



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie Animale

قسم : بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Toxicologie*

Intitulé :

**Effet antioxydant et cardio protecteur des polyphénols de la
plante *Genista sp.***

Présenté et soutenu par : Kouider khaoula

Le : 27 /06/2018

Boukalaa Nour El houda

Jury d'évaluation :

Président du jury : Menad Ahmed (Pr- UFM Constantine).

Rapporteur : Amrani Amel (MCA- UFM Constantine).

Examineurs : Dekdouk Nadia (MCB- Univ Batna).

Boulkandoul Ramzi (MAA- UFM Constantine).

Année universitaire
2017- 2018

Remerciement :

*Nous avons eu la chance et le plaisir d'effectuer ce modeste travail de recherche dans la faculté des sciences de la nature et de la vie - Département de la biologie animale - sous la direction de madame **Amrani Amel**.*

*Avant tout, nous remercions « **ALLAH** », le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience, la persistance et la foi, et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles afin d'accomplir ce projet.*

*Nous remercions très chaleureusement et du fond de nos cœurs notre encadreur Madame **Amrani Amel**. Merci pour votre disponibilité ainsi que votre encadrement. Merci pour votre compréhension, votre grande gentillesse et pour la confiance que vous nous avez témoignée tout au long de cette étude.*

Nous tenons particulièrement à remercier les membres du jury d'avoir accepté de juger ce travail et en être les examinateurs, notamment :

*Notre cher professeur **Maned Ahmed**, Professeur à l'université Mentouri Constantine, de nous faire l'honneur de présider ce jury. Veuillez trouver ici le témoignage de notre profond respect.*

*Mme. **Dekdouk Nadia**, Maître de Conférence B à L'Université de Batna et Mr. **Boukandoul Ramzi**, Maître Assistant A à l'Université de Constantine, qui ont bien voulu examiner ce modeste travail.*

*Nous offrons nos plus sincères remerciements à toute l'équipe du laboratoire où nous avons fait nos travaux pratiques, notamment **Mechri Amira** et **Laaraba Meriem**.*

*Un très grand merci à Monsieur **Kout Mounir**, Docteur au CHU Constantine, qui nous a aidé à réaliser l'examen histo-pathologique.*

Nous souhaiterons également remercier nos professeurs de la faculté des sciences de la nature et de la vie pour les cinq années de notre parcours.

Dédicace

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance, c'est tout simplement que : Je dédie ce mémoire à :

A la lumière de ma vie ma Mère leila: Tu représentes pour moi la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

A Mon très cher Père Abdelwahabe: Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.

A mes chers frères : salah edine, khaled isslem ,lokman tadjedine ,et Yasser .Vous avez toujours été présents pour les bons conseils. Votre affection et votre soutien m'ont été d'un grand secours au Long de ma vie professionnelle et personnelle. Veuillez trouver dans ce modeste travail ma reconnaissance pour Tous vos efforts.

A mes chers beaux-parents.

A mes chère tantes : hanen ,zina ,sabah et rachida.Merci pour leur encouragement et leur aides

A mes très chère amies :sara, Asma .Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous Exprimer mon affection, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter.

Je spécialise une dédicace à Amira mechri et Meriam laaraba à qui je se souhaite tout la réussit dans leur vie, et merci pour tout qui me porte dans son ceour

A tous mes enseignants depuis mes premières années d'études.

NOUELHOuda

Dédicace

Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, Je dédie ce modeste travail :

*A mes très chers parents **Kouider Abd El Djalil** et **Aziez Linda**, que j'admire beaucoup, En reconnaissance de leurs efforts, leur amour, leur tendresse et leurs encouragements qui m'ont guidée tout au long de mes études et sans qui je n'aurai pas pu accomplir ce projet. Que Dieu les protège et les garde en bonne santé.*

*A mon très cher frère Youssef que j'aime beaucoup, mes très chères sœurs, que j'adore inconditionnellement, **Chiraz**, **Tesnim** et surtout **Hadil** à qui je souhaite un prompt rétablissement.*

*A mon bien aimé cher fiancé **Aziza Rafik**, en signe d'amour et de gratitude pour son soutien, son support, ses encouragements, sa fidélité et sa gentillesse et à sa famille, je vous remercie infiniment.*

*A mes chères amies que j'aime beaucoup et considère comme des sœurs, **Henni Wiem** et **Lakache Maroua**. Leurs encouragements et leur soutien dès le premier jour et dans les moments difficiles m'ont permis de donner le meilleur de moi-même. Cela restera gravé dans ma mémoire.*

Je vous adore !

