Morris « mémoire spatiale de travail » chez les souris intoxiquées (I) par l'AlCl₃ (10mg/kg V.O) ,Alzheimer (alz) provoqué par l'AlCl₃ (10mg/kg V.O) et le D-Galactose (120mg/Kg I.P) ; Alzheimer provoqué par l'AlCl₃ (10mg/kg V.O) le D-Galactose (120mg/Kg I.P) traitées par *l'hypericum thymbrifolium* (200mg/kg V.O) (alz traité) ; et témoins durant 12 semaines .

I.3.2.3. Etude histologique :

L'étude microscopique des coupes histologiques au niveau du cerveau chez les souris intoxiquée par AlCl₃ (100mg/kg p.o) intoxiqué traitées par *l'hypericum thymbrifolium* à une dose de (200 mg/kg) par voie orale, comparées aux témoins durant 3mois. Figure 38

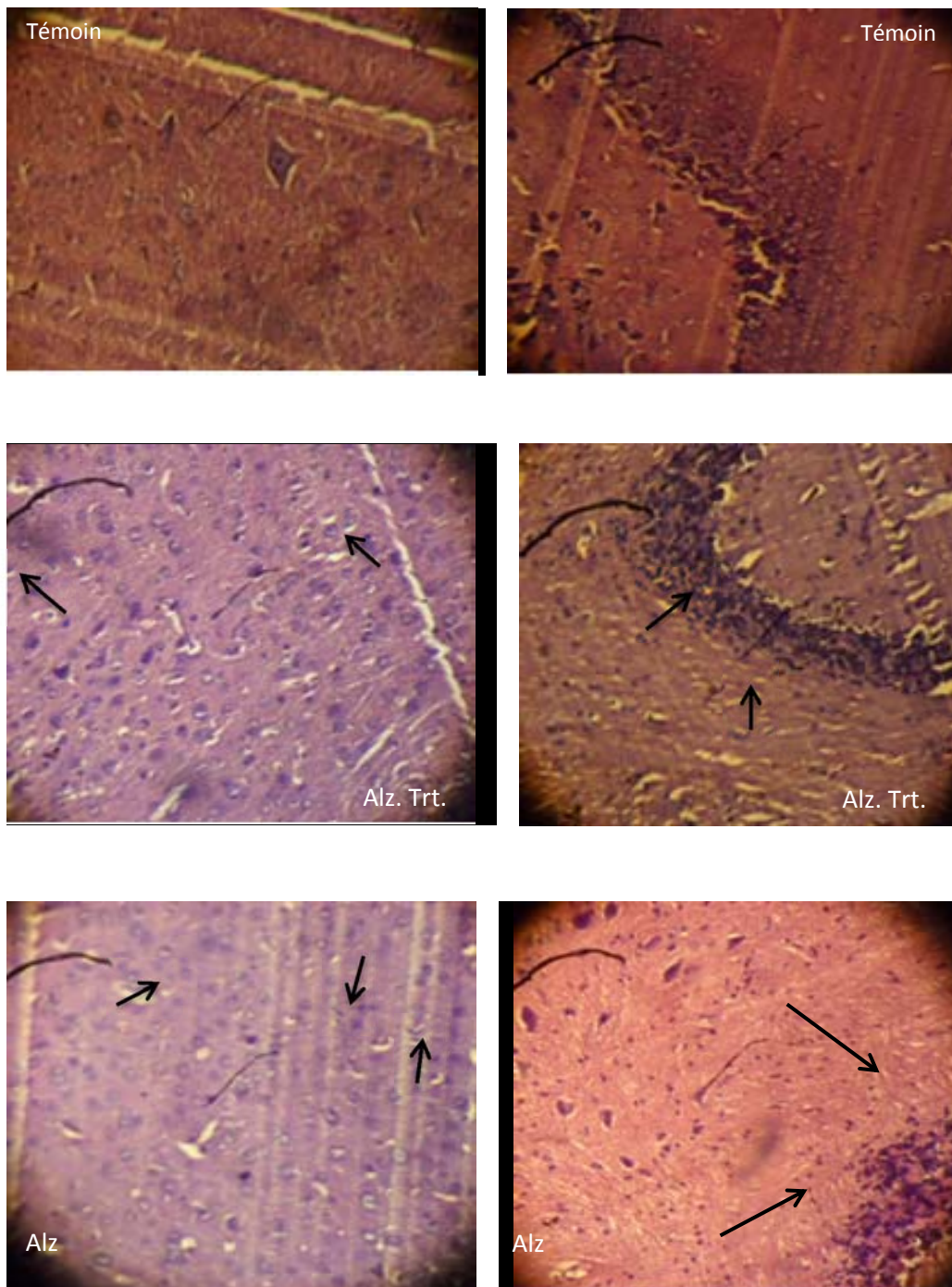


Figure 38: étude microscopique de tissus nerveux coupé à 2 μ m coloré par l'H&E ordinaire prise au niveau de cortex cerebral & l'Hippocampe de témoin ; Model Alzheimer's intoxiqué par l'AlCl₃ par voie orale (100 mg/kg) avec une injection intra-péritonéale de D-Gal (120mg/km) et le model Alzheimer traité par l'*Hypericum Thymbrifolium* (200mg/kg) pendant 3mois (G \times 400).

(alz) cortex cerebral & Hippocampe caractérisé par une diminution de la densité cellulaire et une vacuolization (G×400), Alzheimer traité (alz.trt) montre une diminution de la vacuolisation et un taux cellulaire normal (G×400).

1.3.3. *Hypericum perforatum*

1.3.3.1. Résultats de l'étude *in vitro*

1.3.3.1.1. Composition chimique

Le chromatogramme par chromatographie phase liquide de l'extrait méthanolique de l'*H. perforatum*(HPM) a montré la présence des même antioxydant que l'espèce précédente de l'*Hypericum* dont la quercitine et l'hyperforine (figure 39).

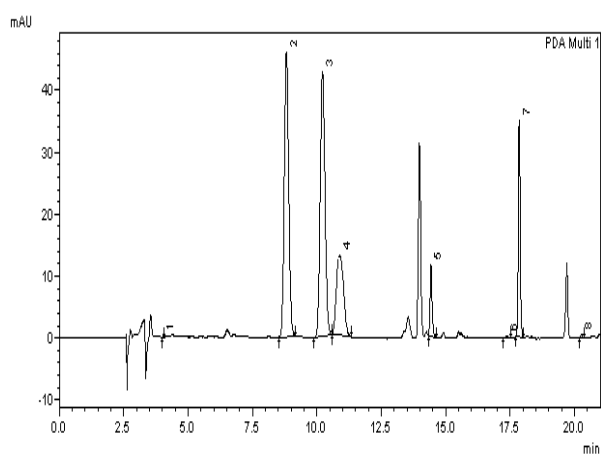
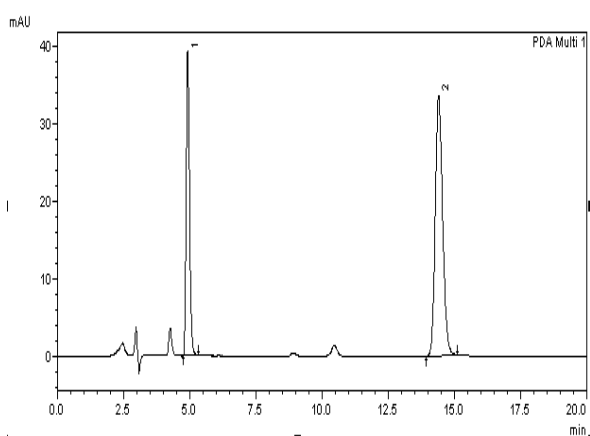


Figure 39a

Figure 39b

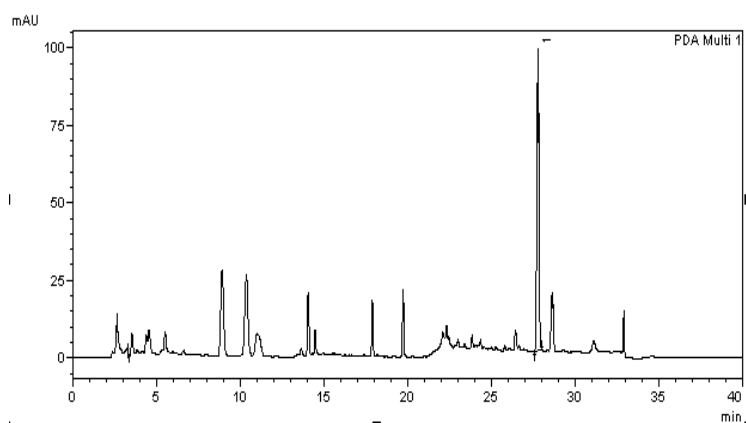


Figure 39c

Figure 39: Chromatogramme de l'extrait méthanolique de l'*H. perforatum*
39a: Pseudohypericine (1), hypericine (2) de l'extrait méthanolique de l'*H. perforatum* à 590nm
39b: acide Chlorogénique (1), rutine (2), hyperoside (3), isoquercitrine (4), quercitrine (5), kaempferol (6), quercétine (7), amentoflavone (8) de l'extrait méthanolique de l'*H. perforatum* à 360nm (Fig 39b)
39c: Hyperforine (1) de l'extrait méthanolique de l'*H. perforatum* at 275nm (Fig 39c)

Tableau 12: % Valeurs de la composition chimique de (Moyenne \pm écart type standard; n=3)

Composants	Valeurs (en %)
Pseudohypericine	0.075 \pm 0.01
Hypericine	0.067 \pm 0.04
acide Chlorogénique	0.008 \pm 0.001
Rutine	1.015 \pm 0.04
Hyperoside	0.491 \pm 0.09
Isoquercitrine	0.389 \pm 0.06
Quercitrine	0.135 \pm 0.01
Kaempferol	0.002 \pm 0.0001
Quercétine	0.125 \pm 0.005
Amentoflavone	0.006 \pm 0.0002

Hyperforine	3.375± 0.5
-------------	------------

I.3.3.1.2. L'activité antioxydant *in vitro* :

Tableau 13: composants extractibles totaux (EC), composants phénoliques totaux (PC) (par équivalent d'acide gallique) et les flavonoides totaux (CE) (par équivalen de catechine) en *H.perforatum*. (la moyenne de trois répétition ± la deviation standard. Les valeurs ayant de différents lettres dans la même colonne sont significative (p < 0.05) different)

	<i>H. perforatum</i>
EC (mg /g poids sec)	267.8
PC (mg GAE/g poids sec)	34.65 ± 0.9
PC (mg GAE/g extrait)	129.7 ± 3.6
Flavonoide (mg CE/g poids sec)	31.80 ± 0.9
Flavonoid (mg CE/g extrait)	119.0 ± 3.3
PC/EC (%)	12.9

Table 14:

Les valeurs de l'EC50 de l'activité antioxydantes de *H.perforatum*. (* CE50: concentration effective à laquelle l'activité anti-oxydante était de 50% dont les radicaux DPPH a été piégés de 50%, l'absorbance était de 0,5 pour pouvoir réducteur sur les ions ferreux chélates à 50%, respectivement ; les valeurs d'EC50 ont été obtenue par interpolation de l'analyse de régression linéaire. les valeurs sont les moyennes de trois répétitions ± écart-type. les valeurs étaient significatives (p ≤ 0,05).

Résultats de test de l'activité antioxydant	<i>H. perforatum</i>	
	<i>H. perforatum</i>	Quercetine
DPPH	0.27 ± 0.12	0.064 ± 0.001 *

Anti-LPO	2.74 ± 0.19	0.059 ± 0.001*
FRAP	0.29 ± 0.02	0.045 ± 0.008*

I.3.3.1.3. La cytotoxicité *in vitro* :

Aucune toxicité de l'extrait n'était observée sur les cellules cultivées.

I.3.3.1.3. Les paramètres comportementaux :

I.3.3.1.3.1. Activité locomotrice :

Les résultats obtenus après une intoxication chronique au chlorure d'aluminium suivi d'un traitement par le *H.perforatum* démontrent clairement qu'il y a une hyperactivité chez le groupe d'Alzheimer durant les quatre phases d'expérimentation

Concernant l'activité de souris d'Alzheimer traitées sont plus exploratrices que les souris témoins dans les deux phases (1) (4)

Mais si on comparait les intoxiquées sont plus actives par rapport au témoin et l'Alzheimer traitées, ce résultat est significatif, figure 40 en générale détaille.

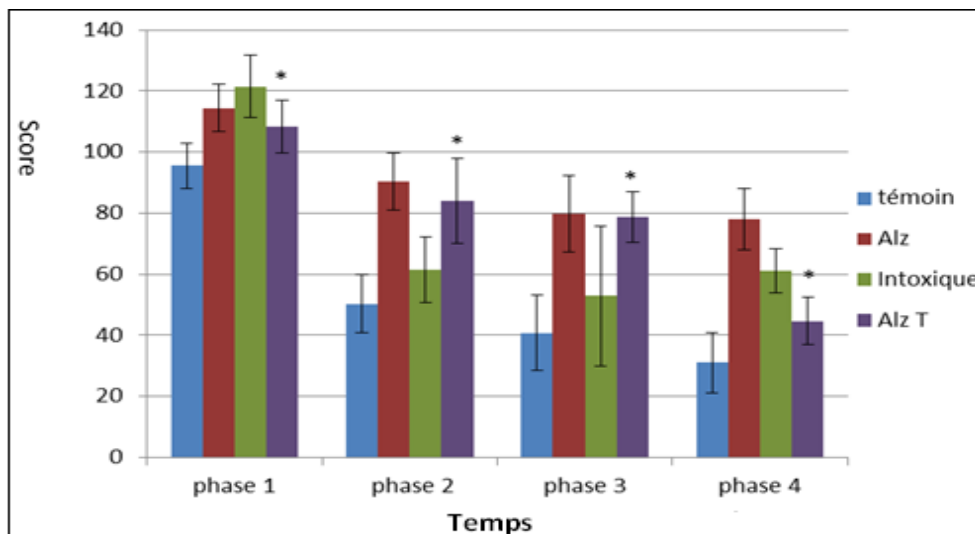


Figure 40 : Activité locomotrice chez les souris intoxiquées (I) par AlCl₃ (10mg/kg) et l'Alzheimer (Alz) par l'AlCl₃ (10mg/kg) et injectée D-galactose (120mg/kg) et traitées par *H.perforatum* (200 mg/kg) et témoin pendent 90 jours.

I.3.3.1.3.2. Test de curiosité (trou) :

Les résultats obtenus lors de test de curiosité s'évaluent d'une façon différente et ne reflète aucune explication, résultat significatif à la deuxième phase, figure 41 en générale détaille.

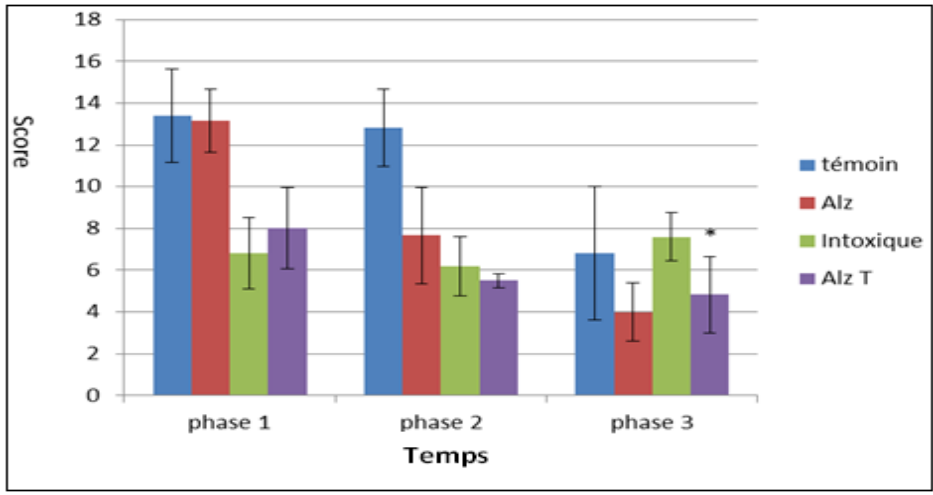


Figure 41 : Test curiosité (trou) chez les souris intoxiquées (I) par $AlCl_3$ (10mg/kg), l'Alzheimer (Alz) par l' $AlCl_3$ (10mg/kg) et injectée D-galactose (120mg/kg), traitées par *H.perforatum* (200 mg/kg) et témoin pendant 90 jours.

I.3.3.1.3.3. Test d'anxiété (Comportement éclairé et non éclairé):

Les résultats obtenus d'anxiété montre que les souris intoxiquées et d'Alzheimer préfèrent rester beaucoup plus dans le compartiment éclairé que les souris témoin et d'Alzheimer traitée qui préfèrent rester dans le compartiment obscur pendant les deux phases (1) (2).

Par contre seulement les souris traitées par *H.perforatum* ont montré qu'elles pouvaient se comporter comme les témoins, résultat non significatif, figure 42 en générale détaillé.

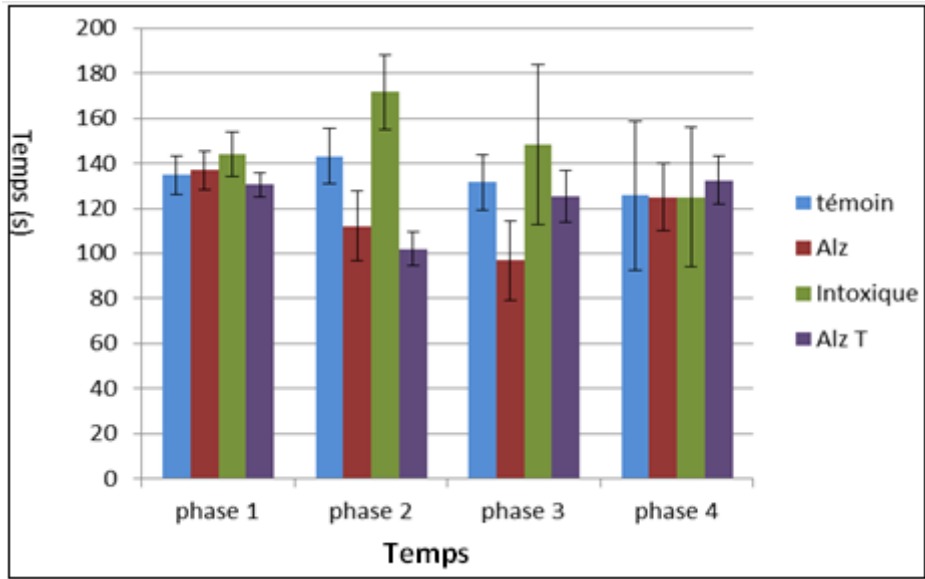


Figure 42: le test d'anxiété (Comportement éclairé et non éclairé) chez les souris intoxiquées (I) par $AlCl_3$ (10mg/kg), l'Alzheimer (Alz) par l' $AlCl_3$ (10mg/kg) et injectée D-galactose (120mg/kg), traitées par *H.perforatum* (200 mg/kg) et témoin pendent 90 jours.

I.3.3.1.3.4. Test de labyrinthe en croix surélevée :

Le test de croix a montré que les souris intoxiquées passent plus de temps dans le bras protégés contrairement que l'Alzheimer et aux autre groupes

Ainsi pour les intoxiquées traitées qui préfèrent rester dans le couloir protégé ce qui prouve que les résultats obtenus sont clairement hautement significatif, figure 43 en général détaille.

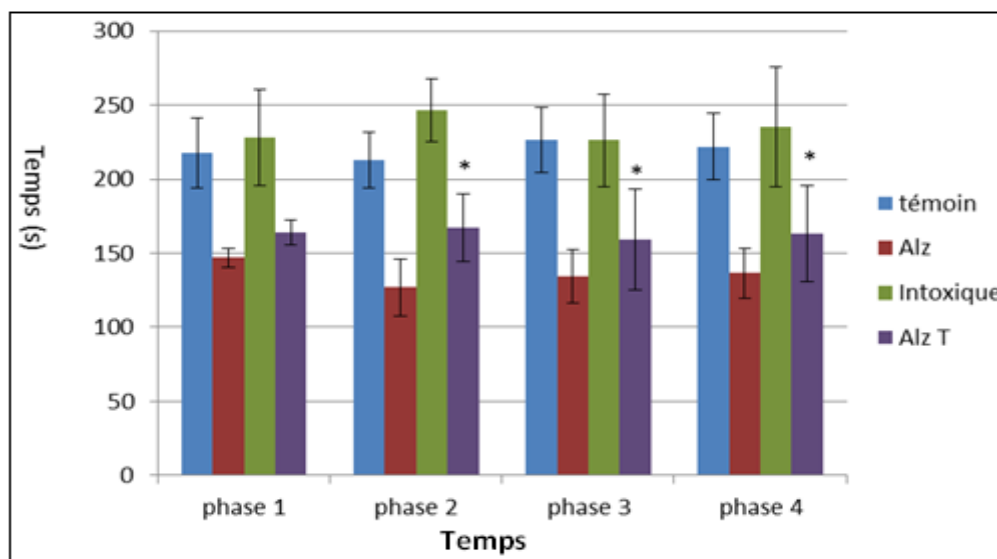


Figure 43: le test de labyrinthe en croix surélevée chez les souris intoxiquées (I) par $AlCl_3$ (10mg/kg), l'Alzheimer (Alz) par l' $AlCl_3$ (10mg/kg) et injectée D-galactose (120mg/kg), traitées par *H.perforatum* (200 mg/kg) et témoin pendent 90 jours.

I.3.3.1.3.5. Test de la nage forcée :

Dans le teste de la nage forcée on a observé que le temps d'immobilité enregistré par les souris témoins et les souris d'Alzheimer traitées durant les 5 min est beaucoup plus important que les souris intoxiquées et l'Alzheimer qui ont enregistré un temps très important très court

A propose d'Alzheimer traitées on remarque que les souris prennent plus de temps à nager par rapport aux intoxiquées, les résultats sont non significatif .Figure 44.

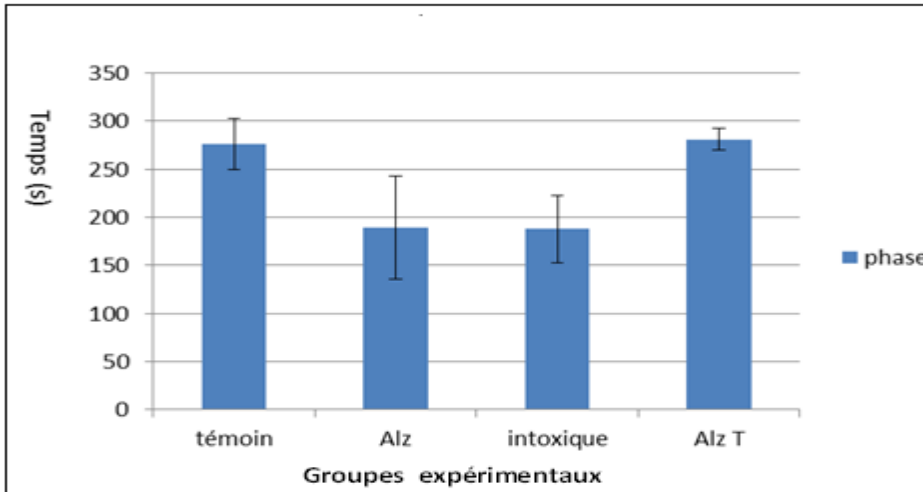


Figure 44: le test de la nage forcée chez les souris intoxiquées (I) par AlCl_3 (10mg/kg), l'Alzheimer (Alz) par l' AlCl_3 (10mg/kg) et injectée D-galactose (120mg/kg), traitées par *H.perforatum* (200 mg/kg) et témoin pendant 90 jours.

I.3.3.1.4. Test de la mémoire :

I.3.3.1.4.1. Labyrinthe radiaire à 8 bras :

A)- Mémoire spatiale de travail :

Après une intoxication chronique à AlCl_3 on a remarqué durant quatre jours d'apprentissage le nombre de bras répété est beaucoup plus important chez les témoins et l'Alzheimer traitées (avec un dose de 200mg/kg) dans les phases (2), (3) et (4), résultat non significatif, figure 45 en générale détaille.

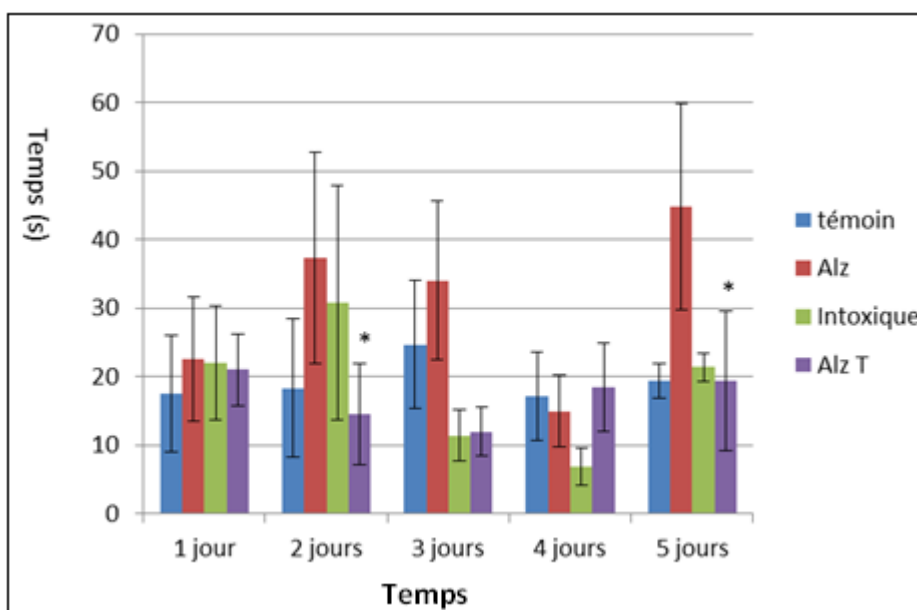


Figure 45 : le test de Mémoire spatiale de travail (nombre d'erreurs) chez les souris intoxiquées (I) par $AlCl_3$ (10mg/kg), l'Alzheimer (Alz) par l' $AlCl_3$ (10mg/kg) et injectée D-galactose (120mg/kg), traitées par *perforatum* (200 mg/kg) et témoin pendant 90 jours.

B)- Test de mémoire non spatiale de préférence conditionnée :

Lors de test de mémoire non spatiale de préférence conditionnée les résultats obtenus durant l'expérimentation montrent que les souris témoins et intoxiqué (Int) prennent beaucoup plus de temps dans un bras éclairé qui contient l'aliment

Les souris d'Alzheimer et l'Alzheimer traitées reste beaucoup de temps dans bras non éclairé, résultat non significatif sauf 2eme jour, figure 46 en générale détaille.

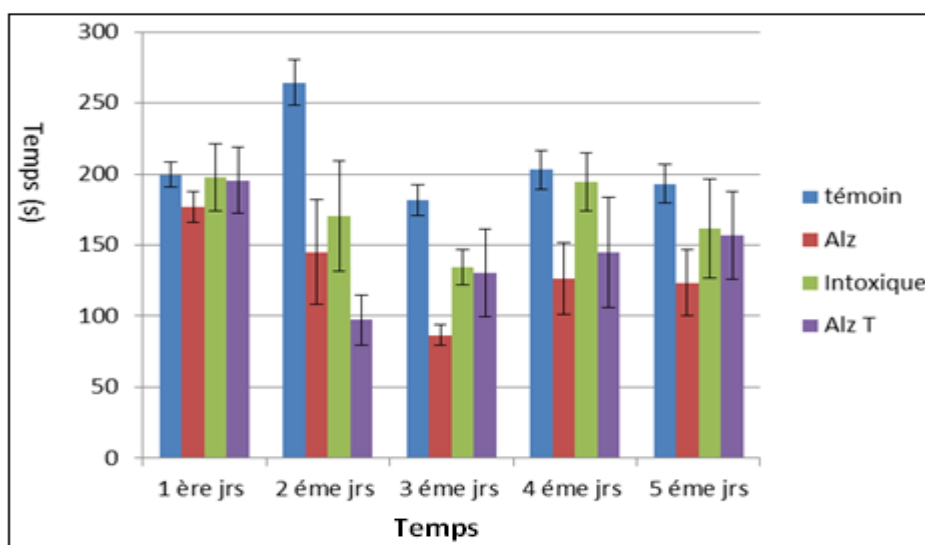


Figure 46: le test de mémoire non spatiale de préférence conditionnée chez les souris intoxiquées (I) par $AlCl_3$ (10mg/kg), l'Alzheimer (Alz) par l' $AlCl_3$ (10mg/kg) et injectée D-galactose (120mg/kg), traitées par *H.perforatum* (200 mg/kg) et témoin pendant 90 jours.

C)- Distinction de position :

Dans ce test on observe surtout dans le premier jour que les souris témoins et l'Alzheimer traitées enregistrent un longue durée dans le bras appâtés qui contient l'aliment

Les souris d'Alzheimer et intoxiqué reste moins temps dans bras appâtés par rapport les souris témoins dans la phase (2), (3) et (4), résultat significatif 2eme et 3eme jour, figure 47 en générale détaille.

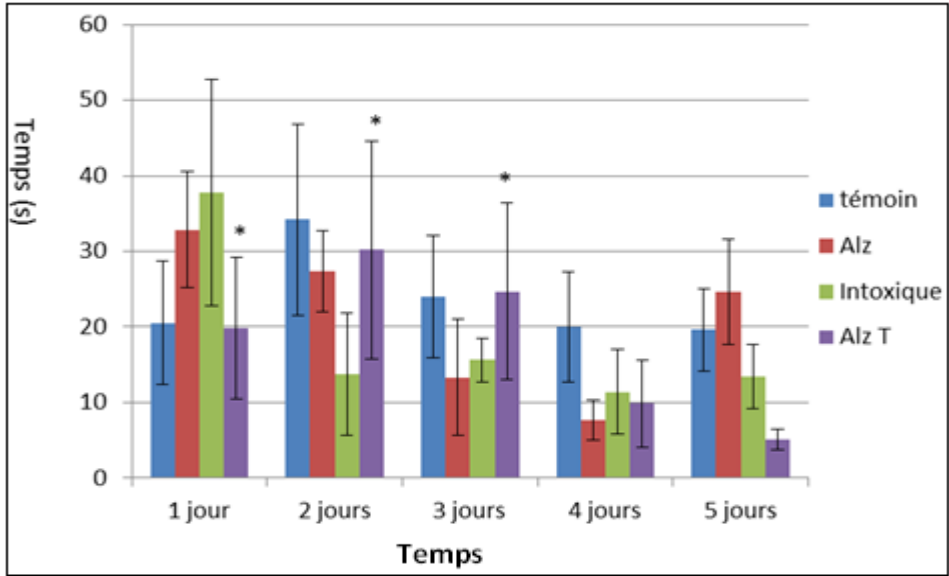


Figure 47: le test de Distinction de position chez les souris intoxiquées (I) par $AlCl_3$ (10mg/kg), l'Alzheimer (Alz) par l' $AlCl_3$ (10mg/kg) et injectée D-galactose (120mg/kg), traitées par *H.perforatum* (200 mg/kg) et témoin pendant 90 jours.

I.3.3.1.4.2. La piscine de Morris :

A)-Mémoire spatiale référentielle :

Les résultats obtenus pendant le test de mémoire spatiale de référence montre que les souris intoxiquées prennent beaucoup plus temps à détecter la plate-forme comparé aux autres groupes qui mettent moins de temps.

A propos des souris d'Alzheimer traitées par *H. perforatum* aussi leur durée de trajet vers la plate-forme visible est moins que le groupe d'Alzheimer dans la première phase, résultat non significatif, figure 48 en générale détaille.

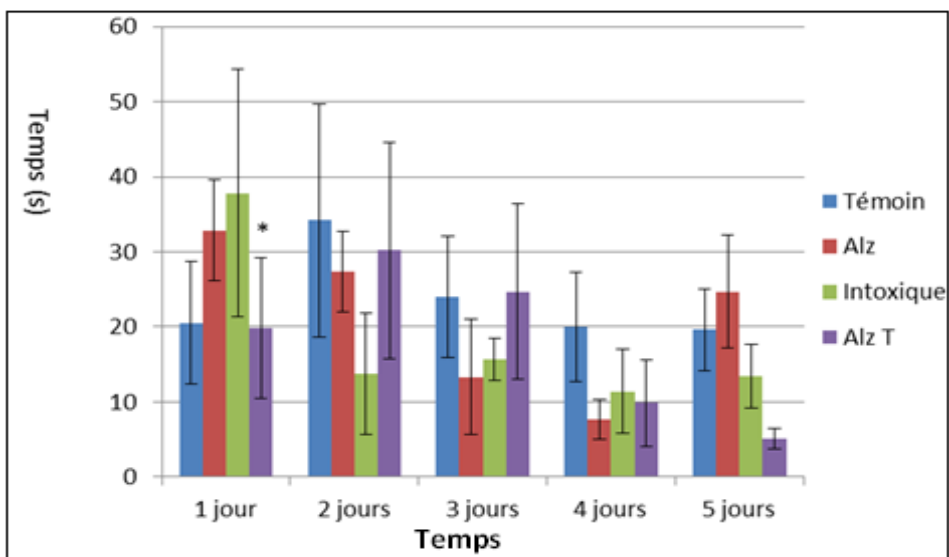


Figure 48 : le test de Mémoire spatiale référentielle chez les souris intoxiquées (I) par AlCl_3 (10mg/kg), l'Alzheimer (Alz) par l' AlCl_3 (10mg/kg) et injectée D-galactose (120mg/kg), traitées par *H.perforatum* (200 mg/kg) et témoin pendant 90 jours.

C)-Mémoire spatiale de travail :

Concernant l'épreuve de mémoire spatial de travail on constate que la durée mise pour atteindre la plate-forme invisible est très court chez les souris d'Alzheimer traitées dans deuxièmes et troisièmes phase tandis que chez les autre groupes la durée est très élevée, résultat non significatif, figure 49 en générale détaille.

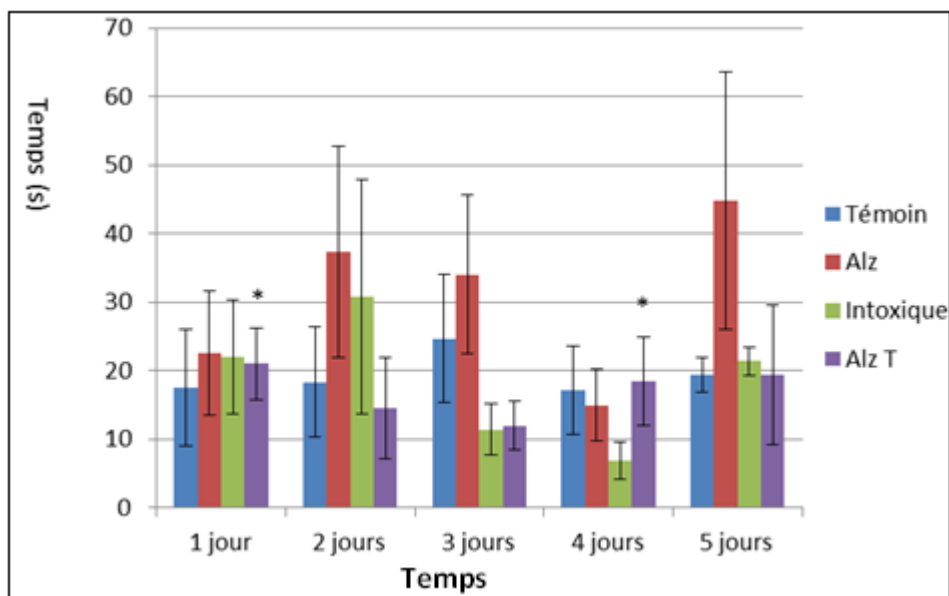
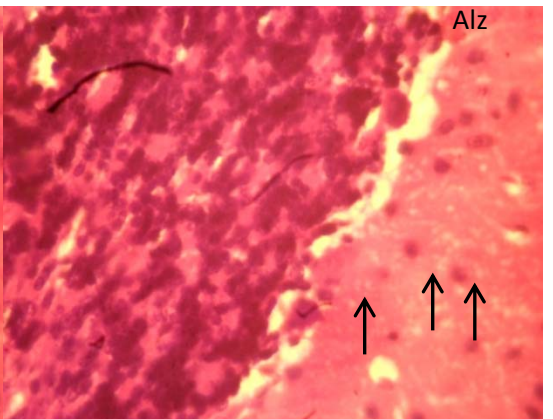
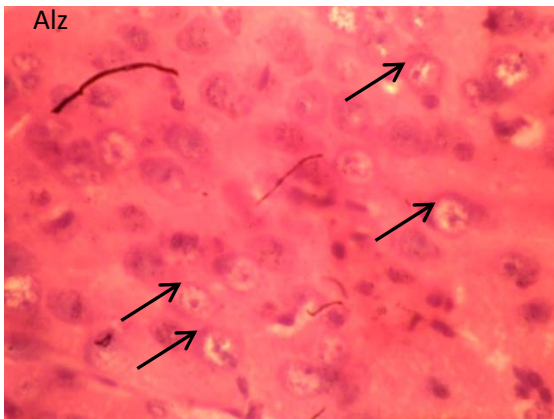
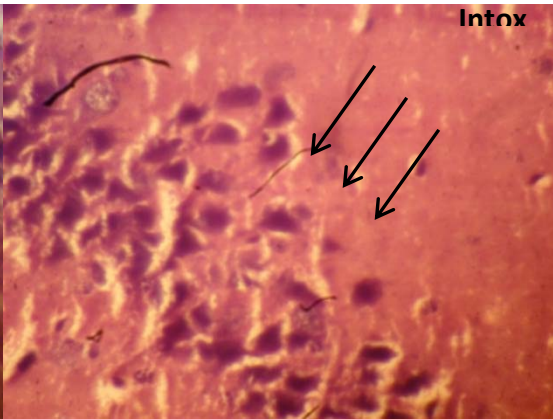
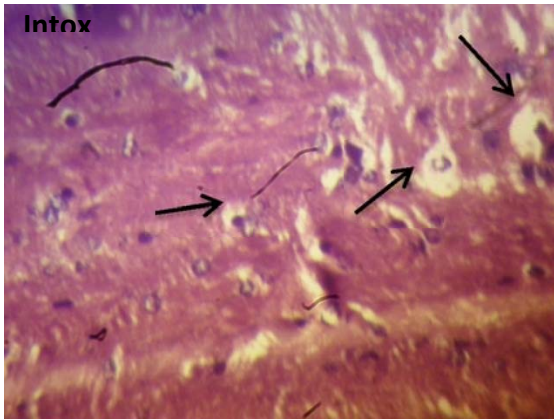
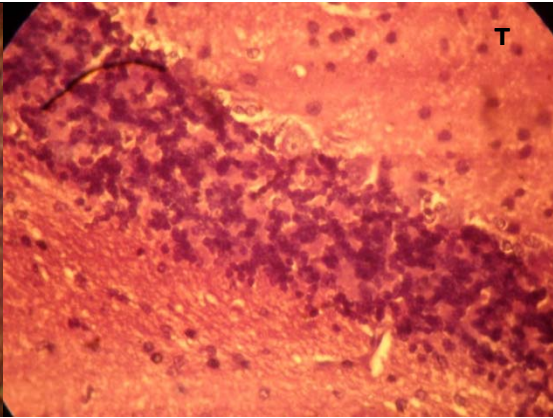
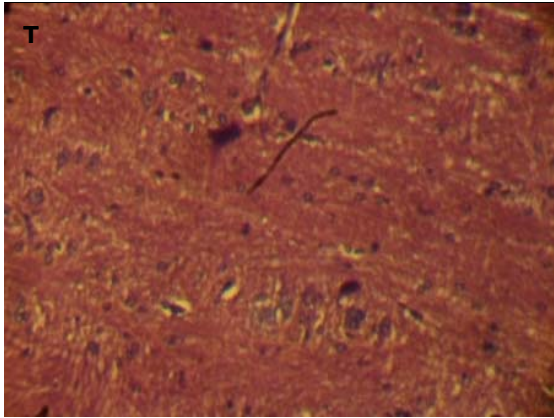


Figure 49: le test de Mémoire spatiale de travail chez les souris intoxiquées (I) par AlCl_3 (10mg/kg), l'Alzheimer (Alz) par l' AlCl_3 (10mg/kg) et injectée D-galactose (120mg/kg), traitées par *H.perforatum* (200 mg/kg) et témoin pendant 90 jours.

I.3.3.1.5. L'étude histologique :

L'étude microscopique des coupes histologiques au niveau du cortex cérébrale et d'hippocampe chez les souris intoxiquées par l' AlCl_3 (100mg/kg par voie orale)/D-Gal, intoxiquées et traitées par le l'*Hypericum perforatum* à une dose de (45mg/kg et 60mg/kg) par voie orale, comparées aux témoins durant 90 jours. Figure 50



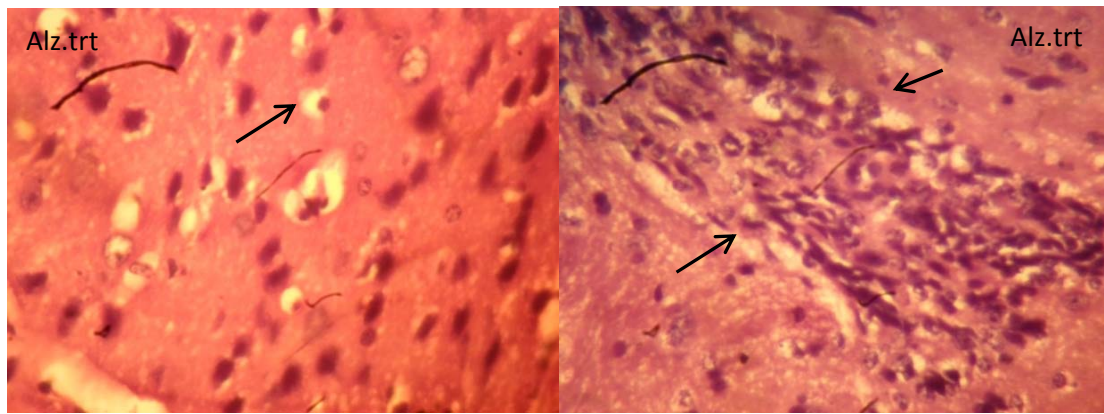


Figure 50: Etude microscopique du cortex cérébrale/Hippocampe effectuée par la coloration (H.E) chez des souris intoxiquées par l' AlCl_3 à une dose de 100mg/kg et des souris intoxiquées traitées par l'*Hypericum perforatum* durant 90 jours avec une dose de (120mg/kg); (T) cortex cérébrale/hippocampe d'une souris témoins ($\text{G}\times 400$). (I) cortex cérébrale/hippocampe caractérisé par une diminution de la densité cellulaire et dégénérescence neuronale ($\text{G}\times 400$), (Alz) présente une diminution de la densité cellulaire un œdème et une vacuolisation, chez les souris model Alzheimer traitées à une dose de 200mg/kg une diminution de l'œdème et une vacuolisation ($\text{G}\times 400$).

Discussion

Hypericum thymbrifolium

★ L'analyse phytochimique de *H. thymbrifolium* a été atteinte pour la première fois dans ce travail. Dans cette étude, on a étudié la valeur médicinale de *H. thymbrifolium*. Selon la pharmacopée européenne, les espèces *Hypericum* contient pas moins de 0,008% d'hypericine. Les résultats montrent que *H. thymbrifolium* contient près de cette quantité d'hypericine (0,007%). *H. thymbrifolium* contient aussi une grande quantité de quercitrine ($1.286 \pm 0,05\%$).

Les résultats de l'ensemble des composés phénoliques et flavonoïde totale sont donnés dans le tableau 9 montrent la teneur en composés phénoliques extractibles dans *H. thymbrifolium*. Ces valeurs est supérieure à celle détectée dans *H. perforatum* ($0,55 \pm 0,01$ mg GAE / g de poids sec) [176], suggérant que ces médicaments à base de plantes peuvent servir comme source alimentaire de substances phénoliques, Kızıllı et al. (2008)[73] ont rapporté que la teneur totale en composés phénoliques de 1 mg *H. triquetrifolium* et les extraits éthanoliques de l'*Hypericum thymbrifolium* étaient équivalents à 267 et 333 µg l'acide gallique, respectivement. Estimation des composés phénoliques totaux a révélé que les espèces *Hypericum* sont une riche source de composés phénoliques. Ainsi, notre resultat indique que les composés phénoliques totaux de l'extrait de *H. thymbrifolium* semblent être en accord raisonnable avec la littérature. Les composés phénoliques peuvent contribuer à l'activité antioxydante globale. Il existe une corrélation importante entre les composés phénoliques totaux et le contenu flavonoïde ($r^2 = 0,999$). Il a été conclu que l'extrait peut être une source potentielle de composés antioxydants bénéfiques pour la santé.

★ Pour les activités antioxydantes *in vitro*, les résultats ont montré que *H. thymbrifolium* a un potentiel antioxydant important. L'aptitude de l'extrait d'agir en tant que piègeur du radical libre DPPH ou un donneur d'hydrogène, cela a été révélée par analyse de piégeage des radicaux libres. L'extrait a montré l'activité de piégeage des radicaux DPPH d'une manière dépendante de la dose. Les résultats montrent que, à 2,5 mg / ml de l'extrait ($91,53 \pm 1,34\%$), ne diffèrent pas de activités de piégeage des radicaux libre de la quercétine ($p \leq 0,05$), qui

étaient ($96,89 \pm 0,72\%$) à $0,31 \text{ mg / ml}$. Nos résultats sont en accord avec Kızıllı et al. (2008)[73] qui a signalé l'activité de piégeage des radicaux DPPH sont similaires, $91,3\%$ et $82,6\%$ pour *H. scabroides* et *H. triquetrifolium*, respectivement. Il a été signalé que l'extrait d'*H. perforatum* a montré un effet de piégeage des radicaux DPPH relativement élevé avec une valeur de CI_{50} moyenne de $10,63 \text{ } \mu\text{g / ml}$ [177]. Il était évident que les extraits de *H. perforatum*, *H. triquetrifolium* et *H. scabroides* avaient des effets plus forts sur les radicaux DPPH par rapport à *H. thymbrifolium* utilisé dans cette étude. Il peut être expliqué par la différence de composition phytochimique. Il est connu que seuls les flavonoïdes d'une certaine structure moléculaire, en particulier ceux qui ont une certaine position hydroxyle détermineront les propriétés antioxydants [178].

★ Afin de confirmer l'activité antioxydant, on avait comme objectif, évaluer l'effet *in vivo* de *Hypericum thymbrifolium* en tant que plante antioxydant notamment sur neurotoxicité de l'aluminium.

Les résultats obtenus de l'activité locomotrice montre que les souris intoxiquées sont moins hyperactives que les souris Alzheimer –traitées ce qui concorde avec les travaux de Golube & al, 1998 ; Kumar & al, 2009. [179,180]

Dans ce teste on observe une valeur significative entre les souris Alzheimer traité et témoin dans la dernière phase ce qui explique une relation entre les deux, résultat reflète l'effet modérateur de la plante sur ce comportement.

Le test de trous permet d'évaluer de comportement d'exploration manifesté par les souris intoxiquées, a cette effet on a remarqué durant ce test que les souris intoxiquées sont moins exploratrices que les souris Alzheimer traitées et témoins contrairement de ce qui a été trouvé en travaux de Djebli & Rebai, 2008.[181]

Après le test de compartiment noir et blanc on a trouvé que le lot Alzheimer et intoxiqués passe plus de temps dans le compartiment noir par contre que lot Alzheimer –Traitées de passe beaucoup plus de temps dans le compartiment blanc, résultat significatif concorde avec les travaux Djebli & Rebai., 2008. [181]

Pour le test de labyrinthe à 2 bras surélevé les résultats montrent que tous les lots passent beaucoup plus de temps dans les bras protégés avec une faible différence.

Dans le test de la nage forcée le temps d'immobilité enregistré est réduit chez les souris Alzheimer par rapport aux autres groupes de souris, sachant que le temps d'immobilité chez le lot Alzheimer traité est très proche de celui du témoin ce qui coïncide avec le résultat de Sahin & al, 1994. [182]

Les résultats obtenus de test de labyrinthe radial à 8 bras, et en épreuve de mémoire spatiale de travail ont montré que le nombre d'erreurs est beaucoup plus élevé chez les souris témoins et Alzheimer traité par rapport aux souris intoxiquées, résultat hautement significatif en phases 3 et 5 chez les souris Alzheimer traité et témoin reflète l'effet thérapeutique de cette plante médicinale.

Concernant le test de distinction de position on a remarqué que les souris Alzheimer traité et témoin passent beaucoup plus de temps dans les bras appâtés contrairement aux souris intoxiquées et Alzheimer ce qui concorde avec les résultats de Djebli & Rebai, 2008 [181] aussi que celui de Santucci & al, 1994. [183]

Dans les phases 1, 3, 5 il y a une différence significative entre les souris de l'Alzheimer traité et témoin qui explique la diminution des antioxydants chez les souris Alzheimer traité.

Concernant le test de labyrinthe à 2 bras on a observé que les souris intoxiquées et Alzheimer passent moins de temps dans les bras appâtés contrairement aux souris Alzheimer traité et témoin qui visitent beaucoup plus les bras appâtés.

Il y a une différence hautement significative dans la troisième phase entre les souris de l'Alzheimer traité et témoin qui démontre l'efficacité de *Hypericum thymbrifolium* comme antioxydant.

Le test de piscine de Morris est afin d'évaluer la mémoire spatiale de travail (MST), ou mémoire spatiale de référence (MSR), on a remarqué que les souris Alzheimer et les souris intoxiquées passent beaucoup plus de temps pour arriver à la plateforme ce qui concorde avec les résultats de Djebli & Rebai., 2008. [181]. Dans le test de mémoire spatiale de référence les

résultats du groupe Alzheimer traité étaient significative dans les phases 1,2 et 3. Dans le test la mémoire spatiale de travail Il y a une différence hautement significative dans la phase 2,3 et 4 entre les souris model Alzheimer, Alzheimer traité et témoin.

L'aluminium absorbé par l'intestin se trouvait rapidement en circulation sanguine, et quand on parle d'aluminium dans le sang on parle généralement d'aluminium plasmatique, ou d'aluminium sérique ; une fraction de cet aluminium sera éliminée alors que la partie importante s'accumule dans les tissus en causant des lésions irréversibles, résultat trouvé en étude histologique[184].

Hypericum perforatum

★ Un mélange complexe de métabolites secondaires bioactifs de plusieurs espèces d'*Hypericum* sont utiles en tant que médicaments à base de plantes [185-187]. *H. perforatum* (St. John wort), certainement le plus connu dans le monde entier et représentant le plus abondant, est aujourd'hui l'espèce la plus étudiée de son genre [188]. Depuis le début des années 90, *Hypericum perforatum* a été cliniquement étudiée à la fois de sa circonscription chimique et de son activité biologique [189]. Environ 2 500 études sur *Hypericum* ont été publiés à ce jour, y compris plusieurs examens ont porté sur la phytochimie de *H. perforatum* [188,190,191], sa pharmacologie [192,193] ou sur les deux aspects [188,194-196].

L'analyse phytochimique de *H. perforatum* a été achevée dans ce travail; on a étudié la valeur médicinale de l'*H. perforatum*. Selon Pharmacopée européenne, *H. perforatum* L. est une plante médicinale traditionnelle avec des propriétés antidépressives et antioxydantes. Il contient un grand nombre de constituants ayant une activité biologique documentée, y compris les composés phénoliques, une large gamme de flavonoïdes et de bioflavonoïdes, hypéricine, adhyperforin, amentoflavone, hyperoside et isoquercitrin [197]. Les composés chimiques de *H. perforatum* sont fournis dans le tableau 12. Un total de 11 composants ont été identifiés dans l'extrait dont l'Hyperforin est le constituant majeur présentant (3,375%) cela est dû au fait que l'hyperforine est photosensible et ses concentrations les plus élevées apparaissent juste avant la période de floraison. [197].

Il a été trouvé que l'hyperforine, un constituant majeur de *H. perforatum*, inhibe la prolifération des cellules épithéliales et des cellules mononuclées périphériques humaines dans le sang, même lorsqu'ils sont stimulés par le phyto-hémagglutinine. Par ailleurs, une autre étude [198] a également justifié l'activité anticancéreuse d'extraits de *H. perforatum* par la présence d'hyperforine et hypericine de la plante. Un travail précédent [199] a démontré que les composés autres que l'hypericin sont très pertinents pour piéger les radicaux libres et efficaces en inhibition des activités de peroxydation lipidique.

Ainsi l'acide chlorogénique a été rapporté pour inhiber la peroxydation des lipides en piégeant les radicaux peroxyde, empêchant ainsi l'ouverture de la chaîne de peroxydation lipidique [200]. En outre, l'acide chlorogénique avait été signalé comme étant un fixateur efficace contre les radicaux peroxyde [201]. Selon une étude précédente [202]. L'acide chlorogénique a une activité antioxydante efficace. Ces données sont conformes à la caractérisation chimique récemment publiée de *H. perforatum* [199].

Dans la présente étude, en utilisant diverses expériences *in vitro*, nous avons constaté que l'activité de la xanthine oxydase XO a été nettement inhibée par *H. perforatum* [203,204].; l'inhibition de l'enzyme XO peut contribuer à l'action de piégeage du radical O_2 par l'*Hypericum perforatum*.

★ L'extrait a montré l'activité de piégeage des radicaux DPPH d'une manière dépendante de la dose. Les résultats montrent qu'à 2,5 mg / cm³ de l'extrait ($31,80 \pm 0,9\%$), ne diffèrent pas dans leurs activités de piégeage du radical DPPH comparativement à celle de la quercétine ($96,89 \pm 0,72\%$) à 0,31 mg / cm³ ($p \leq 0,05$). Nos résultats sont en accord avec une étude précédente [73] qui a signalé l'activité du radical DPPH est de 91,3% et 82,6% pour *H. scabroides* et *H. triquetrifolium*, respectivement. Il a été rapporté que l'extrait *H. perforatum* montré d'effet de piégeage des radicaux DPPH relativement élevé avec une valeur de CI_{50} moyenne de 10,63 $\mu\text{g} / \text{cm}^3$ [199]. Il était évident que les extraits de *H. perforatum*, avait des effets plus marqués sur les radicaux DPPH. Il peut être expliqué par la différence de composition phytochimique. Il est connu que seuls les flavonoïdes d'une certaine structure moléculaire, en particulier ceux qui ont une certaine position hydroxyle détermineront les propriétés antioxydants [188].

L'inhibition de Fe (III) des résultats d'analyse de la peroxydation lipidique de l'acide ascorbique a révélé que l'extrait inhibe la formation de TBARS et la destruction des phospholipides d'une manière dépendante de la concentration. La plus forte activité antioxydante de l'extrait a été observée à une concentration élevée (5 mg / cm³). L'activité antioxydante de l'extrait a été déterminée plus faible que l'activité de la quercétine. Sur la base des valeurs de CE₅₀, l'activité antioxydante de l'*Hypericum perforatum* a été significativement plus faible (p < 0,05) avec une CE₅₀ de 2,74 ± 0,219 mg / cm³ par rapport à la quercétine (0,059 ± 0,001 mg / cm³). Bien que l'effet inhibiteur de l'extrait sur la formation de TBARS fût inférieur à celle de la quercétine, l'extrait peut également être prévu pour protéger contre les dommages aux membranes cellulaires, car elle réduit également le taux de peroxydes. Cependant, l'extrait a la capacité d'éliminer les radicaux libres et d'inhiber la peroxydation lipidique. Les des autres études *in vitro* de l'espèce *Hypericum* [202,203] qui ont rapporté que l'extrait méthanolique de *H. perforatum* a montré une forte capacité à inhiber la peroxydation lipidique avec une valeur CE₅₀ de 26 µg / cm³. Il est rapporté [199] que l'extrait méthanolique de *H. perforatum* montré à inhiber (70%) de peroxydation des lipides. It a été rapportée [73] que les extraits obtenus à partir de *H. triquetrifolium* et *H. scabroides* ont un fort potentiel à inhiber la peroxydation lipidique comparativement aux valeurs trouvés dans notre étude.

L'extrait a été révélée être un accepteur efficace du radical superoxyde généré dans le système phenazine methosulfate / Nicotinamide adenine dinucleotide PMS / NADH et de sa forte activité comparable à celle de la quercétine (p> 0,05). À la fois d'extraire et de quercétine présentaient une inhibition dose-dépendante du radical superoxyde.

Le pouvoir réducteur de l'extrait est avérée être en corrélation avec l'augmentation de l'absorbance (à 700 nm) par rapport à la quercétine. L'extrait a montré le potentiel de réduction ferrique (III) sous forme de fer ferreux (II). Ces résultats par rapport aux études précédentes, des résultats similaires ont été rapportés pour *H. triquetrifolium* et *H. scabroides*. [73].

L'activité antioxydante de l'extrait a été étudiée en utilisant quatre méthodes différentes. Le tableau 14 présente les valeurs de CE₅₀ de l'extrait des propriétés antioxydantes. Les différences de résultats expliquent différents mécanismes du stress oxydatif.

Il y avait une bonne corrélation entre les teneurs totales phénoliques et le potentiel réducteur et la peroxydation lipidique et l'activité inhibitrice. Par conséquent, cet extrait a une activité anti-oxydante due aux composés phénoliques sont susceptibles de fonctionner comme des antioxydants en piégeant les radicaux libres, ce qui réduit la puissance et le blocage de la formation de radicaux peroxyde et en réduisant la puissance.

★ Étant donné que le potentiel d'activité cytotoxique des extraits présentant une activité anti-oxydante est un paramètre important, l'activité cytotoxique des lignées cellulaires HeLa et NRK-52E sont étudiés. Les résultats montrent que les extraits ne présentent pas d'activité cytotoxique.

Dans notre étude expérimentale *in vivo* les souris intoxiquées par l'aluminium à une dose de 100mg/kg durant 3 mois ont été traitées par le millepertuis officinal (*Hypericum perforatum L.*) indiqué principalement dans le traitement de la dépression légère à modérée, des troubles psychosomatiques, de l'anxiété et de l'agitation nerveuse (OMS 2006) la plante médicinale *Hypericum perforatum*, présente des effets pharmacologiques intéressants avec des propriétés antibactériennes, anti-tumorales et anti-angiogénique. Elle exerce également des actions neurologiques [204] pourraient être utiles dans le traitement des maladies neurodégénératives liées au stress oxydatif telles que la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer. [205].

De nombreuses études ont montré que les souris dont l'adjonction d'aluminium à leur alimentation entraînent des effets toxiques tels que l'accumulation dans les organes, modification de comportement.

★ La comparaison des études de toxicité chronique des métaux a depuis longtemps démontre que les deux types d'exposition ne mettaient pas en jeu les mêmes mécanismes biologiques et que les effets constatés après des expositions aiguës ne rendent pas compte des phénomènes observable après une exposition aiguës ne rendent pas compte des phénomènes observables après des exposition prolongée, notamment à long terme [206];concorde avec les résultats de deux expérience réalisés .(concernant les souris Model Alzheimer et l'Alzheimer traitées).

A la fin du XIXe siècle, le millepertuis était utilisé dans le traitement de l'hystérie et de l'hypochondrie [207].

A cette même époque en Amérique du Nord, il était utilisé pour traiter divers troubles d'origine nerveuse [208].

Responsable de l'efficacité thérapeutique des extraits d'*Hypericum perforatum*. Comme les antidépresseurs de synthèse, l'hyperforine inhibe, in vitro, la recapture de neurotransmetteurs (dopamine, noradrénaline, sérotonine, glutamate, GABA). Chez l'animal, elle augmente les taux extracellulaires de catécholamines, sérotonine et de glutamate ou stimule la libération d'acétylcholine. [180]

La présente étude met en évidence l'activité pertinente du millepertuis contre le stress retenue après modification aiguë induite. [180]

Le constituant protéique majeur des dépôts amyloïdes dans la maladie d'Alzheimer (MA) est le bêta-amyloïde peptide (Abeta). Dans le présent travail, nous avons déterminé l'effet de hyperforin un composé de acylphloroglucinol isolé de *Hypericum perforatum* (millepertuis), sur Abeta induite par une déficience de la mémoire spatiale et sur Abeta neurotoxicité. Nous rapportons ici que hyperforin: diminue la formation de dépôts amyloïdes chez les rats injectés avec des fibrilles amyloïdes dans l'hippocampe; diminue les changements neuropathologiques et troubles de comportement dans un modèle de rat de l'amylose; empêche la neurotoxicité Abeta induite dans l'hippocampe neurones à la fois de fibrilles amyloïdes et des oligomères Abeta, en évitant l'augmentation des espèces réactives oxydantes associées à la toxicité de l'amyloïde. Ces deux effets pourraient être expliqués par la capacité de hyperforin de désagréger les dépôts amyloïdes dans une dose et fonction du temps et de diminuer Abeta agrégation et la formation d'amyloïde. Au total, ces preuves suggèrent que hyperforin peut être utile pour réduire le dépôt amyloïde et la toxicité chez les patients atteints de la MA, et peut être un agent thérapeutique putatif pour combattre la maladie. [210].

Le but de cette étude était d'évaluer l'effet protecteur possible de *Hypericum perforatum* composés phénoliques (la quercétine, kaempférol et biapigénine) ces composés phénoliques diminuer la toxicité observée dans les cellules exprimant α -synucléine sans la présence de ces composés. [211]

La plante médicinale *Hypericum perforatum*, également nommé le millepertuis (millepertuis), présente des effets pharmacologiques intéressants avec des propriétés anti-bactériennes, anti-tumorales et anti-angiogénique. [204]

L'étude sur l'effet de l'*H. perforatum* chez les souris intoxiquées et les souris d'Alzheimer n'est élucidé qu'après les tests comportementaux ; l'activité locomotrice test d'anxiétés de

trous, test de labyrinthe à deux bras surélevée et finissions par le test de nage forcée comparées aux souris témoins et les souris d'Alzheimer traitées (par les deux voies d'administration dans les deux expériences)

Les résultats obtenus lors du test de l'activité locomotrice montrent que les souris témoins sont moins hyperactives que les souris intoxiquées, l'Alzheimer traitées et l'Alzheimer, ce qui ne concorde pas avec les travaux de Golub et al ,1990 ; A.kumar, 2009 [212,180] mais elle concorde avec les travaux de Skalisz L et al 2004 [213] qui remarquée due l'activité locomotrice a été réduite par le traitement aigu avec *Hypericum perforatum* (150 et 300 mg / kg, po), le résultat trouvé était significatif.

Le test de trous permet d'évaluer le comportement d'exploration manifesté par les souris à cet effet on a remarqué durant ce test que les souris témoins sont plus exploratrices que les souris intoxiquées, l'Alzheimer, l'Alzheimer traitées résultat ne concorde pas avec les travaux de Djebli et al, 2008 [181] Dans le test de labyrinthe en croix surélevée (protégé et non protégé) les résultats de témoins et l'Alzheimer traitées sont prend long durées dans comportement protégé contrairement à ce qui a été trouvé concernant lots intoxiquées, ce résultat était hautement significatif.

Les résultats obtenus durant l'épreuve d'anxiété dans les deux cas étudiés que les souris intoxiquées passent beaucoup plus de temps dans le compartiment éclairé contrairement aux souris et l'Alzheimer traitées ce que coïncide aux travaux de Djebli et Rebai, 2008, costall al, 1989 [181,214] .

Les résultats obtenus lors de test de la nage forcée montrent que le temps d'immobilité enregistré par la souris témoins, l'alzheimer traitées est beaucoup plus important que les souris intoxiquées et l'Alzheimer sont les moins résistants dans l'eau, ce qui concorde avec les travaux de Sahin et al,1994 et Gardier et Bourin,2001 [182,215] qui ont démontré que les souris intoxiquées s'immobilisent par désespoir [216] (David et al,2006) le millepertuis extraits induit une réduction significative de l'immobilité [217]

L'administration aiguë de l'*Hypericum perforatum* (150, 300 et 500 mg / kg, po) réduit le temps d'immobilité dans le test de la nage forcée [213].

H. perforatum exerce actions antidépresseur, et nous examinons également certains de ses effets secondaires, comme des nausées, des éruptions cutanées, fatigue, agitation, photosensibilité, une neuropathie aiguë [218].

Durant le test de labyrinthe à 2 bras surélève, les résultats obtenus présentent une différence non significative entre les souris intoxiquées et les souris de l'Alzheimer traitées mais on a remarqué que les résultats que ont obtenus dans les quatre essais présentent un différence non significatif entre les souris témoin avec l'Alzheimer traitées et les intoxiquées avec l'Alzheimer Contrairement à travaux de Djebli *et al*,2008 [181].

Dans le labyrinthe radiaire à 8 bras, l'épreuve de mémoire spatiale de travail a montré que le nombre de couloir répété est beaucoup plus élève chez les souris témoins et l'Alzheimer traitées Dans dernier essais de labyrinthe de 8 bras témoin et l'Alzheimer traitées sont plus motive que les souris intoxiquées et l'Alzheimer, ce résultat est significatif, guide pour apprendre après un certain nombre d'essais.

Les résultats de mémoire non spatiale de préférence conditionnée ont montré que les souris témoins restent beaucoup de temps dans bras qui contient l'aliment par apport intoxiquées, l'Alzheimer traitées et l'Alzheimer

Dans l'expérience de piscine de Morrice travail et mémoire de référence les souris de l'Alzheimer traitées passe courte de temps pour trouve la plate-forme dans les quatre jours premier contrairement aux autres lots.

L'aluminium absorbé par l'intestin se trouvait rapidement en circulation sanguine, et quand on parle d'aluminium dans le sang on parle généralement d'aluminium plasmatique, ou d'aluminium sérique ; une fraction de cet aluminium sera éliminée alors que le parti important s'accumule dans les tissus en causant des lésions irréversibles. [219,220].

Le constituant protéique majeur des dépôts amyloïdes dans la maladie d'Alzheimer (MA) est le bêta-amyloïde peptide (Abeta). Dans le présent travail, nous avons déterminé l'effet de hyperforin un composé de acylphloroglucinol isolé de *Hypericum perforatum* (millepertuis), sur Abeta induite par une déficience de la mémoire spatiale et sur Abeta neurotoxicité. Nous rapportons ici que hyperforin: diminue la formation de dépôts amyloïdes chez les rats injectés avec des fibrilles amyloïdes dans l'hippocampe; diminue les changements neuropathologiques et troubles de comportement dans un modèle de rat de l'amylose; empêche la neurotoxicité

Abeta induite dans l'hippocampe neurones à la fois de fibrilles amyloïdes et des oligomères Abeta, en évitant l'augmentation des espèces réactives oxydantes associées à la toxicité de l'amyloïde. Ces deux effets pourraient être expliqués par la capacité de hyperforin de désagréger les dépôts amyloïdes dans une dose et fonction du temps et de diminuer Abeta agrégation et la formation d'amyloïde. Au total, ces preuves suggèrent que hyperforin peut être utile pour réduire le fardeau amyloïde et la toxicité chez les patients atteints de la MA, et peut être un agent thérapeutique putatif pour combattre la maladie. [221], Comme les cellules immunocompétentes du cerveau, les microglies sont capables de contrecarrer les effets néfastes de la bêta-amyloïde dans la maladie d'Alzheimer par la clairance de la phagocytose médiée par des agrégats de protéines. La survie et la santé de la microglie sont donc essentielles pour atténuer et prévenir les maladies neurodégénératives. Dans une lignée de cellules microgliales prétraité avec le millepertuis (*Hypericum perforatum L.*) extrait (HPE), la mort cellulaire provoquée par le traitement par bêta-amyloïde (25-35) et (1-40) a été atténuée de manière significative dans une relation dose-manière dépendante. L'étude des composés uniques dans l'extrait révélé que les flavanols (+)-catéchine et (-)- épicatechine accroître la viabilité des cellules légèrement, tandis que le flavonol quercétine et ses glycosides rutine, hyperosid et quercitrine n'ont montré aucun effet sur la viabilité cellulaire. En revanche, à la même concentration, les flavonoïdes réduits la formation d'espèces réactives de l'oxygène amyloïde induit dans la microglie, qui indique que l'amélioration de la viabilité cellulaire par les catéchines n'est pas corrélée à l'activité antioxydante. Aucune influence de HPE sur la capacité de la microglie à phagocyter des concentrations sous-toxiques de la bêta-amyloïde fibrillaire (1-40) a été observée. D'autres expériences ont montré que HPE, (+)-catéchine et (-)-épicatechine peut altérer la fluidité des membranes cellulaires et ainsi peut avoir un effet bénéfique sur la santé des cellules. Nos résultats fournissent des preuves *in vitro* que le traitement particulier avec l'extrait de plante complexe qui peut restaurer ou améliorer la viabilité des microglies et ainsi atténuer la bêta-amyloïde, toxicité induite dans la maladie d'Alzheimer, donc induit une amélioration de l'état cellulaire du système nerveux, soit en nombre ou en forme de cellules. [222].

CHAP II : BOSWELLIA



II. Boswellia

II.1. Matériel et méthodes

L'oliban utilisé dans cette étude est la résine qui exsude du tronc et de l'écorce de l'arbre de *Boswellia carteri* récoltée de Sahara de sud algérien, wilaya d'Adrar et identifié à l'aide de Dr. BELHACINI Fatima Maître de conférence à l'université de Chlef.

La plante de *Boswellia* appartient à la famille de Burceraceae, ces résines proviennent de sud Algérien.



Figure 51: résine de *Boswellia*

II.1.1 Etude *in vitro*

II.1.1.1. Echantillonnage

La résine Boswellique exploitée en cette étude a été collectée d'Adrar, la source a été affirmée par le collecteur, les conditions étaient sévères, de ce fait la récolte est très rare.

Pour soumettre la résine Boswellique, une série d'analyse a été effectuée commençant par l'élimination de toute substance étrangère qui s'est mêlée avec la résine (pierre, écorces...etc.).

II.1.1.2. L'extraction des huiles essentielles par hydro-distillation

II.1.1.2.1. La distillation est considérée comme un des meilleurs moyens d'extraction des huiles essentielles y compris l'acide Boswellique dans notre cas. Le principe de cette dernière

repose sur une évaporation suivi d'une condensation afin de récolter que le principe qui nous intéresse. La durée de la distillation était basée sur la sensibilité de notre principe.

Au début de l'opération on a également vérifié l'installation et le bon équilibre du montage.

- Adapter les tuyaux d'arrivée et de sortie d'eau froide à un bain marie.
- Mettre le chauffe-ballon en marche et vérifier régulièrement que le condenseur est alimenté en eau froide.
- Placer à la sortie du réfrigérant un erlenmeyer afin de récupérer le distillat.
- Protéger la sortie du condenseur qui est en contact avec l'erlenmeyer de récupération du distillat avec du para film, afin d'éviter les pertes de composés volatils.
- Porter à ébullition 100°C (température adéquate au principe d'extraction de la résine) un mélange eau avec 100 g de la résine Boswellique : les espèces chimiques odorantes sont ainsi libérées (soluble dans l'eau) sont entraînées par la vapeur d'eau puis récupérées dans un autre récipient après condensation dans le réfrigérant (2h).
- Le distillat obtenu contient une phase aqueuse ainsi qu'une phase organique constituée par l'huile essentielle et l'acide Boswellique. Lorsque les densités de ces deux phases sont proches on peut observer une émulsion.

II.1.1.2.2. Décantation

Elle consiste à séparer les deux phases liquides non miscibles de densités différentes ; leur séparation s'effectue progressivement sous l'action de la pesanteur en les laissant reposer.

Elle est réalisée dans une ampoule à décanter dans laquelle le mélange précédent se sépare en deux phases non miscibles pendant 2 à 3 minutes (figure n°...).

- Pour 100 ml de distillat, ajouter 2 g de Na Cl, en agitant afin d'avoir une solution salée pour diminuer la solubilité des huiles essentielle dans la phase aqueuse.

- verser 100 ml de cyclohexane sur le mélange précédent et l'introduire dans une ampoule à décanter.
- Reboucher l'ampoule, réaliser plusieurs cycles d'agitation et de dégazage.
- Laisser décanter [223]

Après décantation, l'apparition de deux phases distinctes a été remarquée.

II.1.1.2.3. Elimination du solvant

On sépare le solvant volatil des huiles essentielles par évaporation à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le principe de cet appareil est basé sur l'abaissement du point d'ébullition sous pression réduite Placer la solution contenant le solvant à évaporer dans le ballon (2) et le placer sur l'évaporateur rotatif à l'aide d'un raccord.

- Placer le ballon (3) de récupération du solvant pur à l'aide d'un deuxième raccord.
- Faire plonger le ballon (2) dans le bain marie réglé préalablement à la température d'évaporation du solvant.
- Mettre le ballon en rotation.
- Mettre en marche la circulation d'eau froide dans le réfrigérant.
- Après disparition complète du solvant du ballon (2), récupérer les huiles essentielles, les pesées.

II.1.1.2.4. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont conservées dans des flacons en verre fumé placés dans un endroit sec et frais à l'abri de la lumière

II.1.1.3. Extraction alcoolique :

L'extraction des polyphénols a été réalisée en utilisant l'éthanol et le méthanol. En suivant les étapes suivantes.

Le matériel végétal (résine) a été extrait à température ambiante avec de l'éthanol /méthanol (100 ml) par macération (3 x 24 h) et cette procédure a été répétée deux fois. L'extrait a été filtré et séché sous pression réduite à une température inférieure à 45 ° C.

II.1.1.4. Les tests phytochimiques sur la résine boswellique

Les tests phytochimiques est effectuées au niveau de laboratoire de biotechnologie végétale de la faculté de biologie de Chlef.

Le but des tests phytochimiques est la recherche de la présence ou l'absence de certains métabolites secondaires(les saponosides, les alcaloïdes, les tanins ...etc.) dans la résine de *Boswellia carteri*.

Tableau 15: les tests phytochimiques

Test	Méthode
Les saponosides (Les saponines ont reçu leur nom du fait qu'elles produisent une mousse semblable à celle du savon).	- On a fait la préparation d'une solution de 1g de la résine boswellique dissoute dans 100ml d'eau distillé à chaud (infusion) -A l'aide d'un papier filtre, on filtre 6ml de la solution précédente et on la mettre dans un tube à essai puis agiter manuellement dans le sens de la longueur pendant 15 mn, puis mesurer la hauteur de la mousse dans le tube.
Les tanins (Ce sont des composés polyphénoliques qui permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections).	- On a pris 2,5 ml de la solution de résine boswellique infusé et on l'ajoute 0,5 ml de FeCl ₃ (1%) et on observe le changement de la couleur.
Les anthocyanes	- à 2,5 ml de la solution de résine boswellique infusé on l'ajoute 2ml de HCl et quelque goutte d'ammoniaque
Les flavonoïdes (sont des pigments polyphénoliques qui possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques : anti-inflammatoires, anti virales et d'autres ont des effets protecteurs sur le	- 2,5 ml de la solution de résine boswellique infusé avec 2,5 ml d'alcool chlorhydrique et quelque coupeau de Mg et 1ml alcool isoamylique

foie).	
Les alcaloïdes	<p>- Macération</p> <p>La poudre végétale (10 g) dans un erlenmeyer de 250 ml+ 50 ml de H₂SO₄ dilué au 1/10 (50 ml).</p> <p>Agitation et macération pendant 24 heures à la température ambiante du laboratoire. Filtration sur papier, lavé à l'eau distillée de manière à obtenir environ 50 ml de filtrat.</p> <p>- Réactions de caractérisation</p> <p>- 1 ml de filtrat + 5 gouttes du réactif de MAYER (5 g de KI et 1,358 g de HgCl₂ solubilisés dans 100 ml d'eau distillée) s'il apparaît un précipité c'est qu'on est en présence d'alcaloïdes. (Précipité blanc - jaunâtre)</p> <p>- 1 ml de filtrat+ 5 gouttes de réactif de WAGNER (2 g de KI et 1,27g d'I₂ solubilisé dans 100 ml d'eau distillée) s'il apparait un précipité brun c'est qu'on est en présence d'alcaloïdes.</p>
Les terpènes	<p>Elle se fait sur une macération de 24h à 5% dans l'éther. L'extrait étherique est ensuite évaporé à sec et repris avec 1 ml de l'anhydride acétique puis 1 ml de chloroforme. Déposer au fond du tube, contenant l'extrait, de l'acide sulfurique. En cas de réaction positive il se forme un anneau rouge-brunâtre ou violet à la zone de contact des deux liquides, la couche surnageante étant verte ou violette.</p>

II.1.1.5. Identification de la composition chimique par GC/MS:

Les analyses par GC/MS ont été exécutés sur un appareil Agilent technology 6890N équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et connecté à un spectromètre de masse Agilent technology 5973N mass selective detector , et à une source d'ionisation (IE).

Les déterminations analytiques ont été effectuées en utilisant les conditions expérimentales suivantes : Une colonne capillaire à haute pression de dimension (60.0 m × 0.25 mm × 0.25 m.); le gaz transporteur est l'hélium; injection (mode splitless); un injecteur et un détecteur de température ont été préréglés à 250°C. La température du four a été programmé comme suit: la colonne a été initialement maintenu à 60 °C pendant 10 minutes après injection, puis a augmenté à 220 °C avec un chauffage par pas de 4 °C / min pendant 10 min, encore augmenté

à 240 °C avec un chauffage progressif de 1°C/min, et enfin, tenue à 240 °C pendant 10 min. Les températures de l'injecteur et de détecteur (FID) ont été maintenues à 250 °C. L'échantillon a été injectée, l'huile a été également analysée par GC-MS en utilisant l'automate système Agilent 6890N de GC combiné avec un détecteur sélectif de masse Agilent 5973.

II.1.1.6. Evaluation de l'activité antioxydant in vitro (HE/les extraits alcoolique):

II.1.1.6.1. Test du DPPH

L'activité antioxydante in vitro a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl) selon la méthode décrite par Burits et Bucar [224], où 10µl de la solution d'extrait méthanolique/éthanolique/ ont été testée de concentrations 2mg/ml sont mélangées avec 90µl d'une solution méthanolique de DPPH (1,24mg/9ml). Après une période d'incubation de 30 minutes en obscurité à la température 37°C. L'absorbance est mesuré à la longueur d'onde de 515 nm. L'inhibition du radical libre DPPH par la quercétine a été également analysée à la même concentration pour faire la comparaison. On détermine la cinétique de la réaction et les paramètres de calcul de Pourcentage d'inhibition, l'index IC50). Tous les essais ont été effectués trois fois afin de vérifier la reproductibilité.

L'activité antioxydante, qui exprime la capacité de piéger le radical libre est estimée par le pourcentage de décoloration du DPPH selon la même équation :

$$AA(\%) = [(Abs_{contrôle} - Abs_{échantillon}) / Abs_{contrôle}] \times 100$$

II.1.1.6.2. Test de blanchissement du β-carotène

Nous avons évalué l'activité antioxydante de l'extrait de la plante étudiée par le biais de la méthode du β-carotène. L'activité antioxydante de l'extrait de la plante de Boswellia est mesurée selon la méthode de Kartal et al, (2007).[225]

Dans ce test, la capacité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique [226] qui attaquent simultanément le β -carotène et ayant comme résultat le blanchissement du β -carotène et la disparition de sa couleur orange. [227]

L'émulsion de β -carotène /acide linoléique est préparée par solubilisation de 8 mg de β -carotène dans 4 ml de chloroforme. On prélève 1 ml de cette solution qui est ajoutée à une fiole contenant préalablement 100 μ l d'acide linoléique et 800 mg de tween 40.

Après mélange des deux phases, le chloroforme a été complètement évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide. Par la suite, 400 ml d'eau oxygénée ont été ajoutée au mélange précédent avec agitation rigoureuse. 1,25 ml de l'émulsion obtenue ont été additionnés à une série de tubes contenant 1,75 ml de dilution d'huile essentielle à tester ou de l'acide ascorbique (antioxydant de contrôle). Les tubes ont été placés, à l'obscurité, pendant 48 heures.

L'activité antioxydante relative de l'extrait est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [\text{antiox (48 h)} / \text{Antiox (0)}] \times 100$$

Où : Antiox (0) et Antiox (48) : les absorbances en présence d'antioxydants à 0 et 48 heures.

II.1.1.6.3. Le test au DMPD :

Le principe de la méthode de N,N-diméthyl-1,4-diaminobenzène est identique à celui de DPPH,

Le composé N, N-diméthyl-1,4-diaminobenzène (DMPD) est transformé en solution relativement forme un radical stable et colorée par l'action du sel ferrique. Après l'addition d'un échantillon contenant des radicaux libre, ceux-ci sont balayés et la solution colorée se décolore [228,229].

Préparation des réactifs: Solution 1: tampon acétate (0,1 mol.L⁻¹, pH 5,25 : 1a), 2,17 g d'acétate de sodium trihydrate est dissous dans 80 ml d'eau;

1b), 300 µl d'acide acétique concentré (> 99,5%, v / v) est diluée à un volume de 20 ml avec de l'eau ACS. Ces deux solutions sont mélangées pour atteindre un pH = 5,5).

Solution 2 : Pour le DMPD, 4,2mg est dissoute dans 200µl d'eau, (36,7 mmol·L⁻¹ DEPG: 25 mg de DEPG est dissous dans 5 ml d'eau. Cette solution doit être préparée au moment de l'utilisation en raison de sa faible stabilité.

Solution 3: 0,74 mmol·L⁻¹ chlorure ferrique: 1 mg de FeCl₃ · 6H₂O est dissous avec de l'eau à un volume de 5 ml. Ces trois solutions (Les solutions N ° 1, 2 et 3) sont mélangées avec les proportions (20ml+200µl+40µl successivement)

Le protocole de cette expérience consiste à ajouter 10µl des extraits au mélange précédent, 10µl d'éthanol servir de blanc, et de l'acide ascorbique comme contrôle positif.

Après 10min nécessaire à la réaction, l'absorbance est mesurée à $\lambda = 505$ nm.

II.1.1.6.4. Méthode de chélation du métal

La réaction directe d'une substance n'est pas le seul mécanisme par lequel les antioxydants peuvent afficher leur activité. Secondaire, préventive, ou de type 2, les antioxydants agissent à travers de nombreux mécanismes possibles. Ces antioxydants ne convertissent pas les radicaux libres à des produits plus stables, mais ralentissent le rythme de l'oxydation par plusieurs mécanismes différents. L'un des mécanismes les plus importants de l'action des antioxydants secondaires est la chélation des métaux pro-oxydants. Le fer et d'autres métaux de transition (cuivre, le chrome, le cobalt, le vanadium, le cadmium, l'arsenic, le nickel) favorisent l'oxydation en agissant comme catalyseurs de réactions des radicaux libres. Ces métaux de transition redox-actifs transfèrent des électrons uniques lors des changements de l'état d'oxydation. La chélation des métaux par certains composés diminue leur effet pro-oxydant par la réduction de leur potentiel d'oxydo-réduction et de stabilisation de la forme oxydée du métal. Les composés chélatants peuvent également entraver stériquement la formation du complexe d'hydroperoxyde de métal. L'activité de chélation des extraits est comparé à un standard de chélation, l'EDTA, le protocole de cette expérience consiste à ajouter 10µl de la solution de chlorure du fer (FeCl₂) à 20µl des extraits et ajouter ensuite 40µl de ferrosine; la réaction nécessite 10mn, et la lecture de l'absorbance est faite à 562nm.

[230]

II.1.1.6.5. FRAP

La méthode de pouvoir antioxydant de réduction ferrique FRAP (Ferric reducing antioxydant power) est basée sur la réduction des complexes de Ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ qui est presque incolore, et éventuellement légèrement jaunâtre. Ce produit chimique forme des complexes ferreux verts après sa réduction. La méthode se résume en mélange des extraits/la référence qui est la quercitine (10 μ l) avec 25 μ l de $K_3Fe(CN)_6$ avec un tampon de phosphate de potassium (25 μ l).

Cette réaction nécessite 30mn et la lecture a été faite à $\lambda = 700$ nm

II.1.1.6.6. PRAP (phosphormolybden reducing power)

Afin d'effectuer des tests de PRAP sur les extraits et le réducteur de référence qui est la quercitine pour ce test, chaque extrait y compris la référence est pris d'une valeur de 300 μ l mélangés avec 1ml de la solution d'acide phosphomolybdique à 10%.

La solution a été ensuite soumise à une incubation à 80°C pendant in et l'absorbance a été lue à 600 nm. [230]

II.1.1.6.7. CUPRAC

La méthode CUPRAC (cupric ion reducing power) consiste à mélanger la solution anti-oxydant : 25 μ l des extraits, 25 μ l de $CuCl_2$ (directement ou après hydrolyse acide) avec 25 μ l de solution de $CaCl_2$ néocuproïne, 25 μ l d'acide nitrique et 100 μ l d'eau à pH 7, et en mesurant l'absorbance à 450 nm après 30 minutes.

II.1.1.6.8. Traitement des données pour des dosages d'activité anti-oxydante

L'inhibition de DPPH, DMPD et la capacité de chélation métallique ont été calculé comme indiqué ci-dessous et les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%):
Inhibition %= $(Abs\ control - Abs\ test) \times 100 / Abs\ control$, où A st l'absorbance de la référence. Les analyses ont été triple effectuées et les résultats ont été exprimés en valeurs moyennes avec SEM. Pour les méthodes FRAP et PRAP, les analyses ont été également obtenus en triple dans et l'augmentation de l'absorbance de la réaction signifiait le pouvoir réducteur.

II.1.1.6.9. L'activité anticholinestérasique

L'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase AChE et la butyrylcholinestérase BChE des extraits a été déterminée par la méthode spectrophotométrique modifiée d'Ellman [9]. L'acétylcholinestérase de l'anguille électrique (Type-VI-S, EC 3.1.1.7, Sigma) et le sérum de cheval butyrylcholinestérase (CE 3.1.1.8, Sigma) ont été utilisés comme sources d'enzymes, tandis que l'iodure d'acétylthiocholine et le chlorure de butyrylthiocholine (Sigma, St. Louis, MO, USA) ont été utilisés comme substrats de la réaction. Le 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoïque) (DTNB, Sigma, St. Louis, MO, USA) a été utilisé pour la mesure de l'activité du cholinestérase. En bref, le phosphate de sodium 140 μ L de 0,1 mM, un tampon (pH 8,0), 20 μ L de 0,2 M de DTNB, 20 μ L de solution d'échantillon et 20 μ L de 0,2 M d'acétylcholinestérase / butyrylcholinestérase en solution ont été ajoutés par la pipette automatique multicanal (Gilson Pipetman, France) dans une microplaque à 96 puits, et incubées pendant 15 min à 25 °C. La réaction a ensuite été initiée avec l'addition de 10 μ L d'iodure acétylthiocholine 0,2 M / de chlorure butyrylthiocholine. L'hydrolyse de l'iodure acétylthiocholine / chlorure butyrylthiocholine a été suivie par la formation de la couleur jaune de l'anions 5-thio-2-nitrobenzoate en tant que résultat de la réaction de DTNB avec thiocholines, catalysées par des enzymes à une longueur d'onde de 412 nm en utilisant un lecteur de microplaques à 96 (VersaMax, Molecular Devices, USA). La Galanthamine, l'alcaloïde de type anticholinestérasique de médicament isolé des bulbes de perce-neige (*Galanthus* sp.), provenant de Sigma (St. Louis, MO, USA) ont été utilisé comme référence.[230]

II.2. Etude *in vivo* :

II.2.1. Matériel animal:

Le modèle biologique choisi pour cette étude expérimentale est la souris «swiss» provenant de l'institut de Pasteur (Alger). Un effectif de 42 souris d'un poids moyen de 30 ± 5 g ; les souris ont été élevées dans l'animalerie de l'université de Mostaganem dans les conditions suivantes :

La température de 25°C, un cycle nyctéméral (lumière/obscurité) de 12/12h, une ration alimentaire journalière (ONAB) de 18g/jour/souris avec accès libre à l'eau.

- La prise du poids des souris et le volume de la solution consommée étaient mesurés chaque semaine.

II.2.2. Intoxication à l'aluminium et maladie d'Alzheimer:

Les souris ont été intoxiquées par le chlorure d'aluminium (AlCl_3 dissout dans l'eau distillé d'une dose de 100 mg /Kg administré par voie orale, l'induction de la maladie Alzheimer se fait suite à l'injection d'une dose de 200 mg / Kg de D –galactose par voie intra péritonéale.

La plante médicinale choisie dans notre étude pour le traitement est *Boswellia sp* administrée par voie orale à une dose de 200 mg /kg.

II.2.2.1. Répartition des lots expérimentaux :

Cette partie d'étude s'intéresse à la neurotoxicité d'aluminium (AlCl_3) par voie orale ; et l'effet antioxydant de résine Boswellique.

Six groupes expérimentaux avec sept souris dans chaque groupe sont répartis comme suit :

Lot 1 : représente le lot Témoin (**T**) qui reçoit que l'eau potable pendant 90 jours.

Lot 2: représente le lot Témoin traite (**T Tr**) par la poudre de résine de *Boswellia sp* (dissous en eau distillée) à une dose de 200 mg/Kg par voie orale pendant 90 jours.

Lot 3 : représente le lot intoxiqué(**I**) : les souris ont été intoxiqués par chlorure d'aluminium l' AlCl_3 (dissous en eau distillée) à une dose de 100mg/Kg par voie orale pendant 90 jours.

Lot 4 : représente le lot intoxiqué traite (**I Tr**) : les souris ont été intoxiqués par chlorure d'aluminium l' AlCl_3 (dissous en eau distillée) à une dose de 100 mg/Kg par voie orale durent 20 h /Jour et traite par la poudre de résine de *Boswellia sp* (dissous en eau distillée) à une dose de 200 mg/Kg par voie orale durent 4 h /jour pendant 90 jours.

Lot 5 : représente le lot model Alzheimer (ALZ): les souris reçoivent l' AlCl_3 à une dose de 100mg/Kg par voie orale et 0.1 ml de D-galactose à une dose de 200 mg/Kg /jour par voie intra péritonéal (IP) pendant 90 jours.

Lot 6 : représente le lot model Alzheimer traite (ALZ Tr): les souris reçoivent l'AlCl₃ à une dose de 100mg/Kg par voie orale durent 20 h /jour et 0.1ml de D-galactose à une dose de 200mg/Kg/jour par voie intra péritonéal (IP) pendant 13 semaine suivi par un traitement par la poudre de résine de *Boswellia sp* (dissous en eau distillée) à une dose de 200 mg/Kg par voie orale durent 4 h/jour pendant 90 jours.

II.2.2.2. Test de toxicité aigüe de la résine de *Boswellia*

Cette étude consiste à déterminer la toxicité aigüe de la solution de résine boswellique administrée par voie orale. Le but recherché est de déterminer l'éventuelle toxicité de la résine boswellique sur les souris en fonction de la dose administrée (exprimée en mg/kg) pendant 48h.

II.2.2.3. paramètres étudiés :

II.2.2.3.1. Evaluation comportementale :

L'évaluation comportementale fonctionnelle est exigée, c'est un élément clé pour examiner le statut nerveux (détermination du comportement). Ces directives s'appliquent aux animaux dans des essais spéciaux, y compris ceux de l'activité locomotrice, la curiosité (essais de trous), test d'anxiété (compartiment noir et blanc) et le test de persolt.

Une évaluation comportementale fonctionnelle est employée pour mieux comprendre le modèle et le but, ou la fonction d'un comportement.

II.2.2.3.1.1. L'activité locomotrice :

De même principe cité précédemment, ce test permet de mesurer les déplacements de l'animal, en plus des informations sur l'activité locomotrice ; il est réalisé dans les mêmes conditions citées auparavant. On met la souris dans la cage et on marque son déplacement ; chacun de ce dernier compte pour un score.

II.2.2.3.1.2. Test de compartiment noir et blanc (test de stress)

Par le même principe cité auparavant, ce test permet d'évaluer l'anxiété de l'animal par calcule le temps de séjour de l'animal dans chaque compartiment.

II.2.2.3.1.3. Test de curiosité (Le test de la planche à trous)

Ce test permet de révéler la curiosité de l'animal et la capacité qu'il a à chercher à fuir. Ce test est réalisé en mêmes conditions précédentes.

II.2.2.3.1.4. Anxiété et dépression :

II.2.2.3.1.4.1. Evaluation de l'anxiété dans le test du labyrinthe en croix surélevée (Elevated plus maze) :

Parmi les différents tests comportementaux permettant d'évaluer l'anxiété chez la souris, nous avons choisi d'utiliser le test du labyrinthe en croix surélevé. ce test est base sur l'aversion naturelle que présentent les rongeurs pour les espaces ouverts (Treit et Coll .,1993) [231] .

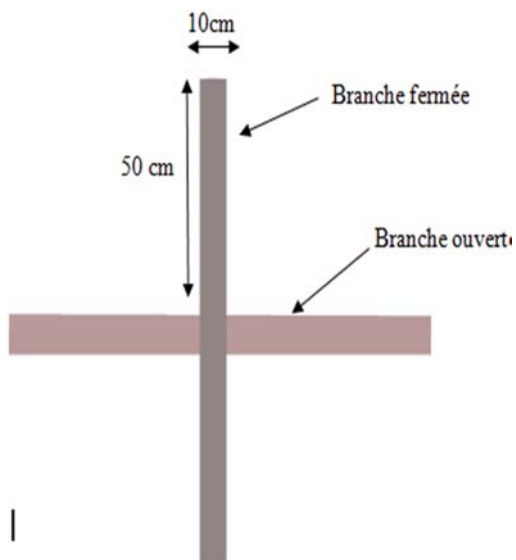


Figure 52 : schéma du dispositif du test du labyrinthe en croix surélevé

I.2.2.3.1.4.2. Test de Persolt.

Le but de ce test c'est de calculer le temps de la nage avant l'immobilité pour chaque souris pendant 5 min.

II.2.2.3.1.5. Test de mémoire :

II.2.2.3.1.5.1. Le labyrinthe a 8 bras :

L'évaluation de la mémoire de l'animal nécessite différents types de labyrinthe. Elles ont été employées en neurologie depuis les deux derniers siècles. Les chercheurs nous ont proposé récemment plusieurs modèles, le plus utilisé est celui de labyrinthe radial à 8 bras en même jour, pour pouvoir évaluer la mémoire acquise durant les jours successifs de l'apprentissage.

« Le labyrinthe radial à huit bras », proposé par D.S Olten et R .J. Samuels [232] est un de intensivement utilisé dans les laboratoires l'essai de la mémoire spatiale et non spatiale de sélection liées avec les éléments de motivation. On a exploité le même dispositif de l'expérience précédente

A .Mémoire spatiale de travail :

La souris doit chercher la nourriture au fond de chaque couloir, elle est enregistrée sous le score de visite. Pendant une période 5 jours 5 minutes par séance. Détails cité précédemment

B- mémoire non spatiale de préférence conditionnée :

Au cours de cette expérimentation, seulement deux bras du labyrinthe sont utilisés. Un bras éclairé avec un morceau de nourriture à son extrémité, l'autre bras est non éclairé.

C-distinction de position

Dans ce test six bras du labyrinthe sont utilisés.

II-2-1-2-1-5-2- La piscine de Morris :

Ce test est l'un des plus utilisé pour évaluer les capacités à mémoriser et à gérer information spatiale chez l'animal dans une situation aversive décrite par **Morris (1984)** [233]. La tâche consiste pour l'animal à localiser, à l'aide des indices distaux hétérogène, une plateforme « refuge », le principe de ce test est détaillé précédemment.

II.2.2.3.1.5.3. Le test du labyrinthe en double –H :

➤ Description du dispositif :

Le «double H» est un labyrinthe aquatique récemment développé par JEAN Christophe Cassel et validé par le laboratoire [234,235] (**Pol-Bodetto et al,2011 ; ;Cassel et al, 2012**).

Ce labyrinthe permet d'évaluer les capacités de mise en place d'une mémoire spatiale et/ou procédurale chez le rongeur dans une situation «aversive» [234,235] (**Pol-Bodetto et coll., 2011 ;Cassel et coll.,2012**). Il est composé de trois branches parallèles (de 100cm de longueur et 12 cm de largeur qui sont traversées en milieu par une quatrième branche (perpendiculaire).le labyrinthe est fermé par des cloisons d'une hauteur de 30 cm. Des portes guillotines permettent de condamner l'entrée de chaque branche. L'ensemble du dispositif est placé en hauteur (80cm au-dessus sol).

Le dispositif est partiellement rempli d'eau (21°C) qui est opacifiée à l'aide du lait en poudre.une plate-forme d'un diamètre de 7cm est placée sous le niveau de l'eau (1,5cm en dessous) dans le bras Nord-Ouest(Fig 53.)

Le dispositif est installé dans une pièce dédiée, comportant des indices distaux fixe.

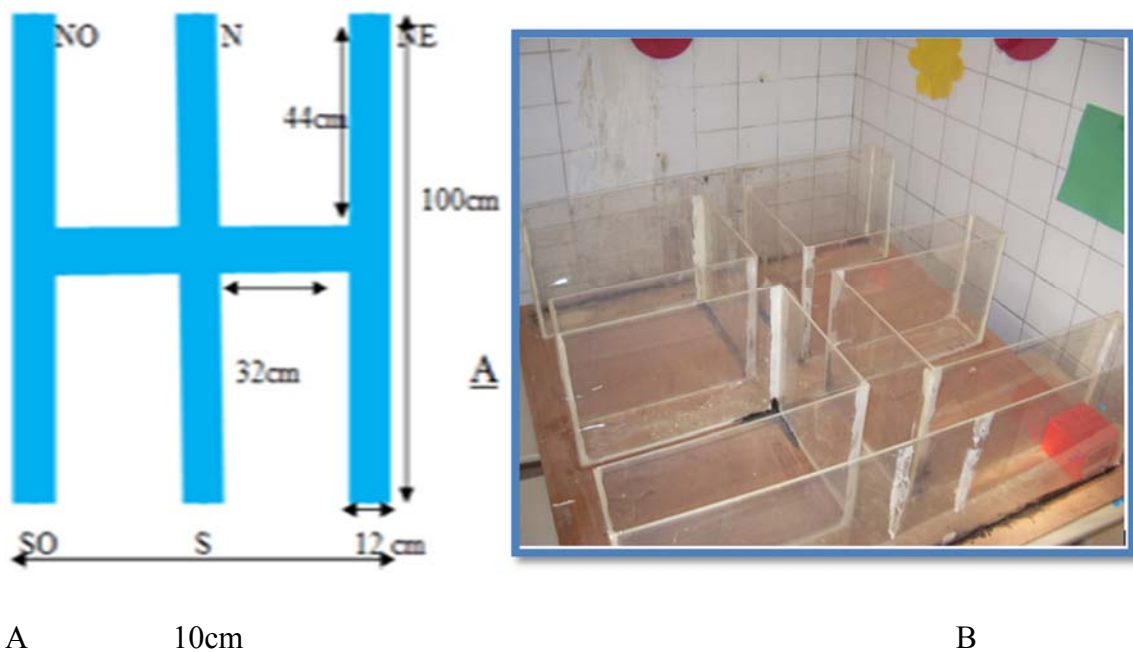


Figure 53: (A) Schéma du dispositif du double –H. (N) : Bras Nord ;(NO) : bras Nord-Ouest ;(NE) : Bras Nord -Est ;(S) : Bras Sud ;(SO) : bras sud-ouest ;(SE) : bras sud Est (B) Photographie du dispositif du test du double H .

L'intérêt de ce dispositif est qu'il ne permet pas un déplacement aussi libre que dans la piscine de Morris. Le test offre en outre la possibilité d'influencer plus facilement le type de mémoire utilisée par la souris pour apprendre à aller vers la plante –forme.

A. Première version du protocole :

Le but de ce protocole est l'évaluation de la mémoire procédurale et/ ou la mémoire spatiale de références. Il comporte 4 jours d'apprentissage à raison de 4 essais discrets par jours puis d'un test de rétention le 5^{ème} jour.

Lors de **l'apprentissage ou l'acquisition**, la souris est placée dans le bras Nord(N) au début de chaque essai. Le bras sud S est condamné. si la souris ne trouve pas la plate-forme au bout de 60sec, elle y est conduite par l'expérimentateur. L'intervalle inter-essai, durant lequel la souris était laissée sur la plate-forme. L'animal va être en quelque sorte contraint d'effectuer une séquence de déplacement qui sera identique d'un essai à l'autre pour rejoindre la plate-forme, dans notre cas, aller à droite puis à

droite par exemple de manière à influencer le type de mémoire que la souris utilise (Figure 54)

Lors du test de **réention**, la souris est placée dans la blanche Nord -Est est laissé libre de son comportement de recherche pendant 60 sec. pour cet essai la plate-forme est retirée du dispositif .on mesure alors le temps passé dans le bras Nord-Ouest (NO) (ou se trouvait auparavant la plate-forme) ce qui nous donne une idée sur l'état de **la mémoire spatiale de référence** de l'animal. D'autre part, l'enregistrement du premier bras visité ainsi que la comparaison entre le nombre de visite du bras nord N et nord-ouest NO nous permet de connaître le type et l'état de la mémoire utilisée par la souris, sa **mémoire procédurale** ou bien sa **mémoire spatiale de référence**. Figure .B

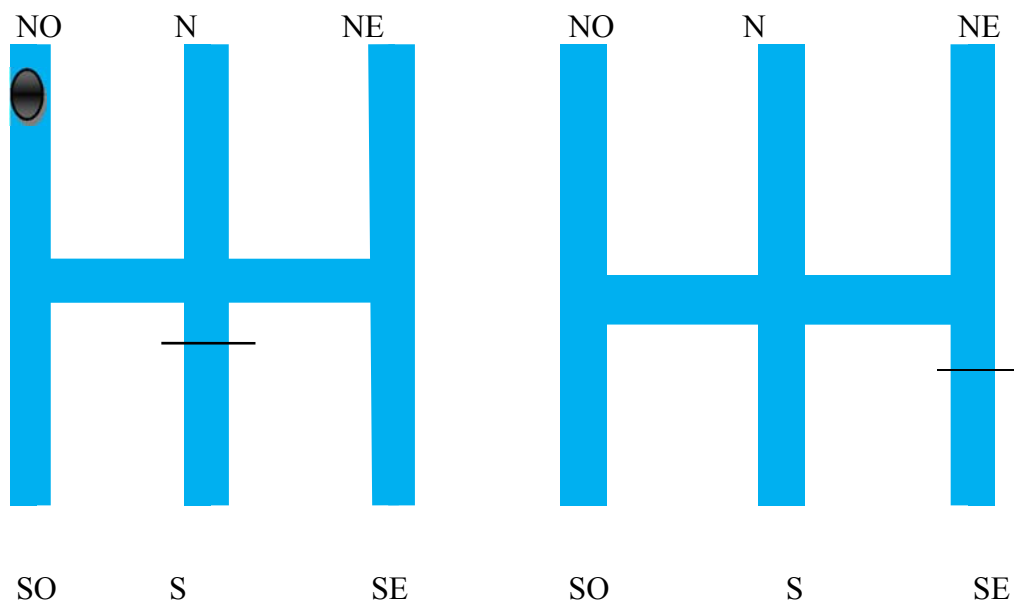


Figure 54: schéma du premier protocole du labyrinthe du double –H

A : protocole d'acquisition. B test de réention. En rouge ; trajectoires d'une souris qui utilise sa mémoire procédurale; en jaune ; trajectoire d'une souris qui utilise sa mémoire spatiale de référence.