*A mes chères cousines, **Latreche Djihad** et **Gouaiche Roukaya**, pour leur aide, surtout dans les moments où j'en avais le plus besoin. Je n'oublierai jamais leur présence à mes côtés.*

Je remercie toutes les personnes dont je n'ai pas pu citer leurs noms, et qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

A tous ceux qui m'aiment

Khaoula

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des schémas

Introduction.....1

La première partie: Etude bibliographique

I. Polyphénols.....3

1. Les principales sources alimentaires des polyphénols.....4

2. Structure et classification des polyphénols.....5

2.1. Acides phénoliques.....6

2.1.1. Acides hydroxybenzoïques.....6

2.1.2. Acides hydroxycinnamiques.....7

2.2. Stilbènes.....7

2.3. Lignines.....8

2.4. Lignanes.....8

2.5. Coumarines.....9

2.6. Flavonoïdes.....10

2.6.1. Flavones.....12

2.6.2. Flavonols.....13

2.6.3. Flavanones.....13

2.6.4. Flavanols ou catéchines « Flavan-3-ols ».....14

2.6.5. Isoflavones.....15

2.6.6. Anthocyanines.....16

2.6.7. Chalcones.....17

2.7. Tanins.....17

2.7.1. Tanins condensés.....18

2.7.2. Tanins hydrolysables.....	18
3. Biodisponibilité des polyphénols.....	19
4. Effets biologiques des polyphénols.....	22
4.1. Effet antioxydant.....	23
4.2. Effet anti-inflammatoire.....	25
4.3. Effet cardio-protecteur.....	25
II. La Doxorubicine.....	27
1. Structure chimique.....	27
2. La pharmacocinétique de la doxorubicine.....	28
2.1. Absorption et distribution.....	28
2.2. Métabolisme.....	28
2.3. Elimination.....	29
3. Cardiotoxicité de la doxorubicine.....	30
4. Les mécanismes cardiotoxiques de la doxorubicine.....	31
5. Mécanismes cardio protecteurs des extraits des plantes	34
5.1. Produits phytochimiques à activité antioxydante et anti-inflammatoire.....	35
5.2. Agents ayant des effets anti-apoptotiques.....	36
5.3. Autres mécanismes cardioprotecteurs.....	38

La deuxième partie : Etude expérimentale

I. Matériels et méthodes.....	39
1. L'extraction de la plante.....	39
1.1. Procédures de l'extraction de la plante.....	39
2. Modèle expérimental <i>in vitro</i>	41
2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	41
2.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	41
2.3. Test de piégeage du radical libre DPPH.....	41
3. Modèle expérimental <i>in vivo</i>	42
3.1. Animaux et conditions d'hébergement.....	42
3.2. Toxicité aigüe par la Doxorubicine.....	42
3.3. Dosages des paramètres biochimiques.....	42
3.4. Étude anatomopathologique.....	42
3.5. Mesure des paramètres du stress oxydant.....	43

3.5.1. Peroxydation lipidique (LPO).....	43
3.5.2. Dosage de glutathion cardiaque.....	43
3.5.3. Glutathion peroxydase (GPX).....	43
4. Évaluation statistique.....	44
II. Résultats	45
1. Rendements d'extraction.....	45
2. Dosage des composés phénoliques et flavonoïdes totaux.....	45
3. Piégeage du radical libre DPPH.....	45
4. Influence du traitement sur la fonction hépatique et cardiaq.....	46
5. Influence du traitement sur le profil lipidique.....	47
6. Effet protecteur de l'extrait <i>n</i> -butanol vis à vis la peroxydation lipidique.....	47
7. Effet de l'extrait <i>n</i> -butanol, la vitamine E et la DOX sur le niveau de GSH.....	49
8. Effet de l'extrait <i>n</i> -butanol, la vitamine E et la DOX sur l'activité de la GPx	49
9. Examen histopathologique du tissu cardiaque.....	50
III. Discussion	51
Conclusion	54
Référence	55
Résumé	