B. Deuxième version du protocole :

Le deuxième protocole contient une évaluation de la mémoire spatiale de référence (a long- terme) ainsi que celle de travail (à court-terme) des souris. Les animaux reçoivent 4 jours d'apprentissage a raison d'une session de 4essais par jour suivis d'un test de réention dans le cinquième jour

Lors de **l'apprentissage ou l'acquisition**, la plate-forme était positionnée à l'extrémité de la branche nord-est(NE)et ne changeait pas d'emplacement lors de l'apprentissage .Les points de départ étaient soit la branche nord (N)soit la branche sud (S) .l'ordre des points de départ était contre balancé d'une session a l'autre (NSSN,SNNS,NSNS,SNSN) de façon à ce que l'animal ne puisse pas utiliser qu'une mémoire à court terme sans que les informations des jours précédents ne puissent lui être d'une quelconque utilité ainsi, pour chaque jour de test, le premier essai permettra à la souris de repérer l'emplacement de la plate-forme pour le jour en question, le second, les connaissances de cet emplacement pour le rejoindre le plus rapidement possible. L'accès au bras faisant face au bras de départ était condamné a l'aide d'une porte guillotine. Chaque essai durait au maximum 60sec, et l'intervalle inter-essai, durant lequel la souris était laissée sur la plate-forme, étaitde10sec (figure A) . les moyennes de temps nécessaires pour atteindre la plate-forme au quatre essais sont calculée et leur comparaison permettra de vérifier s'il y a eu ou non amélioration d'un essai a l'autre. Une amélioration des performances entre les 4 essais est considérée comme traduisant une **mémoire de travail** opérationnelle.

Lors du test de **réention**, la plate-forme était retirée du dispositif et les souris avaient un unique essai de 60sec. Les animaux étaient introduits dans le dispositif à l'extrémité du bras sud-ouest (SO) .le bras opposé nord-ouest(NO) était condamné par une porte guillotine.

Le choix du premier bras, le temps passé dans les bras nord-est(NS), nord(N) et sud(S) va définir l'état de la mémoire spatiale de référence (à long terme) des souris

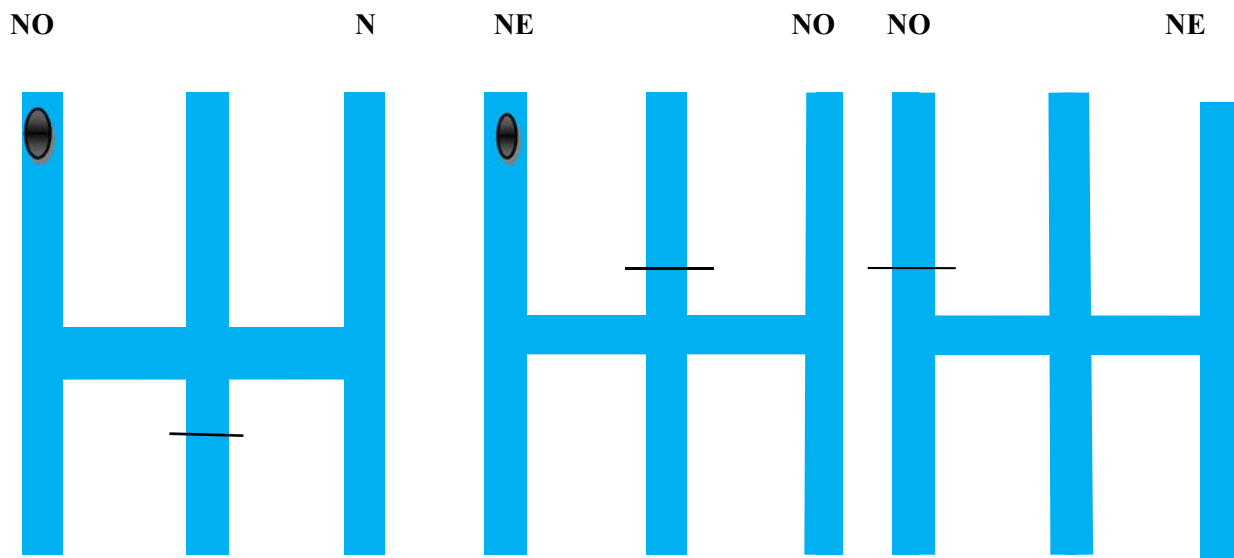


Figure 55: schéma du deuxième protocole du labyrinthe du double -H

A : protocole d'acquisition. B : test de rétention.

II.2.2.3.3. Dosage de l'aluminium dans le cerveau par SAA :

Le dosage de l'aluminium dans notre expérimentation a été réalisé par la spectrophotométrie d'absorption atomique réalisé par Absorption Atomique 240 Z AA a Four Graphite (GTA 120) a Correction Zeeman, qui est un processus qui se produit lorsqu'un atome appartenant à l'état fondamental passe à l'état excité par l'absorption d'une énergie, sous la forme d'un rayonnement électromagnétique, qui correspond à une longueur d'onde spécifique. Le spectre d'absorption atomique d'un élément est constitué d'une série de raies de résonance, tous originaires de l'état électronique fondamentale et finissent dans différents états excités. Les échantillons destinés à une analyse par spectrométrie atomique sont pour la plupart dissouts en milieu aqueux et introduit dans l'atomiseur par un nébuliseur, celui-ci aspire l'échantillon liquide à travers un capillaire par un flux de gaz à haute pression qui s'écoule autour de l'extrémité du tube (aspiration). Les cerveaux prélevé sont dissous dans de l'acide nitrique pur HNO_3 ; une filtration était nécessaire pour l'obtention d'un liquide clair, pour passer par la suite à l'aspiration par le capillaire, la totalité des échantillons s (cerveaux complets) passe par un four de graphite pour la minéralisation des et l'élimination tout trace de matière organique. Le détecteur affiche après l'atomisation les valeurs en concentration du

métal (L'aluminium dans ce cas). Les étalons préparés avec des solutions de 1000 mg/l pour l'Al.

1- Al: La longueur d'onde: 309.3 nm

La fente: 0.5 nm.

Le Courant de lampe: 10.0

II.2.3. L'intoxication au plomb :

Vu l'apparition des anomalies suite à l'invasion des métaux lourds à notre vie quotidienne y compris le plomb on a fixé un objectif qui consiste à évaluer l'effet protectif de l'extrait aqueux de la résine boswellique vis-à-vis de l'intoxication au plomb au niveau du système nerveux centrale et hépatique et sanguin chez les souris *swiss* femelle. Notre travail expérimental comporte les approches suivantes:

- Approche neurocomportementale : Etude de comportement des animaux.
- Approche biochimique : Dosage des marqueurs biologiques du fonctionnement hépatique (TGO ; TGP) ainsi que le dosage de Calcémie.
- Etude histologique de tissus nerveux
- L'étude expérimentale in vivo a été réalisé sur des souris «*swiss*» d'un effectif de 32 souris femelle adulte âgés de deux mois et de poids ~ 18 g procurés aux prés de l'institut pasteur d'Alger. L'élevage des animaux a été réalisé au niveau de l'animalerie du département de Biologie, Université de Hassiba Ben Bouali-Chlef.
- Avant tout traitement, les animaux bénéficient d'un temps d'adaptation de 10 jours. Les animaux témoins et traités sont isolés dans des cages avec une mangeoire fixe et mené d'un biberon pour l'eau et aliment à volonté et soumis à des conditions expérimentales identiques de température contrôlée variée entre 18-25 °C et d'un cycle nyctéméral (lumière/obscurité) de 12/12h. Les animaux sont nourris par des aliments fournis par l'Office National des Aliments de Bétails (ONAB) d'Alger.

Cette toxicité aigüe est matérialisée par la dose létale (DL50) qui correspond à la dose qui provoque 50% de mortalité des souris traitées.

II.2.3.1. Répartition et traitements des lots

Les 32 souris ont été réparties selon leur poids au nombre de 8 souris par cage. Ils ont été divisés en quatre lots expérimentaux ; un lot témoin(T), un lot intoxiqué(I), un lot traité (Tr) et un lot intoxiqué-Traité (I-Tr). La durée de l'expérimentation était de 90 jours ; le mode d'administration est par voie orale (à volonté).

-Le premier lot intoxiqué (**lot I**) : N= 8 qui reçoivent en permanence de l'acétate de plomb (500ppm) diluée dans de l'eau distillée ; la concentration de l'acétate de plomb est relative au poids des souris intoxiqués.

-Le deuxième lot traité (**lot Tr**) : N=8 qui reçoivent en permanence de la résine boswellique (la plante) (200mg/kg) dissoute dans 500ml d'eau distillé.

-Le troisième lot intoxiqué-traité (**lot I-Tr**) : N=8 qui reçoivent deux solution par alternance, la solution de la résine boswellique (200mg/kg) dissoute dans 500ml d'eau distillé pendant 4 heures puis de l'acétate de plomb pendant toute la période restée (20heurs) par voie orale.

-Le quatrième lot témoin (**lot T**) : N=8 souris qui reçoivent uniquement de l'eau distillée.

La mesure de poids de chaque souris et la préparation des solutions du traitement a été faite à la fin de chaque semaine.

II.2.3.2. Les paramètres étudiés

- Cette étude à portée sur l'évaluation de l'effet de plomb et de la résine sur l'activité locomotrice, sur l'état d'anxiété et l'état de stress des souris. Ces tests sont réalisés à la fin du traitement.

- Certains paramètres biochimiques ainsi que l'étude histologique étaient nécessaire pour confirmer l'hypothèse.

II.2.3.2.1. Comportement stéréotypé (morsure, toilettage, reniflement)

Le comportement stéréotypé est utilisé pour décrire des comportements qui sont répétitifs mais dont on ne connaît pas le mécanisme. Il s'agit donc d'un terme descriptif qui ne tient pas compte de la cause sous-jacente, et qui regroupe aussi des comportements non

anormaux. Les stéréotypies sont alors décrites comme un sous-ensemble de comportements stéréotypés dont on connaît le mécanisme sous-jacent, c'est-à-dire des manifestations de persévération récurrente ou continue d'un comportement, associées à un dysfonctionnement cérébral. Certains auteurs emploient le terme « comportement stéréotypé » pour tout comportement répétitif, sans but apparent, même s'il présente une certaine variabilité, réservant ainsi le terme « stéréotypie » pour les formes plus prédictibles donc invariables on distingue : des morsures, toilettages et reniflements.

II.2.3.2.2. L'activité locomotrice

L'activité locomotrice des souris est caractérisée par l'activité horizontale et verticale des animaux dans une cage carrée (32x32cm) divisée en 16 carreaux identiques. Ce test permet de mesurer les déplacements de l'animal, en plus des informations sur l'activité locomotrice dans un espace clos. L'observation des animaux commence quelques secondes après l'introduction des animaux dans la cage d'observation. Ce test analyse le comportement exploratoire de la souris dans un espace clos.

On l'utilise avant tout pour mesurer ses fonctions motrices, mais aussi, pour évaluer son degré d'anxiété. Un animal anxieux évite le centre du terrain qui est ouvert, et reste au périphérique. Chacun de ce dernier compte pour un score de cases visitées.

Le test est réalisé en 4 phases 5min pour chacune, séparées par un temps de repos.

II.2.3.2.3. Test de la nage forcée

Est un test prédictif d'une activité de type antidépressive. Comme précédemment cité le temps de la nage et d'immobilité (TIM) sont compté afin d'exprimer un état de "désespoir comportemental".

II.2.3.2.4. Test de compartiment noir/blanc (test de stress)

Ce test permet une évaluation simple et rapide de l'anxiété comportementale. Les détails de ce test sont cités auparavant.

II.2.3.2.5. Sacrifice et prélèvement sanguin et d'organes

À la fin des 12 semaines et après l'étude comportementale, les souris sont anesthésiées à l'aide d'un coton imbibé par le chloroforme, puis sont sacrifiées par décapitation. Le sang

prélevé (figure 13) est récupéré dans des tubes secs et héparine utilisé pour les analyses biochimiques qui sont ensuite conservés à 4°C.

Après l'étape de sacrifice et de prélèvement sanguin, Nous avons fait la dissection des souris et le prélèvement des organes (foie, rein et cerveau).

II.2.3.2.5.1. Analyses biochimiques

Les analyses biochimiques ont été réalisées au niveau du Laboratoire de la clinique privé d'EL-IHSSAN de Chlef.

II.2.3.2.5.1.1. Evaluation de l'activité hépatique (dosage des transaminases)

Ces enzymes sont impliquées dans le métabolisme des acides aminés. Elles fonctionnent avec le phosphate de pyridoxal (dérivé de la vit B6) comme co-enzyme qui assure le transfert réversible d'un groupement amine entre un acide α -cétonique. Elles participent ainsi à la synthèse d'acides aminés et la régulation du cycle de Krebs.

A. Dosage de Transaminase Glutamino Oxaloacétique (TGO)

Appelée aussi L'aspartate aminotransférase (ASAT); est présente surtout dans le foie et le cœur un peu moins dans les muscles et les reins. Elle possède une isoforme cytoplasmique dont la demi-vie sanguine est d'environ 40h et une isoforme mitochondriale (stress oxydatif) dont la demi-vie est de 10h.

Le dosage sanguin de transaminases glutamino oxaloacétique TGO est prescrit dans les pathologies hépatiques.

Le principe du dosage est basé sur la cinétique enzymatique déterminant l'activité de l'aspartate aminotransférase Un volume de 1ml de réactif est ajouté à 0,1ml d'échantillon et le tout est incubé à 25°C.

La lecture de l'absorbance (A) des solutions après incubation est effectuée à une longueur d'onde de 340 nm. Le taux de GOT exprimé en U/L.

B. Dosage de la Transaminase Glutamino Pyruvique (TGP)

Appelée aussi Alanine aminotransférase (ALAT) ; Le dosage de la TGP (présente en particulier dans le foie) est surtout utilisé dans le diagnostic des hépatites aiguës, toxiques, infectieuses ou virales.

Le principe de cette méthode est basé sur la cinétique enzymatique en suivant l'activité de l'alanine aminotransférase (ALAT) dont l'appréciation de la réaction indicatrice qui consomme du NADH mesurée à 340 nm.

L'analyse se fait sur du sérum ou du plasma recueilli sur héparine car l'hémolyse invalide l'analyse.

Un volume de 1ml de réactif est ajouté à 0,1ml d'échantillon et le tout est incubé à 25°C. La lecture de l'absorbance (A) des solutions après 1, 2 ,3 et 4mn d'incubation est effectuée à une longueur d'onde de 340 nm. Le taux de GPT exprimé en U/L.

II.2.3.2.5.1.2. Dosage du plomb dans le cerveau par SAA :

La méthode exploitée est la même décrite en dosage de l'aluminium, l'étalon préparé avec des solutions de 1000 mg/l pour le Pb en conditions suivantes

1-Pb: La longueur d'onde: 283.3 nm

La fente: 0.5 nm.

Le Courant de lampe: 10.0

II.2.3.2.5.1.3. L'étude histologique :

L'étude histologique a été réalisée au niveau de la clinique privé de Dr Terkia, suivant les mêmes étapes précédentes.

II.3. Résultats

II.3.1. Résultats de l'étude *in vitro*

II.3.1.1. Les tests phytochimiques sur la résine boswellique

Après les différents tests phytochimiques que nous avons fait sur notre plante, on a trouvé :

Tableau 16 : resultats des tests phytochimiques

Test	Résultat
Les saponosides	Positive (+) (1.5cm de hauteur)
Les tanins	Négative (-)
Les anthocyanes	Négative (-)
Les flavonoïdes	Négative (-)
Les alcaloïdes	Positive (+) (Précipité blanc –jaunâtre) avec le réactif MAYER et (précipité orange) avec le réactif WAGNER
Les terpènes	Positive (+) (une couche surnageante verte)

Tableau 03: résultats des tests phytochimiques de la résine boswellique



Figure 56: test des saponosides



Figure 57: test des alcaloïdes



Figure 58: test des terpènes

II.3.1.2. Résultat de la composition chimique par CG-MS

89% de composants ont été identifiés par CG-MS d'où on a trouvé des composants à activité pharmacologique et antioxydante.

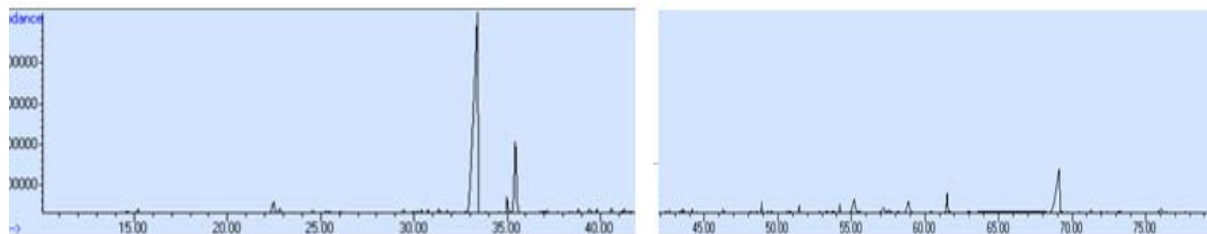


Figure 59: Chromatogramme de l'huile essentielle de la résine boswellique

L'identification des composants de l'huile a été attribuée par comparaison de leurs spectres de masse avec des banques d'huile essentielle Wiley et Nist. Les pourcentages des composants ont été calculés à partir des zones de pic GC en utilisant la méthode de normalisation.

Tableau 17: molécules identifiées de l'huile essentielle de la résine boswellique

Table 17. Composition de l'huile essentielle de la résine (%)				
	RRI ^a	Temps de Retention	Composant ^d	Pourcentage %
1	987	14,584	α -Pinene	0.23
2	999	15,215	Toluene	0.36
3	1177	22,483	Limonene	1.99
4	1196	22,836	1,8-Cineole	0.69
5	1235	24,583	(Z)- β -Ocimene	0.34
6	1250	25,271	<i>n</i> -Hexyl acetate	0.10
7	1254	25,480	<i>p</i> -Cymene	0.24
8	1262	25,853	2-Octanone	tr ^b
9	1267	26,071	Octanal	0.20
10	1356	29,936	2-Nonanone	0.11
11	1362	30,180	Nonanal	tr
12	1376	30,739	Benzene, 1-methoxy-2-methyl	0.21
13	1390	31,314	<i>n</i> -Octyl formate	0.44
14	1402	31,774	<i>cis</i> -Linalool oxide	0.27

15	1430	32,755	<i>trans</i> -Linalool oxide	tr
16	1448	33,391	<i>n</i> -Octyl acetate	64.30
17	1494	34,993	Linalool	1.12
18	1509	35,439	<i>n</i> -Octanol	10.97
19	1566	37,050	2-Undecanone	tr
20	1570	37,155	4-Terpineol	0.16
21	1634	38,817	2,6-Octadiene, 2,6-dimethyl	0.35
22	1659	39,411	Decyl acetate	0.38
23	1676	39,811	α -Terpineol	0.27
24	1706	40,599	<i>l</i> -Verbenone	0.20
25	1727	41,284	Carvone	0.30
26	1731	41,437	Geranyl acetate	tr
27	1767	42,615	Aldehyde Cuminique	0.27
28	1793	43,503	Acid Hexanoique	0.25
29	1797	43,638	<i>trans</i> -Carveol	0.21
30	1806	43,898	<i>para</i> -Cymen-8-ol	tr
31	1817	44,173	3,5-Dimethoxy toluène	0.29
32	1828	44,469	<i>cis</i> -Carveol	0.10
33	1897	46,269	Acide Heptanoique	0.21
34	2002	48,904	Acide Octanoique	0.75
35	2107	51,445	Acide Nonanoique	0.53
36	2180	53,338	Cembrene	0.20
37	2212	54,226	Acide Decanoique	0.68
38	2429	61,518	Acid Dodecanoique	2.61
39	2620	71,268	Acid Tetradecanoique	0.34
			Monoterpene hydrocarbons	2.80
			Monoterpenes Oxygenate	3.59
			Diterpène hydrocarbons	0.20
			dérivés d'Ester	65.22
			Autres	17.86

Total identifié	89.67
-----------------	-------

^a Indices de Rétention Relative déterminé par colonne HP-INNOWAX; ^bTrace (<0.1%)

II.3.1.3. Activité antioxydante de l'huile essentielle

L'activité antioxydante *in vitro* a été évaluée de deux manières différentes : le test au DPPH et la technique de décoloration de la β -carotène.

II.3.1.3.1. Piégeage du radical DPPH

Les résultats du pourcentage de piégeage du radical DPPH par l'addition de différentes concentrations en huile essentielle de *Boswellia sp* sont représentés dans la figure 60.

Notre huile essentielle présente une activité antioxydante, les pourcentages d'inhibition maximaux sont 54,14%, alors que pour l'acide ascorbique l'activité est 89,74%.

Nous remarquons que l'activité antioxydante de nous huile est inférieure à celle de l'acide ascorbique utilisé comme contrôle positif

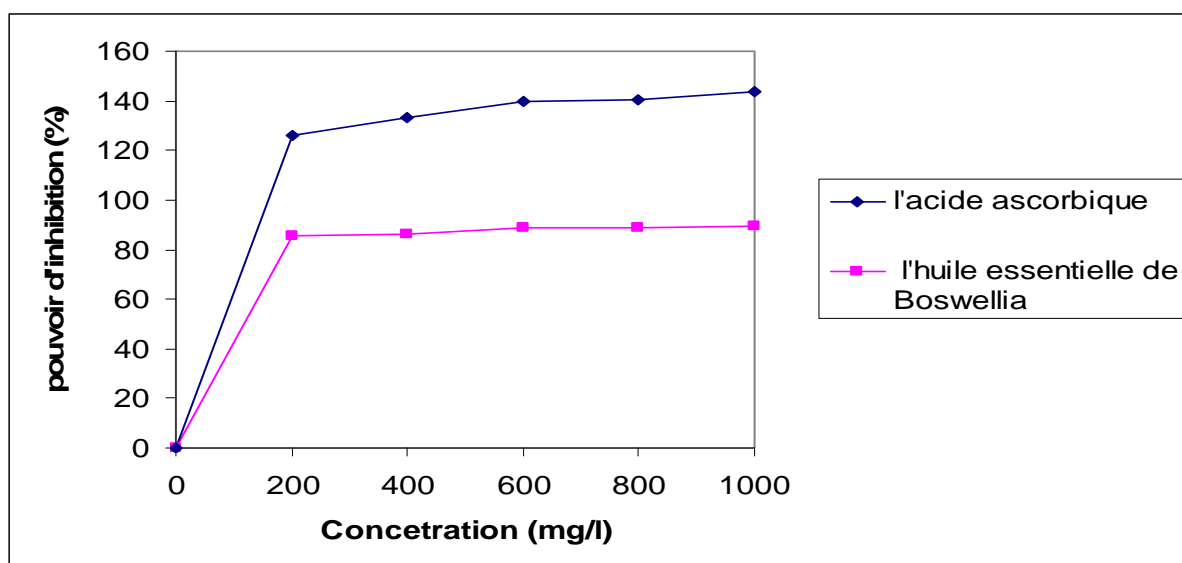


Figure 60: Comparaison entre les pourcentages d'inhibition du radical DPPH des différents antioxydants (huile essentielle de *Boswellia sp* et Acide ascorbique).

D'après la figure 60, on note que l'efficacité augmente avec la concentration dans le cas de l'huile essentielle de *Boswellia sp.*

II.3.1.3.2. Blanchissement du Béta carotène

L'aptitude des huiles essentielles à inhiber la peroxydation lipidique évaluée par la technique de décoloration du β -carotène (figures 61) montre que l'oxydation de l'acide linoléique est efficacement inhibée par notre huile.

Cet essai montre que l'huile essentielle de *Boswellia* possède un faible pouvoir antioxydant par rapport à celui de l'antioxydant de référence (acide ascorbique) et élevé par rapport aux résultats obtenus par le DPPH. Cette technique confirme les résultats obtenus par le test précédent et montre que l'huile essentielle de *Boswellia* présente un meilleur profil antioxydant.

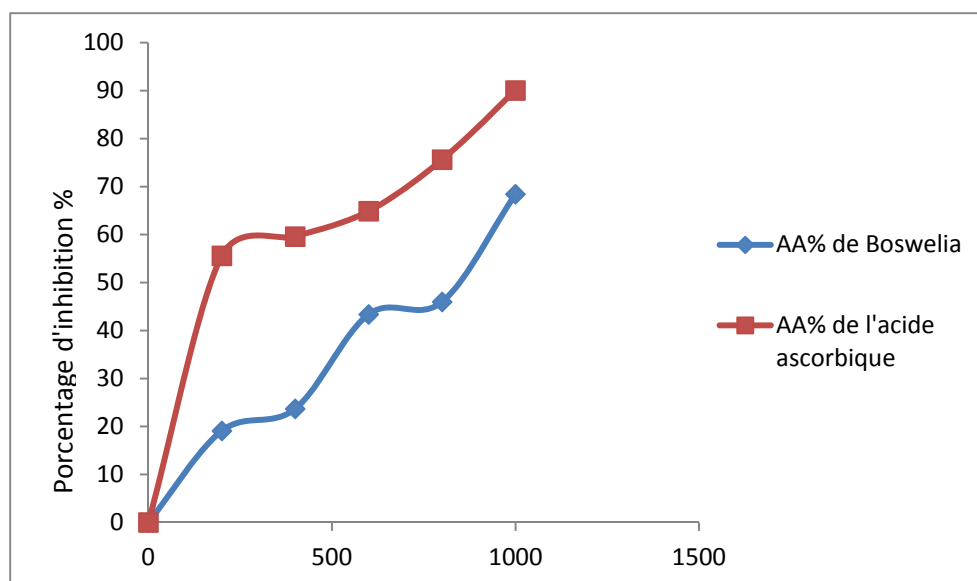


Figure 61 : Figure montrant le pourcentage d'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique par les différents antioxydants (l'huile essentielle, acide ascorbique)

D'après la figure 61, nous notons que l'efficacité augmente avec la concentration dans le cas des huiles essentielles.

II.3.1.4. Activité antioxydante des deux extrait meOH et EtOH :

L'activité antioxydante peut être due à divers mécanismes, tels que la prévention contre l'initiation de la chaîne d'oxydation, la décomposition des peroxydes, la chélation métallique, la réduction, ainsi que le piégeage des radicaux libres.

Pour évaluer l'efficacité des anti-oxydants, plusieurs méthodes analytiques avec différents substrats sont utilisés. Les méthodes choisies sont les plus couramment utilisés pour la détermination d'antioxydant:

- Piégeage des radicaux libre par les deux méthodes DPPH et DMPD qui n'a montré un effet très faible comparativement à celui de l'huile essentielles.
- Chélation du fer qui a montré un effet considérable.
- Le pouvoir réducteur par les trois méthodes FRAP, PRAP et CUPRAC en exploitant de différent éléments (Fer, Phosphore et le cuivre) par le même principe de réaction ; ces dernier ont montré un pouvoir réducteur considérable mais pas assez important

Tableau 18: activités antioxydants des deux extrait éthanolique(B.etOH) et méthanolique(B.meOH) de la résine boswellique comparé aux contrôles positives et négative (l'éthanol).

	Echantillons (concentration de 2g/l)						
	B.etOH	B.meOH	Quercitine	EDTA	Ac.Asc	Ac.Gal	etOH
DPPH	1,67±0.014	1,73±0.031	0.13±0.03	-	-	-	1.79±0.07
DMPD	0.43±0.005	0.46±0.005	-	-	0.12±0.002	-	0.49±0.08
Chélation métallique	1.58±0.046	1.67±0.037	-	0.074±0.007	-	-	2.37±0.52
FRAP	0.39±0.005	0.46±0.005	1.28±0.004	-	-	-	0.045±0.005
PRAP	0.19± 0.005	0.21±0.004	0.40±0.004	-	-	-	0.047±0.002
CUPRAC	0.55±0.08	0.82±0.06	-	-	-	2.36±0.026	0.059±0.009

Pourcentage d'inhibition : a été calculé seulement pour les trois paramètres DPPH, DMPD, et Chélation métallique (figure 62)

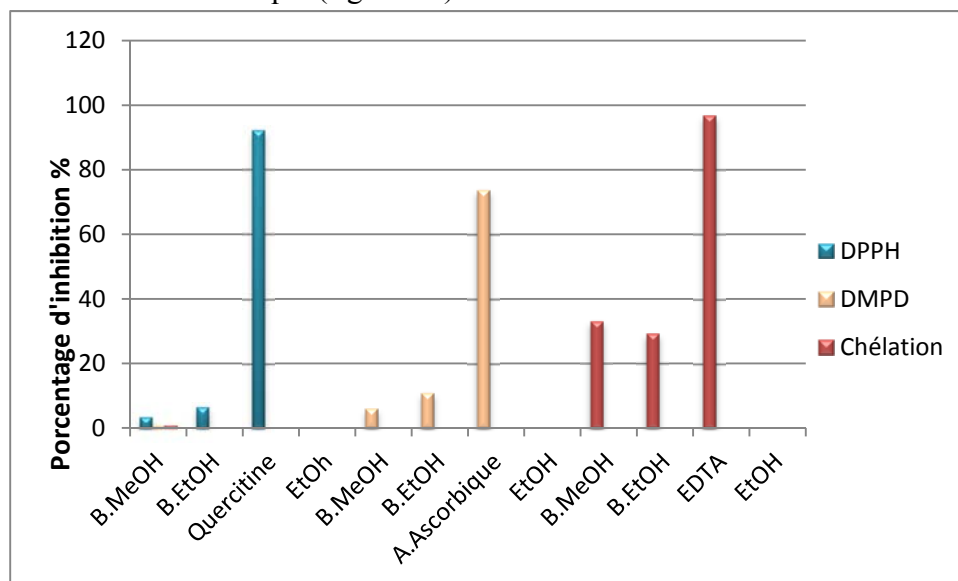


Figure 62: pourcentages d'inhibition des deux extrait éthanolique et méthanolique de la résine boswellique comparé au contrôles positives.

II.3.1.5. Activité inhibitrice du cholinestérase

L'activité inhibitrice du cholinestérase des extraits (huile essentielle, extraits éthanolique et méthanolique) a été testé contre l'AChE et la BChE à 100 µg / mL en utilisant le lecteur de microplaques ELISA.

A/Activité de l'huile essentielle :

Nos résultats indiquent que la majorité des extraits exerce plus l'inhibition de la butylcholinestérase BChE comparativement à l'AChE dont l'inhibition est presque nul (tableau 18).

Tableau 19 : pourcentage d'inhibition de l'AChE et la BChE de l'huile essentielle

	%d'inhibition sur l'AChE					% d'inhibition sur la BChE				
	62,5 µg/ml ^a	125 µg/ml	250 µg/ml	500 µg/ml	1000 µg/ml	62,5 µg/ml	125 µg/ml	250 µg/ml	500 µg/ml	1000 µg/ml
L'huile essentielle	^{-b}	-	-	-	21,92 ± 3,04 ^c	11,96 ± 2,02	14,45 ± 0,27	17,93 ± 2,31	19,46 ± 4,36	25,16 ± 3,12

^a concentration Final dans les puits, ^b pas d'inhibition, ^c valeurs exprimés en moyennes ± SD (n=3)

B/Activité des deux extraits éthanolique et méthanolique :

Une très faible inhibition de l'AChE en extrait métOH à forte concentration a été observé, comparativement à la BChE dont l'inhibition est considérable avec toutes les doses.

Tableau 20 : pourcentage d'inhibition de l'AChE et la BChE des deux extraits EtOH et MetOH

	%d'inhibition sur l'AChE			% d'inhibition sur la BChE		
	250 µg/ml	500 µg/ml	1000 µg/ml	250 µg/ml	500 µg/ml	1000 µg/ml
B.EtOH	- ^b	- ^b	- ^b	31.19±1.87	38.82±2.78	44.55±3.45
B.MetOH	- ^b	- ^b	11.04±1.10	34.77±1.64	40.61±1.10	46.47±4.28

^a concentration Final dans les puits, ^b pas d'inhibition, ^c valeurs exprimés en moyennes ± SD (n=3)

II.3.2. Etude *in vivo* :

II.3.2.1. Intoxication à l'aluminium :

II.3.2.1.1. Les paramètres neurologiques :

II.3.2.1.1.1. Test de comportementaux :

II.3.2.1.1.1.1. Test de l'activité locomotrice :

Les résultats obtenus après une intoxication chronique au chlorure d'aluminium suivi d'un traitement par la résine Boswellique montrent une hyperactivité chez les souris intoxiquées traitée et souris témoins traitées comparativement aux témoins. D'autre part cette activité est diminuée progressivement pendant la durée d'expérimentation chez tous les groupes. Figure 63.

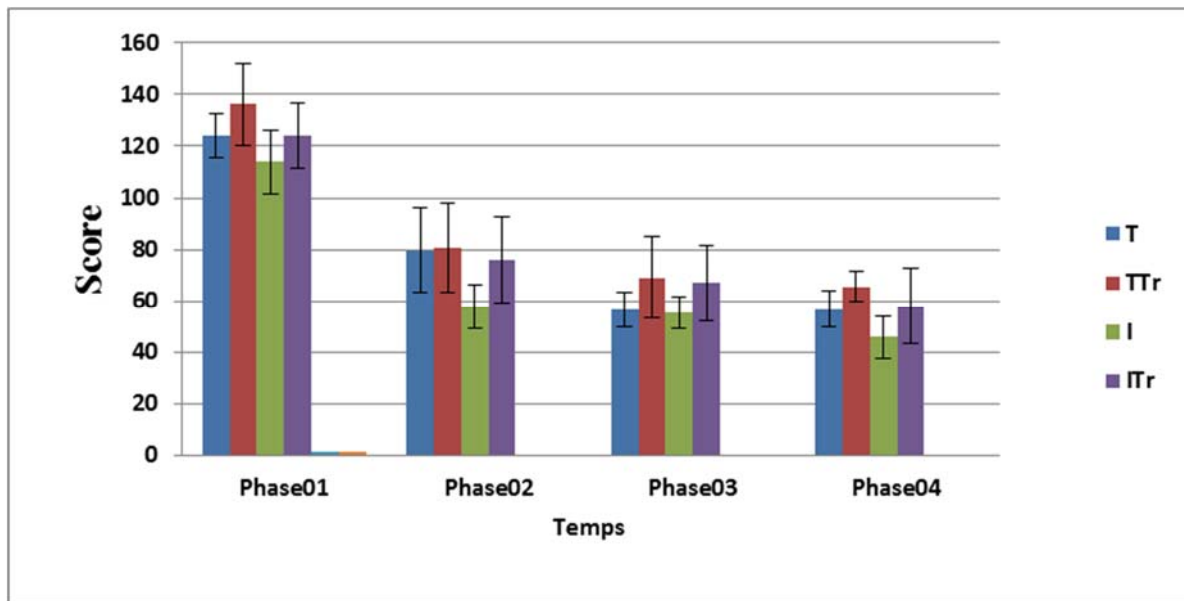


Figure 63: Test de l'activité locomotrice chez les souris intoxiquées par l'aluminium (100mg/kg), des souris intoxiquées traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 13 semaines.

Les résultats obtenus après une intoxication chronique au chlorure d'aluminium avec D-galactose suivi d'un traitement par résine de *Boswellia* montre une hyperactivité chez les souris modèle Alzheimer traitées et témoins traitées comparativement aux témoins. D'autre part cette activité est diminuée progressivement pendant la durée d'expérimentation chez tous les groupes.

64.

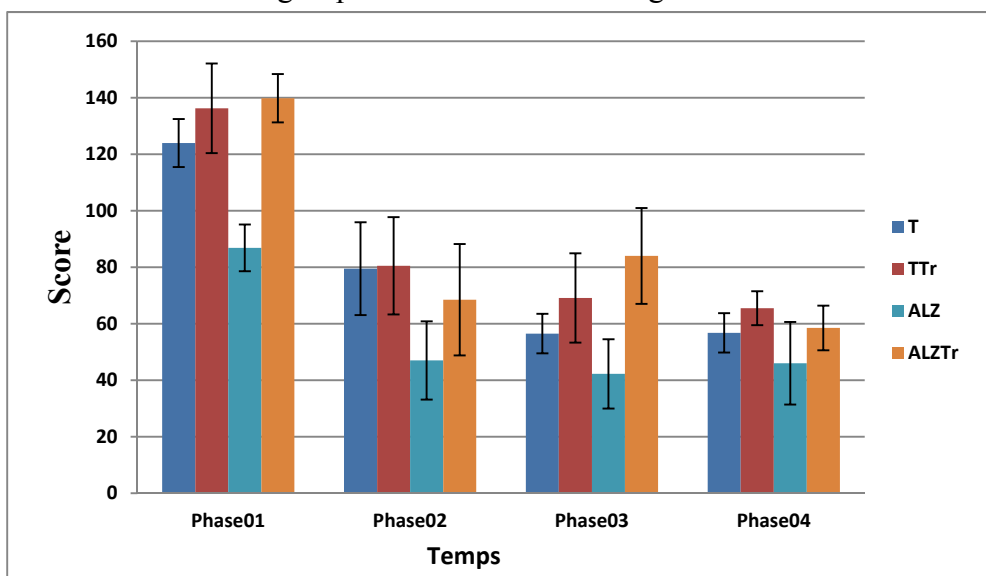


Figure 64 : Test de l'activité locomotrice chez les souris modèle Alzheimer intoxiquées par l' AlCl_3 (100mg/kg) avec D-galactose (200mg/kg) par voie IP, des souris modèle Alzheimer traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 13 semaines.

II.3.2.1.1.1.2. Test de curiosité

Les résultats obtenus lors de test de curiosité montrent que les souris intoxiquées traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* sont plus curieuses pendant la 1^{ère} phase d'expérimentation, ce résultat est plus proche à celui du groupe témoin, cette curiosité est diminuée progressivement durant les phases suivantes.

Par contre les souris intoxiquées par $AlCl_3$ sont moins curieuses que les autres groupes.

Figure 65

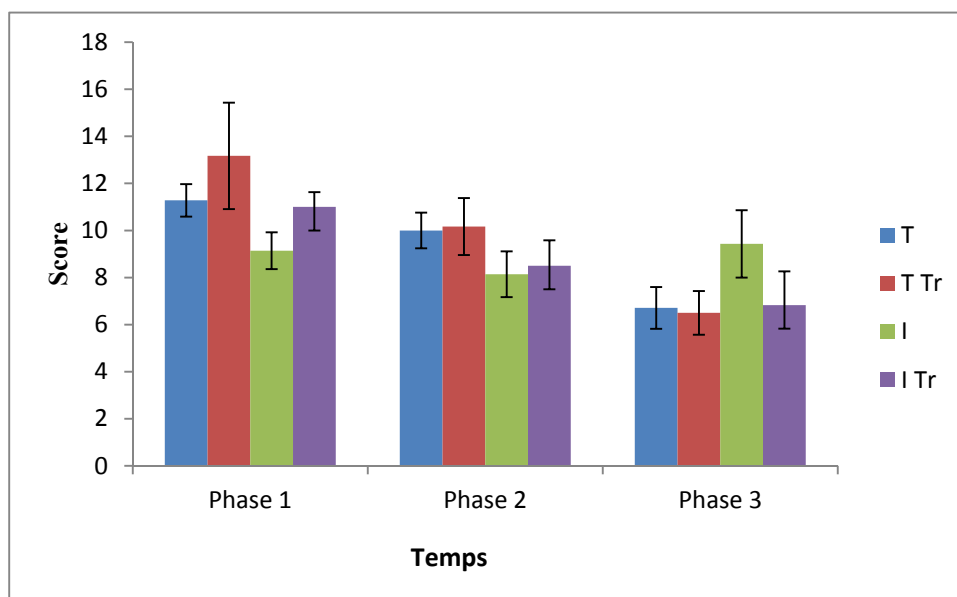


Figure 65: Test de curiosité chez les souris intoxiquées par l'aluminium (100mg/kg), des souris intoxiquées traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 13 semaines.

Les résultats obtenus lors de test de curiosité montrent que les souris Alzheimer, Alzheimer traitées et témoins traitées par résine de *Boswellia* sont plus exploratrices pendant la 1^{ère} phase d'expérimentation, ce résultat est plus proche à celui du groupe témoin, cette curiosité est décroissante progressivement durant les phases suivantes. Figure 66

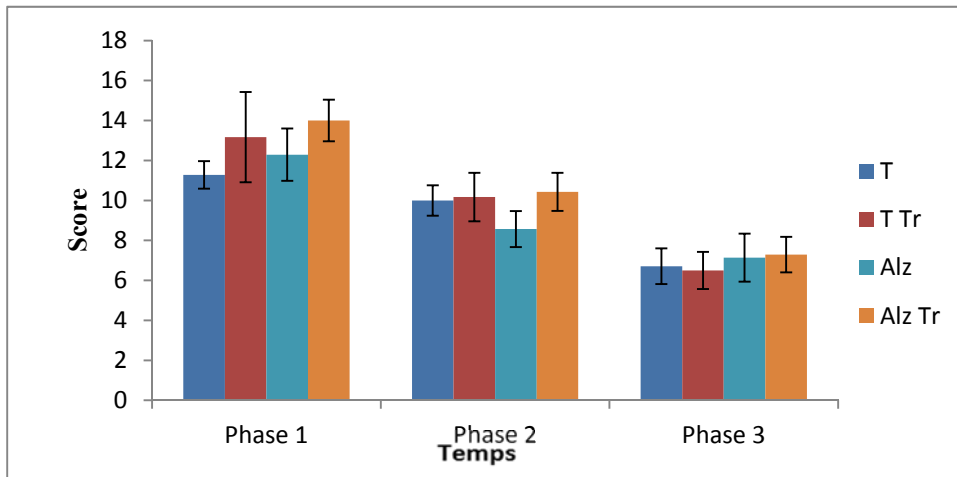


Figure 66 : Test de curiosité chez les souris modèle Alzheimer intoxiquées par l’AlCl₃ (100mg/kg) avec D-galactose (200mg/kg) par voie IP, des souris modèle Alzheimer traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 13 semaines.

II.3.2.1.1.1.3. Test d’anxiété

Les résultats obtenus durant le test d’anxiété montrent que le temps de séjour dans le compartiment noir chez les groupes d’expérimentations est bien important pendant la durée d’expérimentation. Figure 67

On remarque que les souris intoxiquées passent beaucoup plus de temps dans l’obscurité durant le deuxième, les troisièmes et quatrièmes phases comparativement aux autres groupes.

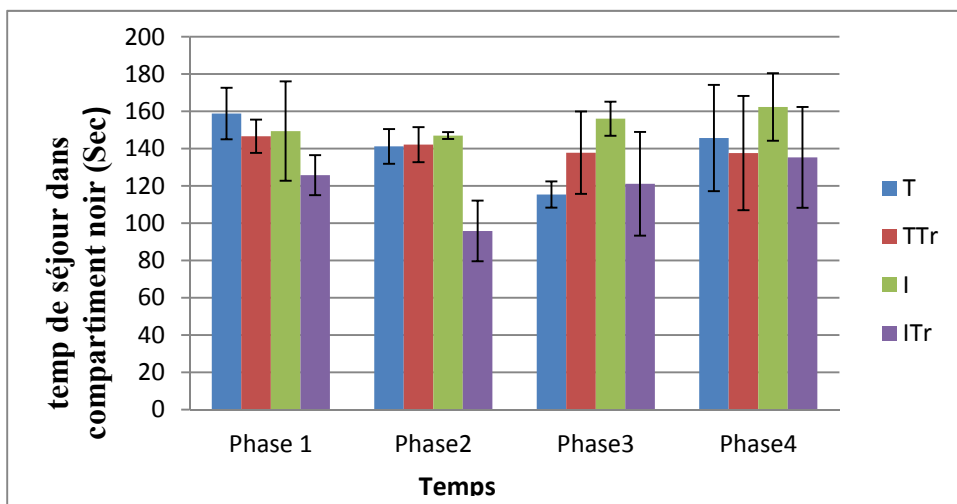


Figure 67: Test de l’anxiété chez les souris intoxiquées par l’aluminium (100mg/kg), des souris intoxiquées traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 13 semaines.

Les résultats obtenus durant le test d'anxiété montrent que le temps de séjour dans le compartiment noir chez les groupes d'expérimentations est bien important pendant la durée d'expérimentation.

On remarque que les souris modèle Alzheimer passent beaucoup plus de temps dans l'obscurité durant les deuxièmes, troisièmes et quatrièmes phases comparativement aux autres groupes. Figure 68

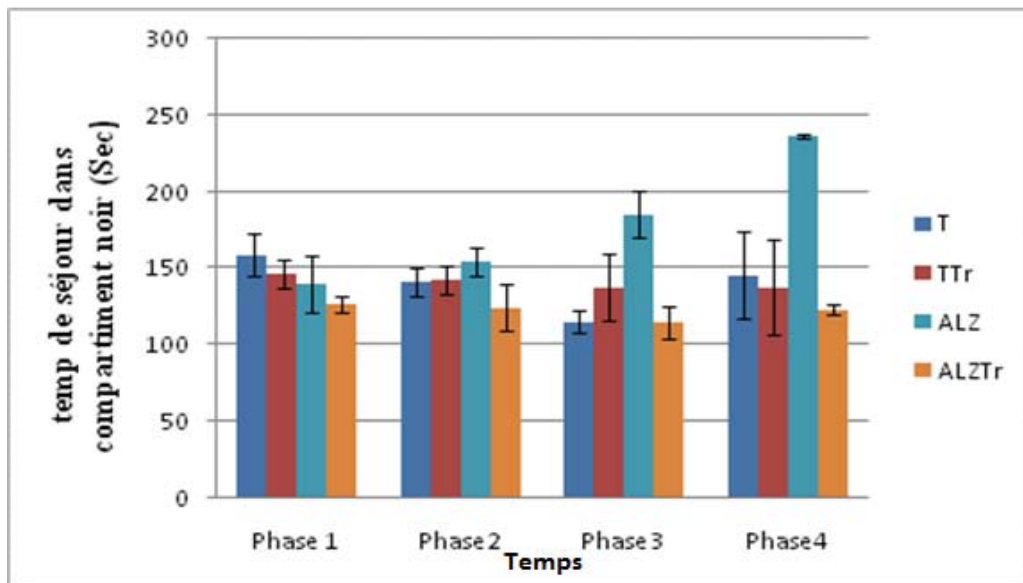


Figure 68: Test de l'anxiété chez les souris modèle Alzheimer intoxiquées par l' AlCl_3 (100mg/kg) avec D-galactose (200mg/kg) par voie IP, des souris modèle Alzheimer traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 13 semaines.

II.3.2.1.1.4. Test de croix :

Dans ce test on a observé que les intoxiquées, des témoins traitées et les témoins passent plus de temps dans le couloir à bras protégé pendant toute la durée d'expérimentation comparées aux souris les intoxiquées traitées. Figure 69

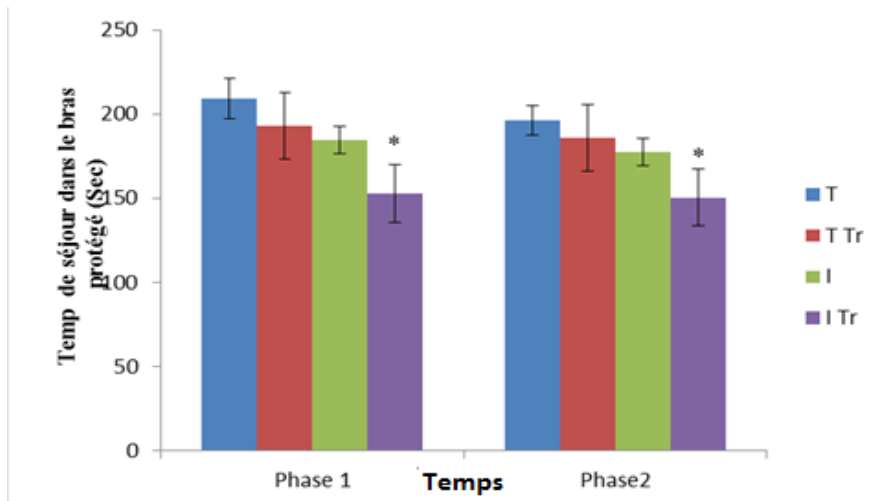


Figure 69 : Test de labyrinthe en croix surélevé chez les souris intoxiquées par l'aluminium (100mg/kg), des souris intoxiquées traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 13 semaines.

Dans ce test on n'a observé que le temps de séjours dans le couloir protégé chez les souris témoins traitées, Alzheimer traitées et les témoins est supérieur comparées aux souris Alzheimer. Figure 70

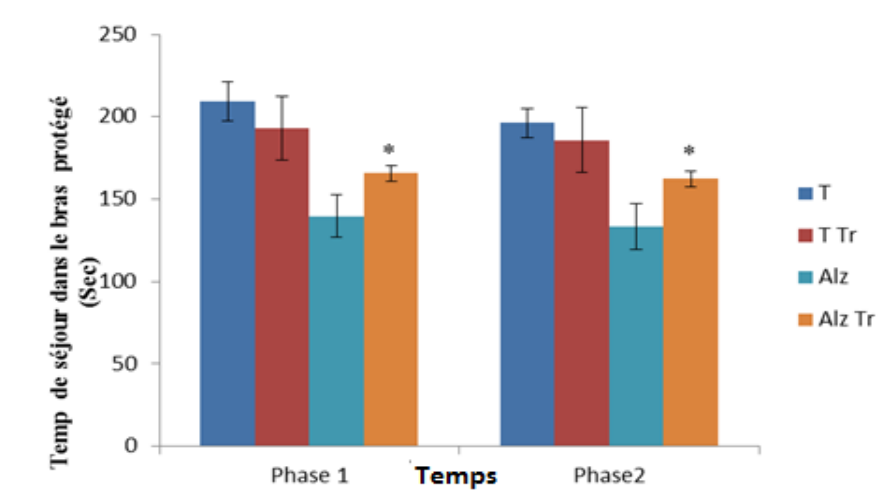


Figure 70 : Test de labyrinthe en croix surélevé chez les souris modèle Alzheimer intoxiquées par l' $AlCl_3$ (100mg/kg) avec D-galactose (200mg/kg) par voie IP, des souris modèle Alzheimer traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 13 semaines.

II.3.2.1.1.1.5. Test de la nage forcée

En test de la nage forcée on a remarqué que le temps enregistré par les souris témoins, témoins traitée et intoxiquée traitée plus long que les souris intoxiquée qui enregistrés un temps très court. Figure 71

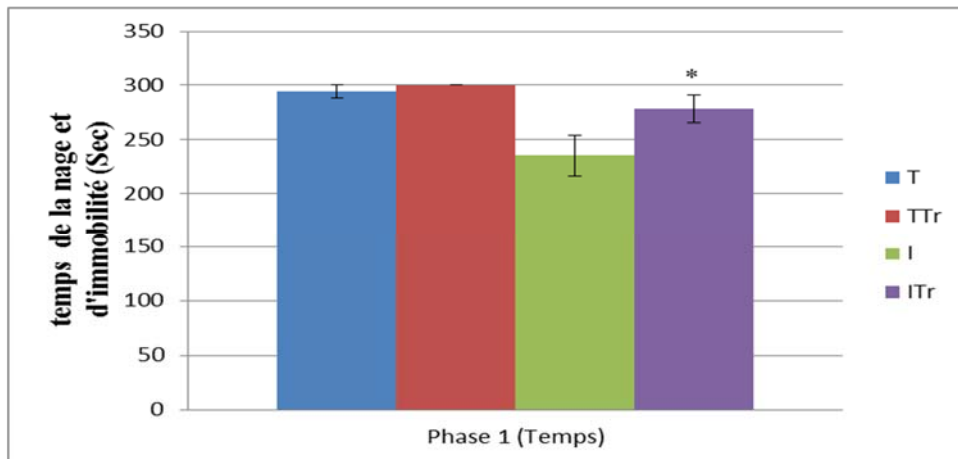


Figure 71 : Test de Persolt chez les souris intoxiquées par l'aluminium (100mg/kg), des souris intoxiquées traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 13 semaines.

Pendant le test de la nage forcée on observe que le temps d'immobilité enregistré chez les souris témoins, témoins traitées, Alzheimer traitées est beaucoup plus important que les souris intoxiqué par $AlCl_3$ par voie orale à une dose de 100mg/kg avec D-galactose par voie IP à une dose de 200mg/kg qui ont enregistrés un temps court. Figure 72

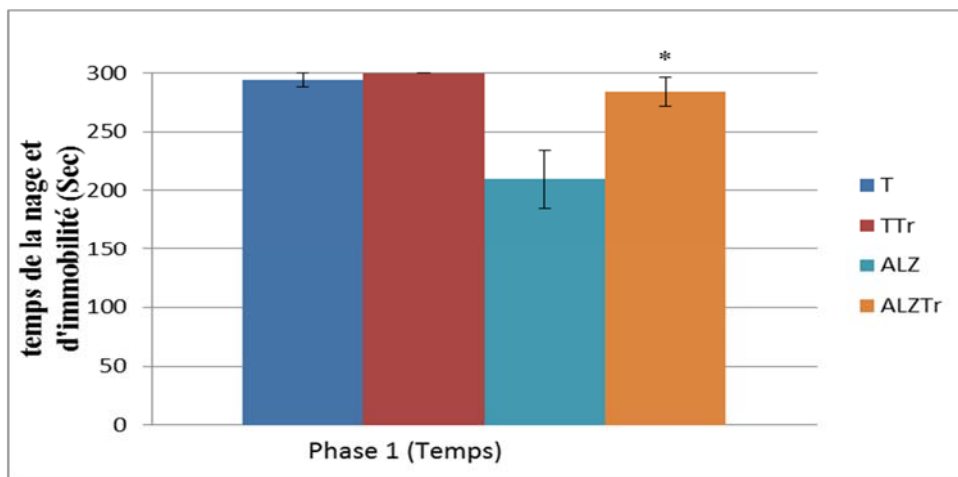


Figure 72 : Test de Persolt chez les souris modèle Alzheimer intoxiquées par l' $AlCl_3$ (100mg/kg) avec D-galactose (200mg/kg) par voie IP, des souris modèle Alzheimer traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 13 semaines.

II.3.2.1.1.2. Test de mémoire

II.3.2.1.1.2.1. Labyrinthe radiaire à 8 bras

A-Mémoire spatiale de travail

Dans le test de mémoire spatiale de travail on remarque que le temps d'arrivé à l'aliment chez les souris intoxiquées, intoxiquées traitées et témoins traitées plus importante contrairement aux témoins durant les quatre premiers jours d'apprentissage.

Mais pendant le cinquième jour, on remarque que le temps d'arrivé à l'aliment est beaucoup plus important chez les témoins comparés aux autres groupes. Figure 73

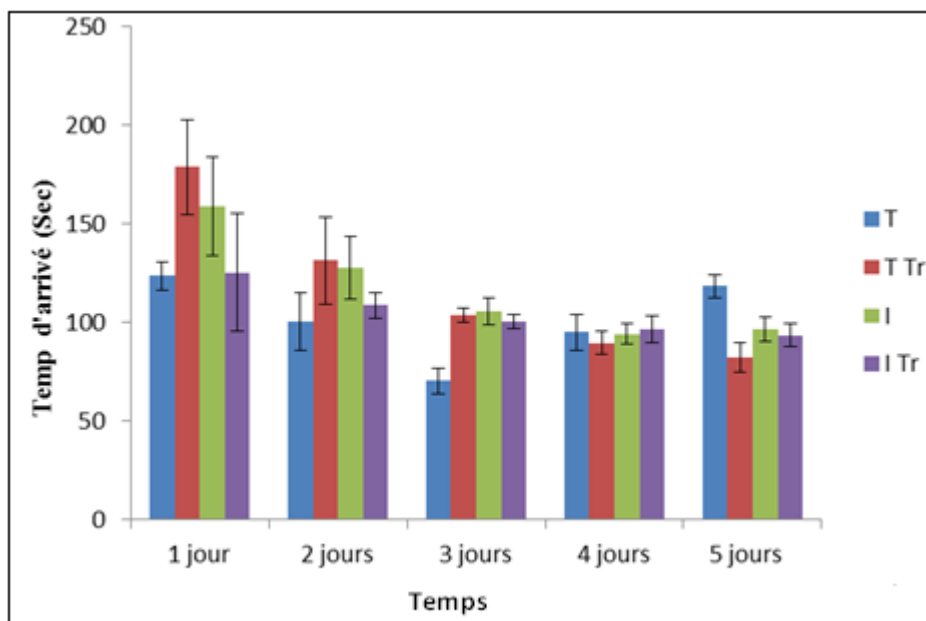


Figure 73 : Test de mémoire spatial de travail chez les souris intoxiquées par l'aluminium (100mg/kg), des souris intoxiquées traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 13 semaines.

Dans ce test on a observé que les souris Alzheimer et Alzheimer traitées ont pris largement de temps pour arriver à l'aliment comparés aux souris témoins traitées et témoins. Figure 74

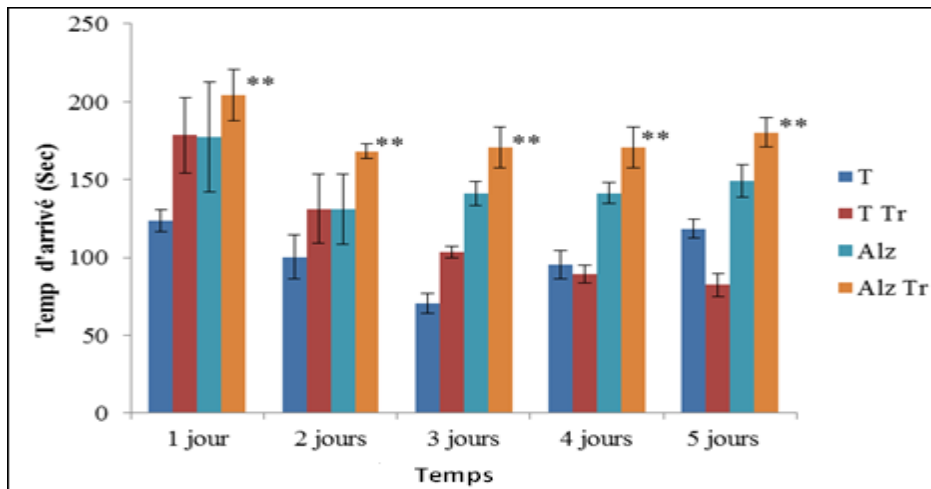


Figure 74: Test de mémoire spatiale de travail chez les souris modèle Alzheimer intoxiquées par l'AlCl₃ (100mg/kg) avec D-galactose (200mg/kg) par voie IP, des souris modèle Alzheimer traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 13 semaines.

B-Mémoire non spatiale de préférence conditionnée :

Les résultats obtenus lors de test de mémoire non spatiale de préférence conditionnée montrent que le temps de séjour dans les bras éclairés appâté chez les quatre groupes s'approchait entre eux, cette durée est augmentée chez les témoins, témoins traitées, intoxiqué traitées dans le cinquième jour, contrairement au groupe intoxiqué est basse une court durée à partir le première jusque le 5 jour. Figure 75

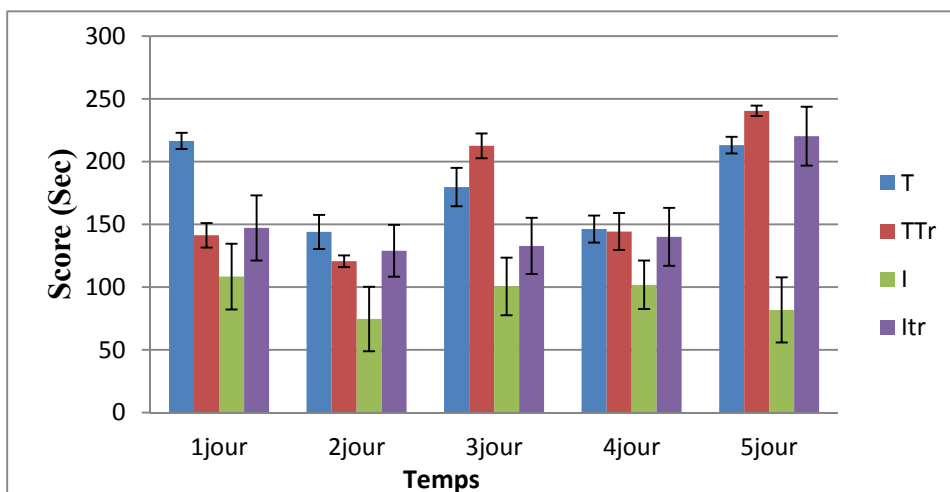


Figure 75 : Test de mémoire non spatiale de préférence conditionnée chez les souris intoxiquées par l'aluminium (100mg/kg), des souris intoxiquées traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 13 semaines.

Les résultats obtenus lors de test de mémoire non spatiale de préférence conditionnée montrent que le temps de séjour dans les bras éclairés appâté chez les quatre groupes s'approchait entre eux, témoins, témoins traités et Alzheimer traités par résine de *Boswellia* est basse beaucoup plus de temps pendant les cinquièmes essais contrairement au modèle Alzheimer. Figure 76

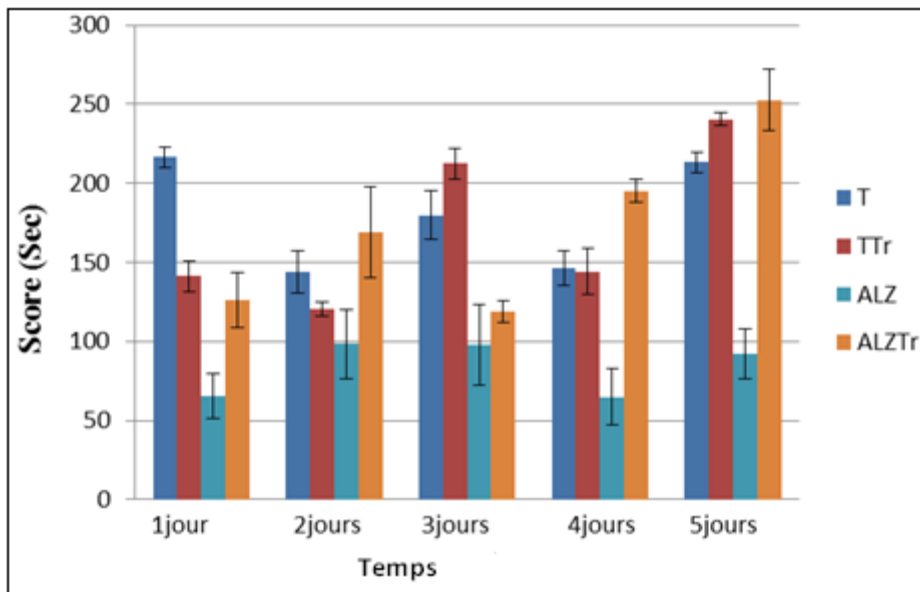


Figure 76 : Test de mémoire non spatiale de préférence conditionnée chez les souris modèle Alzheimer intoxiquées par l' AlCl_3 (100mg/kg) avec D-galactose (200mg/kg) par voie IP, des souris modèle Alzheimer traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 13 semaines .

C- Distinction de position :

Lors du test de distinction de position on a observé que les groupes traités témoins traités intoxiquées traités choisissent une longue durée dans les bras appâtés que le témoin, par contre les souris intoxiquée enregistrent une courte durée dans les bras appâtés contrairement aux témoins. Concernant les souris intoxiquées enregistré une courte durée dans les bras appâtés est diminuée durant le deuxième et troisième jour comparé par d'autre groupe d'apprentissage. Figure 77

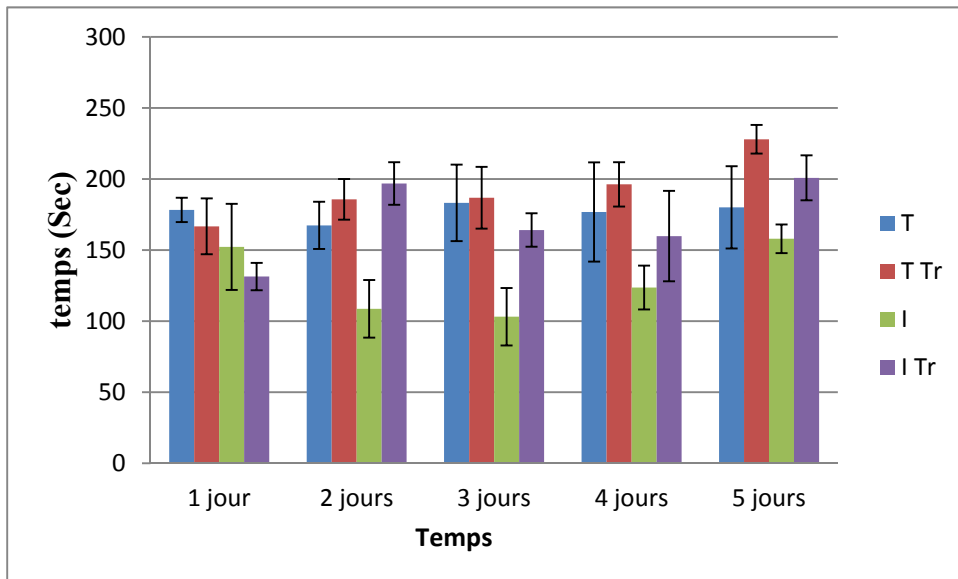


Figure 77: Test de distinction de position chez les souris intoxiquées par l'aluminium (100mg/kg), des souris intoxiquées traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 13 semaines.

Lors du test de distinction de position on a observé que les groupes traitées témoins traitées et Alzheimer traitées choisissent une longue durée dans les bras appâtés que le témoin, par contre les souris modèle Alzheimer enregistrent une courte durée dans les bras appâtés à partir le premier jour jusque le quatrième jour, cette durée est augmentée le cinquième jour contrairement aux témoins. Figure 78

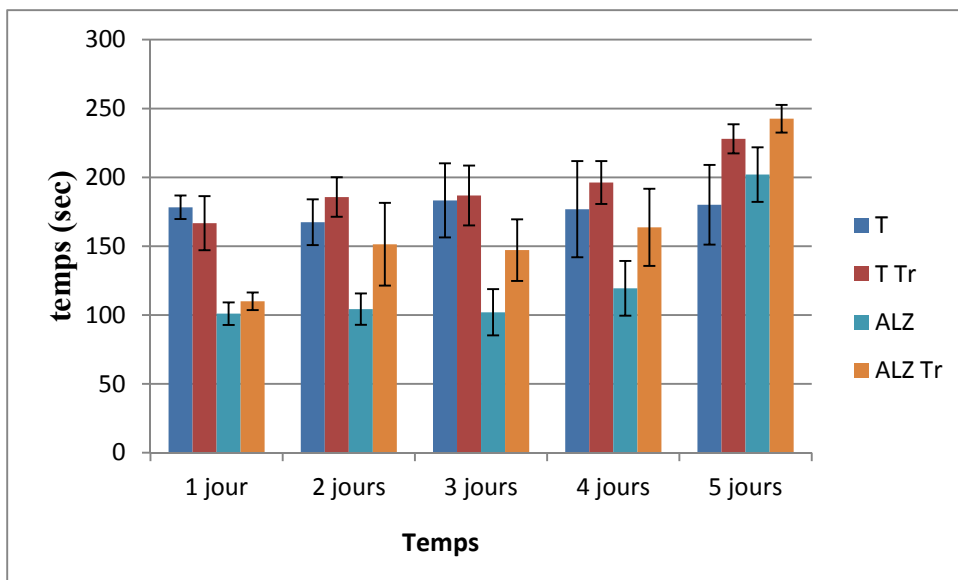


Figure 78 : Test de distinction de position chez les souris modèle Alzheimer intoxiquées par l' $AlCl_3$ (100mg/kg) avec D-galactose (200mg/kg) par voie IP, des souris modèle Alzheimer traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 13 semaines.

II.3.2.1.1.2.2. Piscine de Morris

A-Mémoire spatiale de travail (MST)

Les résultats de l'épreuve de mémoire spatiale de travail montrent que les souris intoxiquées prennent beaucoup plus de temps pour détecter la plate-forme visible comparée aux témoins qui mettent moins de temps (courte dure) les souris intoxiquées traitées témoins traitées durant le quatrième et le cinquième jour de l'expérimentation.

D'autre part on a remarqués que les souris intoxiquées prennent une durée importante pour détecter la plate-forme par rapport aux témoins pendant la durée d'expérimentation

Concernant le troisième jour, le modèle Alzheimer et Alzheimer traitées mettent beaucoup de temps pour détecter la plate-forme visible en comparaison avec les témoins. Figure 79

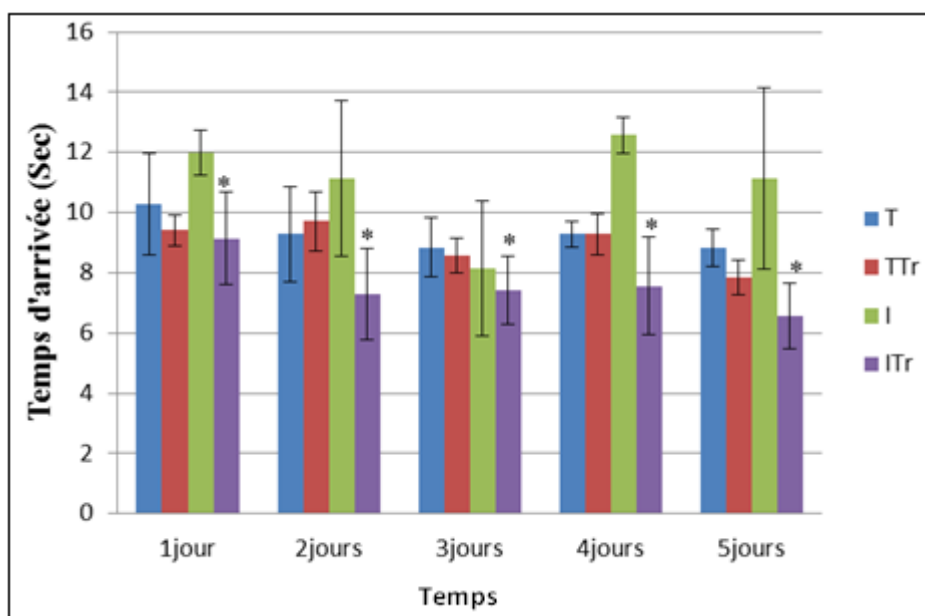


Figure 79: Test de piscine de Morris (mémoire spatiale de travail (MST) chez les souris intoxiquées par l'aluminium (100mg/kg), des souris intoxiquées traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 13 semaines.

dans ce test on a remarqué que les souris Alzheimer prennent plus de temps pour arriver à la plateforme visible pendant les troisième et cinquième jour, par contre pour les souris témoins traitées, témoins et Alzheimer traitée ont prennent moins de temps a détecté la plateforme visible.

Concernant le troisième jour, le modèle Alzheimer et Alzheimer traitées mettent beaucoup de temps pour détecter la plate-forme visible en comparaison avec les témoins. Figure 80

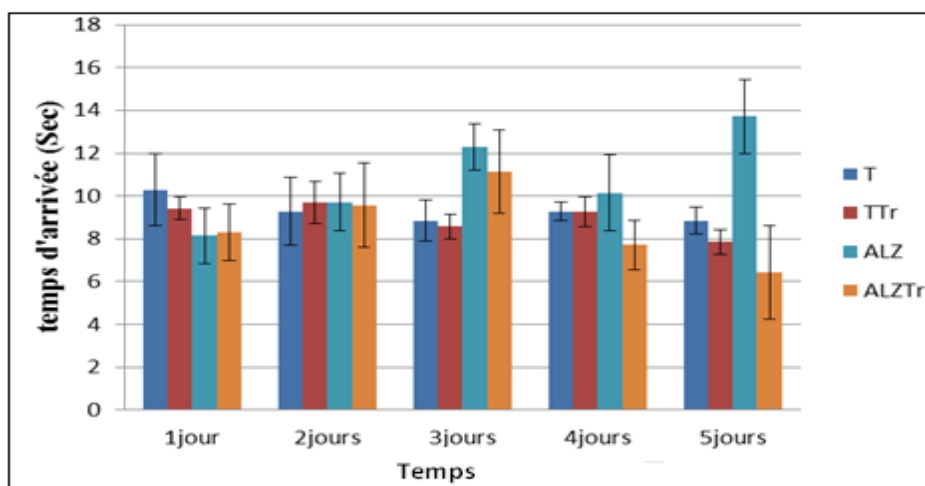


Figure 80 : Test de piscine de Morris (mémoire spatiale de travail (MST)) chez les souris modèle Alzheimer intoxiquées par l' AlCl_3 (100mg/kg) avec D-galactose (200mg/kg) par voie IP, des souris modèle Alzheimer traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 13 semaines.

B-Mémoire spatiale de référence (MSR) :

Durant la mémoire spatiale de référence (MSR) la durée du trajet jusqu'à la plate-forme invisible est nettement plus élevée chez le groupe intoxiqué à partir du troisième essai jusqu'à la fin de l'expérimentation.

En revanche, on remarque que la durée du trajet jusqu'à la plate-forme invisible est nettement plus réduite chez les intoxiquées comparé aux témoins. Figure 81

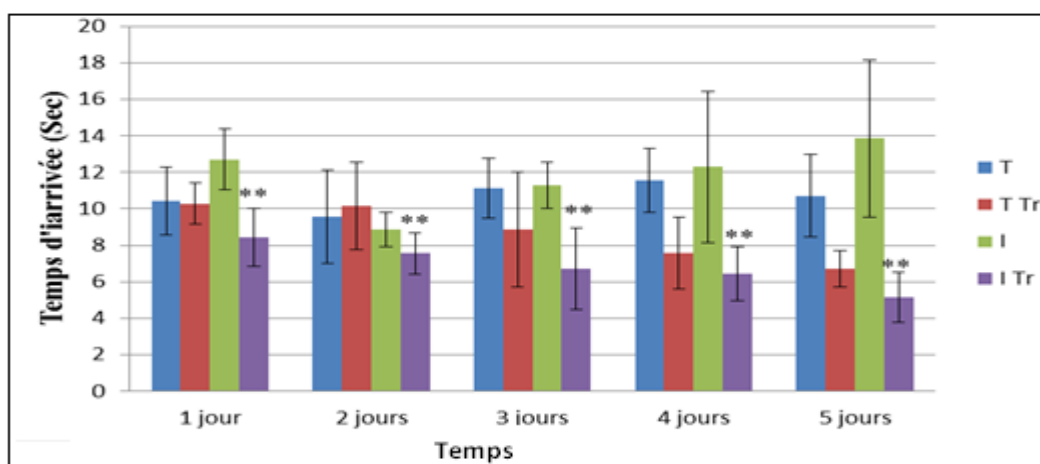


Figure 81: Test de piscine de Morris (mémoire spatiale de référence (MSR)) chez les souris intoxiquées par l'aluminium (100mg/kg), des souris intoxiquées traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 13 semaines.

Durant la mémoire spatiale de référence(MSR) la durée du trajet jusqu'à la plate-forme invisible est nettement plus élevée chez le groupe modèle Alzheimer à partir du troisième essai jusqu'à la fin de l'expérimentation.

En revanche, on remarque que la durée du trajet jusqu'à la plate-forme invisible est nettement plus réduite chez les modèle Alzheimer comparé aux témoins. Figure 82

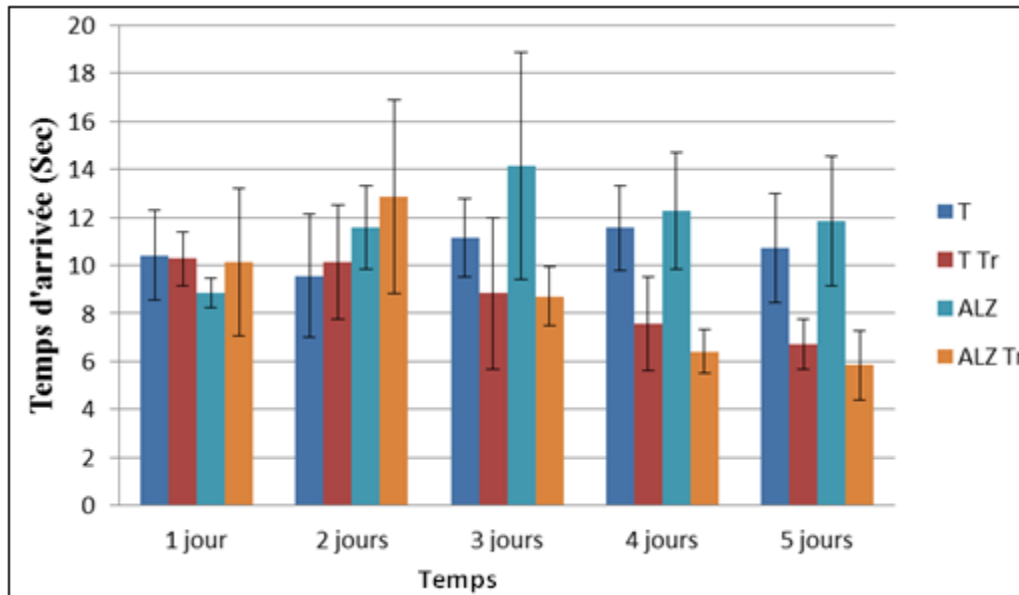


Figure 82 : Test de piscine de Morris (mémoire spatiale de référence (MSR) chez les souris modèle Alzheimer intoxiquées par l' AlCl_3 (100mg/kg) avec D-galactose (200mg/kg) par voie IP, des souris modèle Alzheimer traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 13 semaines.

II.3.2.1.1.2.3. Le test du labyrinthe en double –H

L'étude statistique révèle une différence hautement significative dans le temps pris par les souris du model Alzheimer pour atteindre la plate-forme par rapport aux souris témoins et autre groupes entre le premier et le dernier jour du test(le bras cible N, S, NE et SE).

➤ Test d'apprentissage et rétention (branche nord) (N)

Les souris intoxiquées traitées, témoins traitées et témoins ont passé un temps significativement inférieur par rapport aux souris intoxiquées pour d'arrivé la plate-forme. Figure 83

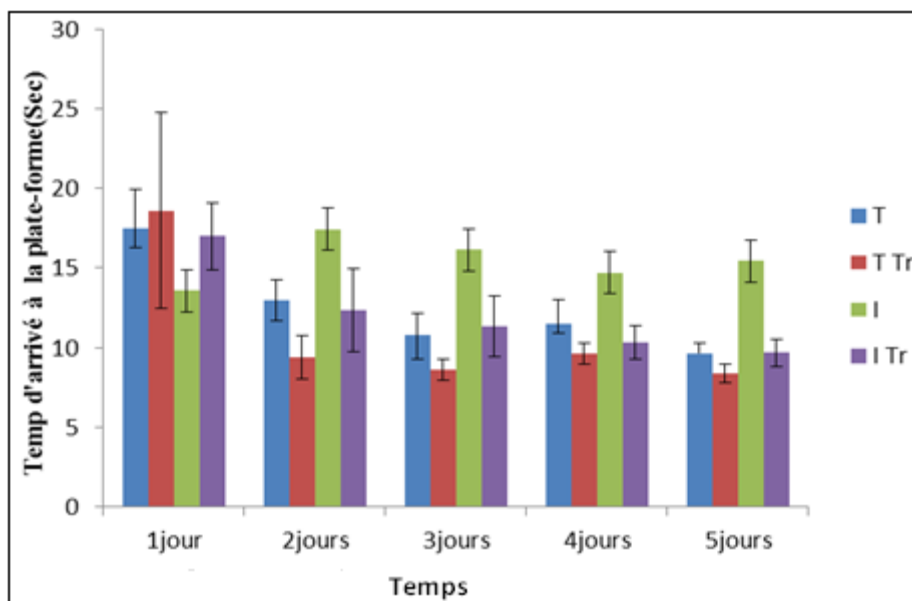


Figure 83 : Test du bras nord(N) chez les souris intoxiquées par l'aluminium (100mg/kg), des souris intoxiquées traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 13 semaines.

Les souris Alzheimer ont passé un temps significativement supérieur par rapport aux souris témoins, témoins traitées et Alzheimer traitées pour d'arrivé la plate-forme. Figure 84

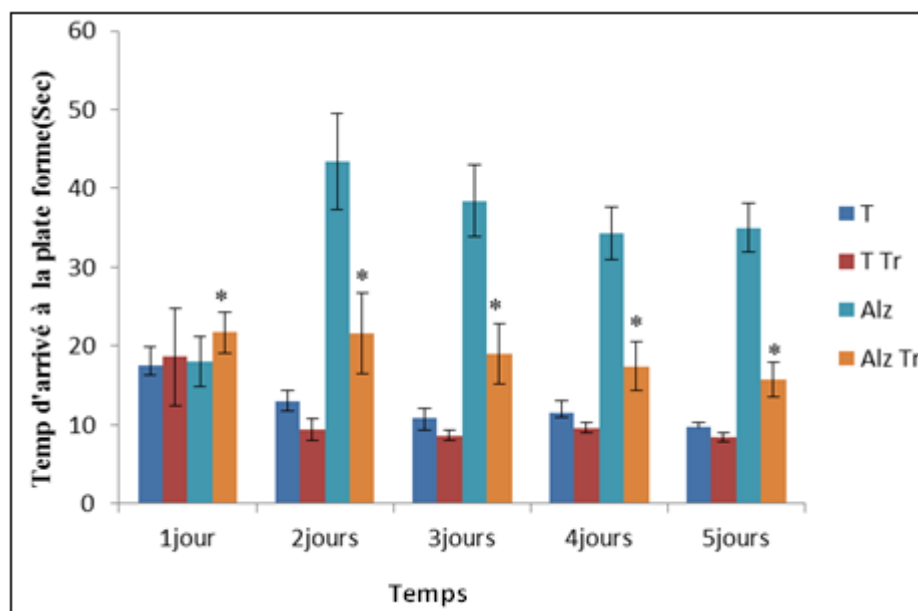


Figure 84 : Test du bras nord(N) chez les souris modèle Alzheimer intoxiquées par l'AlCl₃ (100mg/kg) avec D-galactose (200mg/kg) par voie IP, des souris modèle Alzheimer traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 90 jours.

➤ Test d'apprentissage et rétention (branche Sud) (S)

Dans ce test on a observé que les souris intoxiquées et intoxiquées traitées ont pris largement de temps pour arriver à plate-forme comparés aux souris témoins traitées et témoins. Fig 85

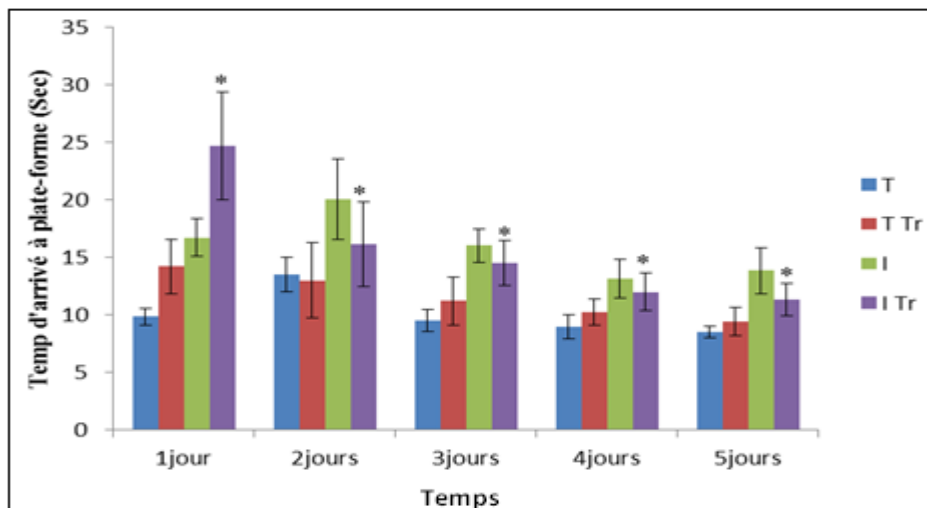


Figure 85: Test du bras Sud (S) chez les souris intoxiquées par l'aluminium (100mg/kg), des souris intoxiquées traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 90 jours.

Les souris Alzheimer traitées, témoins traitées et témoins ont passé un temps significativement inférieur par rapport aux souris Alzheimer pour d'arrivé la plate-forme. Fig 86

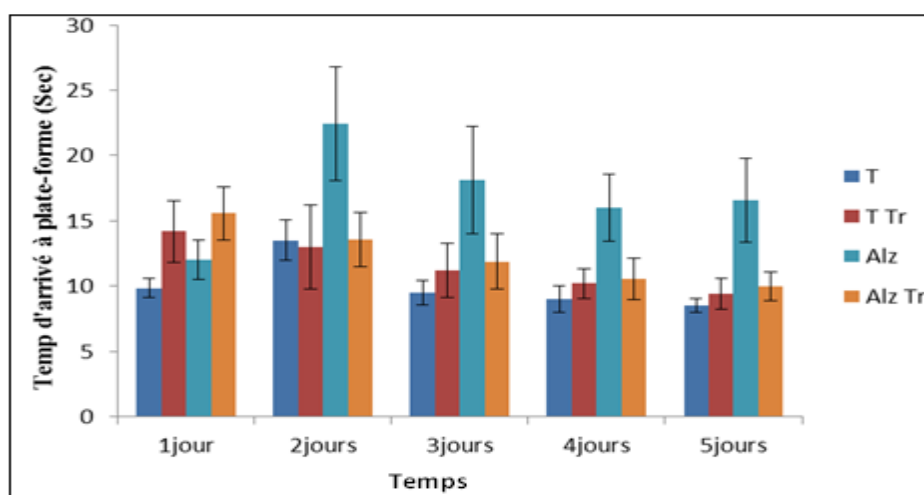


Figure 86: Test du bras Sud (S) chez les souris modèle Alzheimer intoxiquées par l'AlCl₃ (100mg/kg) avec D-galactose (200mg/kg) par voie IP, des souris modèle Alzheimer traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 90 jours.

➤ **Test d'apprentissage et rétention (branche nord-est) (NE)**

Les souris intoxiquées, témoins traitées et témoins ont passé un temps significativement inférieur par rapport aux souris intoxiquées traitées pour d'arrivé la plate-forme. Figure 87

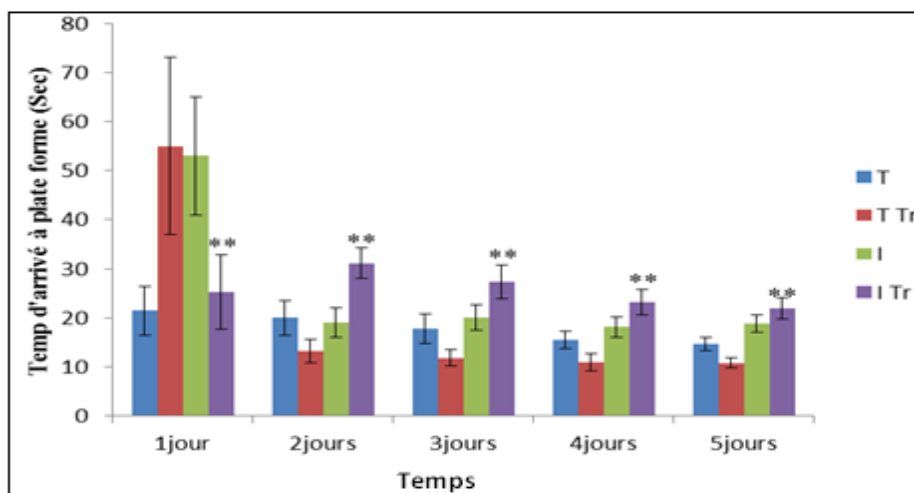


Figure 87: Test du bras nord- est (NE) chez les souris intoxiquées par l'aluminium (100mg/kg), des souris intoxiquées traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 13 semaines.

Les souris Alzheimer ont passé un temps significativement supérieur par rapport aux souris témoins, témoins traitées et Alzheimer traitées pour d'arrivé la plate-forme. Figure 88

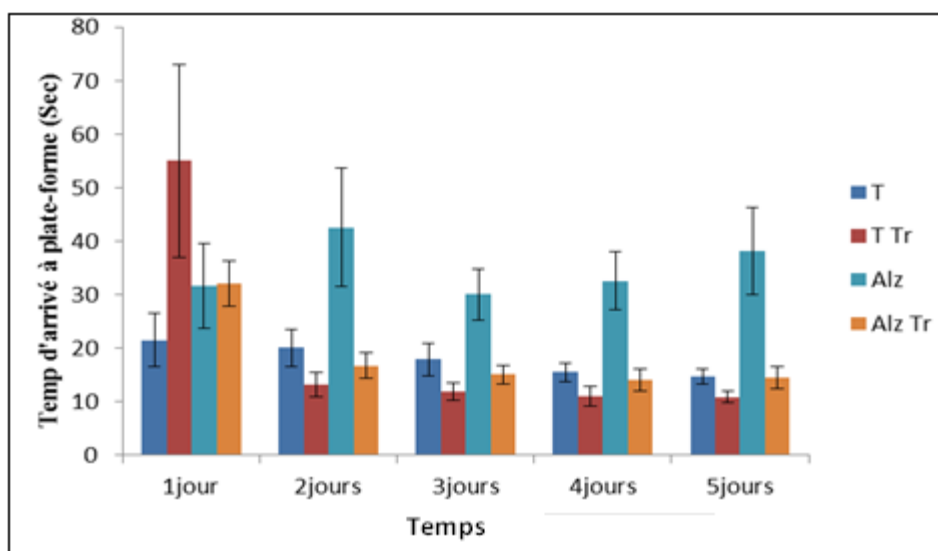


Figure 88: Test du bras nord- est (NE) chez les souris modèle Alzheimer intoxiquées par l' AlCl_3 (100mg/kg) avec D-galactose (200mg/kg) par voie IP, des souris modèle Alzheimer traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 90 jours.

➤ **Test d'apprentissage et rétention (branche sud est) (SE)**

Les souris intoxiquées ont passé un temps significativement supérieur par rapport aux souris témoins, témoins traités et intoxiquées traitées pour d'arrivé la plate-forme. Figure 89

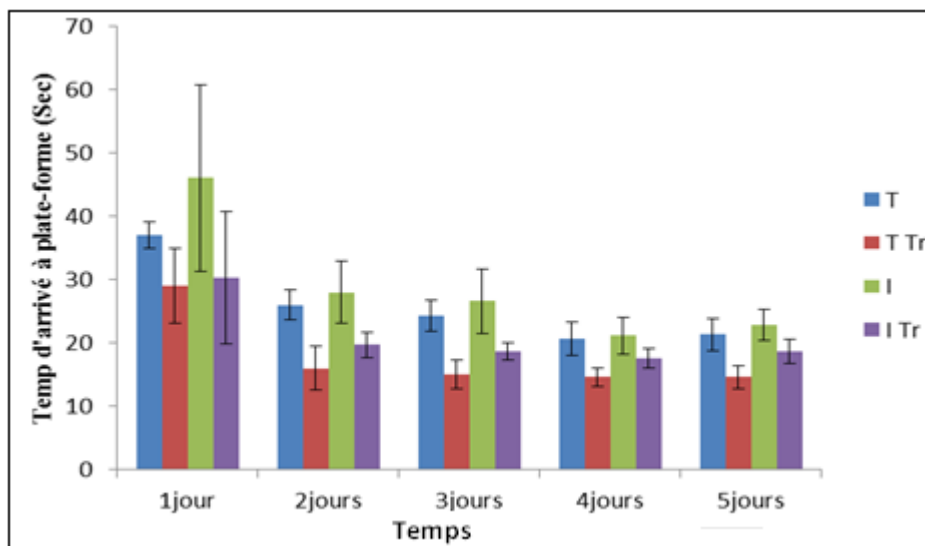


Figure 89: Test du bras sud-est (SE) chez les souris intoxiquées par l'aluminium (100mg/kg), des souris intoxiquées traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 90 jours.

Dans ce test on a observé que les souris Alzheimer et Alzheimer traitées ont pris largement de temps pour arriver à plate-forme comparés aux souris témoins traitées et témoins. Figure 90

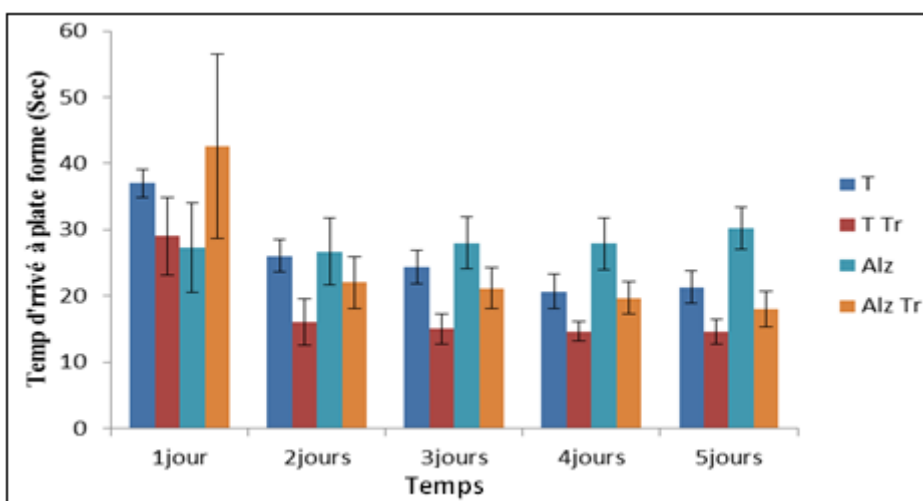


Figure 90: Test du bras sud-est (SE) chez les souris modèle Alzheimer intoxiquées par l' $AlCl_3$ (100mg/kg) avec D-galactose (200mg/kg) par voie IP, des souris modèle Alzheimer traitées et des souris témoins traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) comparées aux souris témoins durant 90 jours.

II.3.2.1.2.Spectrophotométrie d'absorption atomique SAA

Les teneurs en Aluminium ont été tracées séparément des expérimentations (Intoxication et model Alzheimer) et ce à cause de leurs valeurs très éloignés, le premier était faible comparativement au deuxième. Les concentrations de lots traités montrent une diminution à la moitié que celle de lot intoxiqué, de même pour les modèles Alzheimer. Figure 91, 92

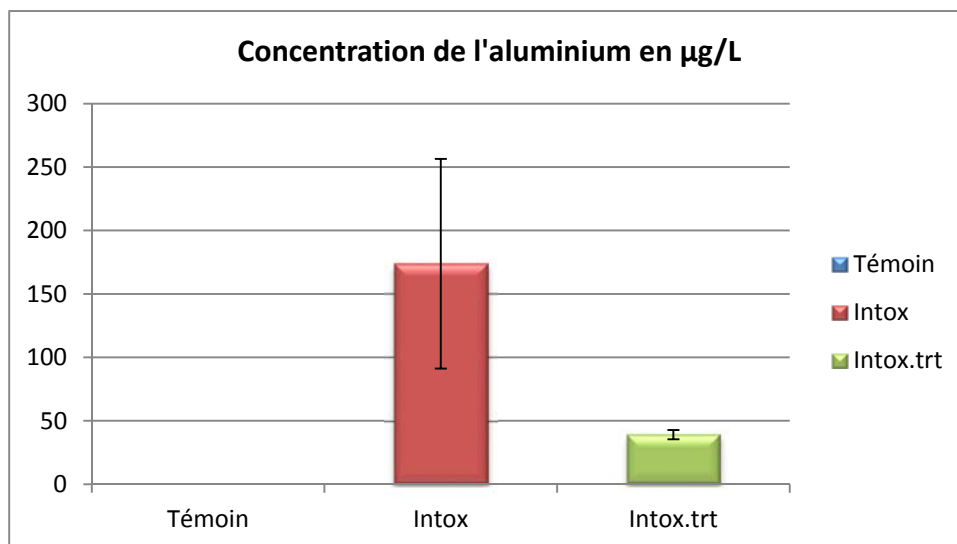


Figure 91: concentration de l'aluminium mesuré par spectroscopie d'absorption atomique du lot témoin, lot intoxiquées par l' AlCl_3 (100mg/kg) et lot intoxiqué traité (Intox.Trt) traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) par voie orale après une durée d'intoxication/traitement de 90 jours.

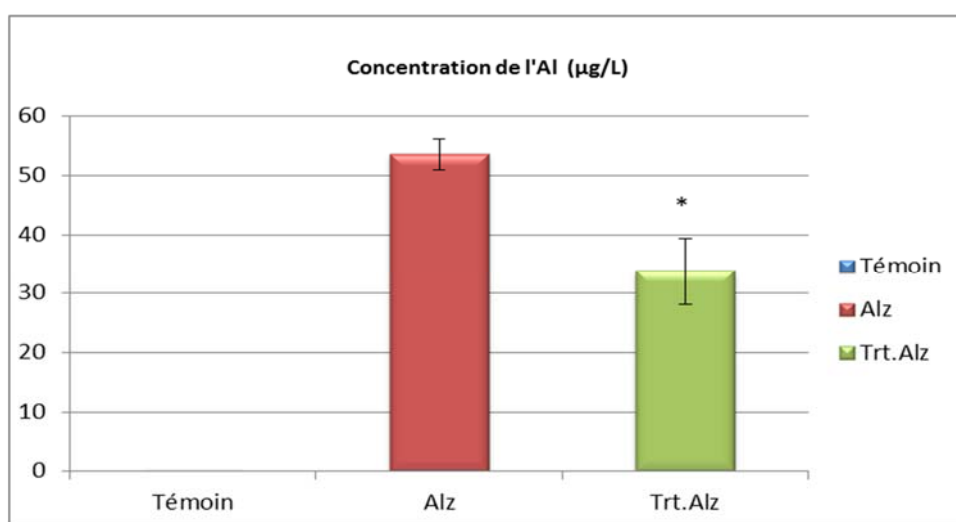


Figure 92: concentration de l'aluminium mesuré par spectroscopie d'absorption atomique de lot témoin, lot model Alzheimer(Alz) intoxiquées par l' AlCl_3 (100mg/kg) avec D-galactose (200mg/kg) par voie IP et lot traité(Trt.Alz) traitées par résine de *Boswellia* (200mg/kg) par voie orale après une durée d'intoxication/traitement de 90 jours.

II.3.2.2. L'intoxication au plomb

II.3.2.2.1. Résultat de test de toxicité aigüe

Afin de vérifier la sécurité de l'extrait aqueux de *Boswellia carteri* en usage thérapeutique dans notre travail expérimental, On a évalué par test de toxicité aigüe l'éventuelle toxicité de l'extrait aqueux de *Boswellia carteri* sur les souris. En effet, la dose administrée ne provoque aucune mortalité.

Notre résultat a prouvé in vivo que l'extrait aqueux de la résine de *Boswellia carteri* ne présentait aucun effet toxique.

II.3.2.2.2. Etude comportementale

II.3.2.2.2.1. Comportement stéréotypé (morsure, toilettage, reniflement)

II.3.2.2.2.1.1. Morsure:

Les résultats obtenus après une intoxication chronique au l'acétate de plomb et d'un traitement par la résine boswellique montre que les souris intoxiquées ont un nombre élevé de morsure contrairement au l'intoxiqué traité. Figure 93

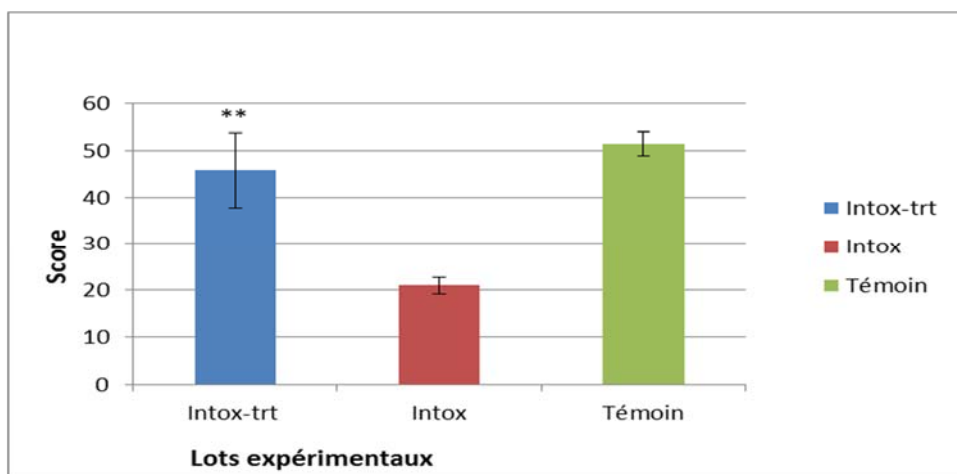


Figure 93: Résultat de test de morsure chez les souris intoxiquées (I) par le Pb à une dose de 500ppm par voie orale, intoxiqué-traité (I-tr) intoxiquée par Pb (500ppmV.O) traité par *Boswellia carteri* (200mg/kg- V.O) comparées aux témoins(T) durant 12 semaines.

II.3.2.2.2.1.2. Toilettage :

Contrairement au test précédent le nombre de toilettage est inférieur chez les souris intoxiquées comparativement aux témoins et au groupe traité. Figure 94

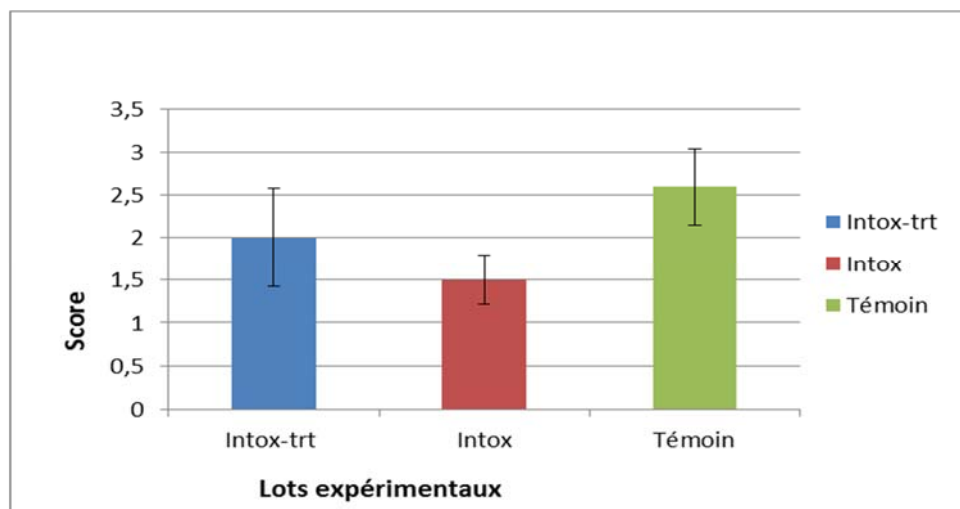


Figure 94: Résultat de test de toilettage chez les souris intoxiquées (I) par le Pb à une dose de 500ppm par voie orale, intoxiqué-traité (I-tr) intoxiquée par Pb (500ppmV.O) traité par *Boswellia carteri* (200mg/kg- V.O) comparées aux témoins(T) durant 12 semaines.