Liste des abréviations

ADN : Acide Desoxyribonucleique
AINS : Anti-inflammatoire Non-Stéroïdien
ALAT : Alanine Amino Transférase
ARE : Elément de Réponse Antioxydant
ASAT : Aspartate Amino Transférase
ATP : Adenosine Triphosphate
BAX: protéine Bcl-2-associated X
C° : Degré celsius
CAM : Molécule Adhésion Cellulaire
CAT : Catalase
COX 1 : Cyclooxygénase 1
COX : Cyclooxygénase
CPK : Créatine-kinase
DOX : Doxorubicine
DPPH : 1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl
DTNB : Dithiobis 2-nitrobenzoïque
EC : Gallocatéchine
EGC : Epigallocatéchine
EGCG : Gallate épigallocatéchine
ENOS : Endothélial nitric oxide synthase
ERK : Kinases extracellulaires liées au signal
ERO : Espèces réactives de l'oxygène
Fas : Le récepteur de mort
GEA : Equivalents d'acide gallique
GPx : Glutathion peroxydase
GR : Glutathion réductase
GSH : Glutathion
GSSG : Glutathion oxydé
GST : Glutathion s-transférase
H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène
HDL : Lipoprotéines de haute densité
HO-1 : Hème oxygénase-1
IC₅₀ : Concentration inhibitrice a 50%.
ICAM-1 : Molécule d'adhésion intracellulaire-1
ICRF-187 : Dexrazoxane
IL-6 : Interleukine 6
iNOS : L'oxyde nitrique synthase
K⁺ : Ion potassium
KB (NF-KB): Facteur nucléaire-kappa b
LDL : Lipoprotéine de faible densité
LPO : Peroxydation lipidique oxydase
LVDD : Le diamètre diastolique ventriculaire gauche
LVSD : Le diamètre systolique ventriculaire gauche
MAPK : Protéines kinases activées par des mitogènes
MCV : Maladies cardiovasculaires
MDA : Malondialdehyde
MMP : Potentiel Membranaire Mitochondrial

MNSOD : Manganèse Superoxide Dismutase
Na₂SO₄ : Sulfate de sodium
NADPH/NADP : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NF- κ B : Facteur Nucléaire- kappa b
NO \cdot : Monoxyde d'azote.
NOS : Oxyde Nitric Synthase
NOX/NADPH: Nox reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NRF : Nf-e2- facteur régulateur 2
O₂⁻ : Anion Superoxide
OH \cdot : Radical Hydroxyl
ONOO \cdot : Peroxynitrite
P53 : Protéine 53 facteur de transcription (tumor protein 53).
PAL 2: phospholipase a2
PARP-1 : Poly-Adp-Ribose Polymérase
QE : Equivalents de quercétine
Rha-Glu : Rhamnoglucosyl
RL : Radicaux Libres
RNS : Espèces Réactives d'azote
ROS : Radicaux libre oxygéné
Ryr : Récepteur ryanodine
SERM : Modulateurs Spécifiques du récepteur des œstrogènes
SH : Groupe Sulfhydryl
SOD : Superoxyde Dismutase
SR: Sarcoplasmique Reticulum
TBA : Acide thiobarbiturique
TBARS : Substances Réactives à l'acide thiobarbiturique
TCA : Acide Trichloracétique
TGF-B 1 : Facteur de Croissance Transformant-b1
TGF-B : Facteur de Croissance Transformant b
TIMP-1 : Inhibiteur Tissulaire de la Métalloprotéinase-1
TNB : Acide Thionitrobenzoïque
TNF-A : Facteur de nécrose tumorale-a
VEGF : Facteur de Croissance Endothélial Vasculaire
VG : Ventricule Gauche

Liste des figures

Figure 1 : Structure chimique du phénol.....	3
Figure 2: Structure chimique des acides hydroxybenzoïques.....	6
Figure 3: Structures chimiques des Acides hydroxycinnamiques.....	7
Figure 4: Structure chimique des stilbénes.....	8
Figure 5: Structure chimique des lignanes.....	9
Figure 6: Structure chimique des coumarines.....	10
Figure 7: Structure des flavonoïdes (aglycones) et position des principaux substituants..	11
Figure 8: Structure chimique des flavones.....	12
Figure 9: Structure chimique de quelques flavonols.....	13
Figure 10: Structure chimique des flavanones.....	14
Figure 11: Structure chimique des flavanols.....	15
Figure 12: Structures chimiques des Isoflavones.....	16
Figure 13: Structure chimique des anthocyanes.....	16
Figure 14: Structure chimique des chalcones.....	17
Figure 15 : Structure chimique des tannins.....	18
Figure 16: Structure chimique des sous-classes des tannins.....	19
Figure 17: Schéma général du métabolisme des polyphénols.....	21
Figure 18: Modes d'action, propriétés biologiques des polyphénols et effets sur la santé	22
Figure 19: Rôle des polyphénols chez l'homme.....	23
Figure 20: Propriétés réductrices des polyphénols.....	24
Figure 21: Mode d'action des polyphénols au niveau cardiaque.....	26
Figure 22 : Structure de la doxorubicine.....	27
Figure 23 : Métabolisme hépatique de la Doxorubicine.....	29
Figure 24 : ADME de la doxorubicine (Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination).....	30
Figure 25 : Mécanismes physiopathologiques de la toxicité des anthracyclines dans le cardiomyocyte.....	32