II.3.2.2.1.3. Reniflement : est inférieurs chez les deux groupes intox et intox-trt (fig 95)

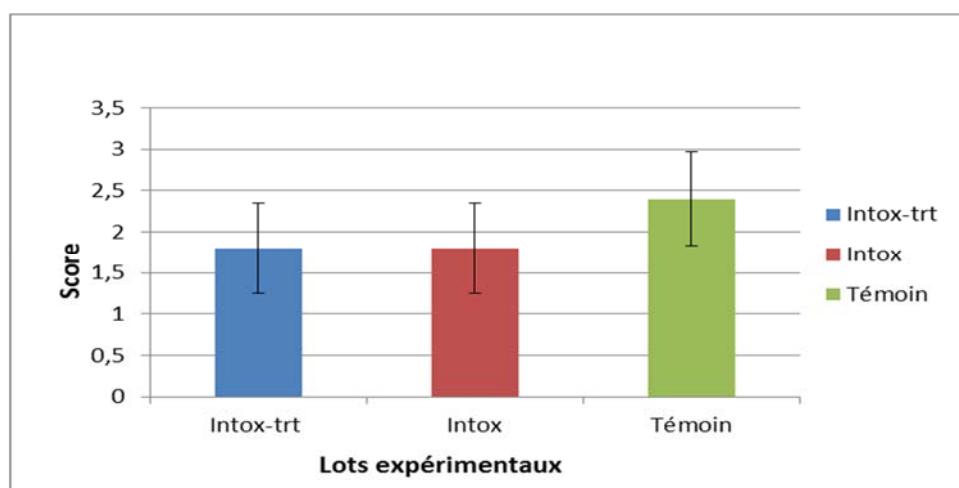


Figure 95: Résultat de test de reniflement chez les souris intoxiquées (Intox) par le Pb à une dose de 500ppm par voie orale, intoxiqué-traité (Intox-trt) intoxiquée par Pb (500ppmV.O) traité par *Boswellia carteri* (200mg/kg V.O) comparées aux témoins(Témoin) durant 12 semaines.

II.3.2.2.2.2. L'activité locomotrice

Les résultats obtenus après une intoxication chronique au l'acétate de plomb et d'un traitement par la résine boswellique montre une hyperactivité locomotrice chez les souris intoxiquée par rapport aux souris intoxiqué traitées et témoins, on note que les souris intoxiquée traitées ont dévoilé des résultats qui sont approximativement les mêmes que les témoins. L'activité des toutes les lots a diminué à chaque phase. Cependant, l'administration de la solution de la résine de la plante a permis d'enregistrer une nette amélioration dans le temps d'exploration chez les souris intoxiquée au plomb figure 96. Ces résultats montrent de l'administration de la résine boswellique a permet de corriger hyperactivité induite par le plomb. Figure 96

Ces résultats sont non significatifs

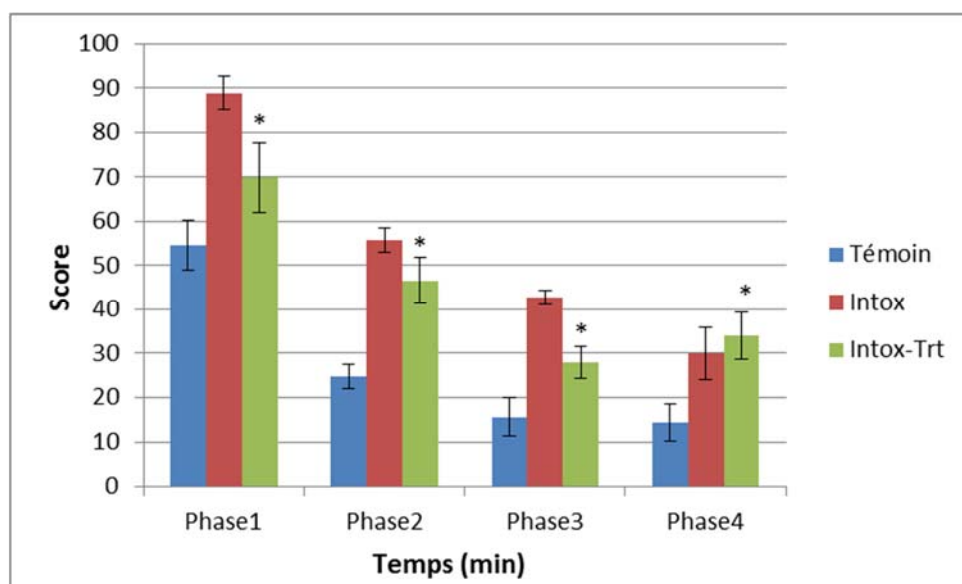


Figure 96 : Effet du Plomb sur l'activité locomotrice des souris intoxiquées (Intox) par le Pb à une dose de 500ppm par voie orale, intoxiqué-traité (Intox-trt) intoxiquée par Pb (500ppmV.O) traité par *Boswellia carteri* (200mg/kg V.O) comparées aux témoins(T) durant 12 semaines.

II.3.2.2.2.3. Test de la nage forcée

Pendant le test de la nage forcée on a observé que le temps d'immobilité enregistré chez les souris intoxiqué est moins que celui enregistré chez les souris témoins et intoxiqué traité ; ces deux derniers ont marqué un peu près le même temps d'immobilité.

Cependant on a observé que le traitement des souris à l'extrait aqueux de la résine Boswellique marque une amélioration significative de temps d'immobilité (figure 97), ces résultats sont hautement significatifs.

À travers ces résultats, l'analyse statistique révèle un temps d'immobilité significativement inférieur à celui des souris témoins ceci est en faveur d'installation d'un état dépressif. Figure 97

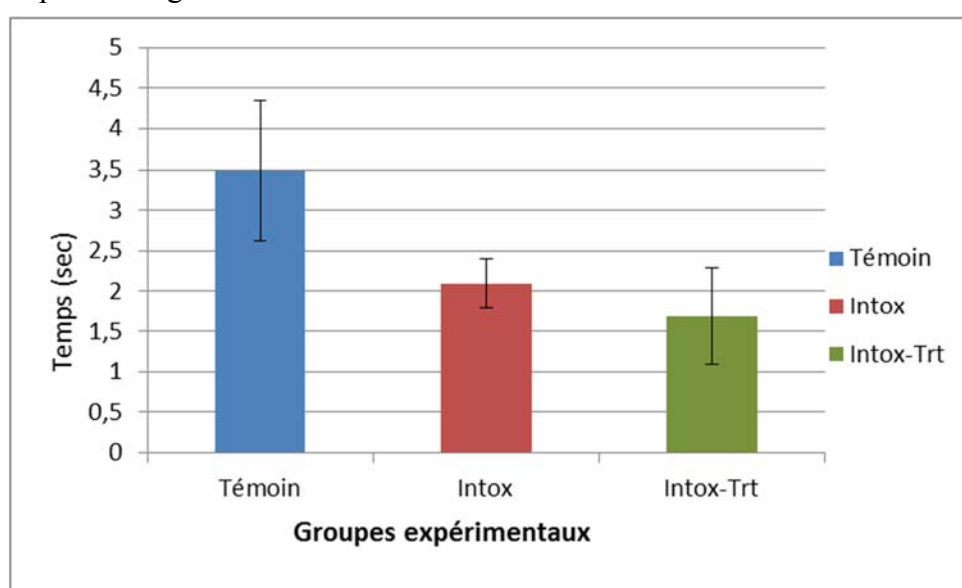


Figure 97 : Effet du Pb sur la nage forcée (test de stress) des souris intoxiquées (I) par le Pb à une dose de 500ppm par voie orale, intoxiqué-traité (I-tr) intoxiquée par Pb (500ppmV.O) traité par *Boswellia carteri* (200mg/kg V.O) comparées aux témoins(T) durant 12 semaines.

II.3.2.2.3. Test de compartiment noir et blanc (test d'anxiété)

Ce test permet une évaluation simple et rapide de l'état anxieux de l'animale.

D'après les résultats enregistrés, on remarque que les souris intoxiquées par l'acétate de plomb préfèrent le compartiment éclairé et passent beaucoup plus de temps dans cette compartiment ; contrairement aux lots témoins et intoxiquées traitées par l'extrait aqueux de la résine boswellique et le témoin passent beaucoup plus de temps dans le compartiment obscur. Figure 98

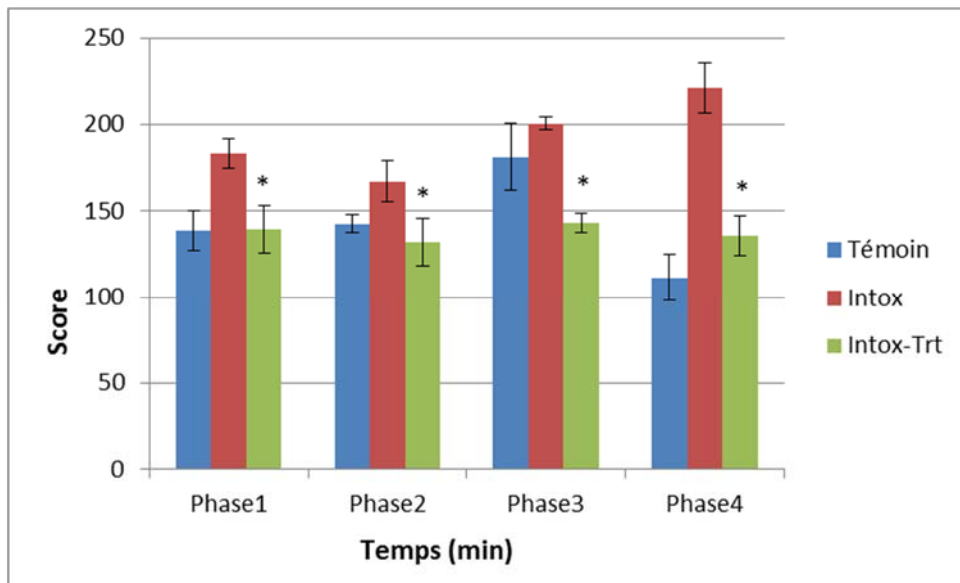


Figure 98 : Résultats de test d'anxiété chez les souris intoxiquées (I) par le Pb à une dose de 500ppm par voie orale, intoxiqué-traité (I-tr) intoxiquée par Pb (500ppmV.O) traité par *Boswellia carteri* (200mg/kg V.O) comparées aux témoins(T) durant 12 semaines.

II.3.2.2.3. Les résultats des analyses biochimiques

II.3.2.2.3.1. L'évolution de TGO chez les souris

Le but de l'expérimentation consiste à étudier l'effet d'une intoxication chronique au plomb sur l'activité catalytique des transaminases, qui sont considéré comme de bons marqueurs du fonctionnement hépatique.

Les variations du taux de TGO sont présentées dans les figures 100. Le taux de TGO est de l'ordre de 439.5 ± 156.27 UI/l chez les souris témoins (T) par contre les rats intoxiqués ont un taux de TGO qui est de l'ordre 504.5 ± 21.92 UI/l. Ces résultats montrent clairement une augmentation de taux de TGO chez les souris intoxiqués(I) par rapport aux souris témoins.

Après avoir confirmé l'imprégnation en plomb, on a comparé les résultats des trois lots avec ceux d'intoxiqué-traité (I-Tr) pour évaluer l'effet détoxifiant de la résine Boswellique.

Le taux de TGO est de l'ordre de 439.5 ± 156.27 UI/l chez les rats témoins, 504.5 ± 21.92 UI/l chez les rats intoxiqués et de 438 ± 38.18 UI/l chez les rats intoxiqués et traités par la résine Boswellique.

Les résultats obtenus montrent une diminution du taux de TGO chez les souris intoxiqués à l'acétate de plomb et traités par la résine Boswellique par rapport aux souris intoxiqués au plomb (figure 99)

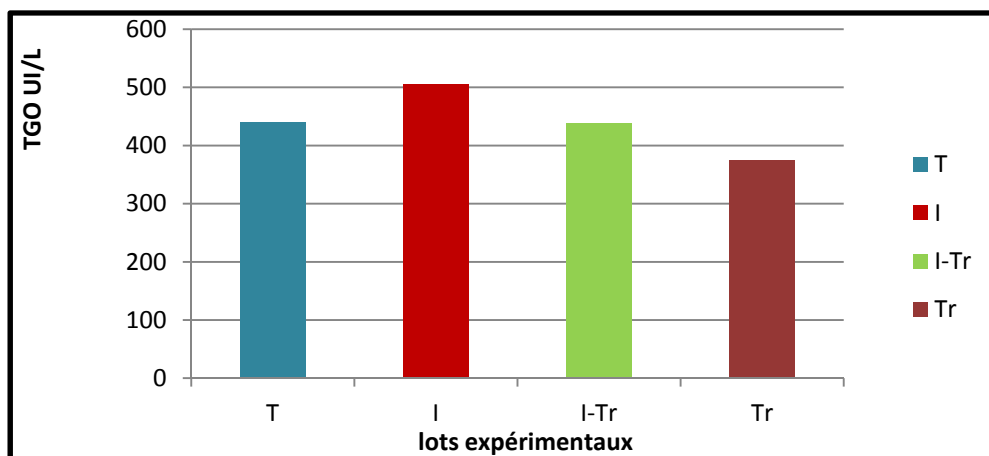


Figure 99: Taux de TGO en UI/L chez les souris intoxiquées (I) par le Pb à une dose de 500ppm par voie orale, intoxiqué-traité (I-tr) intoxiquée par Pb (500ppmV.O) traité par *Boswellia carteri* (200mg/kg V.O) comparées aux témoins(T) durant 12 semaines.

II.3.2.2.3.2. L'évaluation de TGP chez les souris

Les variations du taux de TGP sont présentées dans les figures 17. Le taux de TGP est de l'ordre de $105,5 \pm 31,82$ UI/l chez les souris témoins (T) par contre les souris intoxiqués (I) ont un taux de TGP qui est de l'ordre $139 \pm 41,01$ UI/l. Ces résultats montrent clairement une augmentation de TGP chez les souris intoxiqués par rapport aux souris témoins.

Le taux de TGP est de l'ordre de $105,5 \pm 31,82$ UI/l chez les souris témoins, alors que celui des souris intoxiqués a atteint $139 \pm 41,01$ UI/l, par rapport aux souris intoxiqués et traités par la résine Boswellique (I-Tr) qui ont un taux de TGP $120,5 \pm 19,09$ UI/l valeur nettement inférieure à celle de souris intoxiqués. Figure100

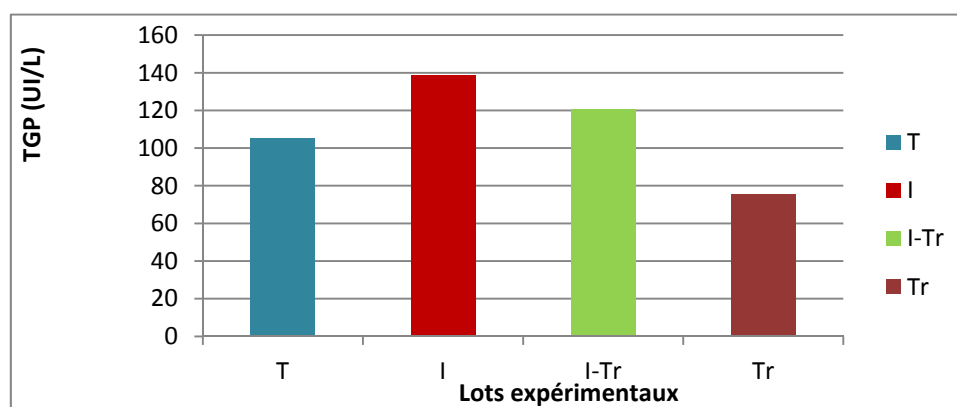


Figure 100 : Taux de TGP en UI/L chez les souris intoxiquées (I) par le Pb à une dose de 500ppm par voie orale, intoxiqué-traité (I-tr) intoxiquée par Pb (500ppmV.O) traité par *Boswellia carteri* (200mg/kg V.O) comparées aux témoins(T) durant 12 semaines.

II.3.2.2.4. Résultats du dosage du plomb cérébral

Les résultats de spectrophotométrie atomique a permis d'enregistré un taux élevé en plomb au niveau des structures cérébrales (hippocampe et amygdale) chez les souris exposé au plomb .Ces résultats montrent une bonne imprégnation du plomb dans l'organisme et confirment le passage du plomb au niveau cérébral et que le cerveau constitue en effet un des sites préférentiels de fixation du Pb.

Ainsi l'administration de l'extrait de la plante a permis d'enregistrer une réduction dans le taux du plomb ceci en faveur d'un processus d'élimination du plomb (détoxification).

L'administration de l'extrait de la résine boswellique a permis d'enregistrer une réduction dans le taux du plomb au niveau d'hippocampe et amygdale. Figure 101

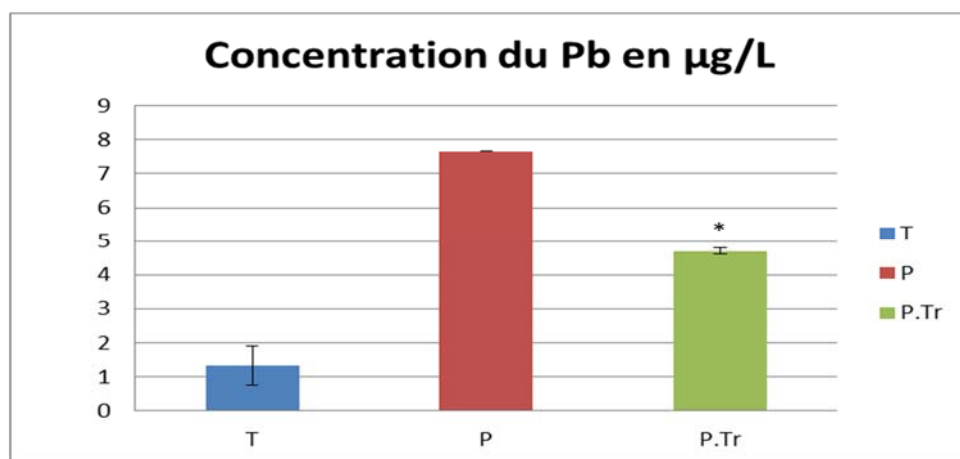


Figure 101: concentration du Plomb mesuré par spectroscopie d'absorption atomique en µg/l du lot témoin, lot intoxiqué(Intox) par le plomb (100ppm) et lot traité(Intox.trt) par résine de *Boswellia* (200mg/kg) après une intoxication/traitement de 12 semaines.

II.3.2.2.5. Etude histologique

L'étude microscopique des coupes histologiques au niveau du cerveau chez les souris intoxique par l'acétate du plomb (100mg/kg p.o) intoxiqué traitées par la résine boswellique à une dose de (200 mg/kg) par voie orale, comparées aux témoins durant 3mois. Figure 103

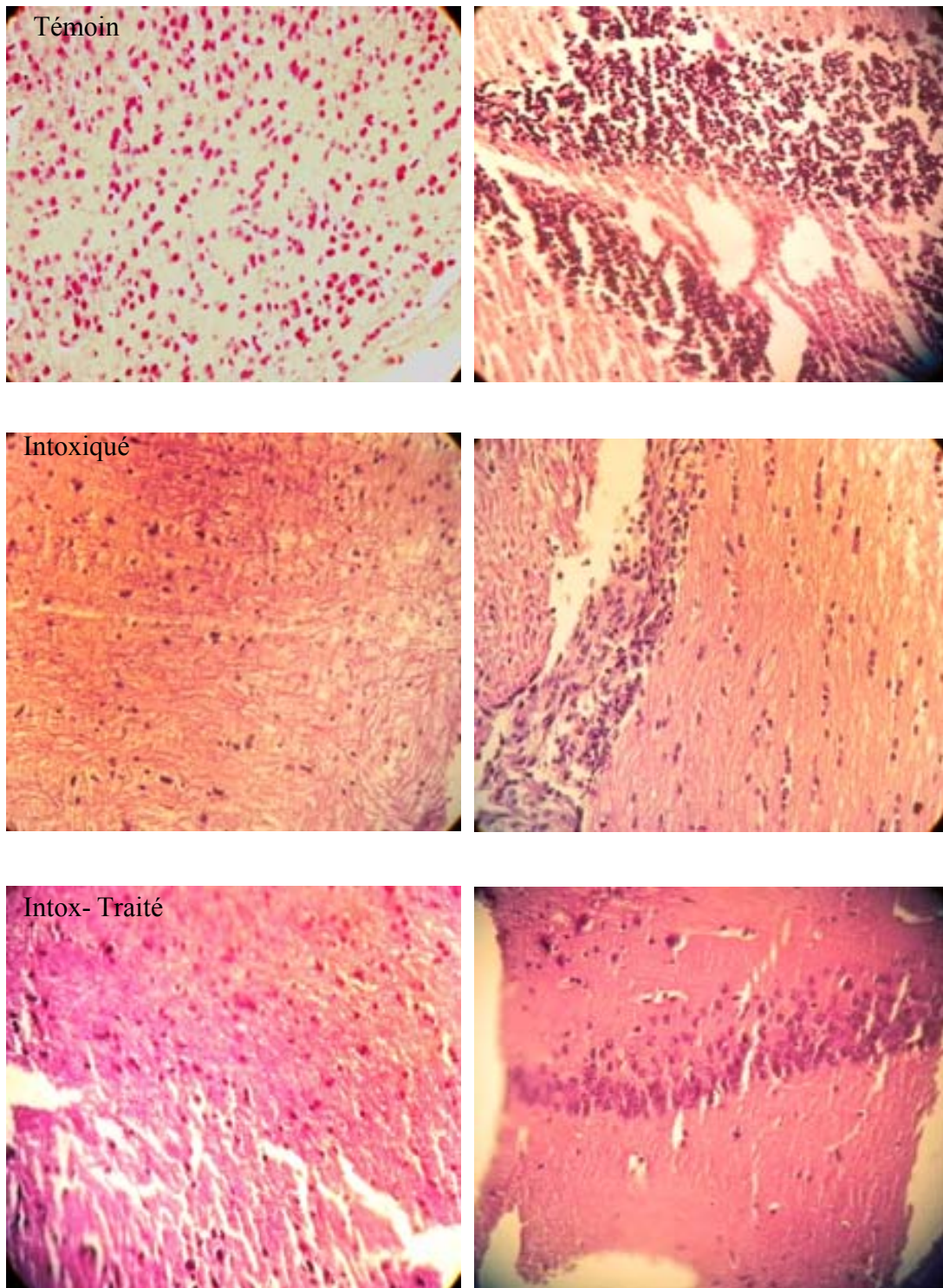


Figure 102:Etude microscopique de tissus nerveux effectuée par la coloration(H.E) chez des souris intoxiquées (p) par acétate du plomb à une dose de 100mg/kg et des souris intoxiquées traitées(P.Tr) par la résine boswellique comparé aux témoin (T)durant 3mois (G×400).

Discussion

★ Nous constatons que :

- Nous avons remarqué que les alcaloïdes sont plus importants dans la résine boswellique. Leur présence est confirmée par la réaction de MAYER et de WAGNER
- Les indices de mousses indiquent que l'intensité des saponosides est plus importante dans la résine boswellique. Ceci confirmée la présence des stéroïdes et des triterpénoïdes; Ces résultats sont en accord avec les travaux [236] (Simla B, 2001)
- Les familles chimiques détectées dans notre étude viennent confirmer les travaux d'Al-Harrasi A et al en 2008 [237] sur la même espèce (*Boswellia carteri*)

La composition chimique de la résine Boswellique effectué par chromatographie gazeuse couplé à la spectroscopie de masse pourrait identifier 89,67% de la composition, d'autres composants fréquents n'ont pas été identifié ; L'identification des composant de l'huile essentielle de la résine a été basé sur la comparaison de leur masse spectroscopique avec la base de Wiley et Nist des huiles essentielles.

Nous avons comparé nos résultats l'origine botanique certifiée avec ceux de la littérature. Alors que la littérature abondante documentant la composition triterpénique existe en olibanum (en raison de leur Propriétés), les descriptions des terpènes volatils de l'olibanum sont rares. Il s'agit d'un ingrédient (obtenu par hydrodistillation) qui est largement utilisé en parfumerie, en particulier comme fixateur. Cependant, l'origine botanique de l'échantillon d'olibanum n'était souvent pas spécifiée. Le présent travail a démontré la composition chimique similaire d'olibanum de différentes espèces. Ce qui coïncide avec les travaux de Pernet, qui a mis en évidence par une enquête ethnobotanique et chimique de la famille des Burseraceae [238] et La conclusion de Thulin et Warfa qui considéraient que ses espèces ne doivent pas être considérés comme des espèces distinctes car ils ne diffèrent que par leur situation géographique [239]. Plus récemment, dans un article sur l'analyse des triterpènes de divers échantillons d'olibanum Par HPLC, Mathe et al. Trouvé les mêmes composants de deux différentes espèces [240]. De façon surprenante, notre description de la composition chimique de la résine Boswellique du sud algérien (Adrar) considéré par comparaison

botanique *Boswellia carterii* est conforme à celle décrite dans La littérature, à l'exception de certains composés.

Un certain nombre de publications rapportent l'octylacétate (64), Octanol (11), l' α -pinène (0.23) et limonène, cineole comme principaux constituants de l'huile essentielle de *B. carterii* *olibanum* [241-242].

La littérature sur la composition chimique de l'olibanum est souvent confondue quant à la véritable origine de l'Olibanum. Deux dénominations existent pour l'olibanum : Résines et gomme Aden et Erythrée. Selon Peyron, Les deux sont recueillis par des artisans, puis ils sont lavés, séparés et exportés, mais La relation entre leur origine botanique et leur dénomination n'est pas claire [243]. Trois études indépendantes ont montré que le produit chimique Composition de " Aden " dénommée *olibanum* était Semblable à celui de notre *B. carterii* *olibanum* d'Aden, Avec un α -pinène (0.23), un limonène (2) et un p-cymène (0.24) comme principaux composants [244,245, 246]. Un *olibanum* commercialisé sous la dénomination «Érythrée» a montré la prédominance d'acétate d'octyle [244]. Notre résultat confirme l'identification par observation de l'espèce étudiée.

★L'activité antioxydante peut être due à des substances bioactives présentes dans les huiles essentielles et sont principalement les poly phénols, il a été démontré que l'activité de piégeage des radicaux libres est très influencée par la composition phénolique des huiles essentielles [247] mais il est bien connu que l'huile essentielle du *Boswellia* est plus riche en monoterpènes tels que (α -pinene, limonene, cineole, p-cymene,...) et en alcool (octanol ,....) [248] et cela explique pourquoi l'activité antioxydante est plus élevée par rapport à celle des huiles essentielles pauvres en poly phénol et elle est moins élevés par rapport à celle des huiles essentielles riches en poly phénols comme le cas du romarin qui est considéré comme étant un antioxydant de référence par l'OMS 2002 , le thym « *Thymus capitatus* » [249].

Quelques huiles essentielles riches en composants non phénoliques ont aussi un potentiel antioxydant, aussi il y a la présence d'un potentiel antioxydant significatif des huiles essentielles riches en hydrocarbures mono terpènes (limonene and α -pinene). Dans le cas de l'huile essentielle de *Melissa officinalis* L., les aldehydesmonoterpenes (cital, citronellal),

ketonesmonoterpenes (isomenthone et menthone) et hydrocarbones sesquiterpènes (trans-caryophyllène) sont responsables de la neutralisation du DPPH [250].

L'aptitude des huiles essentielles à inhiber la peroxydation lipidique évaluée par la technique de décoloration du β -carotène (figures 61) montre que l'oxydation de l'acide linoléique est efficacement inhibée par notre huile.

Cet essai montre que l'huile essentielle de *Boswellia* possède un faible pouvoir antioxydant par rapport à celui de l'antioxydant de référence (acide ascorbique) et élevé par rapport aux résultats obtenus par le DPPH. Cette technique confirme les résultats obtenus par le test précédent et montre que l'huile essentielle de *Boswellia* présente un meilleur profil antioxydant.

Par comparaison au test du piégeage du DPPH, l'huile essentielle a montré également une meilleure capacité anti oxydative. Cela est dû à la présence de composés phénoliques et mono terpènes. La capacité de l'huile essentielle d'inhiber le blanchissement du β -carotène est plus élevé que sa capacité de piéger les radicaux libres du DPPH.

Toutefois, d'après tous ces résultats nous pouvons déduire que le pouvoir antioxydant de notre espèce de *Boswellia sp* reste inférieur à celui de l'antioxydant de référence (acide ascorbique). Ce qui montre que l'huile essentielle de *Boswellia sp* est dotée d'une bonne efficacité réductrice du radical DPPH mais une très bonne capacité d'inhiber la peroxydase de l'acide linoléique.

★ Après le test de toxicité aigüe on pas des mortalités des souris. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Bietrix, 2004 ; Singh, 1986[94 ;97] qui ont observé que l'administration d'acides boswelliques chez des rats et des primates pendant 3 mois à 10 fois la dose recommandée ne montre aucun effet néfaste. Chez le rat une dose quotidienne de 1 g / kg d'extrait de *Boswellia serrata* pendant 4 mois n'entraîne aucune modification pathologique des paramètres hématologiques, biochimiques ou histologiques. L'étude de la toxicité sub-aigüe chez des lapins pendant 3 mois, ainsi que la toxicité chronique chez des primates (0.5g / kg), rats (1 g / kg) et souris (2 g / kg) sur une durée de 6 mois n'a révélé aucun trouble particulier.

La neurotoxicité de l'aluminium est prouvée par son effet sur la mémoire et la capacité d'apprentissage. En effet, lors de notre étude, nous nous sommes intéressées à l'étude de l'effet d'une exposition chronique au chlorure d'aluminium sur le comportement qui a été étudié par une série de tests chez des souris. Le traitement phytothérapeutique a montré une vaste utilisation pour lutter contre ces effets toxiques. Dans cette étude l'effet neuroprotecteur de la résine *Boswellia* a été évalué.

L'étude comportementale a été effectuée par l'évaluation du comportement anxiodépressif ainsi que les performances mnésiques des souris.

Les résultats obtenus de l'activité locomotrice montrent que les souris intoxiquées, souris modèle Alzheimer et souris traitées par résine de *boswellia sp* sont hyperactives par rapport aux souris témoins. Ces résultats ne concordent pas avec les travaux de Rech, R. H., and Commissaris et al 1982 [251], et de Golub et al 1996 [252], et de Kumar et al, 2009 [253] qui ont observé que l'activité locomotrice diminue suite à l'intoxication aluminique.

Les résultats du test de curiosité, qui mesure le comportement d'exploration manifesté par les souris révèlent que les souris intoxiquées et les souris modèle Alzheimer sont moins exploratrices que les souris témoins et traitées. Ceci suggère que l'intoxication par l'aluminium induit des dommages aux niveaux du système nerveux ce résultat coïncide avec les travaux de Gourrier-Fréry, 2004 [254].

Le Labyrinthe en croix surélevé est couramment utilisé pour l'étude des comportements liés à l'anxiété chez les rongeurs [255-256].

Les résultats obtenus montrent bien l'anxiété des souris intoxiquées au chlorure d'aluminium comparées aux témoins, que les souris modèle Alzheimer qui passent beaucoup de temps dans le couloir protégé que les souris témoins et Alzheimer traité et cela ne concordent pas avec les travaux de Djebli et al., 2008 [181].

Les variables reflétant l'anxiété de l'animal dans ce test sont les pourcentages d'entrées et de temps passé dans les branches ouvertes ainsi que le temps passé et nombre d'entrée dans la plate-forme centrale.

Buraimoh et al, 2012 [257] ont conclu que l'exposition au chlorure d'aluminium a des effets négatifs sur le comportement anxieux des souris et cause une augmentation des taux d'anxiété, ce qui concorde avec nos résultats concernant les souris intoxiquées.

Les résultats de l'épreuve d'anxiété indiquent que les souris intoxiquées et Alzheimer passe plus de temps dans le compartiment noir par contre que les souris témoins-traitées Alzheimer-traitées et intoxiqués-traitées, passe beaucoup plus de temps dans le compartiment Blanc ce résultats ne concordent pas avec les travaux de Djebli et rebai , 2008 [181]; Onaivi, Martin, 1989[258].

Les résultats obtenus lors de test de la nage forcée montrent que le temps d'immobilité e des souris témoins, témoins-traitées, Alzheimer-traitées et intoxiqués-traitées est beaucoup plus important que les souris intoxiquées et les souris modèle Alzheimer sont les moins résistants dans l'eau, ce qui concorde avec les travaux de Detke et *al.*,1995 et Gardier et Bourin., 2001 [259 ; 215] qui ont démontrés que les souris intoxiquées s'immobilisent par désespoir [260].

Plusieurs études antérieures ont mis en évidence la neurotoxicité du D-galactose et du chlorure d'aluminium [261]. De plus, ils induisent une démence expérimentale sporadique de type Alzheimer [262].

En effet, lors de notre étude, nous sommes intéressées à l'étude de la mémoire spatiale de référence (mémoire à long terme) et la mémoire de travail (mémoire à court terme) dans le labyrinthe aquatique du double H.

Résultats obtenus de test du labyrinthe en double H, les souris Alzheimer on pris largement de temps pour arriver à plate-forme comparés aux autres groupes.

Le labyrinthe du double H est un nouveau dispositif qu'on a récemment validé qui facilite les taches d'apprentissage [263], et les manipulations des protocoles d'acquisition [264]. Dans l'un de ces protocoles, les souris étaient formées à nager à partir d'un départ constant(N) à un bras de cible constante(NE).Quant ensuite testé dans un essai de plate-forme virtuelle (comme dans les expériences actuelles), les souris s'engagent dans un comportement entraînée par la mémoire (procédurale) (à droite), mais changent par la suite vers un comportement conduit

selon les références spatiales, ce qui indique une flexibilité dans leur traitement cognitif de la situation [264].

Résultats obtenus de test de labyrinthe radiaire à 8 bras(MST), les souris Alzheimer et Alzheimer traitées ont pris largement de temps pour arriver à l'aliment comparés aux souris témoins et témoins traitées.

Mémoire non spatiale de préférence conditionnée on a remarqué que les souris témoins traitée et Alzheimer traitée et intoxiquée traitée passent beaucoup plus de temps dans le bras éclairés appâté contrairement aux souris témoins, souris intoxiquée et modèle Alzheimer.

Ainsi que pour le test de distinction de position a montré que le temps passe dans le bras appâté on a remarqué que les souris témoins traitée et Alzheimer traitée et intoxiquée traitée passent beaucoup plus de temps dans le bras appâté contrairement aux souris intoxiquées et Alzheimer donc cette plante contient un effet thérapeutique.

Le test de piscine de Morris est afin d'évaluer la mémoire spatiale de travail (MST), ou mémoire spatiale de référence (MSR), on a observé que les souris Alzheimer et les souris intoxiquées passent beaucoup plus de temps pour arriver à la plateforme. comparés aux souris traitées et témoins. Ces résultats concordent avec les travaux de Luo et al., 2007 [265] qui ont remarqué que ces intoxiquées mettent beaucoup plus de temps pour arriver la plateforme comparées aux témoins. Ces souris intoxiquées et modèle Alzheimer révèlent un déficit d'apprentissage spatial et la capacité à mémoriser.

Zhang et al., 2013 ont conclu à partir de leurs travaux que l'exposition subchronique à l'Aluminium altère la mémoire spatiale, notamment la mémoire à long terme (mémoire de références) [266]. Cette détérioration des fonctions cognitives est le résultat d'une neurodégénérescence et de changements histopathologiques au niveau du cortex cérébral, du cervelet et de l'hippocampe dus à un niveau élevé de stress oxydatifs. [267].

Une perturbation des fonctions de l'hippocampe produit des déficits dans les processus d'apprentissage et d'acquisition dans la mémoire à court terme, ces altérations sont considérées comme caractéristiques de la MA [268].

★ Nos résultats montrent que le traitement chronique au plomb induit une hyperactivité locomotrice chez les souris intoxiqués, tel qu'observé par la augmentation du nombre des cases visité ceci comparé aux lots témoins et intoxiqué traités, liés respectivement aux activités d'exploration et de locomotion.

Nos résultats sont désaccord avec ceux de Reiter et *al.*, 1975, Moreira et *al.*, 2001, Reckziegel et *al.*, 2011 [269,270,271].. Ont mis en évidence une diminution de l'activité chez la souris ou le rat.

Toute fois dans le test relatif à la nage forcée, les résultats ont montrés une diminution significative dans le temps d'immobilité chez les souris intoxiqués ceci comparés aux souris témoins et traités. Certains auteurs [272]. qui ont démontrés que les sujets intixiqués présentent une dépression due à la perte d'espoir de s'échapper ce qui diminue le temps de latence et ont démontrés que stimulation des récepteurs dopaminergique de type D1 et D2 réduisent le temps d'immobilité chez les souris.

Les travaux de Rice (1988, 1992, 1993) [273,274,275]. ont présenté aussi des comportements de persévération, une augmentation de la distractibilité et une incapacité à inhiber les réponses inappropriées, témoignant ainsi d'un défaut d'attention.

Les résultats obtenus durant l'épreuve d'anxiété dans les deux cas étudiés indique que les souris intoxiquées passent beaucoup plus de temps dans le compartiment éclairé ; contrairement aux souris témoins et intoxiquées traitées ; ce qui coïncide aux travaux de [181 ;214].

Selon Sakari Tola 1977[276], l'activité enzymatique des transaminases des travailleurs exposés au plomb est supérieure à celle du groupe normal. Donc le plomb induit une augmentation des activités enzymatiques hépatiques.

Nos résultats se concordent avec ceux de [276], qui ont constaté que le taux des transaminases augmente chez des sujets exposés au plomb.

Le résultat de l'étude histologique indique une amélioration en nombre de cellules au niveau d'hippocampe ainsi qu'au niveau du cortex de groupe traité comparé à l'intoxiqué, résultat qui confirme les informations précédente de réduction du stress oxydatif due au plomb.

CHAP III : QUERCUS



III. *Quercus suber*

III.1. Matériel et méthodes

Le choix de plante étudiée *Quercus suber* est basé sur une enquête ethno pharmacologique auprès de la population ayant connaissance de leur usage en médecine traditionnelle. La récolte de cette espèce a été effectuée dans le centre (Blida), dans la station de Chréa (Blida).

L'étude porte sur les feuilles du *Quercus suber* qui ont été récoltées le mois de janvier 2016 ; nettoyées et séchées à l'ombre et à température ambiante pendant quatre semaines. Ensuite elles ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre fine qui a servie pour l'extraction figure 103.



Figure 103 : les feuilles de *Quercus suber* et la poudre après broyage.

III.1.1. Etude *in vitro*

III.1.1.1. L'extraction à polarité croissante

La méthode d'extraction que nous avons employée est la macération successive par deux solvants de polarité croissante [277]. Il s'agit de l'éther de pétrole et le méthanol. 20 g de poudre sèche est d'abord macéré dans 200 ml d'éther de pétrole pendant 24 heures, le mélange est filtré (l'opération est répétée deux fois). Le marc a été repris avec 200ml de méthanol (l'opération est répétée deux fois). Les extraits obtenus sont ensuite stockés à 4°C jusqu'à leur utilisation.

L'évaporateur rotatif est un appareil qui permet d'effectuer une distillation simple sous pression réduite. Il est utilisé pour éliminer les solvants volatils. Le liquide bout, les vapeurs sont condensées dans le réfrigérant et le solvant tombe dans le ballon de récupération.

Le soluté, en général solide dans ces conditions, se dépose sur la paroi du ballon principal. La basse pression permet d'abaisser la température d'ébullition du solvant, ce qui accélère considérablement l'évaporation et évite tout risque de dégradation thermique du produit.

La technique était comme suit :

- ✓ Placer l'extrait contenant le solvant à évaporer dans le ballon principal, le plonger dans le bain marine d'eau chaude à 30°C et le mettre ensuite sous rotation (200 tour /s).
- ✓ Ouvrir le robinet d'eau froide relié au réfrigérant.
- ✓ Fermer ensuite la vanne reliant le montage à la pression extérieure et faire le vide à l'intérieure de l'appareillage à l'aide d'une pompe à vide.
- ✓ Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition presque totale du solvant et l'obtention de l'extrait qui sera par la suite stocké à 4°C.

III.1.1.2. Evaluation de l'activité antioxydante

III.1.1.2.1. Le test au DPPH

L'activité antioxydante in vitro a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl) par le même principe et méthode cités en résine boswellique

III.1.1.2.2. Le test au DMPD

Le principe de la méthode de N,N-diméthyl-1,4-diaminobenzène est identique à celui de DPPH, et détaillé précédemment.

III.1.1.2.3. Méthode de chélation du métal

Le fer est exploité dans ce test est exploité comme catalyseur de réaction de radicaux libre, le mécanisme est ainsi la chélation de ce métal considéré comme pro-oxydant. Les détail de ce test son cité précédemment

III.1.1.2.4. FRAP

La méthode de pouvoir antioxydant de réduction ferrique FRAP (Ferric reducing antioxydant power) est basée sur la détection des réaction de réduction des métaux oxydant.

III.1.1.2.5. PRAP (phosphormolybden reducing power)

Le principe de ce test est identique au test précédent avec des réactifs différents, les détails de réalisation sont déjà expliqués

III.1.1.2.6. CUPRAC

La méthode CUPRAC (cupric ion reducing power) consiste à mélanger la solution anti-oxydant : 25µl des extraits, 25µl de CuCl₂ (directement ou après hydrolyse acide) avec 25µl de solution de CaCl₂ néocuproïne, 25µl d'acide nitrique et 100µl d'eau à pH 7, et en mesurant l'absorbance à 450 nm après 30 minutes.

III.1.1.2.7. Traitement des données pour des dosages d'activité anti-oxydante

L'inhibition de DPPH, DMPD et la capacité de chélation métallique ont été calculé comme indiqué précédemment.

III.1.1.2.8. L'activité anticholinestérasique

L'activité inhibitrice de l'acetylcholinestérase AChE et la butyrylcholinestérase BChE des extraits a été décrite par Ellman [278] et modifié selon l'automate existant. Les détail de réalisation sont décrite en résine boswellique.

III.1.2. Etude *in vivo*

III.1.2.1. Matériel animal

28 souris femelles obtenues de l'institut pasteur âgées de 4 semaines avec un poids moyen de 26 +- g ont été élevée à l'animalerie de l'Université de Chlef avec un cycle lumière /obscurité de 12/12 h et une température ambiante de 18 ± 4°C. Les souris ont reçu une ration alimentaire journalière standard de 18 g par jour avec un accès libre à l'eau (eau potable).

Les souris ont été acclimatées pendant quelques jours avant l'expérimentation et ont été réparties par la suite ont 7 souris par cage.

III.1.2.2. Toxicité aigue

Une administration de forte dose de Quercus suber pendant 48h était nécessaire pour l'évaluation d'un effet toxique ou autre manifestations indésirables, le contrôle des animaux était basé sur une observation de taux de mortalité, troubles de comportement ainsi que les troubles digestives traduites par des vomissements ou des diarrhées.

III.1.2.3. Etude de l'activité antiparkinsonienne

III.1.2.3.1. Répartition des lots

Les souris ont reçu par voie intra péritonéale (IP) par l'halopéridol (1ml/kg) et traitées par Lévodopa et l'extrait éthanolique des feuilles de *Quercus suber* (500mg/kg) pendant 07 jours.

Les souris sont réparties en lots suivant l'ordre :

Lot 1 : Témoin T : Les souris ont reçu uniquement l'eau potable.

Lot 2 : PD : ayant reçu l'halopéridol (5 mg / kg, administrée par voie IP une fois par jour pendant 1 semaine).

Lot 3 : QP : traitées par l'extrait des feuilles *Quercus suber* par gavage 500mg/kg, avec l'halopéridol en IP.

Lot 4 : LD : reçu le Lévodopa avec l'halopéridol.

Les souris du groupe 3 et 4 ont été gavées 30 minutes avant l'injection intrapéritonéal de l'halopéridol.

III.1.2.3.2. Les paramètres étudiés

III.1.2.3.2.1. Etude comportementale

III.1.2.3.2.1.1. Test de Porsolt

Plus connu sous le nom "test de nage forcée", c'est un test de désespoir, consiste à maintenir la souris dans un bain d'eau tiède de 21°C d'une hauteur de 16 cm ou plus, afin de ne pas toucher le fond, la souris nage sa tête hors de l'eau puis s'immobilise par désespoir.

Les souris ont été observées pendant 5 minutes chacune et le « temps d'immobilité », a été enregistré.

III.1.2.3.2.1.2. Activité locomotrice

L'activité locomotrice des souris est caractérisée par l'activité horizontale et verticale des animaux dans la cage d'expérimentation, l'observation des animaux commence quelques secondes après l'introduction des animaux dans la cage d'observation. Ce test analyse le comportement exploratoire de la souris dans un espace clos.

Ce test a été exécuté dans une cage de 32×32 cm² divisée 16 cases identiques numérotées de 1 à 16. Les souris sont incluses dans la cage, dont le nombre de case visitée a été calculé

Pour chaque souris durant une période de 20mn en quatre phases 5mn de chacune.

L'expérience doit être effectuée en silence et il est préférable de laisser un temps de repos entre les quatre phases de test et cela afin de permettre à la souris d'explorer son nouvel environnement et d'éviter toutes sources de stress qui pourront fausser les résultats [279].

III.1.2.3.2.1.3. Sacrifice et analyses biologiques

Les souris sont anesthésiées par le chloroforme. Elles sont par la suite sacrifiées et les échantillons de sang des souris sont recueillis dans des tubes EDTA-k3 comme anticoagulant pour l'exploration hématologique.

III.1.2.3.2.1.3.1. Analyse hématologique

L'hémogramme, numération et formule sanguine (NFS), ou examen hématologique complet ou formule sanguine complète (FSC) ou hémato complet, est l'analyse quantitative (numération) et qualitative (formule) des éléments figurés du sang : hématies (globules rouges ou érythrocytes), leucocytes (globules blancs) et thrombocytes (plaquettes).

L'analyse à partir d'une prise de sang prélevé sur un tube contenant un anticoagulant, se fait de nos jours par un automate d'analyses médicales. Cette machine mesure directement le nombre d'érythrocytes, le volume globulaire moyen (VGM) de chacun d'entre eux et dose le taux d'hémoglobine. Il calcule ensuite l'hématocrite (rapport représenté par l'ensemble des globules rouges dans le sang), la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) et la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH), paramètre ayant moins d'importance. Les résultats de l'hémogramme varient physiologiquement en fonction du sexe, de l'âge et de l'ethnie. Principe

III.1.2.4. Etude de l'activité antioxydant *in vivo*

III.1.2.4.1. Répartition des lots

Les animaux ont été répartis au hasard en trois lots de 7 souris chacun.

Lot 1 (T) : Témoin, Les souris ont reçu de l'eau potable.

Lot 2 (I) : les souris intoxiquées par l'acide trichloroacétique(CCl_3COOH) en IP (5ml/kg)/7 jours.

Lot 3 (Qi) : les souris ont gavées par l'extrait de Quercus suber (500mg/kg)/ 7jours.

Au 7 ème jour le lot 3 a été intoxiqué 30 minutes après le gavage de l'extrait Quercus suber figure 16.

III.1.2.4.2. Sacrifice et analyses biologiques

Les souris sont sacrifiées par décapitation ; le sang est immédiatement recueilli dans deux tubes étiquetés, l'un sec et l'autre contient l'EDTA comme anticoagulant :

- Les tubes à EDTA serviront pour la détermination de la formule de numération sanguine (FNS) et le pourcentage de méthémoglobine.
- Les tubes héparines sont centrifugés à 5000 tours/minute pendant 15 minutes, les sérums récupérés serviront à la détermination des paramètres biochimiques (urée, créatinine, cholestérol, triglycéride, glycémie).
- Une ouverture abdominale longitudinale pour le prélèvement du foie. Ce dernier est conservé dans le formol à 30% pour étude l'histologique.

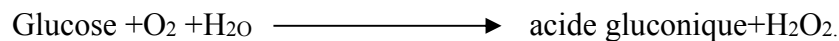
III.1.2.4.2.1. Dosage des paramètres biochimiques

A. Mesure de la glycémie

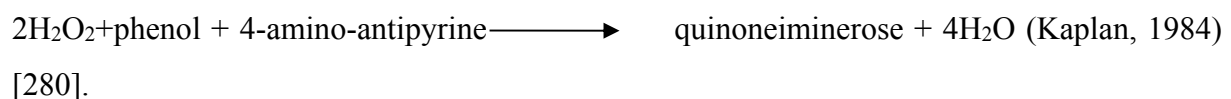
- **Intérêt du dosage** : évaluation de l'équilibre glycémique.
- **Principe**

Détermination enzymatique du glucose selon les réactions suivantes :

Glucose oxydase



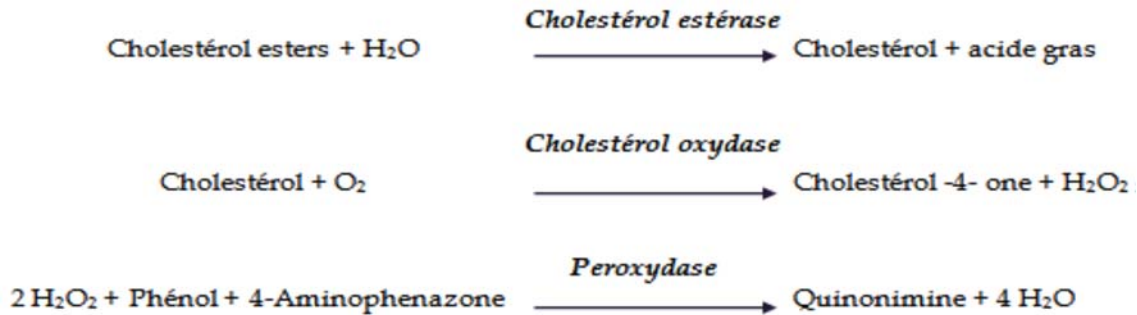
Peroxydase



B. Mesure du cholestérol

- **Principe**

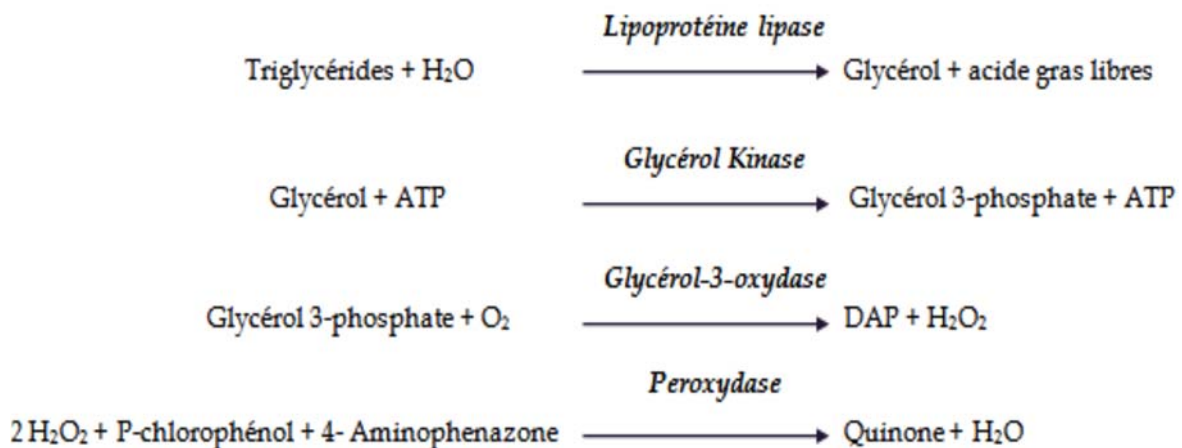
Le cholestérol présent dans l'échantillon forme un complexe colore selon la réaction ci-dessous, L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon (sérum ou plasma) (Naito, 1984)[281].



C. Mesure de triglycéride

- **Principe**

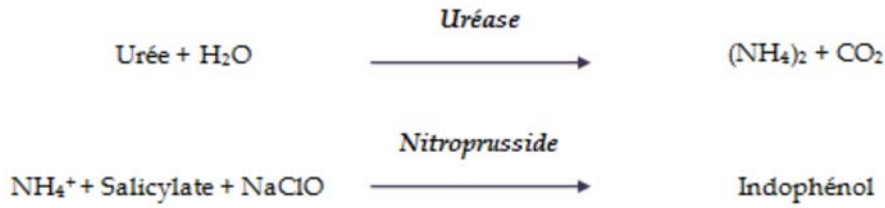
Les triglycérides présents dans l'échantillon forment un complexe colore, l'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans l'échantillon (sérum ou plasma) (Buccolo *et al*, 1973) [282].



D. Mesure de l'urée

- **Principe**

La technique utilisée pour la détermination du taux de l'urée est la méthode enzymatique utilisant l'uréase selon la réaction suivante :



Les ions d'ammonium peuvent réagir avec le salicylate et l'hypochlorite de sodium pour former un complexe colore en vert, l'intensité de couleur est proportionnelle à la concentration de l'urée présentée dans l'échantillon (plasma) [283].

E. Créatinine

▪ Principe de la méthode

Le test de la créatinine est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate sodium décrit par Jaffé.

La créatinine réagit avec le picrate alcalin en formant un complexe de couleur rouge .l' intervalle de temps choisi pour les lectures permet d'éliminer une grande partie des interférences connue pour la méthode.

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de créatinine présente dans l'échantillon test. [284].

III.1.2.4.2.2. Etude histologique

Les coupes histologiques ont été réalisées au laboratoire d'anatomie pathologie de docteur Terkia Djawed, la technique utilisée est celle décrite par Houlot (1984) [285] cité précédemment.

III.2. Résultats :

III.2.1. Etude *in vitro* :

III.2.1.1. Activité antioxydant :

De même, l'activité antioxydante de *Quercus suber* a été évaluée par les six méthodes citées précédemment,

- Piégeage des radicaux libre par les deux méthodes DPPH et DMPD qui n'a montré un effet très faible comparativement à celui de l'huile essentielle.

- Chélation du fer qui a montré un effet considérable.

- Le pouvoir réducteur par les trois méthodes FRAP, PRAP et CUPRAC en exploitant de différent éléments (Fer, Phosphore et le cuivre) par le même principe de réaction ; ces dernier ont montré un pouvoir réducteur considérable mais pas assez important

Tableau 21: activités antioxydants de l'extrait de *Quercus suber* comparé aux contrôles positives et control négative (l'éthanol).

	Echantillons (concentration de 2g/l)					
	Quercus.s	Quercitine	EDTA	Ac.Asc	Ac.Galique	etOH
DPPH	0.16±0.0005	0.13±0.03	-	-	-	1.79±0.07
DMPD	0.34±0.03	-	-	0.12±0.002	-	0.49±0.08
Chélation métallique	1.87±0.043	-	0.074±0.007	-	-	2.37±0.52
FRAP	1.34±0.017	1.28±0.004	-	-	-	0.045±0.005
PRAP	0.47± 0.014	0.40±0.004	-	-	-	0.047±0.002
CUPRAC	0.12±0.024	-	-	-	2.36±0.026	0.059±0.009

Pourcentage d'inhibition : des trois tests, DPPH, DMPD et Chélation métallique(Figure 104)

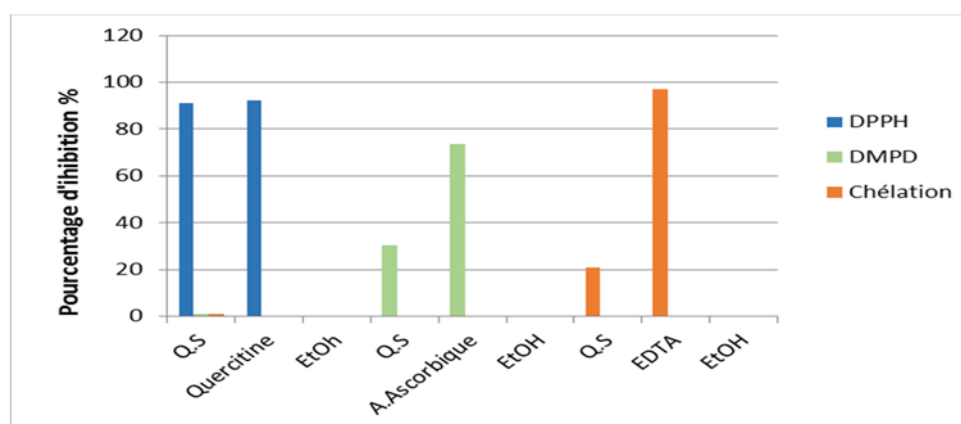


Figure 104: pourcentages d'inhibition de l'extrait de *Quercus suber* comparé aux contrôles positifs et control négatif.

III.2.1.2. Activité inhibitrice du cholinestérase

L'activité inhibitrice du cholinestérase de l'extrait de *Quercus suber* a été testé par la même méthode citée au chapitre précédent contre l'AChE et la BChE à 100 µg / mL en utilisant le lecteur de microplaques ELISA.

Nos résultats indiquent une inhibition de l'acétylcholinestérase et de la butylcholinestérase BChE (tableau 22).

Tableau 22 : pourcentage d'inhibition de l'AChE et la BChE

Quercus suber	% d'inhibition sur l'AChE		% d'inhibition sur la BChE	
	^a 150 µg/ml	^a 250 µg/ml	^a 125 µg/ml	^a 250 µg/ml
	^c 25.45±0.50	^c 14.80±0.83	^c 28.237 ± 2.43	^c 32.927 ± 1.77

^a concentration Final dans les puits, ^b pas d'inhibition, ^c valeurs exprimés en moyennes ± SD (n=3)

III.2.2. Etude *in vivo*

III.2.2.1. Activité antiparkinsonienne

Plusieurs études ont montré que le stress oxydatifs peut être l'origine de la maladie de parkinson, les antioxydants captent et neutralisent les radicaux libres qui attaquent et abiment nos cellule. Le *Quercus suber* est l'un des plantes ayant un forte potentielle antioxydant grâce à ça teneur important en polyphénol....

III.2.2.1.1. Test de toxicité

Avant entamer l'expérimentation nous avons testé pendant 48 h la toxicité de nos extraits pour le calcul de la DL 50. Il s'avère que les doses choisies n'ont aucun effet nocif observé. Le taux de mortalité est égal à 0. Aucun comportement anomal, vomissement, agressivité ou irritabilité n'a été observé.

III.2.2.1.2. Les tests comportementaux

III.2.2.1.2.1. Test de Porsolt

A travers ce test, le temps d'immobilité est plus élevé chez les souris traité par l'extrait éthanolique des feuilles de *Quercus suber* (QP) par rapport aux autres cages (T, PD, LD).

On a observé dans la cage (QP), après le traitement des souris par l'extrait éthanolique des feuilles de *Quercus suber* une amélioration de temps d'immobilité et qui est plus important par rapport aux souris reçu par l'halopéridol (PD) et les souris traité (LD), ces dernières ont enregistré le temps d'immobilité le plus faible. Figure 105.

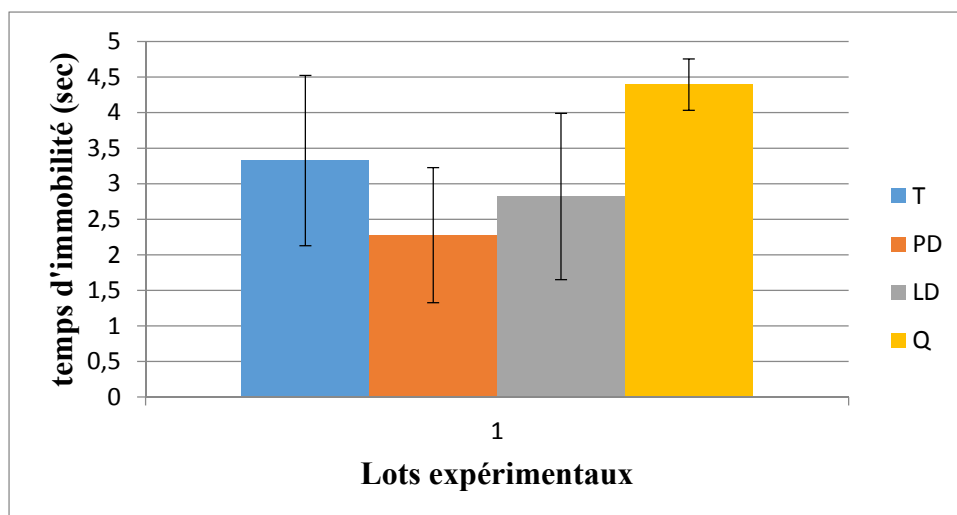


Figure 105 : Résultats de test de nage forcée chez les souris (T) : témoin, (PD) : reçu l'halopéridol, (QP) : reçu l'halopéridol et traité par l'extrait des feuilles de *Quercus suber*, (LD) : reçu l'halopéridol et traité par L-dopa.

III.2.2.1.2.2. Activité locomotrice

Les résultats obtenus après l'exposition à l'halopéridol suivie d'un traitement par l'extrait éthanolique des feuilles de *Quercus suber* (QP) ; démontrent Qu'il y a une hyperactivité locomotrice par rapport aux autres souris pendant la phase 1. Figure 106.

On observe une diminution de l'activité chez tous les lots durant les autres 3 phases. Figure 106.

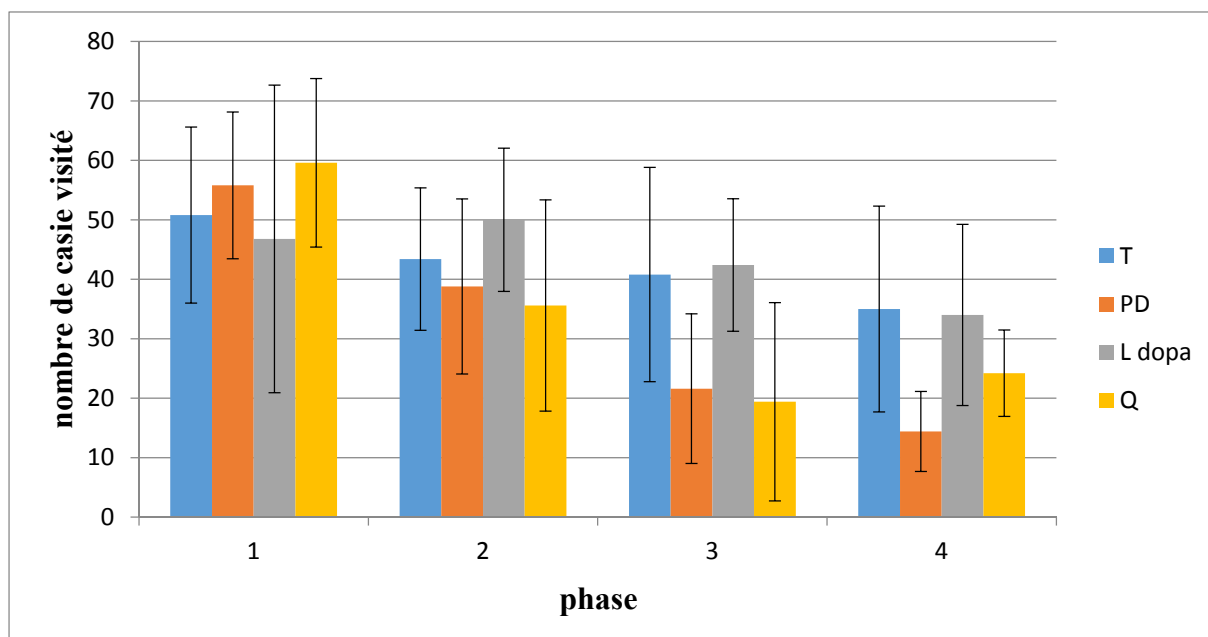


Figure 106 : résultats de test de l'activité locomotrice chez les souris (T) témoin, (PD) : reçu l'halopéridol, (L dopa) : reçu l'halopéridol et traité par L-dopa, (QP) : reçu l'halopéridol et traité par l'extrait éthanolique des feuilles de *Quercus suber*.

III.2.2.1.3. Analyses hématologique

III.2.2.1.3.1. FNS

A. Hémoglobine

Le taux d'hémoglobine est très bas chez le lot reçu l'halopéridol (PD) par rapport aux témoins (T) et reçu l'halopéridol/traité (LD, QP). Ces deux derniers présentent des résultats presque similaires. Figure 107.

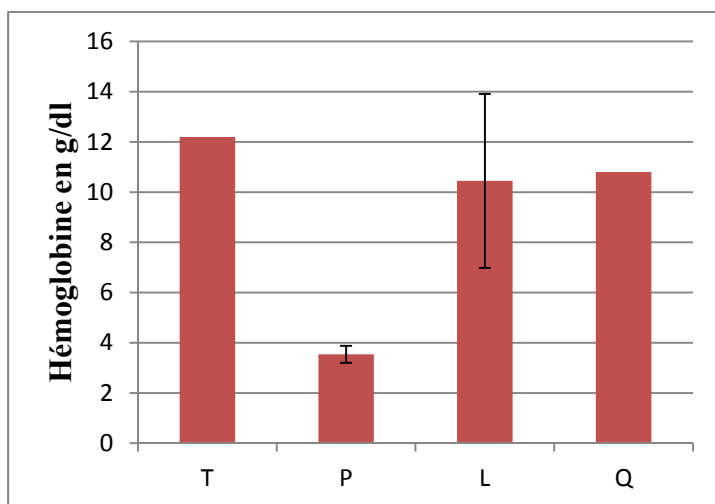


Figure 107 : résultats de l'hémoglobine chez les souris (T) témoin, (PD) : reçu l'halopéridol, (LD) : reçu l'halopéridol et traité par L-dopa, (QP) : reçu l'halopéridol et traité par l'extrait éthanolique des feuilles de *Quercus suber*.

B. Globules blancs

D'après nos résultats le taux de globules blancs est fortement diminué chez le lot reçu l'halopéridol (P) par rapport aux témoins (T)

Par contre les lots reçu l'halopéridol/traité (LD, QP) présente des résultats presque similaires et moins par rapport aux témoins Figure 108.

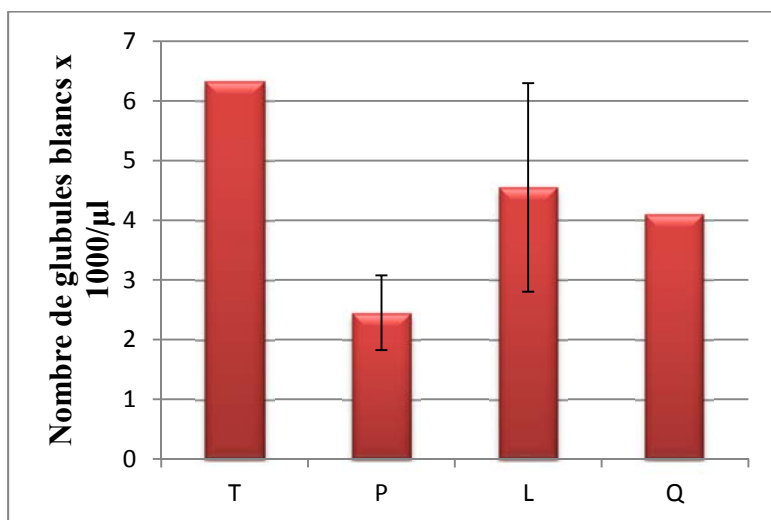


Figure 108 : résultats de nombre de globules blancs chez les souris (T) témoin, (PD) : reçu l'halopéridol, (LD) : reçu l'halopéridol et traité par L-dopa, (QP) : reçu l'halopéridol et traité par l'extrait éthanolique des feuilles de *Quercus suber*.

i. Globules rouges

Le nombre de globules rouges est très bas chez le lot traité par L-dopa (LD) par rapport aux témoins (T) et reçu l'halopéridol/traité (PD, QP). Ces deux derniers présentent des résultats similaires. Figure 109.

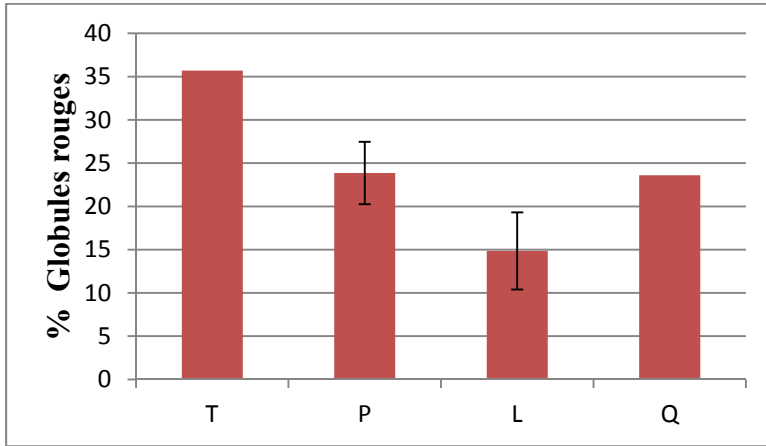


Figure 109 : résultats de nombre de globules rouges chez les souris (T) témoin, (PD) : reçu l'halopéridol, (LD) : reçu l'halopéridol et traité par L-dopa, (QP) : reçu l'halopéridol et traité par l'extrait éthanolique des feuilles de *Quercus suber*.

C. Plaquettes

Le nombre des plaquettes est très bas chez le lot traité (QP) par rapport aux témoins (T) et reçu l'halopéridol/traité (PD, LD). Ces deux derniers présentent des résultats similaires. Figure 110.

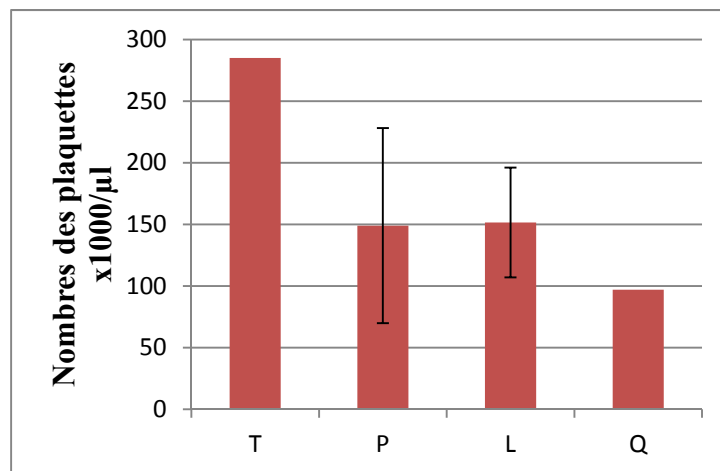


Figure 110 : résultats de nombre des plaquettes chez les souris (T) : témoin, (PD) : reçu l'halopéridol, (LD) : reçu l'halopéridol et traité par L-dopa, (QP) : reçu l'halopéridol et traité par l'extrait éthanolique des feuilles de *Quercus suber*.

D. MCHC : la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

Le nombre des MCHC est très hot chez les lots traité (QP, LD) par rapport aux témoins (T) et le lot reçu l'halopéridol Ces deux derniers présents des résultats le plus bas. Figure 111.

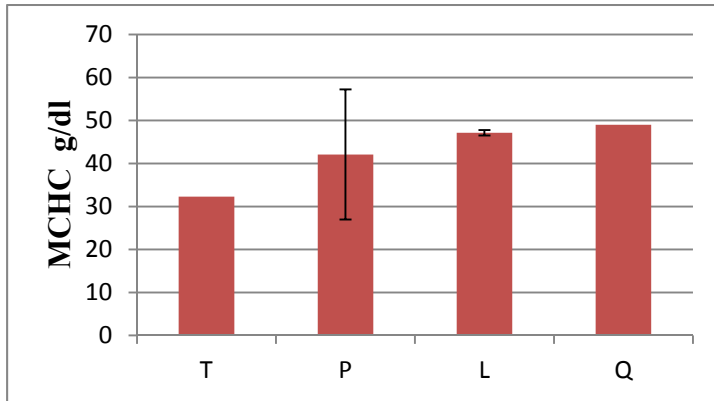


Figure 111 : résultats de MCHC chez les souris (T) témoin, (PD) : reçu l'halopéridol, (LD) : reçu l'halopéridol et traité par L-dopa, (QP) : reçu l'halopéridol et traité par l'extrait éthanolique des feuilles de *Quercus suber*.

E. Monocytes

Le nombre des Monocytes est très hot chez le lot traité (QP) par rapport aux témoins (T) et reçu l'halopéridol/traité (LD). Ce dernier présent des résultats le plus bas. Figure 112

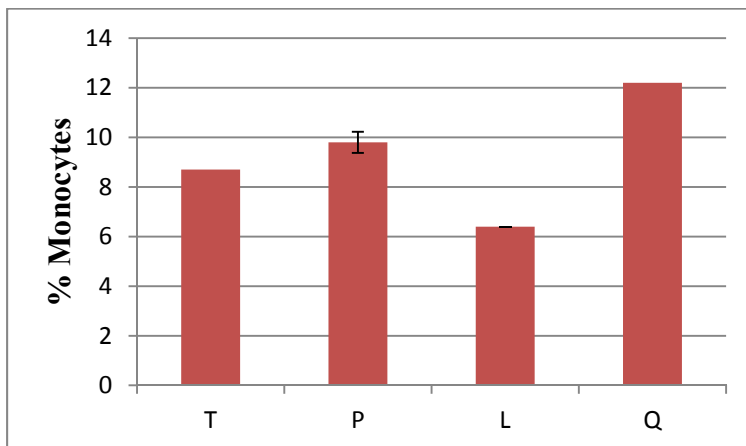


Figure 112 : résultats de monocytes chez les souris (T) : témoin, (PD) : reçu l'halopéridol, (LD) : reçu l'halopéridol et traité par L-dopa, (QP) : reçu l'halopéridol et traité par l'extrait éthanolique des feuilles de *Quercus suber*.

F. Lymphocytes

Le nombre des lymphocytes est très haut chez le lot traité (LD) par rapport aux témoins (T) et reçu l'halopéridol/traité (PD, QP). Ce dernier présente des résultats similaires. Figure 113.

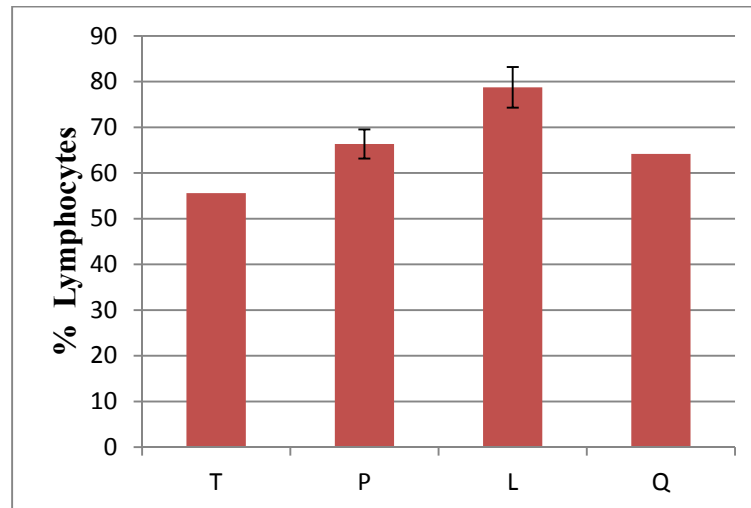


Figure 113 : résultats de lymphocytes chez les souris (T) : témoin, (PD) : reçu l'halopéridol, (LD) : reçu l'halopéridol et traité par L-dopa, (QP) : reçu l'halopéridol et traité par l'extrait éthanolique des feuilles de *Quercus suber*.

III.2.2.2. Activité antioxydant :

III.2.2.2.1. Etude biochimique

A. glycémie

L'injection intrapéritonéale des souris par l'acide trichloroacétique (CCl_3COOH) à raison de 5 ml/kg (I) a entraîné un trouble du métabolisme biochimique caractérisé par une augmentation de la glycémie par comparaison au groupe témoin.

Le traitement des souris par *Quercus suber* avec une dose de (500 mg/kg) provoque une diminution de taux de glycémie en comparaison avec le groupe témoin (T) figure 114.

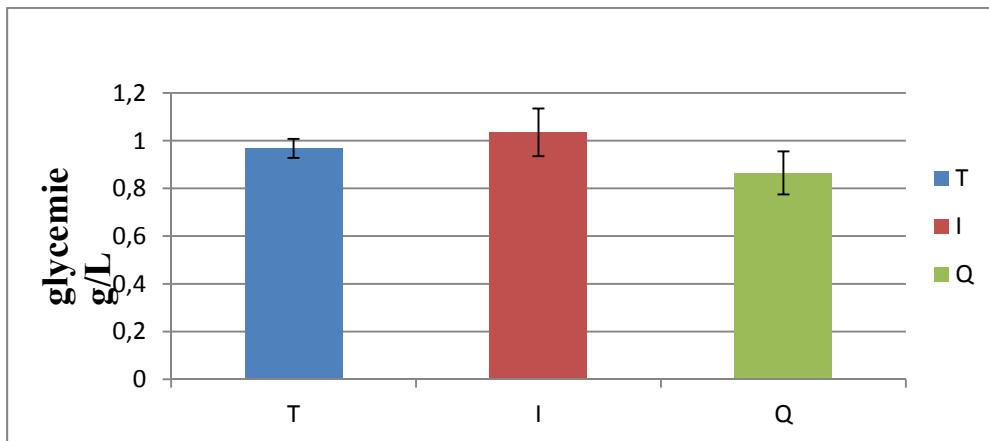


Figure 114: Variation de glycémie chez les souris témoins (T), intoxiqué par l'acide trichloroacétique (CCl_3COOH) (I) et intoxiqué traité par *Quercus suber* (Qi) pendant 7 jours.

B. Bilans lipidiques

Nos résultats révèlent que le traitement des souris par l'acide trichloroacétique (CCl_3COOH) provoque une augmentation des concentrations sériques du cholestérol et une augmentation du taux des triglycérides par rapport au groupe témoin.

Le traitement des souris par *Quercus suber* avec une dose de (500 mg/kg) provoque une amélioration de cholestérol et de triglycéride en comparaison avec le groupe témoin (T) figure 115.

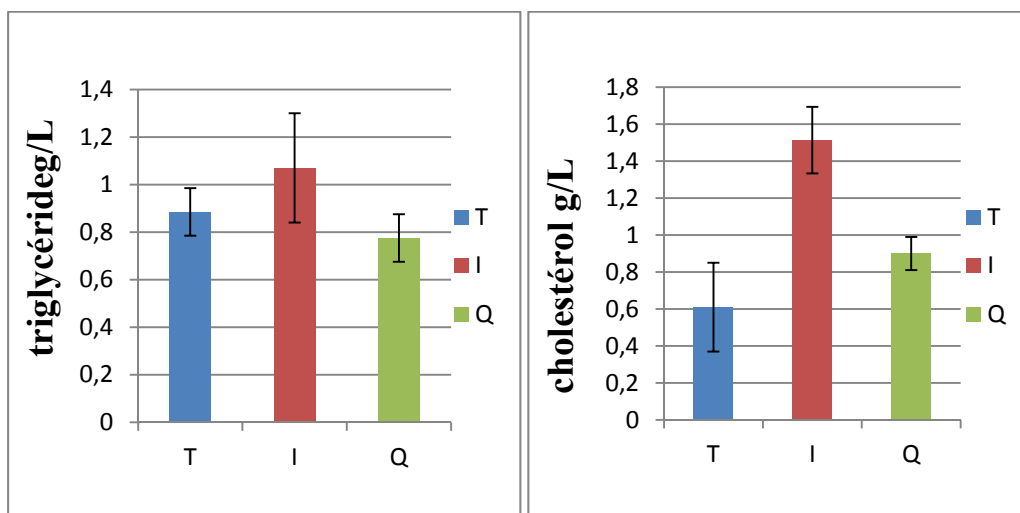


Figure 115: Variation de bilans lipidiques chez les souris témoins (T), intoxiqué par l'acide trichloroacétique (CCl_3COOH) (I) et intoxiqué traité par *Quercus suber* (Qi) pendant 7 jours.

C. Bilans rénales

Nos résultats révèlent que le traitement des souris par l'acide trichloroacétique (CCl_3COOH) provoque une augmentation dans la concentration de l'urée et de la créatinine chez les souris intoxiquées (I) par rapport aux témoins (T).

Cependant, le traitement des souris par *Quercus suber* (Qi) avec une dose de (500 mg/kg) provoque amélioration de l'urée et de la créatinine en comparaison avec le groupe témoin (T) figure 116.

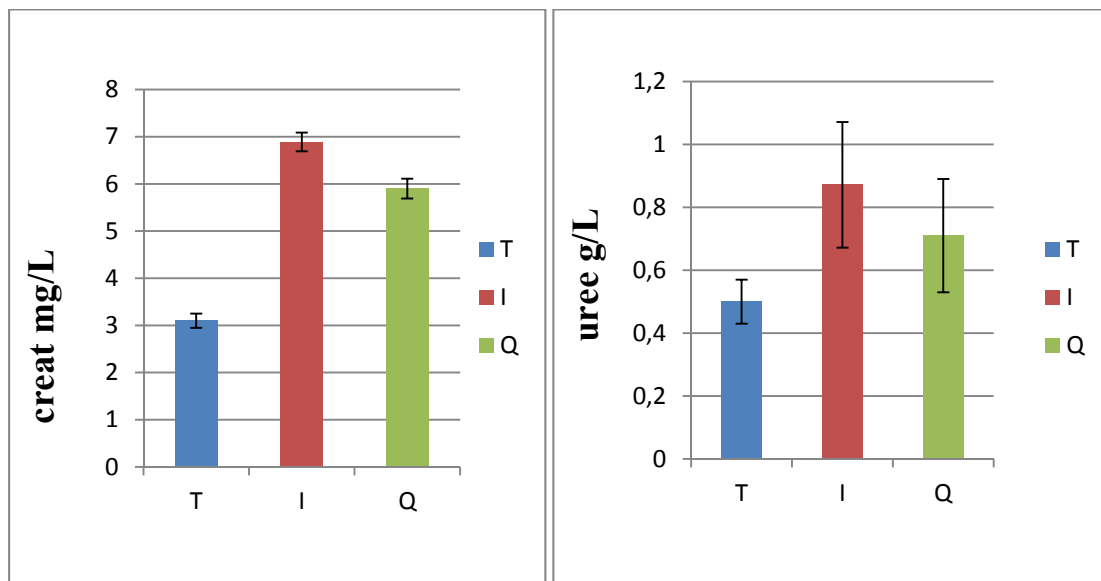


Figure 116: Variation du bilan rénal «urée, créatinine » chez les souris Témoins(T), Intoxiqué par l'acide trichloroacétique(CCl_3COOH) (I) et intoxiquée traité par *Quercus suber* (Qi) pendant 7 jours.

III.2.2.2.2. Etude histologique

L'observation histopathologique de foie des souris normales ont montré des hépatocytes intacts et la structure histologique normale de la veine centrale. Chez les souris intoxiquée par CCl_3COOH , cette intoxication induite un nécrose focale multiple, la perte de l'architecture hépatique, ballonnement des hépatocytes dans le parenchyme hépatique, infiltrat intense et réduction des cellules hépatocytes.

Chez les souris intoxiquée traité par le *Quercus suber* on observe une légère inflammation et les hépatocytes sont intacts figure 117.

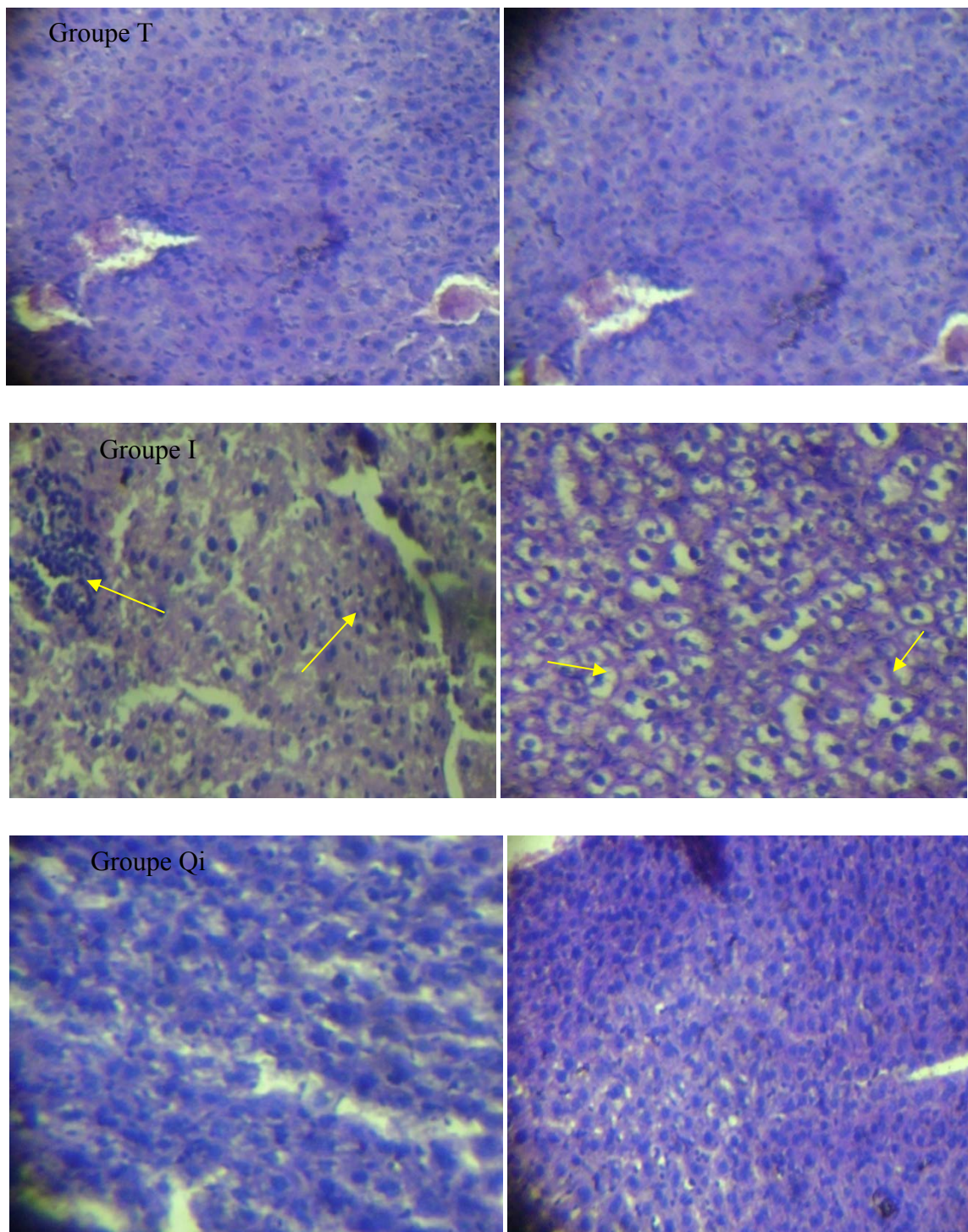


Figure 117 : coupes histologiques du foie des souris Témoins (T), Intoxiqué par l'acide trichloroacétique(CCl_3COOH) (I) : infiltrat inflammatoire intense, infiltrat discret des cellules lymphocytaires et ballonnement des hépatocytes avec quelques nécroses et intoxiqué traité par *Quercus suber* (Qi) : semble intact ; pendant 7 jours.

Discussion

- Pour la maladie de Parkinson et dans cette étude, nous avons analysé l'effet de l'extrait des feuilles de *Quercus suber* sur la fonction cognitive par les tests de comportement « la nage forcée et l'activité locomotrice », et le résultat montre aussi des effets secondaires de l'administration de l'halopéridol sur le poids et l'activité des souris, ce qui coïncide avec les travaux de Michael De Santis, 2014. [286]

Au cours de test de la nage, les souris montrent des comportements actifs, c'est-à-dire augmentation en temps de la nage, ce résultat est concordé avec les travaux de Bhutada *et al.*, 2010 [287], qui suggère que l'administration gestationnelle de la quercétine composée de *Lactuca sativa* chez les femelles stressées mène à une amélioration comportementale et diminue le temps de désespoir.

Toumi., 2014 [288] trouve que le stress oxydatif diminue le temps de la nage, comme le stress de contention (un autre stress émotionnel intense) qui provoque des symptômes dépressifs similaires chez des rattees. [289,290],.

Une autre étude menée par Porsolt *et al.*, 1977; Koo et Duman, 2008 [291,292], énonce que le temps d'immobilité de l'animal est interprété comme un manque de volonté à survivre, et considère comme un signe de dépression chez la souris. La mesure du % de temps d'immobilité durant ce test permet donc d'évaluer le niveau de dépression des souris.

Dans notre étude, nous avons constaté que le temps de mobilité « test de l'activité locomotrice » des souris traitées par l'extrait des feuilles de *Quercus suber* est plus important par rapport aux souris témoins.

Les résultats de ce test est concordé par une étude qui démontre que le traitement des souris mâles par *Lactuca sativa*, une plante contenant la quercétine [293] (Harsha et Anilakumar., 2013), améliore le temps de l'activité locomotrice [294].

Duffy et Shukitt-Hale., 2008 [295 ,296], trouvent que Les rats nourris par une régime contenant 2% d'extrait de bleuet (*Vaccinium myrtillus*) subissent moins de perte de neurone induite par stress oxydatif et protège les rats contre les déficits de comportement cognitif induits par irradiation [297],.

Une étude réalisée par Braquenier., 2009 [298], montre que l'exposition prolongée aux différents insecticides (considéré comme source de stress oxydant) peut provoquer des lésions neurologiques qui se traduisent par diminution de temps d'activité locomotrice.

Certains chercheurs trouvent que le traitement des rats par la Cyclosporine A « CsA » (un décapeptide cyclique lipophile neutre est utilisé avec succès dans la médecine de

transplantation et dans le traitement des maladies auto-immunes et peut provoquer un dysfonctionnement neuro comportemental) diminue de manière hautement significative l'activité locomotrice des rats [299].

L'estimation hématologique a montré qu'il y a une diminution au niveau des paramètres hématologiques ((HGB), (GR), (GB), (PLT)) par rapport aux témoins.

En revanche, les niveaux de MCHC, les lymphocytes et les monocytes augmentent chez les souris traités par l'extrait de *Quercus suber* par rapport aux autres lots (T, PD, LD).

Nos résultats hématologiques concordent avec les travaux de Hasan *et al.*, 1993 [300], montre que le comportement anxieux des femelles stressées a été associé à des changements hématologiques importants. Les conditions stressantes sont susceptibles d'affecter les variables sanguines à travers l'activation de l'axe corticotrope et le système nerveux autonome.

Adeneye et Adokiye, 2008 [301], suggère que Le système hématopoïétique est très sensible aux substances toxiques et il très important dans la physiologie de l'être animal ainsi que de l'être humain.

D'autres chercheurs [288], trouve que le stress oxydatif provoque une diminution dans le taux des Hgb, globules rouges et blancs et l'augmentation de taux de MCHC.

Une étude récente a démontré que le traitement sub chronique des souris males par *Lactuca sativa*, une plante contenant la quercétine [293], a atténué le stress oxydatif cérébral chez les rattes.

Par ailleurs, le statut hématologique des rattes stressées traitée par la quercétine indiquait que cette dernière atténue les changements en Hb et MCHC alors qu'elle a complètement préserve le niveau de PLT [302].

Cependant, ce flavonoïde a échoué de stabiliser le nombre d'érythrocytes suite à l'exposition au stress. La quercétine, le représentant majeur des flavonols dans les fruits et les légumes, s'accumule dans les hématies et même se lie à l'hémoglobine [303].

- En étude de stress oxydatif, un grand nombre de xénobiotiques ont été identifiés pour leurs potentiels à produire des radicaux libres dans les systèmes biologiques [304]. Actuellement, on admet que l'acide trichloroacétique (CCl_3COOH) est activé par les cytochromes P450 pour former un radical trichlorométhyl $\text{CCl}_3\cdot$. Le radical peut se fixer sur des molécules cellulaires (ADN, protéines, lipides) altérant des métabolismes essentiels comme celui des lipides (dégénération graisseuse). Le radical $\text{CCl}_3\cdot$ peut également réagir avec l'oxygène pour conduire la formation d'un radical trichlorométhyl peroxyde ($\text{CCl}_3\text{OO}\cdot$) hautement réactif. [305,306].

Ce radical initie la chaîne des réactions de peroxydation lipidique. Il en résulte une destruction d'acides gras poly-insaturés, en particulier ceux associés aux phospholipides. La perméabilité des mitochondries, du réticulum endoplasmique et des membranes plasmiques est altérée. Parmi les produits de dégradation des acides gras on trouve des aldéhydes comme la 4 hydroxynonéal, qui inhibent de nombreuses enzymes et se fixe sur des groupements fonctionnels de protéines.

Dans cette étude, l'administration par voie orale des doses (500 et 5000mg/kg) de l'extrait de feuille de *Quercus Subern* induit aucun signe visible de toxicité ou mort instantanée donc c'est une indication que cet extrait est relativement non toxique par voie orale et que la $\text{DL}_{50} > 5000\text{mg/kg}$.

L'effet le plus important de l'acide trichloroacétique (CCl_3COOH) sur la lignée sanguine est son action hémolytique induisant une microcytose. De nombreux travaux ont été entrepris sur ce sujet Sadeq *et al*, 2008 [307]; Rodriguez-Estival *et al*, 2010 [308]. Nos résultats ont confirmé ces études, on a observé une diminution légère des paramètres hématologiques, une diminution de l'hémoglobine (Hb), volume globulaire moyen et totale (VGM et VGT), hématocrite (Ht), érythrocytes (GR), globule blanc (GB) et une augmentation légère en CCMH.

Les feuilles de *Quercus suber* contiennent des composés polyphénoliques possédant la structure chimique idéale pour balayer les radicaux libres et protéger les lipides membranaires de la peroxydation. Les propriétés antioxydantes des polyphénols résultent de leur réactivité élevée comme donneurs d'hydrogène ou d'électrons et de leur capacité à stabiliser l'électron non apparié. [200].

De nombreuses études ont montrées clairement que les polyphénols possèdent des effets bénéfiques pour la santé, due à leur activité antioxydante, antiallergique, antiviral, anticarcinogénique, anti-inflammatoire et à leur capacité pour la protection contre les maladies cardiovasculaires et la prévention contre le cancer [309,310,311].

Le traitement par l'acide trichloroacétique(CCl_3COOH) provoque un déséquilibre biochimique marqué essentiellement par une augmentation du bilan rénal accompagnée par une hyperglycémie et hyperlipidémie ces résultats sont en accord avec les études précédemment rapportées [312].

Le traitement par *Quercus suber* démontre la glycémie ces résultats sont en accord avec les études précédemment rapportées [313,314]. Il est donc possible que la consommation de *Quercus suber* puisse avoir un effet bénéfique sur le contrôle du diabète, mais d'autre étude nécessaire pour valider cette hypothèse.

Les résultats obtenus révèlent une augmentation des concentrations sériques du cholestérol et triglycéride chez les souris mis sous l'acide trichloroacétique(CCl_3COOH), cette hyperlipidémie peut être expliquée par diverses maladies, telles que certaines dysfonctions hépatiques (cirrhose, obstruction biliaire) ou diabète mellitus peuvent être associées à une augmentation de triglycéride Burtis, 1999 [315]. L'augmentation de cholestérol et l'un des facteurs de risque cardiovasculaire possible. [316].

Administration de *Quercus suber* amélioré le taux de cholestérol et triglycéride ces résultats sont conformes aux travaux de Bhandari *et al*, 2005. [317].

La créatinine, l'urée sont des déchets produits par le métabolisme protéique. Ils sont éliminés par les reins, et utilisés généralement comme indicateur d'une fonction rénale correcte. Lorsqu'une insuffisance rénale s'installe, les taux de ces paramètres augmentent, ce que nous avons observé c'est chez les souris prouvant l'effet néphrotoxique de l'acide trichloroacétique(CCl_3COOH) [318].

Nos résultats ont aussi démontré le rôle bénéfique du *Quercus suber* sur la fonction rénale. On a enregistré une normalisation du bilan rénal étudié (urée, créatinine). Ces résultats sont corrélés avec les travaux de Fehmy, 2015 [312].

l'acide trichloroacétique(CCl_3COOH) induisait des lésions hépatiques de type stéatose [319], et des atteintes hépatiques correspondant à une cirrhose, des tumeurs hépatiques, notamment des carcinomes hépatocellulaires.

Dans nos études l'observation histopathologique a révélé une perte de l'architecture hépatique associée à un ballonnement des hépatocytes, nécrose sévère, inflammation discrète et une infiltration intense chez les souris traitées par l'acide trichloroacétique(CCl_3COOH).

Traitement avec 500 mg / kg de *Quercus suber* a conféré une protection marquée contre des dommages au foie, comme en témoigne l'architecture hépatique intacte et l'absence de modifications histopathologiques en raison de sa forte activité antioxydante.

Le *Quercus suber* a été prouvé d'avoir d'excellentes propriétés antioxydantes plus élevées, cette activité est positivement associée au contenu en polyphénols [310]. Le *Quercus suber* semble exercer son action antioxydante et en réduisant les risques de pathologies liées au stress oxydant. [320].

CHAP IV : SALVIA



IV- *Salvia officinalis* :

IV .1. Matériel et méthodes :

Cette étude porte sur *Salvia officinalis* (Sauge). Ses feuilles ont été récoltées pendant le mois de février 2016. Au niveau de la commune d'Om drou la wilaya de Chlef (Figure118).

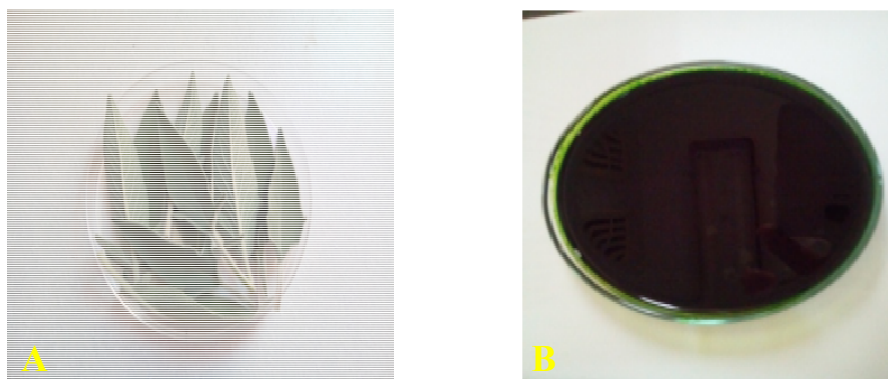


Figure 118: Partie utilisée de *Salvia officinalis* (A : feuilles de *S.officinalis* ; B : extrait de *S.officinalis*).

IV.1.1. Etude *in vitro*

IV.1.1.1. Extraction:

IV.1.1.1.1. Broyage de la plante

Le matériel végétal est séché à l'abri de la lumière et à une température ambiante pendant un mois, puis a été broyé à l'aide d'une moulinette. La poudre obtenue a servi pour l'extraction à polarité croissante.

IV.1.1.1.2- Extraction à polarité croissante

La méthode d'extraction que nous avons employée est la macération successive par deux solvants de polarité croissante. Il s'agit de l'éther de pétrole et de l'éthanol. 20 g de poudre sèche est d'abord macéré dans 200ml d'éther de pétrole pendant 24 heures (le procédé est renouvelé trois fois). Après filtration ; le marc est repris avec 200 ml d'éthanol (l'opération est répétée deux fois) (annexe).

IV.1.1.1.3- Elimination du solvant organique

Le solvant de la phase organique est éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'élimination du solvant se fait selon les étapes suivantes :

- Placer la solution contenant le solvant à évaporer dans le ballon et le placer sur l'évaporateur rotatif à l'aide d'un raccord.
- Placer le ballon de récupération du solvant à l'aide d'un deuxième raccord.
- Faire plonger ballon dans le bain marie réglé probablement à la température d'évaporation du solvant 30°C .
- Mettre le ballon en rotation .
- Mettre en marche le circulation d'eau froide dans le réfrigérant.
- Après la disparition complète du solvant au ballon , récupérer l'extrait de la plante.

IV.1.1.2. Etude de l'activité antioxydant

Les test d'évaluation de l'activité antioxydant sont les identique que celles de *Quercus suber* et la résine Boswellique (DPPH, DMPD, Chélation du fer, Frap, PRAP, Cuprac)

IV.1.2. Etude *in vivo*

IV.1.2.1. Répartition des lots

21 souris NMRI ont été répartir en 3 groupes dont chaque groupe comporte 7 souris.

- Groupe 1 : témoin (**T**) : a reçu eau potable.
- Groupe 2 : intoxiqué traité par *salvia* (**S**) : a été gavé par l'extrait de *Salvia officinalis*
- Groupe 3 : intoxiquées (**I**) : Les souris ont été intoxiquées par voie intra péritonéale en utilisant l'acide trichloroacétique CCl_3COOH (5ml/kg).

Au 8^{ème} jour le groupe 2 a été intoxiqué par Le CCl_3COOH (5ml/kg) en injection intra péritonéale 30 min après le dernier gavage par l'extrait de plante.

La prise du poids a été mesurée au début et à la fin de l'expérimentation (annexe A).

IV.1.2.2. Sacrifice et analyses biologiques

Les souris sont anesthésiées par le chloroforme et par la suite elles sont sacrifiées ; le sang est immédiatement recueilli dans deux tubes étiquetés, Un hépariné et l'autre contient l'EDTA (ethyle diamine tetra acetic acid mono calcique) comme un anticoagulant :

- Les tubes à EDTA serviront pour la détermination de la formule de numération sanguine (FNS).
- Les tubes héparine sont centrifugés à 5000 tours/minute pendant 15 minutes, les sérums récupérés serviront à la détermination des paramètres biochimiques (glycémie, urée, créatinine, cholestérol, triglycéride).

IV.1.2.2.1. Analyse hématologique : Formule de Numérotation Sanguine (FNS)

La formule de numération sanguine (FNS) a été effectuée par le counter (ERMA INC full automatic blood cell counter model PCE-210N) (annexe C) .Le tube de sang total avec l'EDTA (anticoagulant) est placé dans l'automate ; et la mesure de la FNS commence. Les résultats s'affichent automatiquement sur l'écran, et sont ensuite imprimés. Les paramètres déterminés sont : globule rouge (GR), globule blanc (GB), hémoglobine (Hb), hématocrite (HT), lymphocytes (LY), monocytes (MO), volume globulaire moyen des hématies (VGM) et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH)

IV.1.2.2.2. Analyse biochimique

IV.1.2.2. 2.1. Dosage de la glycémie

Le glucose sérique est déterminé par la méthode enzymatique et colorimétrique en présence du glucose oxydase (GOD). Le glucose est oxydé en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier, en présence de peroxydase et de phénol, oxyde un chromogène (Le 4- aminoantipyrine) incolore en couleur rouge à structure quinonéimine. La coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en glucose présente dans l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde de 505 nm (Kit Prochima).

IV.1.2.2.2.2. Dosage de l'urée

L'urée est déterminée par une méthode enzymatique colorimétrique (Kit Biocon, Germany). L'urée présente dans l'échantillon donne en présence d'uréase et de nitroprussiate un indophénol coloré quantifiable par spectrophotométrie. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda=600$ nm.