Figure 26 : Les effets pathogènes de la DOX sur le niveau moléculaire et le rôle central des espèces réactives de l'oxygène dans la cardiomyopathie induite par la DOX.....	33
Figure 27 : Résumé des effets cardioprotecteurs des composés phytochimiques contre la cardiotoxicité induite par la DOX.....	35
Figure 28 : Le rôle protecteur des composés phénoliques contre la toxicité induite par la doxorubicine.....	37
Figure 29 : Pourcentage de l'activité antiradicalaire de l'extrait <i>n</i> -butanol de <i>Genista sp</i> vis-à-vis du radical libre DPPH.....	46
Figure 30: Effet de la DOX, la vitamine E et de l'extrait <i>n</i> -butanol de <i>Genista sp</i> sur les taux sériques des enzymes ASAT, ALAT, CPK et LDH.....	47
Figure 31 : Effet de la DOX, de la vitamine E et de l'extrait <i>n</i> -butanol de <i>Genista sp</i> sur les taux sériques de cholestérol, LDL, HDL et des triglycérides.....	48
Figure 32: Effet de l'extrait <i>n</i> -butanol, la vitamine E et la DOX sur la production du MDA dans Les cellules cardiaque.....	48
Figure 33: Effet de l'extrait <i>n</i> -butanol, la vitamine E et la DOX sur la variation de glutathion(GSH) dans Les cellules cardiaque.....	49
Figure 34 : Effet de l'extrait <i>n</i> -butanol, la vitamine E et la DOX sur l'activité de la glutathion peroxidase (GPx) dans Les cellules cardiaque.....	50

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principales classes des polyphénols.....	5
Tableau 2: Effet cardio protecteur de quelques polyphénols.....	26
Tableau 3 : Rendement des extraits.....	45
Tableau 4 : Effet protecteur de l'extrait <i>n</i> -butanol de <i>Genista</i> sp et de la vitamine E vis avis les changements histopathologiques induite par la DOX chez les rats.....	50

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principales classes des polyphénols.....	5
Tableau 2: Effet cardio protecteur de quelques polyphénols.....	26
Tableau 3 : Rendement des extraits.....	45
Tableau 4 : Effet protecteur de l'extrait <i>n</i> -butanol de <i>Genista</i> sp et de la vitamine E vis avis les changements histopathologiques induite par la DOX chez les rats.....	50

Introduction

La doxorubicine (DOX) est un antibiotique des anthracyclines, produit par les bactéries *Streptomyces peucetius* et utilisée pour la première fois comme médicament cytotoxique en 1969 (Arcamone et *al.*, 1969). Il est utilisé dans le traitement de différentes tumeurs malignes, par ex. la leucémie, le lymphome et plusieurs types de carcinomes et de sarcomes (Tacar et *al.*, 2013). Son effet secondaire le plus grave est la cardiotoxicité dose-dépendante (Chatterjee et *al.*, 2013), qui se produit en induisant l'apoptose et le stress oxydatif. En raison de l'effet myélosuppresseur du dexrazoxane, un médicament couramment utilisé pour soulager la cardiotoxicité induite par la DOX, les chercheurs ont étudié le potentiel des composés phytochimiques pour la prophylaxie et le traitement de cette maladie. Les composés phytochimiques sont des produits des végétaux qui ont des propriétés protectrices ou préventives contre les maladies. Contrairement aux agents synthétiques, les composés phytochimiques n'altèrent pas l'activité clinique de la DOX et ils sont particulièrement sains pour une utilisation à long terme (Abushouk et *al.*, 2017).