IV.1.2.2. 2.3. Dosage de la créatinine

La créatinine est déterminée par une méthode cinétique (Kit Biocon, Germany). La créatinine, présente dans l'échantillon, réagit avec le picrate en milieu alcalin, pour donner un complexe coloré. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda=500$ nm.

IV.1.2.2.2.4. Dosage du cholestérol total

Le cholestérol total (Chol) est déterminé par une méthode enzymatique colorimétrique (Kit Biocon, Germany). Le cholestérol libre et le cholestérol estérifié présents dans

l'échantillon donnent après hydrolyse enzymatique et oxydation un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie. L'indicateur, la quinonéimine est formée à partir du peroxyde d'hydrogène et du 4-amino-antipyrine en présence du phénol et de la peroxydase. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda=500$ nm.

IV.1.2.2.2.5. Dosage des triglycérides

Le dosage des triglycérides (TG) est réalisé par méthode enzymatique colorimétrique (Kit Biocon, Germany). Les TG présents dans l'échantillon, donnent, après hydrolyse enzymatique et oxydation, un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie. Le principe de detection et le même que l'analyse précédente avec le même indicateur. La lecture se fait à la même longueur d'onde ($\lambda=500$ nm).

Les valeurs sont lues au spectrophotomètre (*SPINREACT spinlab*).

IV.1.2.3. Etude histologique

Etude histologique comporte sur l'échantillon de fois, qu'elle était prélevée après dissection. Les coupes histologiques ont été réalisées au laboratoire d'anatomie pathologique suivant les mêmes étapes que précédemment.

IV.2. Résultats

IV.2.1. Etude in vitro

IV.2.1.1. Activité antioxydant

De même, L'activité antioxydante de *Salvia officinalis* a été évaluée par les mêmes méthodes et par le même principe cité précédemment,

Tableau 23: activités antioxydants de l'extrait de *Salvia officinalis* comparé aux contrôles positives et control négative (l'éthanol).

	Echantillons (concentration de 2g/l)					
	Salvia.o	Quercitine	EDTA	Ac.Asc	Ac.Gal	etOH
DPPH	1.23±0.033	0.13±0.03	-	-	-	1.79±0.07
DMPD	0.42±0.07	-	-	0.12±0.002	-	0.49±0.08
Chélation métallique	1.88±0.02	-	0.074±0.007	-	-	2.37±0.52
FRAP	0.60±0.027	1.28±0.004	-	-	-	0.045±0.005
PRAP	0.35± 0.003	0.40±0.004	-	-	-	0.047±0.002
CUPRAC	1.32±0.032	-	-	-	2.36±0.026	0.059±0.009

Pourcentage d'inhibition : des trois paramètres DPPH, DMPD et Chélation métallique (figure 119)

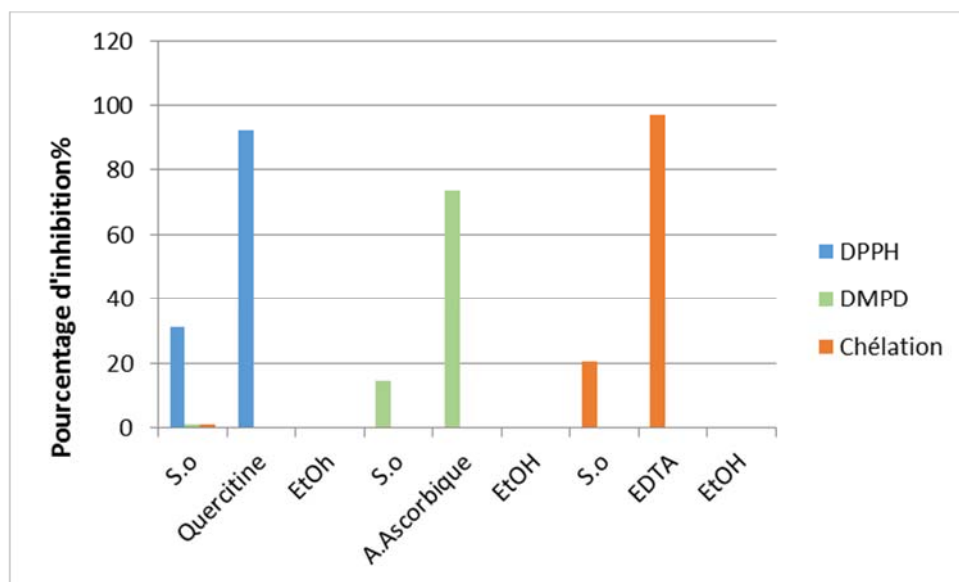


Figure 119: pourcentages d'inhibition de l'extrait de *Salvia officinalis* comparé aux contrôles positifs et control négatif.

IV.2.1.2. Activité inhibitrice du cholinestérase

L'activité inhibitrice du cholinestérase de l'extrait de *Salvia officinalis* a été testé par la même méthode cité au chapitre précédent contre l'ACHé et la BChE à 100 µg / mL en utilisant le lecteur de microplaques ELISA.

Nos résultats indiquent une inhibition de l'achétylcholinestérase à faible concentration et une inhibition croissante avec la concentration de la butylcholinestérase BChE (tableau 24).

Tableau 24 : pourcentage d'inhibition de l'ACHé et la BChE

<i>Salvia officinalis</i>	%d'inhibition sur l'ACHé		% d'inhibition sur la BChE	
	^a 150 µg/ml	^a 250 µg/ml	^a 125 µg/ml	^a 250 µg/ml
	^c 20.44±1.41	^b	^c 23.44 ± 3.87	^c 42.88 ± 1.12

^a concentration Final dans les puits, ^b pas d'inhibition, ^c valeurs exprimés en moyennes ± SD (n=3)

IV.2.2. Etude *in vivo*

IV.2.2.1. Test hématologique

Nos résultats révèlent que l'intoxication par (CCl₃COOH) des souris provoque une diminution des globules blancs(GB), hémoglobine (HB) ainsi que le volume globulaire moyen(VGM), volume globulaire (VG) et l'hématocrite (HT). De plus nous avons enregistré une augmentation de concentration corpusculaire moyenne en hématocrite (CCMH) par rapport aux souris témoins.

Cependant, le groupe traité par l'extrait de *S.officinalis* provoque une diminution de VGM et diminution des globules blancs. De plus on a une augmentation de CCMH .Par contre, l'hémoglobine et l'hématocrite sont normaux comparativement au groupe témoin (Figure 120).

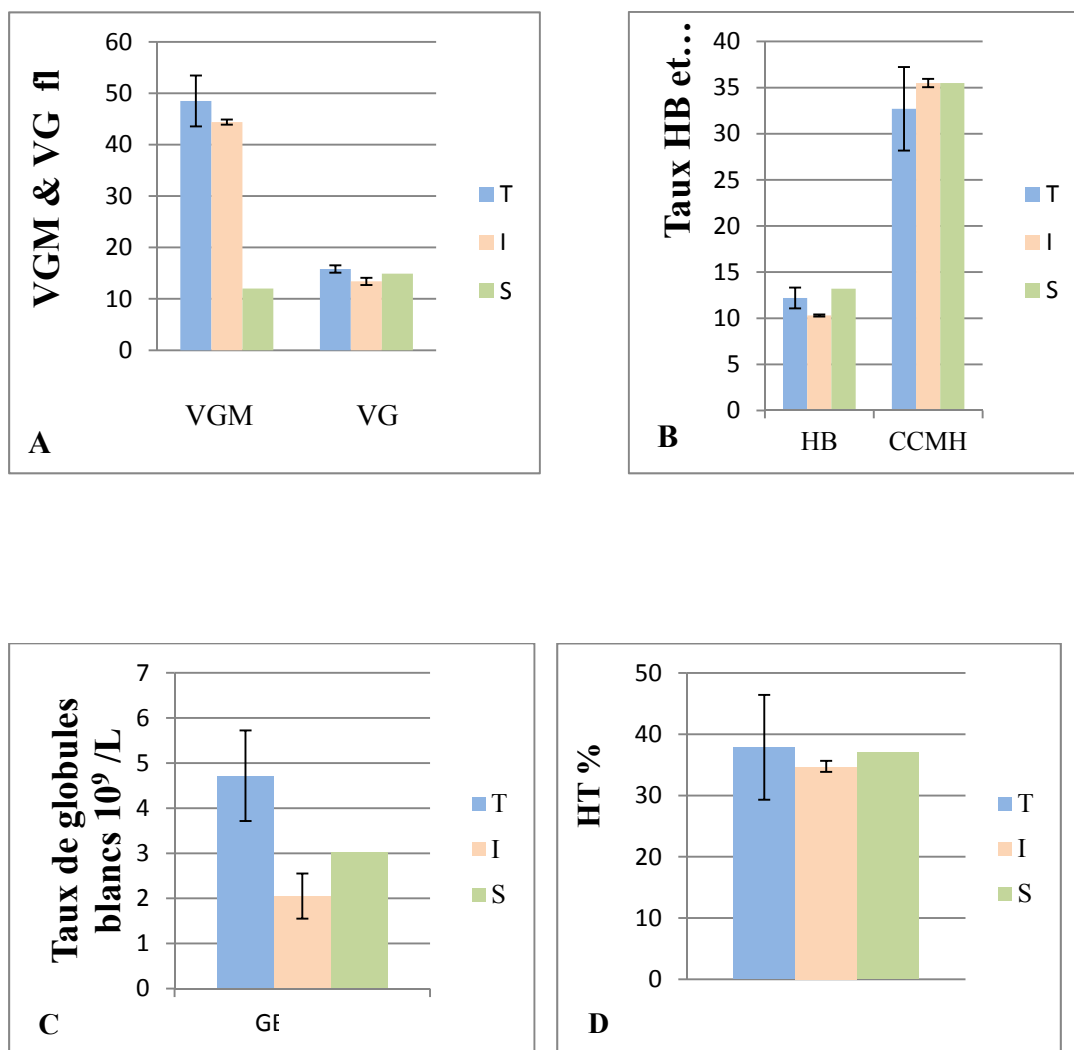


Figure 120 : Paramètres hématologiques chez les souris témoins, intoxiquée par (CCl₃COOH) et traités par *salvia officinalis* «A : volume globulaire moyen et volume globulaire; B : hémoglobine et concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine; C : globule blanc ; D : hématocrite ».

IV.2.2.2. Tests biochimiques

La toxicité par le (CCl₃COOH) a entraîné un trouble du métabolisme biochimique caractérisé par une augmentation de la concentration plasmatiques en glycémie par rapport au groupe témoin (T) et le groupe traité (S), le gavage oral des souris par l'extrait de la plante a entraîné une diminution de la glycémie de groupe traité (S) comparativement au groupe témoin (T) et intoxiqué (I) (Figure 121).

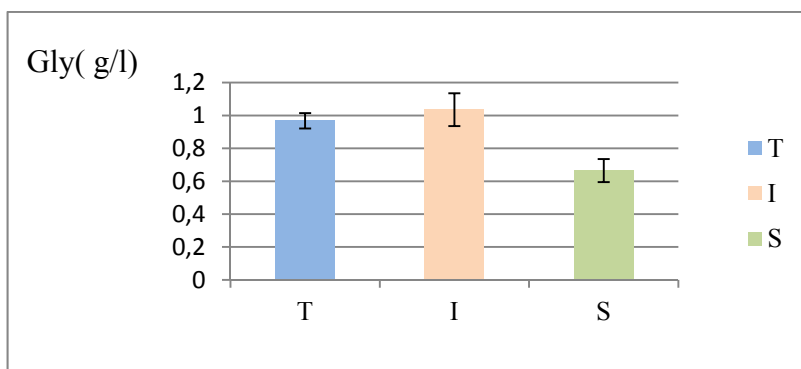


Figure 121 : Variation de la glycémie chez les souris (T), (I) et (S).

Pour le bilan lipidique, on observe qu'il y a une augmentation de la teneur plasmatique en triglycéride et en cholestérol des souris intoxiqué par rapport au groupe témoin (T) et traité (S). D'autre part, il y a une diminution du triglycéride des souris traité par l'extrait du plant par rapport au groupe témoin et intoxiqué. Pour la teneur de cholestérol, il y a une augmentation de la valeur par rapport au groupe témoin mais il y a une amélioration de la teneur par rapport au groupe intoxiqué (Figure 122).

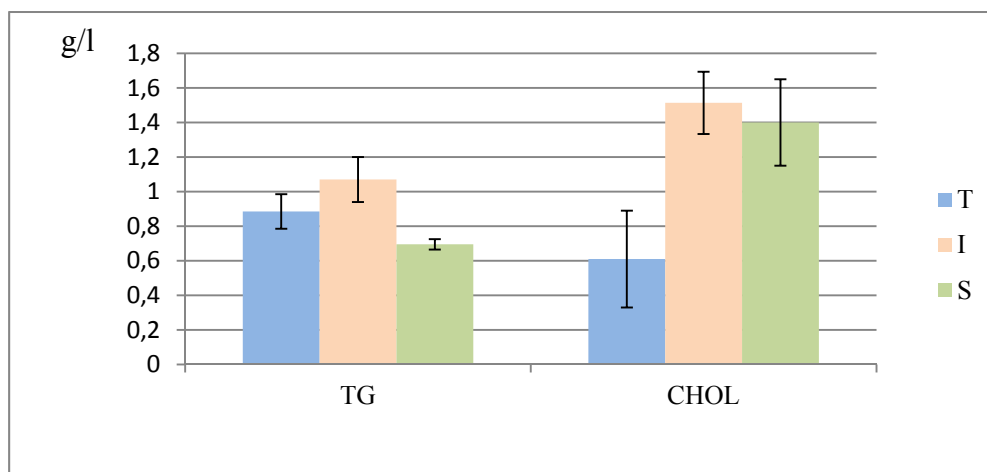


Figure 122 : variation de triglycéride et de cholestérol chez les souris (T),(I)et (S).

Pour le bilan rénal, il y a une augmentation de l'urée et de la créatinine chez souris intoxiqué par rapport au groupe témoin (T) et traité (S). Pour le groupe traité, on a une augmentation de la créatinine par rapport au groupe témoin, avec une amélioration de la valeur comparativement au groupe intoxiqué, d'autre part on a une valeur normal de l'urée par rapport au témoin (Figure 123).

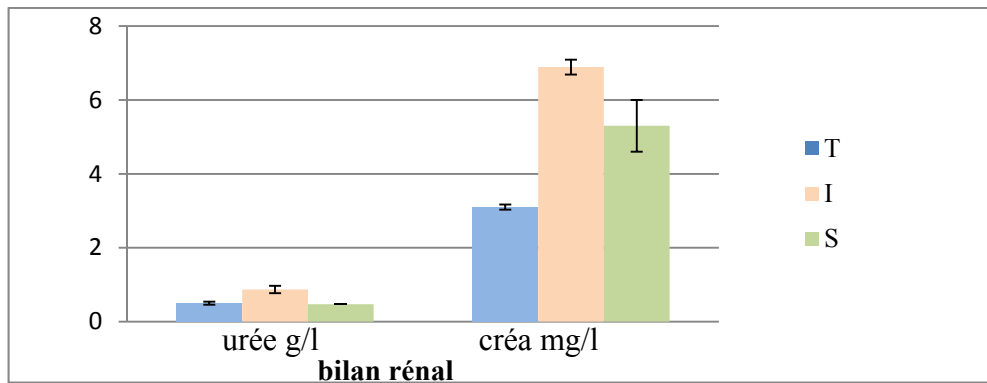


Figure 123: Variation de bilan rénal chez les souris (T), (I) et (S).

IV.2.2.3. Etude histologique

Les résultats de l'examen histopathologique sont indiqués dans la (Figure 124) Les foies des souris témoins sont normaux avec un parenchyme hépatique constitué de lobule de cellules hépatiques régulière sans modification apparente avec des veines centraux lobulaires d'allure régulières et des espaces portes dépourvus de toute infiltrat inflammatoire et sans anomalie de canaux biliaires avec respect strict de la lame bordante. Discret pigmentation d'amas biliaires au niveau des hépatocytes. Absence de liassions fibreuses ni de nécrose ni de fibrose.

On remarque chez les souris intoxiqué avec le (CCl_3COOH) des modifications de l'architecture du tissu hépatique et de nécrose cellulaire avec infiltrat inflammatoire dans les cuboïdes, nécrose particulière qui est nombreuses avec un noyau pycnotique, amas de cellules lymphocytaires, diffuse des cellules lymphocytaires, présence d'amas diffus au niveau du parenchyme et au niveau des veines portes.

Chez les souris traité par l'extrait des feuilles de *S officinalis*, on observe un parenchyme normal ne présente aucune particularité. Présence de pigments biliaires, absence de laissions notable, présence de stéatose, légère stéatose diffus décrite due à un gavage, absence d'infiltrat inflammatoire. (figure 124)

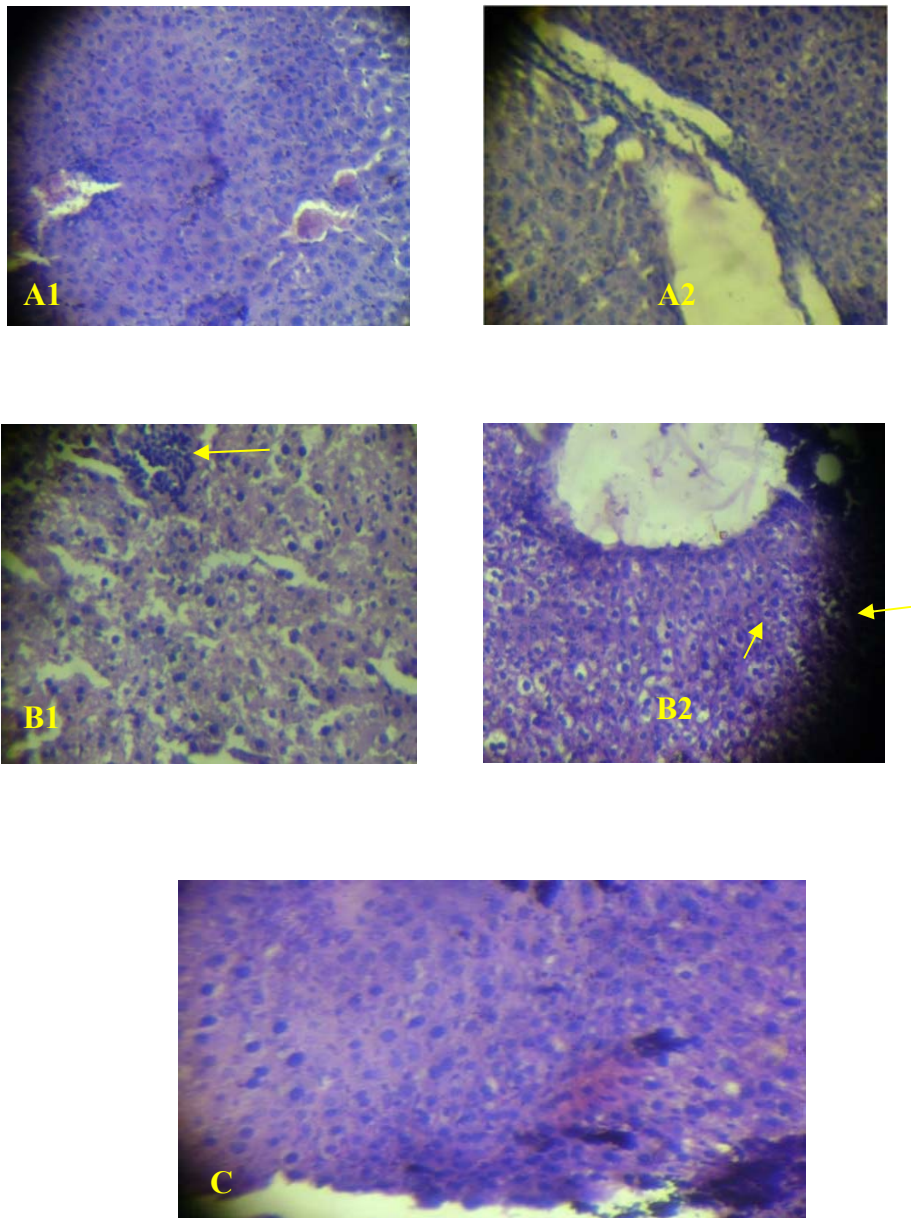


Figure 124 : Observation microscopique des coupes histologiques du foie «A : groupe témoin ; B : groupe intoxiqué avec des ballonnement des hépatocytes et infiltrat inflammatoire ; C: groupe intoxiqué traité par *S. officinalis* avec des cellules intactes.

Discussion

Il est clair que le trichloro-acétique (CCl_3COOH) a une toxicité directe. Cette toxicité est essentiellement due à l'apparition de radicaux libres ou de formes toxiques de l'oxygène qui induisent une peroxydation lipidique aboutissant à la destruction des membranes cellulaires [321].

L'administration de cet acide active les cytochromes P450 [322,323], et forme ainsi un radical trichlorométhyl ($\text{CCl}_3\cdot$). Le radical peut se fixer sur des molécules cellulaires (ADN, protéines, lipides) altérant des métabolismes essentiels comme celui des lipides (dégénération graisseuse). Des effets résultants de l'action du $\text{CCl}_3\cdot$ sur l'ADN sont observés. Le radical $\text{CCl}_3\cdot$ peut également réagir avec l'oxygène pour conduire la formation d'un radical trichlorométhyl peroxyde ($\text{CCl}_3\text{OO}\cdot$) hautement réactif [324].

Dans la présente étude le méthanol absolu est le solvant utilisé, car il possède l'avantage d'être plus facilement éliminé, dans le cas où l'on veut concentrer l'extrait sous vide [325]. D'après Lapornik *et al.*, 2005 [326], l'extraction avec le méthanol donne un rendement en polyphénols plus élevé (7 fois plus) que celle réalisée avec de l'eau, de plus le méthanol est le meilleur solvant qui extrait plusieurs classes de composés phénoliques.[327].

Selon Miliauskas *et al.* 2004 [328] une teneur de 22,6 mg/g MS (matière sèche) de poly phénols totaux à partir de la sauge a été obtenue. Selon les travaux menés par Vander-Jagt *et al.* (2002) [329] ont défini un fort pouvoir antioxydant des extraits aqueux de *S.officinalis* qui est lié à leur richesse en différentes classes de composés phénoliques

Selon les études de Gohari *et al.* 2011[330], l'ensemble des extraits méthanolique de la partie aérienne d'échantillon de plantes *Salvia officinalis* possède une activité antioxydant. L'activité antioxydant de ces espèces peut être due à la présence de flavonoïdes, poly phénols, coumarines même mono terpènes dans les extraits de plantes.

Wojdylo *et al.*, 2007 [331] signalent que la plupart des espèces de la famille de Lamiaceae possèdent une activité antioxydant en raison de la présence de poly phénols. La fraction phénolique n'incorpore pas tous les antioxydants et les interactions synergiques entre les antioxydants dans un mélange fait que l'activité antioxydant dépend non seulement de la concentration, mais également de la structure et la nature des antioxydants. [332].

Selon Lachieitner *et al.*, 2000 [333], L'accumulation progressive de lésions cellulaires résultant de la pression de l'indice de masse corporel élevé. Ces lésions entraînent la

libération de cytokines, en particulier (TNF-alpha) qui génère des ERO dans les tissus qui causent à leur tour la peroxydation lipidique.

Par contre, nos résultats ne concordent pas avec les travaux de (Robert *et al.*, 2015) [334] qui a trouvé que l'intoxication au (CCl₃COOH) induit une baisse du poids corporel.

Le changement du poids corporel est utilisé comme un indicateur des effets indésirables des composés chimiques [335]. La perte du poids des souris traitées par *S officinalis* est corrélée à l'état physiologique de l'animal. Cette réduction du poids peut être expliquée par l'effet de *S officinalis* sur l'appétit qui entraîne une réduction de la consommation des aliments mais aussi par les possibilités d'interactions dose/absorption et par la diminution de la quantité de nourriture absorbée, ce résultat concorde avec les travaux de Gazda *et al.*, 2006 [336], qui ont démontrés aussi une diminution du poids des souris après administration par voie orale de l'extrait). La diminution du poids corporel au cours des 08 jours de traitement quotidien suggère que l'administration par voie orale de l'extrait des effets sur la croissance des souris.

Le système hématopoïétique est une des cibles les plus sensibles aux composés toxiques et un indice important de l'état physiologique et pathologique de l'animal [337]. Les changements dans le système hématopoïétique ont une plus grande valeur prédictive démontrée par des études réalisées sur des animaux par (Olson *et al.*, 2000) [338]. Nos résultats montrent que la toxicité de l'acide trichloro-acétique (CCl₃COOH) provoque une perturbation des éléments figurés de sang. Ces données concorde avec les travaux de Saba AB *et al.*, 2010 [339].

L'augmentation des leucocytes est due à la surproduction des éléments de régulation de l'hématopoïèse tels que les CSF (Colony stimulating factor), l'EPO (Erythropoïétin), la TPO (Thrombopoïétin) par les macrophages et les cellules stromales de la moelle osseuse et fournissant ainsi un environnement local favorable pour l'hématopoïèse [340,341]. Cette augmentation est associée à une élévation du taux d'hémoglobine et du CCMH chez les souris indiquant ainsi l'augmentation de la concentration d'hémoglobine dans les globules rouges. On assiste donc à une hyperchromie résultat qui coïncide avec les travaux de Bain, 2006 [342]. La diminution du VGM émet la possibilité d'un changement dans la taille des globules rouges, mais on ne peut pas la prendre comme résultats sans recourir à d'autres analyses [343].

Le traitement par l'extrait de la sauge a conservé les éléments de sang par rapport au groupe intoxiqué.

Dans notre travail, L'administration de l'acide trichloro-acétique (CCl_3COOH) entraîne une modification de la fonction rénale avec une augmentation de taux de l'urée et de la créatinine par rapport au groupe témoin ces résultats concordent avec les travaux de John M, 2015 [344]. Le groupe intoxiqué par (CCl_3COOH) présente une hyperglycémie et une hyperlipidémie (augmentation de triglycéride et de cholestérol) .

Plusieurs études ont démontré l'effet antioxydant de la sauge selon Zupko I *et al.* 2001 et Cristovao F *et al.* 2005 [345,346]. Cette plante présente un effet antioxydant *in vitro*. Ont démontré que l'administration de son extrait de la sauge a diminué la glycémie chez des souris, était démontré aussi que la consommation d'un extrait de feuilles de sauge a diminué les triglycérides chez l'animal [347].

Nos résultantes montrent que l'extrait aqueux des feuilles de *Salvia officinalis* a un effet hypoglycémiant, qui a été confirmé par des études *in vivo* d'Eidi *et al.*, 2005 [348], cet effet se présume selon Ninomiya *et al.*, 2004 [349] par inhibition de la lipase pancréatique, et une diminution de la concentration du triglycéride dans le sérum.

Le traitement avec la sauge améliore la fonction rénale, les résultats de l'urée et de la créatinine montrent un bas des valeurs comparativement au groupe intoxiqué.

Ces résultats suggèrent que le traitement avec l'extrait de *salvia officinalis* est un facteur important de la diminution de stress oxydatif grâce à leur composition antioxydant, ces données sont confirmées par des études *in vitro* sur l'activité antioxydants de la sauge.

Nos résultantes concordent avec d'autre étude *in vitro* de Miura, 2002[350] qui a montré que la sauge est capable de neutraliser les radicaux libres.

L'examen microscopique des coupes histologiques réalisées au niveau du foie de souris intoxiquée par une injection intra péritonéale de l'acide trichloro-acétique (CCl_3COOH) entraîne une nécrose hépatocytaire bien que systématisée, n'aboutit pas à une désorganisation complète de la structure du foie telle qu'on l'observe chez les animaux.

La cytotoxicité directe est connue pour étant la cause fondamentale des dommages du foie dans certains cas, tandis que dans d'autres les mécanismes immunologiques ou même un mélange de cytotoxicité et d'immunogénicité peuvent être mortelle [351]. Nos résultats montrent une hépatotoxicité pourrait être due à la présence de certains composés toxiques .Au niveau hépatique les métabolites sont formés non seulement dans les hépatocytes mais aussi dans les cellules endothéliales qui sont particulièrement sensibles. Il en résulte une atteinte vasculaire prédominante, secondairement responsable de la nécrose hépatocytaire mais les lésions observées restent limitées. Ces données concordent avec les travaux de Yu, 2014[352].

CONCLUSION

Conclusion

Toutefois, à ce jour, l'évaluation des risques sanitaires liés à l'exposition aux métaux lourds en tant que pro-oxydant se heurte à un certain nombre des difficultés, liées à la fois à la mesure de l'exposition, les conséquences lié au stress oxydatif et à la mauvaise connaissance de la cinétique des métaux, de leurs métabolisme et de la toxicité des radicaux libres issus.

Mais, il est possible de voir une stabilisation ou une légère régression de ces maladies, lorsque les gens atteints de ces problèmes de santé intègrent de grandes quantités d'antioxydants dans leur alimentation. Il est donc irréfutable que notre corps est en mesure de se réparer lui-même lorsque nous lui donnons les nutriments pour accomplir ce travail.

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie.

Dans le présent travail nous nous sommes intéressés à l'extraction des cinq plantes (*Hypericum perforatum*, *H.thymbrifolium*, *Boswellia carterii*, *Quercus suber* et *Salvia officinalis*) et à l'étude de leurs effets biologiques.

L'effet antioxydant de ces plantes a donné des résultats satisfaisants vis-à-vis les tests utilisés.

Les deux extraits éthanolique de l'*hypericum* montrent qu'ils sont dotés d'une bonne efficacité réductrice du radical DPPH ainsi q'une très bonne capacité d'inhiber la peroxydase lipidique, et cela est expliqué par leurs richesse en quercitine et hypericine connues par leurs propriétés antioxydant.

L'étude in vivo de ces deux espèce testés sur la maladie d'Alzheimer a montré une amélioration des effets neurologiques induis par un intoxication au chlorure d'aluminium qui est à l'origine de lésions qui engendrent le syndrome d'Alzheimer. L'effet antioxydant de l'extrait doit être à l'origine de ces résultats.

L'huile essentielle ainsi que ses deux extraits éthanoliques et méthanolique de la résine de *Boswellia sp* sont doués d'une bonne capacité antioxydante pour les tests utilisés (test du piégeage du DPPH et le test de blanchissement de la β - carotène, DMPD, Chélation métallique, FRAP, PRAP et CUPRAC). Cela est dû à la présence de composés phénoliques et mono terpènes.

Toutefois, d'après tous ces résultats nous pouvons déduire que le pouvoir antioxydant de notre espèce de *Boswellia sp* reste inférieur à celui de l'antioxydant de référence (acide ascorbique).

L'activité antioxydant de la résine Boswellique a montré une amélioration en comportement de souris traitées, ainsi qu'a montré les tests de mémoires. Ces résultats sont prometteurs ouvrant ainsi la porte vers l'approfondissement de la recherche en complétant avec d'autre diagnostic tel que l'étude enzymatique et génétique.

A l'étude de l'effet du plomb, on a trouvé que l'intoxication par le plomb des *souris swiss* sous forme d'acétate par voie orale pendant une durée de 90 jours conduit à un ensemble de perturbations neurocomportementale qui se manifeste par une des effets anorexigènes, des perturbations importantes dans le comportement des animaux traités par rapport aux témoins suite aux expériences relatives au stress, ceci qui est en faveur d'une implication direct de ce métal sur les différents systèmes de transmissions nerveuses impliqués dans la régulation de ces comportements. L'utilisation de la résine boswellique a réduit significativement tout type de perturbation induite par ce métal.

Dans la recherche d'un nouveau médicament efficace pour le traitement de Parkinson, l'intérêt était basé sur les produits naturels, en particulier les plantes. Dans notre étude on s'est focalisé sur l'effet modérateur de quercus suber sur cette maladie et ses symptômes. Les résultats de l'effet de 'extrait du *Quercus suber* sur le comportement a montré une amélioration significative. Par conséquent, l'analyse hématologique a montré un effet bénéfique de l'extrait.

L'effet antioxydant a été vérifié *in vivo*, après une induction d'un stress oxydatif aigu, l'effet corrigeant de *Quercus suber* a été confirmé par l'étude histologique du foie, la première cible de réactions de correction de ces désordres.

Dans le même contexte, l'activité antioxydant *in vivo* a été l'objectif de l'étude de *Salvia officinallis*, après confirmation de cette dernière *in vitro*.

L'intoxication des souris par l'acide tétrachloro-acétique montrent un désordre absolu sur tous les paramètres étudiés. Par contre, le traitement des souris par *Salvia officinalis* a rétabli les paramètres étudiés et cela est clair au niveau histologique.

Toutefois, d'après tous ces résultats nous pouvons déduire que le pouvoir antioxydant de nos espèces donne une amélioration comportementale pour les trois premiers et une rectification du stress oxydatif *in vivo* pour les deux derniers, et même pour la maladie de Parkinson, une amélioration était très claire et observable sur le tremblement des souris. Ce qui montre que les extraits exploités sont dotés d'une bonne efficacité réductrice du stress oxydatif *in vitro* et *in vivo*.

Les résultats de ce travail constituent une étape préliminaire de l'étude de ces plantes, la continuité de ce travail s'avère primordiale et des travaux de recherches complémentaires, précis et approfondis *in vitro* de la composition et du composant actif de chaque plante restent nécessaires. Pour l'étude *in vivo* une étude des chaînes enzymatiques des cascades réactionnelles de la toxicité et du mécanisme correctionnel sont importants pour pouvoir confirmer les performances mises en évidence.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. Walter C. Prozialeck, Joshua R. Edwards, Daniel W. Nebert, James M. Woods, Aaron Barchowsky, and William D. Atchison. The Vascular System as a Target of Metal Toxicity. *TOXICOLOGICAL SCIENCES* 2008; 102(2): 207–218.---
2. - Goldoni M, Caglieri A, Corradi M, et al. Chromium in exhaled breath condensate and pulmonary tissue of non-small cell lung cancer patients. *Int Arch Occup Environ Health* 2008; 81: 487–493-
3. - Sengupta P., Banerje R., Nath S., Das S., Banerjee S. Metals and female reproductive toxicity. *Hum Exp Toxicol J* 2015; 34 (7): 679-697
4. - Favier A. Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité chimique* 2003 ; 108-115.
5. - Pastre J, Priymenko N. Intérêt des anti-oxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. *Rev Med Vet.* 2007; 158(4):180-189.
6. - Allison W. Willis, Bradley A. Evanoff, Min Lian, Aiden Galarza, Andrew Wegrzyn, Mario Schootman and Brad A. Racette. Metal Emissions and Urban Incident Parkinson Disease: A Community Health Study of Medicare Beneficiaries by Using Geographic Information Systems. *American Jnl of Epidemiology* 2010; 172(12): 1357-1363---
7. - Per M. Roos; Olof Vesterberg; Monica Nordberg. Metals in Motor Neuron Diseases. *Exp Biol Med* 2006; 231 (9): 1481-1487
8. R. R. Kaizer Æ M. C. Corre[^]a Æ L. R. S. Gris Æ C. S. da Rosa Æ D. Bohrer Æ V. M. Morsch Æ Maria Rosa Chitolina Schetinger, *Neurochem Res* (2008) 33:2294–2301 DOI 10.1007/s11064-008-9725-6
9. Atwood, D.A. & Yearwood, B.C. (2000) the future of aluminium chemistry. *Journal of Organometallic chemistry* 600, 186-197
10. Exley, C. A. (2003). A biogeochemical cycle for aluminium? *J. Inorg. Biochem.* 97, 1–7.
11. Tanino H, Shimohama S, Sasaki Y, Sumida Y, Fujimoto S. Increase in phospholipase C- α 1 protein levels in aluminum-treated rat brains. *Biochem Biophys Res Commun* 2000 May; 271(3):620-5.

12. Christopher A. Shawa, and Michael S. Petrikc; Aluminum hydroxide injections lead to motor deficits and motor neuron degeneration, 2009, *J Inorg Biochem.* 2009 ; 103(11): 1555.

13. Virgí'lia S. Silva,* Ana I. Duarte,† A. Cristina Rego,‡ Catarina R. Oliveira,§ and Paula P. Goncxalves. Effect of Chronic Exposure to Aluminium on Isoform Expression and Activity of Rat (Na⁺/K⁺)ATPase;; *TOXICOLOGICAL SCIENCES* 2005; 88(2), 485–494

14. Christopher Exley • Emily R. House; 2010 . Aluminium in the human brain. *Monatshefte für Chemie* 2011; 142(4): 357–363

15. Emily DeVoto and Robert A. Yokel; The Biological Speciation and Toxicokinetics of Aluminum. *Published in Environmental Health Perspectives* 1994; 102(11): 940-951.

16. Anitha S, Shanmugavelu P, Gazula VR, Shankar SK, Menon RB, Rao RV, et al. Molecular understanding of aluminum bioinorganic chemistry in relevance to the pathology of Alzheimer's disease. *ACS Symposium Series* 2002; 822 :228-45.

17. Martin RB. Aluminium in chemistry, biology and medicine. *Clin Chem* 1986; 32 : 1797-806.

18. Rao KSJ, Anitha S, Latha KS. Aluminium induced neurodegeneration in hippocampus of aged rabbits mimics Alzheimer's disease. *Alzheimer's Rep* 2000; 3 : 83-88.

19. Savory J, Herman MM, Hundley JC, Seward RL, Griggs CM, Katsetos CD et al. Quantitative studies on aluminium deposition and its effects on neurofilament protein expression and phosphorylation, following the intraventricular administration of aluminium maltolate to adult rabbits. *Neurotoxicology* 1993; 14 : 9-12.

20. Masahiro Kawahara¹ and Midori Kato-Negishi²;; Link between Aluminum and the Pathogenesis of Alzheimer's Disease: The Integration of the Aluminum and Amyloid Cascade Hypotheses; *International Journal of Alzheimer's Disease* Volume 2011;406:1- 17

21. Sandra V. Verstraeten Æ Lucila Aimo Æ Patricia I. Oteiza; 2008. Aluminium and lead: molecular mechanisms of brain toxicity; *Arch Toxicol* 2008; 82:789–802.

22. S. K. Abd-Elghaffar, G. H. El-Sokkary, and A. A. Sharkawy, "Aluminum-induced neurotoxicity and oxidative damage in rabbits: protective effect of melatonin". *Neuroendocrinology Letters* 2005; 26(5):609–616,.
23. Magali Dumont, M. Flint Beal, ; Neuroprotective strategies involving ROS in Alzheimer disease. *Free Radic Biol Med.* 2011; 51(5):1014-26
24. Markesberry & Carney 1999 Oxidative alterations in Alzheimer's disease. *Brain Pathol.* 1999; 9(1):133-46.
25. Teresa Montiel, Ricardo Quiroz-Baez, Lourdes Massieu, Clorinda Arias,, Role of oxidative stress on β -amyloid neurotoxicity elicited during impairment of energy metabolism in the hippocampus: Protection by antioxidants. *Experimental Neurology* 2006; 200(2): 496-508
26. George Perrya, , , Akihiko Nunomuraa, c, Keisuke Hiraib, Atsushi Takedaa, Gjurmakch Alieva, Mark A Smitha,, Oxidative damage in Alzheimer's disease: the metabolic dimension. *International Journal of Developmental Neurosciencen* 2000; 18 (4-5): 417-421.
27. J. ROBIN HARRIS ,;; Alzheimer's Disease Cellular and Molecular Aspects of Amyloid B. *Subcellular Biochemistry* vol 38. 2005; Springer Science-f Business Media
28. Massoulie J, Sussman J, Bon S, Silman I. Structure and functions of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *Prog Brain Res.* 1993;98: 139-46.
29. CUMMINGS JL. et BARBEA CK. - The cholinergic hypothesis of Neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. *Am J Geriatr Psychiatric* 1998; 6: 64-78.
30. A. Bilkei-Gorzo: Neurotoxic Effect of Enteral Aluminium, *Fd.Chem.Toxic.* 1993; 31: 357-361
31. Fratagioni, L., In : Wimo, A., Jonsson, B., Karlsson, K. and Winblad, B.,eds, *Health Economics of Dementia, Epidemiology* (1998; J. Wiley and Sons, New York: 3- 31.
32. Banks, W.A. and Kastin, A.J., The aluminum-induced increase in the blood-brain barrier permeability to delta-sleep-inducing peptide occuring throught the brain and is independent of phosphorus and acetylcholinesterase levels, *Psychopharmacol.*1985; 86 : 84-89.

33. Favarato, M., Zatta, P., Perazzolo, M., Fontana, L. and Nicolini, M., Aluminum(III) influences the permeability of the blood-brain barrier to ¹⁴C sucrose in rats, *Brain Res.* 1992; 569 : 330-335.
34. Peng, J.H., Xu, Z.C., Parker, J.C., Friedlander, E.R., Tang, J.P. and Melethil, S., Aluminum-induced acute cholinergic neurotoxicity in rat, *Mol. Chem. Neuropathol.* 1992; 17: 79-89 .
35. Julka, D., Sandhir, R. and Gill, K.D., Altered cholinergic metabolism in rat CNS following exposure : implications on learning performance, *J. Neurochem.* 1995; 65 : 2157-2164 .
36. Dale L. Morse, MD, William N. Watson, MD, Jere Housworth, Bs, Linden E. Witherell, And Philip J. Landrigan, MD. Exposure of Children to Lead in Drinking Water. *Am J Public Health* 1979; 69(7): 711-712
37. Organisation mondiale de la santé rapport de la 30e réunion du comité mixte FAO/OMS d'expert des additifs alimentaire, Rome 1986 ; Genève 1987.
38. U.S. DHHS, 2007 : United States Department of Health and Human Services (U.S. DHHS). (2007). Toxicological profile for lead. Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
39. U.S. DHHS, 2007; Government of Canada, 2006 : Government of Canada (2006). Children's health and the environment in North America. A first report on available indicators and measures. Country report. Ottawa, ON, Canada.
40. Fabre. R et Truhut. R., 1961 : précis de toxicologie SEDES Ed. Paris.
41. Jaworoxski. Z., Kowacka.L., Grotowski. K et Kwiatkowski. K., 1978 lead from nuclear exposition in the environment ; *Nucl.Technol*, 37(2) :158-166.
42. Barbalace J.K., 2012. Environmental chemistry & hazardous material new, careers and ressources.
43. Dhar.A. et BanerjeeP.K., 1979 effect of lead on certain aspects of protein métabolisme. *Int.J.Vitam.Nut. Res.*,49(3):322-329
44. O'Tuama LA, Kim CS, Gatzky JT, Krigman MR, Mushak P. The distribution of inorganic lead in guinea pig brain and neural barrier tissues in control and lead-poisoned animals. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1976; 36(1):1-9.
45. Stowe, H.D. ; Goyer, R.A. ; Krigman, M.M. ; Wilson, M. ; Cates, M. Experimental oral lead toxicity in young dogs. Clinical and morphologic effects. *Arch Pathol.* 1973; 95(2):106-16.

46. AT. Modak, R. H. Purdy & W. B. Stavinoha., Changes in Acetylcholine Concentration in Mouse Brain Following Ingestion of Lead Acetate in Drinking Water. *Journal. Drug and Chemical Toxicology* 2008. 1(4): 373-389
47. Louis-Ferdinand RT, Brown DR, Fiddler SF, Daughtrey WC, Klein AW. Morphometric and enzymatic effects of neonatal lead exposure in the rat brain. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1978; 43(2):351-60.
48. Silbergeld EK, Adler HS. Subcellular mechanisms of lead neurotoxicity. *Brain Res.* 1978 ;148(2):451-67.
49. Silbergeld EK, Miller LP, Kennedy S, Eng N. Lead, GABA, and seizures: effects of subencephalopathic lead exposure on seizure sensitivity and GABAergic function. *Environ Res.* 19790 ;19(2):371-82.
50. Carson TL, Van Gelder GA, Karas GC, Buck WB. Slowed learning in lambs prenatally exposed to lead. *Arch Environ Health.* 1974 ; 29(3):154-6.
51. Ogilvie DM. Effect of lead acetate on memory in mice. *Bull Environ Contam Toxicol.* 1978; 19(2):143-6.
52. Bushnell PJ, Bowman RE. Persistence of impaired reversal learning in young monkeys exposed to low levels of dietary lead. *J Toxicol Environ Health.* 1979; 5(6):1015-23.
53. Winneke G, Brockhaus A, Baltissen R. Neurobehavioral and systemic effects of longterm blood lead-elevation in rats. I. Discrimination learning and open field-behavior. *Arch Toxicol.* 1977 ; 37(4):247-63.
54. Gray LE, Reiter LW. Lead-induced developmental and behavioral changes in the mouse. *Toxicol Appl Pharmacol* 1977; 41: 140–145.
55. D Krehbiel, G A Davis, L M LeRoy, and R E Bowman. Absence of hyperactivity in lead-exposed developing rats. *Environ Health Perspect.* 1976; 18: 147–157.
56. Korolenko, etc .; Piven VN .; Perekrestov LF .; Shilnikova LP. Labor Health and Occupational Diseases. *Gigiena Truda* 1973;17(1): 20-23
57. Gasic adamovic S. et Jurkovic J., the state of hearing and equilibrium in workers chronically poisoned by lead *Med Glas* 1971; 25(2-3): 96-101
58. P. Grandjean Lead concentration in single hairs as a monitor of occupational lead exposure. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 1978, 42(2): 69–81

59. Johnson-BL; Burg-JR; Xintaras-C; Handke-JL. A neurobehavioral examination of workers from a primary nonferrous smelter. *Neurotoxicology* 1980 ; 1(3):561-581.
60. Ian J. Fishera, Deborah J. Paina , Vernon G. Thomas. A review of lead poisoning from ammunition sources in terrestrial birds biological conservation 2006 ;131:421 – 432
61. S.J.S. Flora, Megha Mittal & Ashish Mehta Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. *Indian J Med Res* 2008, 128: 501-523
62. Saxena G, Joshi U, Flora SJS. Monoesters of meso 2, 3- dimercaptosuccinic acid in lead mobilization and recovery of lead induced tissue oxidative injury in rats. *Toxicology* 2005; 214 : 39-56.
63. 24. Chia SE, Yap E, Chia KS. Delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) polymorphism and susceptibility of workers exposed to inorganic lead and its effects on neurobehavioral functions. *Neurotoxicology* 2004; 25 : 1041-7.
64. Guillermo O, Noriega, Maria L, Tomaro, Alcira MC. Bilirubin is highly effective in preventing in vivo δ -aminolevulinic acid-induced oxidative cell damage. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1638 :173-8.
65. Flora SJS, Flora G, Saxena G, Mishra M. Arsenic and Lead Induced Free Radical Generation and Their Reversibility Following Chelation. *Cell Mol Biol* 2007; 53 : 24-46.
66. Bechara EJH, Medeiros MHG, Monteiro HP, Hermes-Lima M, Pereira B, Demasi M, et al. A free radical hypothesis of lead poisoning and inborn porphyries associated with 5-aminolevulinic acid overload. *Quim Nova* 1996; 16 : 385-92.
67. Cardani A, Farina G. Prevention of lead poisoning by administering versene via intramuscular. *Med Lavoro* 1970; 61:220-226.
68. Burgat V., Pinault L., Cabrit Diagnostique et traitement du saturnisme chez le chien; *Rec Med Vet* 1995; 171(2/3): 153-158.
69. Hans W.K., 2007 plantes aromatiques et medicinale TERRES Edition : 6-7.
70. Isman MB, Wan AJ, Passreiter CM . Insecticidal activity of essential oils to the tobacco cutworm *Spodoptera litura*. *Fitoterapia* 2001;72: 65–68.
71. Greeson, M.J., Sanford, B. and Monti, A.D. St. John's wort (*Hypericum perforatum*), a review of the current pharmacological, toxicological and clinical literature. *Psychopharmacol.* 2001;153 : 402–414.

72. Sokmen, A., Jones, B.M. and Erturk, M. Antimicrobial activity of extracts from the cell cultures of some Turkish medicinal plants. *Phytotherapy Research*. 1999; 13 (4), 355–357.
73. Kızıllı, G., Kızıllı, M., Yavuz, M., Emen, S. and Hakimoğlu F. Antioxidant activities of ethanolic extracts of *Hypericum triquetrifolium* and *Hypericum scabroides*. *Pharm Biol*. 2008; 46, 231–242.
74. Stevens PF (2007). *Hypericaceae*. Pp 194–201. In: K. Kubitzki [ed]. *The Families and Genera of Vascular Plants*. Vol. XI. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag.
75. APG III . An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 2009; 161: 105–121.
76. Robson NKB . *Studies in the genus Hypericum L. (Guttiferae): 2. Characters of the genus*. *Bulletin of the British Museum (Natural History), Botany* 1981; 8: 55–226.
77. Stevens PF (2007). *Hypericaceae*. Pp 194–201. In: K. Kubitzki [ed]. *The Families and Genera of Vascular Plants*. Vol. XI. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag.
78. Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF & Donoghue MJ (2008). *Plant systematics – A phylogenetic approach*. 3rd edn. Sunderland: Sinauer Associates.
79. Robson NKB (2003). *Hypericum botany*. Pp 1–22. In: E. Ernst [ed]. *Hypericum – The genus Hypericum*. London, New York: Taylor and Francis.
80. Robson NKB . *Studies in the genus Hypericum L. (Guttiferae): 1. Infrageneric classification*. *Bulletin of the British Museum (Natural History), Botany* 1977; 5: 291–355.
81. Crockett SL, Schaneberg B & Khan I . *Phytochemical profiling of New and Old World Hypericum (St. John's wort) species*. *Phytochemical Analysis* 2005; 16: 479–485.
82. Mártonfi P, Repečák M & Zanvit P . *Secondary metabolites variation in Hypericum maculatum and its relatives*. *Biochemical Systematics and Ecology* 2006 ; 34: 56–59.
83. Crockett SL, Eberhardt M, Kunert O & Schuhly W . *Hypericum species in the Paramos of Central and South America: a special focus upon H. irazuense Kuntze ex N. Robson*. *Phytochemistry Reviews* 2010; 9: 255–269.
84. Nahrstedt A & Butterweck V . *Lessons learned from herbal medicinal products: the example of St. John's wort*. *Journal of Natural Products* 2010; 73: 1015–1021.