Dans ce cadre, de nombreux composés phénoliques ont été signalés pour protéger contre la cardiotoxicité induite par la DOX. Les effets cardioprotecteurs des composés phénoliques sont exercés par de multiples mécanismes, y compris l'inhibition de la génération d'espèces réactives d'oxygène, de l'apoptose, de dysfonctionnement mitochondrial et des dommages à l'ADN (Razavi-Azarkhiavi et *al.*, 2016).

Le genre *Genista* (Fabaceae), riche en polyphénols, constitue un immense réservoir de nouveaux métabolites secondaires bio-actifs. En Algérie, le genre *Genista* est représenté par 23 espèces dont 11 endémiques réparties notamment dans le nord du pays. Certaines espèces de *Genista* sont utilisées comme décoctions et infusions pour le traitement du diabète (Rauter et *al.*, 2005), la goutte et les rhumatismes (Sentkowska et *al.*, 2016). Du point de vue de la composition chimique, les membres de ce genre sont des producteurs de flavonoïdes et d'alcaloïdes connus pour présenter diverses propriétés biologiques telles que l'activité hypoglycémiant, anti-inflammatoire, anti-ulcéreuse, spasmolytique, antioxydante, oestrogénique et cytotoxique contre différentes lignées cellulaires cancéreuses humaines (Boutaghane et *al.*, 2018).

La composition chimique et les activités biologiques remarquables des espèces de la famille des Fabacées et de leurs métabolites secondaires, et les études précédentes sur les espèces de genre *Genista* qui ont montré la présence d'une forte teneur en composés bioactifs et antioxydants, anti-inflammatoires et hépatoprotecteur (Boubekri et *al.*, 2014) nous ont amené à juger nécessaire

d'étudier l'espèce *Genista* sp à travers des criblages phytochimiques et biologiques. De façon spécifique, il s'est agi de:

- ✓ caractériser et doser les principaux métabolites secondaires de cette plante.
- ✓ évaluer les activités biologiques à savoir les activités antioxydant *in vitro* et *in vivo*.
- ✓ évaluer l'effet préventif de la plante vis avis la cardiotoxicité de la DOX.

La première partie :
Etude bibliographique

I. Les polyphénols

Les polyphénols; également connus sous le nom de « composés phénoliques » (Hennebelle et *al.*, 2004) ou polyhydroxyphénols, sont une classe structurale de produits chimiques organiques principalement naturels mais également synthétiques ou semi-synthétiques, caractérisés par la présence de multiples unités structurales phénoliques. Le nombre et les caractéristiques de ces structures de phénol (Figure1) sont à la base des propriétés physiques, chimiques et biologiques uniques (métaboliques, toxiques, thérapeutiques, etc.) de certains membres de la classe (Srivastava et Mishra, 2015).

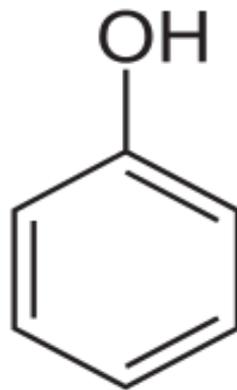


Figure 1 : Structure chimique du phénol (Sobiesiak, 2017).

Les polyphénols sont le plus grand groupe de composés phytochimiques (Tsao, 2010), ils sont largement répartis dans le règne végétal et participent à leur métabolisme secondaire, avec plus de 8 000 structures phénoliques actuellement connues, allant de simples molécules telles que des acides phénoliques à des substances hautement polymérisés comme les tanins (Dai et Mumper, 2010).

On peut considérer ces métabolites secondaires comme une catégorie de composant essentiel d'une manière indirecte à la survie et au bon fonctionnement de la plante (Cuendet, 1999 ; Grivot, 2008). Ces composés phénoliques sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits (Boizot et Charpentier, 2006).

Les polyphénols sont des antioxydants puissants qui complètent et ajoutent aux fonctions des vitamines l'effet antioxydant ainsi qu'aux enzymes et cela en améliorant la défense de ceux-ci

contre le stress oxydatif causé par l'excès d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Tsao, 2010). Ils participent aussi aux réactions de défense face à différents stress biotiques (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, faible température, carences). Ces composés contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume) (Visioli et *al.*, 2000 ; Boubekri, 2014).