85. Robsom, N.K.B. 1966. Hypericum. İçinde P.H. Davis (Ed), Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh : Edinburg university press, volume II. 305-401
86. Wichtl, M. and N.G. Bisset (eds.). 1994. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers.
87. Simla Basar. Phytochemical Investigations On Boswellia Species, Comparative Studies on the Essential Oils, Pyrolysates and Boswellic Acids Hamburg 2005
88. Groenendijk et al. "Limitations to sustainable frankincense production: blocked regeneration, high adult mortality and declining populations." Journal of Applied Ecology 2012 ; 49 (1) :164-173
89. Shelowann Dawson. Herbal Médecine, Boswelli spp. Frankincense Plant Monograph 2006; 7(14) : 2-8.
90. Mikhaeil BR, Maatooq GT, Badria FA, Amer MM. Chemistry and immunomodulatory activity of frankincense oil. Z Naturforsch C. 2003; 58(3-4):230-238.
91. Boothe D.M. NSAIDS vs chondroprotective diseases modifying agent for the treatment of osteoarthritis; congress AM. Anim. Hosp. Assoc. controversy 1998.
92. Ayrál X. Injections in the treatment of osteoarthritis. Bailleres Best Pract. Res. Clin. Rheumatol 2001; 15(4): 609-626.
93. Majeed M. Boswellin-The anti-inflammatory phytonutrient. Nutriscience Publisher, Inc 1996.
94. Bietrix J; Utilisation des nutraceutiques dans la gestion de l'arthrose du cheval. Ecole Nationale Veterinaire De Lyon 2004 ; 119 :218.
95. Krüger P., Daneshfar R, Eckert GP, Klein J, Volmer DA, Bahr U, Müller WE, Karas M, Schubert-Zsilavec M, Abdel-Tawab M. Metabolism of boswellic acids in vitro and in vivo. Drug Metab Dispos. 2008; 36(6):1135-1142.
96. A Sharma, S Chhikara, SN Ghodekar, S Bhatia, MD Kharya, V Gajbhiye, AS Mann, AG Namdeo, KR Mahadik. Phytochemical and Pharmacological investigations on Boswellia serrata. Drug Metab. Dispos. 2008; 36:195-204.
97. Singh GB, Atal CK. Pharmacology of an extract of salai guggal ex-Boswellia serrata, a new non-steroidal anti-inflammatory agent. Agents Actions. 1986;18(3-4):407-412.
98. Singh, G.B. "Pharmacological profile of boswellic acids obtained from Boswellia serrata as a new type of non-steroidal anti-inflammatory drug." International Journal of Phytotherapy & Phytopharmacology 2008; 15:6-7

99. Winking, M. "Effects of boswellic acids on malignant glioma." *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy & Phytopharmacology* 2008; 15:6-7.
100. mauviel A. Effets de insaponifiables d'avocat/soja sur la production de collagène par des cultures de synoviocytes, chondrocytes articulaires et fibroblastes dermiques. *Revus du Rhumatisme* 1989 ; 56(2) :207-211.
101. Menon M.K., Kar A. analgesic and psychopharmacological effects of the gum resin of *Boswellia*. *Planta Med.* 1971;19(4):333-341.
102. Jyothi y., Kamath J., Asad M. effect of hexane extract of *Boswellia serrata* Oleo-gum resin on chemically induced liver damage. *Pak. J. Pharm. Sci.* 2006;19(2):125-129.
103. Upaganlawar A., Ghule B., pharmacological activities of *Boswellia serrata* Roxb. *Ethnobot. Leaflets* 2009;13:766-774.
104. Atal C.K., Gupta O.P., and Singh GB. Salai Guggal: a promising anti-arthritis and anti-hyperlipidemic agent. *Brit. J. Pharmacol.* 1981; 74:203-204.
105. Singh S., Khajuria A., Taneja SC., Kharujia S.K., Singh J., Johri R.K. The gastric ulcer protective effect of boswellic acids, a leukotriene inhibitor from *Boswellia serrata* in rats. *Phytomedicine* 2008; 15(6-7): 408-415.
106. Prouvost C. and Laverty S. la glucosamine dans le traitement de l'osteoarthrose. *Prat. Vét. Equine* 2000 ; 32(128) : 31-36
107. Maghech V., Raman D., PUDUPALAYAM K.T. genotoxicity studies of dry extract of *Boswellia serrata*. *Trop. J.Pharm.Res.* 2008; 7(4): 1129-1135.
108. Raja AF., Ali F., Khan IA., Chale AS., DS Arora, Shah BA., Taneja SC. Activité inhibitrice antistaphylococcique sur le biofilms de l'acetyl-11 cet-Boswellique (acide de *Boswellia serrata*) . *Journal BMC Microbiol.*2011 ;11 : 54-63.
109. Safayhi H. Boswellic acid: Novel, specific, nonredox inhibitor of 5 lipoxygenase. *J.Pharmacol.Exp.. Ther* 1992; 261:1143-1146.
110. Safayhi H; Concentration dependent potentiating and inhibitory effect of *Boswellia* extracts on 5 lipoxygenase product formation in stimulated PMNL. *Planta Med.* 2000; 66:110-113.
111. Ammon HP. Salai guggal and Boswellic acids: their effects on arachidonic acid cascade. *Phytomedicine* 2008; 15(6-7): 541-542.
112. Casali F., Burgat V. and Guerre P. le dimethylsulfoxyde DMSO: principales propriétés et usages autorisés ; *revu Méd. Vét.* 1999 ; 150(3) : 207-220.

113. Kapil A. and Moza N. anticomplementary activity of Boswellic acid: an inhibitor of C3 convertase of the classical complement pathway. *Int. J. Immunopharmacol* 1992; 14(7): 1139-1143
114. Cantat R & Biazzetta R., (2005)- La levée de liège. Institut méditerranéen de liège.
115. Zeraia L., (1981). Essai d'interprétation comparative de données écologiques, phénologiques et de production subero-ligneuse dans les forêts de chêne-liège de Provence cristalline.(France Méridionale) et d'Algérie, Thèse Doctorat, Univ. d'Aix Marseille Saint Jérôme : 367.
116. Piazzetta R., (2005). La levée du liège, guide technique et de vulgarisation, institut méditerranéen du liège : 23.
117. Messaoudene M., (2000). Réflexion sur la structure des peuplements de chêne-liège (*Quercus suber* L.) en Algérie. *La forêt Algérienne* : p. 3-5-9
118. QUEZEL P.&SANTA S., : Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1 .CNRS, Paris 1962.
119. Palaisance G., (1977). Le chêne liège. *Forêt privée*, 118: 57-64.
120. Yessad S.A., (2001). Le Chêne-liège et le Liège dans les pays de la Méditerranée occidentale, Edit MRW, p 123 .
121. Amandier L., (2002). La subéraie : biodiversité et paysage, [en ligne]. Vivexpo biennale Du liège et de la forêt méditerranéenne. Colloque biodiversité ot paysage, 2002, Vives (Perpignon). p 5.
122. Aime., (1976). Contribution à l'étude écologique du chêne-liège. Etude de quelques limites. Thèse Doctorat de spécialité, univ. NICE, France : p 180.
123. Fraval A., (1991). Contribution à la connaissance du rythme de la floraison du chêne liège.
124. Boudy P., (1950). Economie forestière nord-africaine. Tome (1) : Monographie et traitements des essences forestières. Larose, Paris : p 525.
125. Dessain, G., (1992). Histoire de l'utilisation du liège, In actes du colloque : Les subéraies méditerranéennes. Direction départementale de l'agriculture et de la forêt des Pyrénées orientales et l'association Vivexpo (France) : 11-21.
126. Morigane., (2000). Grimoire des plantes 2 ème édition.
127. Jean Valnet., (2000). Grimoire des plantes 2 ème édition

128. Quezel, F., Santa, S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. CNRS, Paris-France 1963 ; 12 :801-802.
129. Tepe B., Sokmen M., Akpulat H. A. et Sokmen A., . Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. Food Chemistry 2006 ; 95 : 200 - 204.
130. Hohmann J., Redei D., Mathea I., Blunden G. . Phenylpropanoid glycosides and diterpenoids from *Salvia officinalis*. Biochemical Systematics and Ecology 2003; 3 : 427 - 429.
131. Kamatou G. P. P., Viljoen A. M., Gono-Bwalya A. B., Van Zyl R. L., Vuuren V. S. F., Lourens A. C. U., Baser K. H. C., Demirci B., Lindsey K. L., Staden V. J. et Steenkamp P. The In vitro pharmacological activities and a chemical investigation of three South African *Salvia* species. Journal of Ethnopharmacology 2005; 102: 382 - 390.
132. Rabbani M., Sajjadi S. E., Jafarian A. et Vaseghi G. Anxiolytic effects of *Salvia reuterana* boisson the elevated plus-maze model of anxiety in mice. Journal of Ethnopharmacology 2005 ; 101: 100 - 103.
133. Avato P., Fortunato I. M., C Ruta et Elia D. Glandular hairs and essential oils in micropropagated plants of *Salvia officinalis* L. Plant Science 2005; 169: 9 – 36 .
134. Palese R. et Aexhmann D. Labiées: Rosmarinus, *Salvia*. In «la grande flore en couleur de Gaston Gounier ». Ed: BELIN 1990 ; 4: 909 - 910.
135. Bartel A. *Salvia officinalis*. «Guide des plantes du bassin méditerranéen »Ed: Eugen Ulmer 1997 ; 324 – 325.
136. Pelikan W. (1986). L'Homme et les plantes médicinales. Ed : Centre Triade, 1, 60 - 61.
137. Haloran K. (2001). Herbs, garden and gardening illnesses. Organic Gardening Emmaus, 48, 1-16.
138. Paul Iserin ., (2001). La rousse encyclopedie des plantes medicinale, p 92,102,120,131.155.
139. Teuscher E., Anton R ., Lobstein A., (2005). Plantes aromatiques. Ed : Technique et Documentation. Lavoisier, 416, 444.
140. Baba Aissa F., (2000). Encyclopédie des plantes utiles. « Flore d'Algérie et du Maghreb ». Ed : Librairie moderne Rouiba , 252. – 253 .

141. Beloued A., (2001). Plantes médicinales d'Algérie. Ed: Office des Publications Universitaires, 32- 34 .
142. Haloran K. (2001). Herbs, garden and gardening illnesses. Organic Gardening Emmaus, 48 : 1-16.
143. Radulescu V., Chiliment S. et Oprea E. Capillary gas chromatography-mass spectrometry of volatile and semi-volatile compounds of *Salvia officinalis*. Journal of Chromatography A 2004 ;1027: 121 - 126.
144. Kennedy D. O. et Scholey A. B. Sage and brain function. Nutrition Abstract and Reviews: Serie A 2005; 75(8): 25 - 31.
145. Miladinović D ., Miladinovic L. J. Antimicrobial activity of essential oil of sage from Serbia. Series: Physics, Chemistry and Technology 2000; 2(2): 97 - 100.
146. Ebringerova A., Kardosova A., Hromadkova Z. et Hri balova V. Mitogenic and comitogenic activities of polysaccharides from some European herbaceous plants. Fitoterapia 2003; 74: 52 - 61.
147. Capek P. et Hri balová V. Water-soluble polysaccharides from *Salvia officinalis* L. possessing immunomodulatory activity. Phytochemistry 2004.; 65: 1983 -1992.
148. Lu Y. et Foo L. Y. Polyphenolics of *Salvia*. Phytochemistry Review 2002; 59: 117- 140.
149. Bors W., Michel C., Stettmaier K., Lu Y. et Foo L. Y. Pulse radiolysis, electron paramagnetic resonance spectroscopy and theoretical calculations of caffeic acid oligomer radicals. Biochimica et Biophysica Acta 2003 ; 1620: 97 – 107 .
150. Lin Y. L., Wu C. H., Luo M. H., Huang Y. J., Wang C. N., Shiao M. S. et Huang Y. T. In vitro protective effects of salvianolic acid B on primary hepatocytes and hepatic stellate cells. Journal of Ethnopharmacology 2006; 105: 215 - 222.
151. Mohammadi M., Akhoudzadeh S., Noroozian M. *Salvia officinalis* extracts in treatment of patient with mild to moderate Alzheimers disease: a double blind, randomized and placebo controlled trial. Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics 2003; 28 (1): 53 - 59.
152. Ninomiya K., Matsuda H., Shimoda H., Nishida N., Kasajima N., Yoshino T., Morikawa T. et Yoshikawa M. Carnosic acid, a new class of lipid absorption inhibitor from sage. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters 2004; 14: 1943 - 1946.

153. Eidi M., Eidi A. et Zamanizadeh H. Effect of *Salvia officinalis* L. leaves on serum glucose and insulin in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2005 ; 100: 310 - 313.
154. Lu Y. et Foo L. Y. Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chemistry* 2001; 75: 197 - 202.
155. Bailly F., Queffelec C., Mbemba G., Mouscadet J. F. et Cotellet P. Synthesis and HIV-1 integrase inhibitory activities of caffeic acid dimers derived from *Salvia officinalis*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 2005; 15:5053 - 5056.
156. Tildesley N. T. J., Kennedy D. O., Perry E. K., Ballard C. G., Salvelev S., Wesnes K. A. et Scholey A. B. *Salvia lavandulaefolia* (Spanish sage) enhances memory in healthy young volunteers. *Pharmacology, Biochemistry et Behavior* 2005; 75: 669 - 674.
157. Abu-Shanab B., Adwan G., Abu-Safiya D., Jarrar N. et Adwan K. Antimicrobial activities of some plant extracts utilized in popular medicine in Palestine. *Turkish Journal of Biology* 2004; 2: 99 -102 .
158. Pereira R. S., Sumita T. C., Furlan M. R., Jorge A. O. C. et Ueno M. Antibacterial activity of essential oils on microorganisms isolated from urinary tract infection. *Revista de Saúde Pública* 2004 ;38 (2): 1 - 3.
159. Longaray-Delamare A. P., Moschen-Pistorello I. T., Atti-Serafini L. A. L. et Echeverrigaray S. Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food Chemistry* 2007 ; 100.
160. Colette K-D., (2004). *Les plantes medicinales*. ALS
161. Amin T. A., et Hamza A. A. Hepatoprotective effects of *Hibiscus*, *Rosmarinus* and *Salvia* on azathioprine-induced toxicity in rats. *Life Sciences* 2005 ; 77: 266 – 278 .
162. Lima C. F., Andrade P. B., Seabra R. M., Fernandes-Ferreira M. et Pereira-Wilson C. The drinking of a *Salvia officinalis* infusion improves liver antioxidant status in mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2005; 97: 383 - 389.
163. Rabanal RM., Bonkanka CX., Hernández-Pérez M., Sánchez-Mateo CC. Analgesic and topical anti-inflammatory activity of *Hypericum canariense* L. and *Hypericum glandulosum* Ait. *J Ethnopharmacol.* 2005; 96(3):591-596.

164. Fernandez S., Olendzki B, Rosal MC. A dietary behaviors measure for use with low-income, Spanish-speaking Caribbean Latinos with type 2 diabetes: the Latino Dietary Behaviors Questionnaire. *J Am Diet Assoc.* 2011; 111(4):589-99
165. F. Amarti M. El Ajjouri M. Ghanmi B. Satrani A. Aafi A. Farah A. Khia A. Guedira M. Rahouti A. Chaouch. Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc. *Phytothérapie* 2011 ; 9: 149.
166. Duh PD, Tu YY and Yen GC. Antioxidant activity of the aqueous extract of harn jzur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie* 1999; 32: 269-277.
167. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978; 52: 302-10.
168. Mosmann T (1983), Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, *J.Immunol.Methods* 65: 55-63.
169. Alley, M. C., Scudiere, D. A., Monks, A., Hursey, M. L., Czerwinski, M. J., Fine, D. L., Abbott, B. J., Mayo, J. G., Shoemaker, R. H., and Boyd, M. R. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell line using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Res.*, 48: 589-601, 1988.
170. Boissier Jr, Simon P. The exploration reaction in the mouse. Preliminary note. *Therapie.* 1962 Nov-Dec;17:1225-32.
171. Costall B, Jones BJ, Kelly ME, Naylor RJ, Tomkins Exploration of mice in the black and white test box: validation as a model of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav.* 1989;32:777-785.
172. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods.* 1985;14:149-167.
173. Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* 1977 Oct;229(2):327-36.
174. Wan RQ1, Pang K, Olton DS. Nonhippocampal muscarinic receptors are required for nonspatial working memory. *Pharmacol Biochem Behav.* 1997; 58(2):361-7.

175. Olton DS, Feustle WA. Hippocampal function required for non-spatial working memory. *Exp Brain Res* 1981; 41: 380–389.
176. Mireille Blanchard-Desce, Bruno Fosset, François Guyot. *Chimie organique expérimentale*. Paris : Hermann, cop. 1987
177. Burits M., Bucar F. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research* 2000; 14:323-328
178. Kartal B, Rattray J, van Niftrik LA. Candidatus “*Anammoxoglobus propionicus*” a new propionate oxidizing species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria. *Syst Appl Microbiol* 2007; 30: 39–49.
179. L. Hambaba K. Boudjellal M. Abdeddaim M. C. Aberkane K. Boudiaf. Étude in vitro des activités antimicrobienne et antioxydante des extraits du fruit d’*Elaeagnus angustifolia* L. *Phytothérapie* 2012 ; 10: 350.
180. Deba F, Xuan TD, Yasuda M, Tawat S (2008) Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oil from *Bidens pilosa* L. Var. *Radiata*. *Food Chem* 19: 356–352.
181. Gulcin, I.; Bursal, E.; Sehitoglu, M.H.; Bilsel, M.; Goren, A.C. Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food Chem. Toxicol.* 2010, 48, 2227-2238.
182. Jagtap, U.B.; Panaskar, S.N.; Bapat, V.A. Evaluation of Antioxidant Capacity and Phenol Content in Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) Fruit Pulp. *Plant Food Hum. Nutr.* 2010, 65, 99-104.
183. Fatma Sezer Senol, Ilkay Erdogan Orhan*, Osman Ustun. In vitro cholinesterase inhibitory and antioxidant effect of selected coniferous tree species. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*; 2015; 7645(14): 269-275
184. Treit D, Menard J, Royan C. Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav.* 1993; 44(2): 463-9.
185. Olton, D.S., Samuelson, R.J. Remembrance of placed passed: spatial memory in rats. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Proceedings* 1976 ; 2: 97-116.
186. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods.* 1984; 11(1):47-60.
187. Pol-Bodetto S., Jeltsch-David H., Lecourtier L., Rusnac N., Mam-Lam-Fook C., Cosquer B. The double-H maze test, a novel, simple, water-escape memory task:

- acquisition, recall of recent and remote memory and effects of systemic muscarinic or NMDA receptor blockade during training. *Behav. Brain Res.* 2011; 218: 138–151.
188. Cassel R., Kelche C., Lecourtier L., Cassel J. C. The match/mismatch of visuo-spatial cues between acquisition and retrieval contexts influences the expression of response vs. place memory in rats. *Behav. Brain Res.* 2012 ; 230: 333–342.
189. Diallo, D., Sanogo, R., Yasambou, H., Traoré, A., Coulibaly, K. et Maïga, A. Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *C.R. Chimie* 2004 ; 7 : 1073–1080.
190. Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherstone, R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 1961; 7 : 88–95.
191. Quertemont, E.; Tambour, S.; Bernaerts, P.; Et al. Behavioral characterization of acetaldehyde in C57BL/6J mice: Locomotor, hypnotic, anxiolytic and amnesic effects. *Psychopharmacology* 177:84–92, 2004.
192. E. Kaplan; K. Ansari. Reduction of polyunsaturated fatty acid hydroperoxides by human brain glutathione peroxidase. *Lipids* 1984; 19(10): 784–789.
193. Naito HK, David JA. Laboratory considerations: determination of cholesterol, triglyceride, phospholipid, and other lipids in blood and tissues. *Lab Res Methods Biol Med.* 1984; 10: 1-76.
194. Bucolo G, David H. Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. *Clin Chem.* 1973; 19(5):476-82.
195. J. K. Fawcett and J. E. Scott. A RAPID AND PRECISE METHOD FOR THE DETERMINATION OF UREA. *J Clin Pathol.* 1960 Mar; 13(2): 156–159.
196. MURRAY R.L. Creatinine. KAPLAN A et al., 1984c. *Clin Chem The C.V.* Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton; 1261-1266 and 418. Cité par fiche technique de créatinine de SPINREACT, BSIS13-F.
197. Houlot R., (1984). *Techniques d'histologie et de cytologie.* Paris : Edition Maloine human disease: an overview. *Methods Enzymol*, 186: 1-85.
198. Aneta Wojdyło , Jan Oszmian'ski , Renata Czemerys; Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry* 2007; 105: 940–949
199. Zou, Y., Lu, Y. and Wei, D. 2004. Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. in vitro. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 5032-5039.

200. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. & Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant. Sci.*, 2, 152-159.
201. Golube, MS and., Domingo J.L., (1998). Fetalalumiaccumulation. *Teratology.*;58:225-226
202. Anil Kumar; Samrita Dogra ; Atish Prakash.,(2009) . —protective effect of curcumin (*curcuma longa*), against aluminium toxicity: possible behavioral and biochemical alteration in rats. *Behavioural Brain research* 205 .384-390
203. Djebli N et Rebai .,(2008). “Chronic Exposure to Aluminum Chloride in Mice: Exploratory Behaviors and Spatial Learning. *Advances in Biological Research* 2 (1-2): 26-33.
204. Sahin, G., Varol, I. and Temizer, A., (1994). Determination of aluminum levels in the kidney, liver and brain of mice treated with aluminum hydroxide, *Biol. Trace*.
205. Santucci, Anthony C.; Cardiello, Julia., (Feb 2004)—Memory Reactivation in Rats Treated With the 5-HT_{1A} Agonist 8-OHDP AT: A Case of Gone, but Not Forgotten. *Behavioral Neuroscience*, Vol 118(1), 248-252.
206. -Duichene S., Djebli N. et Zerrouki K 2012...
207. Crockett SL, Schaneberg B, Khan I. Phytochemical profiling of new and old world hypericum (*St. John's wort*) species. *Phytochem Anal* 2005;16:479–85.
208. Crockett SL, Eberhardt M, Kunert O, Schuhly W. Hypericum species in the paramos of central and south america: a special focus upon *H. irazuense* Kuntze. *Phytochem Rev* 2010;9:255–69.
209. Mártonfi P, Repcák M, Zanvit P. Secondary metabolites variation in *Hypericum maculatum* and its relatives. *Biochem Syst Ecol* 2006;34:56–9.
210. Nahrstedt A, Butterweck V. Lessons learned from herbal medicinal products: the example of *St. John's wort*. *J Nat Prod* 2010;73:1015–21.
211. Röder C, Schaefer M, Leucht S. Meta-analyse zu wirksamkeit und verträglichkeit der behandlung der leichten und mittelschweren depression mit johanniskraut. *Fortschr Neurol Psychiatr* 2004;72:330–43.
212. Hölzl J, Petersen M. Chemical constituents of hypericum ssp. hypericum—the genus hypericum. In: E Ernst. Ed. London, Taylor and Francis New York; 2003.
213. Beerhues L. Biosynthesis of the active *Hypericum perforatum* constituents. *Med Aromatic Plant Sci Biotechnol* 2011;5:70–7.

214. Butterweck V, Schmidt M. St. John's wort: role of active compounds for its mechanism of action and efficacy. *Wien Med Wochenschr* 2007;157:356–61.
215. Linde K. St John's wort—an overview. *Forsch Komp Klas Nat* 2009;16:146–55.
216. Roth L. *Hypericum, Hypericin: Botanik, Inhaltsstoffe, Wirkung.* Landsberg/Lech: ecomed; 1990.
217. Avato P. A survey on the hypericum genus: secondary metabolites and bioactivity. *Stud Nat Prod Chem* 2005;30:603–34.
218. Müller WE. St John's wort and its active principles in depression and anxiety Basel. *J Med Chem* 2006;49:5026–7.
219. Schempp C, Müller K, Winghamer B, Schöpf E, Simon J. Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.). Eine Pflanze mit Relevanz für die Dermatologie. *Der Hautarzt* 2002;53:316–21.
220. De Freitas Silva DM, Ferraz VP, Ribeiro AM. Improved high-performance liquid chromatographic method for GABA and glutamate determination in regions of the rodent brain. *J Neurosci Methods* 2009;177:289–93.
221. Exarchou V, Nenadis N, Tsimidou M, Gerothanassis IP, Troganis A, Boskou D. Antioxidant activities and phenolic composition of extracts from greek oregano, greek sage, and summer savory. *J Agric Food Chem* 2002;50:5294–9.
222. Conforti F, Statti GA, Tundis R, Menichini F, Houghton P. Antioxidant activity of methanolic extract of *Hypericum triquetrifolium* turra aerial part. *Fitoterapia* 2002;73:479–83.
223. Tripathi YB, Pandey E, Dubey GP. Antioxidant property of *Hypericum perforatum* (L.) of Indian origin and its comparison with established Medhya rasayanas of Ayurvedic medicine. *Curr Sci* 1999;76:27–9.
224. COULADIS, M. et al. Essential oil of *Salvia officinalis* L. from Serbia and Montenegro. *Flavour and Fragrance Journal* 2002; 17(2): 119-26.
225. Virgilia S. Silva, Ana I. Duarte,† A. Cristina Rego, Catarina R. Oliveira,§ and Paula P. Goncalves. Effect of Chronic Exposure to Aluminium on Isoform Expression and Activity of Rat (Na⁺/K⁺)ATPase;; *TOXICOLOGICAL SCIENCES* 2005; 88(2): 485–494.
226. Julien S., Merino-Trigo A., Lacroix L, Pocard M., Goéré D., Mariani P., Landron S, Bigot L, Nemati F, Dartigues P, et al. Characterization of a large panel of

- patient-derived tumor xenografts representing the clinical heterogeneity of human colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 2012; 18(19):5314-5328.
227. Bayani Uttara, Ajay V. Singh, Paolo Zamboni, and R.T Mahajan. Oxidative Stress and Neurodegenerative Diseases: A Review of Upstream and Downstream Antioxidant Therapeutic Options. *Curr Neuropharmacol.* 2009; 7(1): 65–74.
228. Hrdina, P.D., Peters, D.A., and Singhal, R.L. (1976). Effects of chronic exposure to cadmium, lead and mercury of brain biogenic amines in the rat. *Res Commun chem Pathol pharmacol* 15, 483-493.
229. Bruneton J., *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales.* Paris, Editions Tec & Doc, 2009, 4^e édition, 523-531.
230. Morel J-M. Phytothérapie et troubles psychiatriques : possibilités d'application avec le Millepertuis. *La Phytothérapie Européenne.* Novembre/Décembre 2005, 8-14.
231. Gibon J, Deloulme JC, Chevallier T, Ladevèze E, Abrous DN and Bouron A. The antidepressant hyperforin increases the phosphorylation of CREB and the expression of TrkB in a tissue-specific manner. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 2012.
232. Dinamarca MC, Cerpa W, Garrido J, Hancke JL, Inestrosa NC. Hyperforin prevents beta-amyloid neurotoxicity and spatial memory impairments by disaggregation of Alzheimer's amyloid-beta-deposits. Source : Centro de Regulación Celular y Patología Joaquín V Luco, MIFAB, Santiago, Chile. *Mol Psychiatry.* 2006 Nov; 11(11):1032-48. Epub 2006 Jul 25.
233. Vieira, Pedro Miguel de Sousa ; Marques, Belém Sampaio ; Ludovico, Paula ; Dias, Alberto Carlos Pires. Hypericum perforatum phenolics compounds : protective role in the toxicity induced by heterologous expression of α -synuclein ; 2011.
234. Golub, M.S. and Gershwin, M.E., Effects of aluminum on brain lipid peroxidation, *Toxicol. Lett.*, 51 : 213-219 (1990).
235. Skalisz LL, Bejjani V, Andreatini R. Effect of Hypericum perforatum on marble-burying by mice. Source Departamento de Farmacologia, Laboratório de Fisiologia e Farmacologia do Sistema Nervoso Central, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brazil. 2004; 18(5): 399-402
236. Costall B., M.E. Kelly, R.J. Naylor and E.S. Onaivi, 1989. The effects of ondansetron (GR38032F) in rats and mice treated subchronically with diazepam. *Pharmacol. Behav.*, 32 : 777-78

237. Gardier, A.M. and M. Bourin, 2001. Appropriate use of ‘‘Knockout’’ mice as models of depression or models of testing the efficacy of antidepressants. *Psychopharmacology*, 153 :393-4.
238. David R. Lide, *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, CRC Press Inc, 2009, 90e éd., Relié, 2804 p.
239. Butterweck V. Mechanism of action of St John's wort in depression : what is known? ; Source Institute of Pharmacology and Toxicology, Universitätsklinikum Münster, Münster, Germany. butterv@uni-muenster.de
240. Rodriguez-Landa JF, Contreras CM. (A review of clinical and experimental observations about antidepressant actions and side effects produced by *Hypericum perforatum* extracts by Laboratorio de Neurofarmacología, Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana, Mexico. *Phytomedicine*. 2003 Nov;10(8):688-99
241. Claire Gourier-Frery, Nadine Fréry, Claudine Berr, Sylvaine Cordier , Robert Garnier , Hubert Isnard , Coralie RAVault, Claude Ranaudeau Quels risque pour la santé ?
242. SHARMA P., MISHRA K.P., « Aluminum-induced maternal and developmental toxicity and oxidative stress in rat brain : response to combined administration of Tiron and glutathione. » *Reprod.Toxicol*. 2006 Apr. ; 21 (3) : 313-321. Epub 2005 Jul 22. Radiation Biology and Health Sciences Division, Bhabha Atomic Research Centre, Trombay, Mumbai 400 085, Maharashtra, India.
243. Dinamarca MC, Cerpa W, Garrido J, Hancke JL, Inestrosa NC. Hyperforin prevents beta-amyloid neurotoxicity and spatial memory impairments by disaggregation of Alzheimer's amyloid-beta-deposits. Source :Centro de Regulación Celular y Patología Joaquín V Luco, MIFAB, Santiago, Chile. *Mol Psychiatry*. 2006 Nov;11(11):1032-48. Epub 2006 Jul 25.
244. Karl-Heinz Krause Aging: A revisited theory based on free radicals generated by NOX family NADPH oxidases *Experimental Gerontology* 2007; 42: 4: 256–262
245. Simla Basar, Angelika Koch, Wilfried A. König A verticillane-type diterpene from *Boswellia carterii* essential oil. *Flavour and Fragrance Journal* 2001; 16(5): 315–318
246. Ahmed Al-Harrasi * and Salim Al-Saidi Phytochemical Analysis of the Essential Oil from Botanically Certified Oleogum Resin of *Boswellia sacra* (Omani Luban). *Molecules* 2008, 13:2181-2189.

247. Pernet, R., 1972. Phytochimie des Burserace´es. *Lloydia* 35 : 208–287.
248. Thulin, M., Warfa, M. The frankincense trees (*Boswellia* spp., Burseraceae) of northern Somalia and southern Arabia. *Kew Bull.* 1987;42 (3): 487–499.
249. Mathe, C., Culioli, G., Archier, P., Vieillecazes, C. High performance liquid chromatographic analysis of triterpenoids in commercial frankincense. *Chromatographia* 2004; 60 : 493–499.
250. Abdel Wahab, S.M., Aboutabl, E.A., El-Zalabani, S.M., Fouad, H.A., De Pooter, H.L., El-Fallaha, B., 1987. The essential oil of olibanum. *Planta Med.*, 382–384.
251. Vernin, G., Boniface, C., Metzger, J., Maire, Y., Rakotorijaona, A., Fraise, D., Parkanyi, C., 1990. GC–MS data bank analysis of the essential oils from *B. frereana* Bird and *Boswellia carterii* Bird. *Dev. Food Sci.* 24, 511–542.
252. Basar, S., Koch, A., Ko´nig, W.A., 2001. A verticillane-type diterpene from *Boswellia carterii* essential oil. *Flavour Fragr. J.* 16, 315–318.
253. Peyron, L., Acchiardi, J., Bignotti, D., Pellerin, P., 1981. Comparaison des extraits odorants d’encens obtenus par des technologies diverses a` partir de gommess d’origines ge´ographiques diffe´rentes. *Rivista Ital. E.P.P.O.S.* 63, 133–138
254. Obermann, H., 1977. Differences in the chemistry and odor of incense resins. *Dragoco Report* 11/12, 260–265
255. Maupetit, P., 1985. New constituents in olibanum resinoid and essential oil. *Perfumer Flavorist* 9, 19–37.
256. Cheung, L. M., Cheung, P. C. K., & Ooi, V. E. C. (2003). Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chemistry*, 81, 249–255.
257. Kimmattkar N, Thawani V, Hingorani L, Khiyani R. Efficacy and tolerability of *Boswellia serrata* extract in treatment of osteoarthritis of knee—a randomized double blind placebo controlled trial. *Phytomedicine* 2003, 10(1):3–7.
258. Bounatirou S., Smiti S., Miguel M.G., Faleiro L., Rejeb M.N., Neffati M., Costa M.M, Figueiredo A.C., Barroso J.G., Pedro L.G.(2007). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoffm. et Link. *Food Chem.*, 105, p. 146–155
259. Mimica-Dukic N., Bozin B., Sokovic M. et Simin N. (2004) .Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (*Lamiaceae*) essential oil. *J. Agric. Food Chem.*, 54, p. 5313–5322

260. Rech, R. H., and Commissaris, R. L. (1982) Neurotransmitterbasis of the behavioral effects of hallucinogens. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 6, 521–527
261. Golub MS, Takeuchi PT, Keen CL, Hendickx AG, Gershwin ME (1996) Activity and attention in zinc-deprived adolescent monkeys. *American Journal of Clinical Nutrition* 64, 908–15
262. Kumar P., Kumar A. Possible neuroprotective effect of *Withania somnifera* root extract against 3-nitropropionic acid-induced behavioral, biochemical, and mitochondrial dysfunction in an animal model of Huntington's disease. *J Med Food*. 2009 Jun;12(3):591-600.
263. Gourier- Fréry et Fréry ., (2004). Aluminium Institut de Veille Sanitaire, département santé-environnement,12, rue du-Val-d'Osne, 94415 Saint-Maurice cedex, France.
264. Rodgers RJ. Ethopharmacological analysis of the effects of putative 'anxiogenic' agents in the mouse elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav* 1995;52:805-13.
265. Torres C. and Escarabajal M. D. (2001) Validation of a behavioral recording automated system in the elevated plus-maze test. *Life Sciences*. Vol. 70 : 1751-1762.
266. Buraimoh A.A. Effects of Aluminium Chloride Exposure on the Cerebral Cortex of Adult Wistar Rats Were Not Transferable o the Offspring. *American International Journal of Contemporary Research* Vol. 2 No. 8; August 2012
267. Onaivi ES, Martin BR. Neuropharmacological and physiological validation of a computer-controlled two-compartment black and white box for the assessment of anxiety. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 1989;13(6):963-76.
268. Detke MJ, Rickels M, Lucki I. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology (Berl)*. 1995 Sep;121(1):66-72.
269. Adem Can, David T. Dao, Michal Arad, Chantelle E. Terrillion, Sean C. Piantadosi, and Todd D. Gould. The Mouse Forced Swim Test. *J Vis Exp*. 2012; (59): 3638.
270. Prisila Dulcy C, Singh HK, Preethi J, Rajan KE. Standardized extract of *Bacopa monniera* (BESEB CDRI-08) attenuates contextual associative learning deficits in the aging rat's brain induced by D-galactose. *J Neurosci Res*. 2012 Oct;90(10):2053-64.

271. Yang G., Wang Y., Tian J., Liu J. P. (2014). Huperzine a for Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *PLoS ONE* 8(9):e74916.10.1371/journal.pone.0074916.
272. Pol-Bodetto S., Jeltsch-David H., Lecourtier L., Rusnac N., Mam-Lam-Fook C., Cosquer B., et al. . (2011). The double-H maze test, a novel, simple, water-escape memory task: acquisition, recall of recent and remote memory and effects of systemic muscarinic or NMDA receptor blockade during training. *Behav. Brain Res.* 218, 138–151.
273. Cassel R., Kelche C., Lecourtier L., Cassel J. C. (2012). The match/mismatch of visuo-spatial cues between acquisition and retrieval contexts influences the expression of response vs. place memory in rats. *Behav. Brain Res.* 230, 333–342.
274. Luo C. X., Jiang J., Zhou Q. G., Zhu X. J., Wang W., Zhang Z. J., Han X., Zhu D. Y. (2007). Voluntary exercise-induced neurogenesis in the postischemic dentate gyrus is associated with spatial memory recovery from stroke. *J. Neurosci. Res.* 85, 1637–1646
275. Ito H. T., Zhang S.-J., Witter M. P., Moser E. I., Moser M.-B. (2013). Trajectory-dependent firing in hippocampal place cells reflects nucleus reuniens-mediated input from the medial prefrontal cortex. *Soc. Neurosci. Abstr.* 39:769.11.
276. Sumathi Thangarajan, Asha Deivasigamani, Suganya Sarumani Natarajan, Prasanna Krishnan & Sandhya Koombankallil Mohanan. Neuroprotective activity of L-theanine on 3-nitropropionic acid-induced neurotoxicity in rat striatum. *International Journal of Neuroscience* 2014; 124(9): 673-684
277. Cuadra G, Summers K, Giacobini E (1994) Cholinesterase inhibitor effects on neurotransmitters in rat cortex in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 270:277–284.
278. Reiter LW., Anderson GE., Laskey JW., Cahill DF. Developmental and behavioral changes in the rat during chronic exposure to lead; *Environmental health* 1975; 12:119-123
279. Moreira EG., Vassilief I., Vassilief VS. developmental lead exposure: behavioral alteration in the short and the long term. *Neurotoxicology and Teratology* 2001; 23:489-495.
280. Reckziegel P., Dias VT., Benvegnu D., Boufleur N., Silva Barcelos RC.. Locomotor damage and brain oxydative stressinduced by lead exposure areattenuated by gallic acid treatment. *Toxixology letters* 2011; 203: 74-81.

281. Buchet JP., Roels H., Bernard A. and Lauwrys R. Assessment of renal function of workers exposed to inorganic lead, calcium or mercury vapor. *Journal of Occup Med* 1980; 22(11): 741-750.
282. Rice DC. Schedule controlled behavior in infant and juvenile monkeys exposed to lead from birth. *Neurotoxicology* 1988; 9:75-87.
283. Rice DC. Behavioral effects of lead in monkeys tested during infancy and adulthood. *Neurotoxicol teratol.* 1992; 14:235-245.
284. Rice DC. Lead induced changes in learning: evidence for behavioral mechanisms from experimental animal studies. *Neurotoxicology* 1993; 14:167-177.
285. Sakari Tola., Clae's-Henrik Nordman. Serum creatinine concentrations S-GOT and S-GPT activities and lead exposure. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 1977; 39 (1): 37-44
286. Michael De Santis, Bo Pan, Jiamei Lian, Xu-Feng Huang, Chao Deng., 2014. Different effects of Bifeprunox, Aripiprazole, and Haloperidol on body weight gain, food and water intake, and locomotor activity in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 124 .167-173.
287. Bhutada P, Mundhada Y, Bansod K, Ubgade A, Quazi M, Umathe S, Mundhada D., 2010. Reversal by quercetin of corticotrophin releasing factor induced anxiety- and depression-like effect in mice. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*; 34(6):955-60.
288. Toumi Mohamed lamine., 2014. Impact du stress prénatal anxio-oxydatif sur les capacités cognitives maternelles et l'émotivité de la progéniture chez des rattees traitées à la quercétine P-27.
289. Darnaudery M, Dutriez I, Viltart O, Morley-Fletcher S, Maccari S., 2004. Stress during gestation induces lasting effects on emotional reactivity of the dam rat. *Behav Brain Res* ; 153:2116.
290. Smith JW, Seckl JR, Evans AT, Costall B, Smythe JW., 2004. Gestational stress induces post-partum depression-like behaviour and alters maternal care in rats. *Psychoneuroendocrinology* ; 29 :227-44.
291. Porsolt R.D., LePichon M., Jalfre M., 1977. Depression : à new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* ; 266, 730-732.

292. Koo. JW et Duman RS., 2008. IL-1beta is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proc Natl Acad Sci USA*. 105:751-756.
293. Harsha SN, Anilakumar KR., 2013. Anxiolytic property of *Lactuca sativa*, effect on anxiety behaviour induced by novel food and height. *Asian Pac J Trop Med* ; 6(7) :532-6.
294. Wattanathorn J, Phachonpai W, Priprem A, Suthiparinyanont S., 2007. Intranasal administration of quercetin liposome decreases anxiety-like behavior and increases spatial memory. *Am J Agric Biol Sci* ; 2(1) :31-5.
295. Duffy, K. B et E. L. Spangler., 2008. "A blueberry-enriched diet provides cellular protection against oxidative stress and reduces a kainate-induced learning impairment in rats." *Neurobiol Aging* 29(11) : 1680-9.
296. Shukitt-Hale, B et F. C. Lau., 2008. "Blueberry polyphenols attenuate kainic acid-induced decrements in cognition and alter inflammatory gene expression in rat hippocampus." *Nutr Neurosci* 11(4) : 172-82.
297. Shukitt-Hale, B et A. N. Carey., 2007. "Beneficial effects of fruit extracts on neuronal function and behavior in a rodent model of accelerated aging." *Neurobiol Aging* 28(8) : 1187-94.
298. Braquenier Jean-baptise., 2009. Etude de la toxicité développementale d'insecticides organophosphorés : Analyse comportementale de la souris
299. Guedri Kamilia., 2014. Etude des perturbations neuro-biologiques et comportementales chez un modèle animal gonadectomisé.
300. Hasan R, Inoue S, Banerjee., 1993. Higher White blood cells counts and band forms in newborns delivered vaginally compared with those delivered by caesarean section. *Am J Clin Path* ; 100(2) :116-8.
301. Adeneye A.A. et Adokiye S.B., 2008. *ve* effect of the aqueous leaf and seed extract of *Phyllanthus amarus* on gentamicin and acetaminophen- induced nephrotoxic rats, *J Ethnopharmacol*, 118:318-332.
302. Mosawy S, Jackson DE, Woodman OL, Linden MD., 2013. Treatment with quercetin and 3',4'- dihydroxyflavonol inhibits platelet function and reduces thrombus formation in vivo. *J. Thromb. Thrombolysis* ; 36:50-7.
303. Fiorani M, Accorsi A, Cantoni O., 2003. Human red blood cells as a natural flavonoid reservoir. *Free Radic Res* ; 37(12) :1331-8.

304. -Kehrer JP., (1993). Free radical as mediator of tissue injury and disease. *Critical Rev. Toxicol* ; 23 : 21-48.
305. - Raucy J.L., Kraner J.C. and Lasker J.M., (1993) - Bioactivation of halogenated hydrocarbons by cytochrome P4502E1. *Crit Rev Toxicol*, 23, 1-20.
306. Gruebele A., Zawaski K., Kaplan D. and Novak R.F., (1996) - Cytochrome P4502E1- and cytochrome P4502B1/2B2 catalysed carbon tetrachloride metabolism. *Drug Metab Dispos*, 24,15-22.
307. Sadeq M, Moe CL, Attarassi B, Cherkaoui I, El Aouada R, Idrissi L., (2008). Drinking water nitrate and prevalence of methemoglobinemia among infants and children aged 1-7 years in Moroccan areas. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 2008 ; 211 : 546-554.
308. Rodriguez-Estival J, Martinez-Haro M, Martin-Hernando MP, Mateo R.,(2010). Sub-chronic effects of nitrate in drinking water on red-legged partridge (*Alectoris rufa*): Oxidative stress and T-cell mediated immune function. *Environ. Res.* 110 : 469-475.
309. Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., and Capasso F., (1999). Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sciences* 65(4), 337-353.
310. Andrikopoulos N.K; Kaliora A.C. ; Assimopoulou A.N. ; and Papageorgiou V.P., (2002). Inhibitory activity of minor polyphenolic and nonpolyphenolic constituents of olive oil against in vitro low-density lipoprotein oxidation.
311. Fabiani R. ; Bartolomeo O. ; Rosignoli P. ; Servili M.; Selvaggini R. ; Mentedoro G.F. ; Di Sarverio C. and Morrzo G., (2006). Virgin olive phenols inhibit oil poliferation of human promyelocytic leukemia cells (HL60) by inducing apoppotis and differernciation. *J. Nutr.*, 136, 614-619.
312. Nouran Mohamed Fahmy¹ , Eman Al-Sayed^{1 *}, Mohamed M. Abdel-Daim^{2 *}, Maarit Karonen³ , and Abdel Nasser Singab. Protective effect of *Terminalia muelleri* against carbon tetrachloride-induced hepato and nephro-toxicity in mice and characterization of its bioactive constituents. *Pharm Biol*, Early Online: 1–11
313. Al-Amin ZM, Thomson M, Al-Qattan KK, Peltonen-Shalaby R, Ali M.,(2006) Anti-diabetic and hypolipidemic properties of ginger (*Zingiber officinale*) in streptozotocin induced diabetic rats. *Br. J. Nutr.*; 96 : 660-666.

314. Shahidul-Islam M, Choi H., (2008). Comparative effects of dietary Ginger (*Zingiber officinale*) and Garlic (*Allium sativum*) investigated in a type 2 diabetes model of rats. *J. Med. Food* ; 11(1) : 152-159.
315. Burtis A et al.,(1999) Tietz Textbook of clinical chemistry, 3 rd ed AACC.
316. Tietz N W et al., (1995). Clinical Guide to laboratory Tests, 3 rd ed AACC.
317. Bhandari U, Kanojia R, Pillai KK.,(2005). Effect of ethanolic extract of *Zingiber officinale* on dyslipidaemia in diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 97 : 227-230.
318. Kluwe W.M., (1981) - Renal function tests as indicators of kidney injury in subacute toxicity studies. *Toxicol Appl Pharmacol*, 57, 414-424.).
319. Roudabush R.L., Terhaar C.J., Fassett D.W. and Dziuba S.P., (1965) - Comparative acute effects of some chemicals on the skin of rabbits and guinea pigs. *Toxicol Appl Pharmacol*, 7, 559-565.
320. Rached W., (2009). Evaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinales et analyse phytochimique. Thèse de magistère, Univ. d'Oran. 120p.
321. Shih-Ying Chena 1., Charng-Cherng Chyau 1., Chin-Chen Chuc ., Ya-Hui Chena ., Tzu-Hsiu Chena ., Pin-Der Duhd .,(2013). Hepatoprotection using sweet orange peel and its bioactive compound, hesperidin, for CCl₄-induced liver injury in vivo, *Journal of functional foods*.
322. Raucy J.L., Kraner J.C., Lasker J.M. (1993). Bioactivation of halogenated hydrocarbons by cytochrome P4502E1. *Crit Rev Toxicol*, 23: 1-20.
323. Gruebele A., Zawaski K., Kaplan D., Novak R.F.(1996). Cytochrome P4502E1- and cytochrome P4502B1/2B2 catalysed carbon tetrachloride metabolism. *Drug Metab Dispos*, 24: 15-22.
324. Kumar CH, Ramesh A, Suresh Kumar JN, Mohammed Ishaq B. A review on hepatoprotective activity of medicinal plants. *Int J Pharmaceut Sci Res*, 2011; 23: 501– 515.
325. Ribereau-Gayon P., (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Ed: DUNOD, Paris, 173 –201.
326. Lapornik B., Prosek M., Wondra A. L. (2005). Comparison of extracts prepared from plant byproducts using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*, 71, 2, 214 – 222.

327. Cowan MM ., (1999).Plant product as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, vol.12, no. 4, 564-582.
328. Miliauskas G., Venskutonis P. R. et Van Beek T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry, 85, 231 - 237.
329. Vander-Jagt T. J., Ghattas R., Vander Jagt D. J., Crossey M. et Glew R. H. (2002). Comparison of the total antioxidant content of 30 widely used medicinal plants of New Mexico. Life Sciences, 70, 1035 - 1040.
330. Gohari AR., Hadjiakhoondi A., Hajimehdipoor H., Saeidnia . ,Ajani Y., S., (2011).Antioxidant Activity of some Medicinal Species using FRAP Assay .Journal of Medicinal Plants, 7.
331. Wojdylo A ., Czemerys R., Oszmian´Ski J., (2007).Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. Food Chemistry, Vol.105: 940–949.
332. Falleh H., abdelly C. , boulaaba M., chaieb K., karray-bouraoui N., ksouri R., Trabelsi N.(2008).Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L.Organs, and their biological activities. Comptes Rendus de Biologie, Vol. 331 , 372-379.
333. Lachietner M, Koch T, Harold M, Dzien A,Hopplahler F.,(2000).Tumour necrosis factor-alpha plasma level in patients with type 1diabetes mellitus and its association with glycaemic control and cardiovascular risk factor.J Intern Med, 248:67-76.
334. Robert D ., Khaled R . , Olga C ., Sanda V ., Marko Škoda , Alenka Višnic., (2015). Myricitrin exhibits antioxidant, anti-inflammatory and antifibroticactivity in carbon tetrachloride-intoxicated mice. Elsevier Ireland Ltd, 27.
335. Hilaly J.E., Israili Z.H., Lyouss B.,(2004). Acute and chronic toxicological studies of *Ajuva Iva* in experimental animals. Journal of Ethnopharmacology, 91, 43–50.
336. Gazda HT, Grabowska A, Merida-Long LB, Latawiec E, Schneider HE, Lipton JM, Vlachos A, Atsidaftos E, Ball SE, Orfali KA, Niewiadomska E, Da Costa L, Tchernia G, Niemeyer C, Meerpohl JJ, Stahl J, Schratt G, Glader B, Backer K, Wong C, Nathan DG, Beggs AH, Sieff CA. Ribosomal protein S24 gene is mutated in Diamond-Blackfan anemia. Am J Hum Genet. 2006;79:1110–8.
337. Mukinda J.T., Syce J.A., (2007). Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in rodents. Journal of Ethnopharmacology 112, 138–144.

338. Olson H., Betton G., Robinson D., Thomas K., Monro A., Kolaja G., Lilly P., Sanders J., Sipes G., Bracken W., Dorato M., Deun K.V., Smith P., Berger B., Heller A., (2000). Concordance of toxicity of pharmaceuticals in humans and in animals. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 32, 56–67.
339. Saba AB ., Oyagbemi AA ., Azeez OI.,(2010). Amelioration of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity and haemotoxicity by aqueous leaf extract of *Cnidioscolus aconitifolius* in rats, *Nig. J. Physiol. Sci.*
340. Chang-Gue S., Seung-Hyun H., Jung-Hyo C., Jang-Woo S., Chin-Ho C., Yeon-Weol L., Chong-Kwan C., (2003). Induction of hemopoiesis by saenghyuldan, a mixture of Ginseng radix, Paeoniae radix Alba, and Hominis placenta extracts. *Acta Pharmacologica Sinica*, 24,120–126.
341. Udut, E.V., Zhdanov, V.V., Gur'iantseva, L.A., Minakova, M.I., Dygai, A.M., (2005). Mechanisms of the erythropoiesis-stimulating effect of skullcap (*Scutellaria baicalensis*) extract. *Eksperimental'naia i Klinicheskaia Farmakologiiia* 68, 43–45.
342. Bain B.J., (2006). *Blood cells a practical guide*. Ed Blackwell, Australia, 71-89.
343. Beck N.,(2009). *Diagnostic hematology*. Springer, London, 214-215.
344. David A. Bateman, William Thomas, Elvira Parravicini, Elena Polesana, Chiara Locatelli, and John M. Lorenz. Serum creatinine concentration in very-low-birth-weight infants from birth to 34–36 wk postmenstrual age. *Pediatr Res*. 2015; 77(5): 696–702.
345. Zupko I et al., (2001). Antioxidant activity of leaves of *Salvia* species in enzymedependent and enzyme-independent systems of lipid peroxidation and their phenolic constituents. *Planta Medica*, 67:366–368.
346. Cristovao F et al ., (2005). The drinking of a *Salvia officinalis* infusion improves liver antioxidant status in mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology* , 97:383–389.
347. Ninomiya K., Matsuda H., Shimoda H., Nishida N., Kasajima N., Yoshino T., Morikawa T. et Yoshikawa M. (2004). Carnosic acid, a new class of lipid absorption inhibitor from sage. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 14, 1943 - 1946.
348. Eidi M ., Eidi A. et Zamanizadeh H. (2005). Effect of *Salvia officinalis* L. leaves on serum glucose and insulin in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 100, 310 - 313.

349. Ninomiya K, Matsuda H, Shimoda H, Nishida N, Kasajima N, Yoshino T et al. Carnosic acid, a new class of lipid absorption inhibitor from sage. *Bioorg Med Chem Lett* 2004;14:1943-6.
350. Miura K, Kikuzaki H, Nakatani N. Antioxidant activity of chemical components from sage (*Salvia officinalis* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) measured by the oil stability index method. *J Agric Food Chem.* 2002; 50(7):1845-51.
351. Ingwale D., Kshirsagar A., Ashok P., Vyawahare N., (2009). Role of antioxidant in the management of hepatic complications. *Pharmacologyonline* 1, 238-253.
352. Yu W., Changyun T., Hao Z.,(2014). Hepatoprotective effects of kaempferol 3-O-rutinoside and kaempferol 3-O-glucoside from *Carthamus tinctorius* L. on CCl₄-induced oxidative liver injury in mice. *Journal of Food and Drug Analysis.*