Les polyphénols sont présents de façon ubiquitaire au sein des végétaux : les racines, les tiges, les feuilles et les fleurs. (Middleton, et *al.*, 2000). Parmi les plantes qui les contiennent avec abondance: thé, cacao, asclépiade (déconseillé sans un contrôle médical stricte), dattes, églantier et son fruit (cynorrhodons), grenade, souchet et carambole (ail, faux, poireau sauvage) (Paul Keirn, 2010).

1. Les principales sources alimentaires des polyphénols

Les polyphénols sont des micronutriments abondants dans l'alimentation humaine (Manach et *al.*, 2004). Les principales sources alimentaires de ces composés phénoliques sont : les fruits et les légumes, les céréales, les graines oléagineuses, les légumes secs et des boissons comme le vin rouge, le thé, le café et le jus de fruit. Il est important de savoir que les fruits et les légumes contribuent environ la moitié à notre apport en polyphénols, alors que les boissons cités ci-dessus apportent le reste (Middleton et *al.*, 2000). Les fruits tels que les raisins, les pommes, les poires, les cerises et les baies contiennent jusqu'à 200 à 300 mg de polyphénols par 100 g de poids frais. Les produits fabriqués à partir de ces fruits contiennent également des polyphénols en quantités significatives. Typiquement, un verre de vin rouge ou une tasse de thé ou de café contient environ 100 mg de polyphénols (Srivastava et Mishra, 2015). D'autres produits alimentaires, tel que les céréales, les légumineuses sèches (haricots, pois, lentilles...) ainsi que le chocolat peuvent contribuer à l'apport polyphénolique (Pandey et Rizvi, 2009).

Dans les aliments, les composés phénoliques sont rarement présents sous forme libre (dite « aglycone ») mais le plus souvent sous forme d'esters (cas des acides phénoliques), de glycosides ou de polymères (cas des flavonoïdes) (Morand et Milenkovic, 2014).

2. Structure et classification des polyphénols

Bien que les polyphénols soient chimiquement caractérisés en tant que composés ayant des caractéristiques structurales phénoliques, ce groupe de produits naturels est très diversifié et contient plusieurs sous-groupes de composés phénoliques (Tsao, 2010). Cette classification est basée essentiellement sur la structure, le nombre de cycle phénoliques (aromatiques) et les éléments structuraux qui les lient les uns aux autres (Pandey et Rizvi, 2009).

Tableau 1 : Principales classes des polyphénols (Boubekri, 2014).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C6	Phénol simple	Catéchol	
C6-C3	Acides hydroxy-benzoïques	p-Hydroxy-benzoïques	Epices, fraise
C6-C3	Acides hydroxy-cinnamiques Coumarines	Acide caféïque, acide férulique Scopolétine, esculétine	Pomme de terre Pomme Citrus
C6-C2-C6	Silènes	Resvératrol	Vigne
C6-C3-C6	Flavonoïdes : • Flavonols • Anthocyanes • Flavanols • Flavanones • Isoflavonols	Kamphérol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine Daidzéine	Fruits, légumes, fleurs Fleurs, fruits rouges Pomme, raisin Citrus Soja
(C6-C3) ₂	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C6-C3) _n	Lignines		Bois, noyau de fruits
(C15) _n	Tanins		Raisin rouge, kaki

2.1. Acides phénoliques:

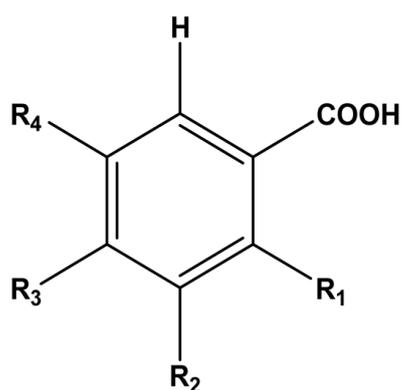
Ils sont des composés polyphénoliques non flavonoïdes qui sont souvent sous forme liée, néanmoins, les fruits et légumes contiennent beaucoup de ces composés sous forme libre, dans les grains, en particulier dans la fibre ou la coque (Tsao, 2010). Ces composés organiques possèdent au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (Bruneton, 2008 ; Achat, 2013). Et ils ne peuvent être libérés ou hydrolysés que par hydrolyse acide ou alcaline, ou par des enzymes (Tsao, 2010).

Les acides phénoliques peuvent se subdiviser en deux sous classes qui sont dérivés de l'acide benzoïque (C1-C6) ou de l'acide cinnamique (C3-C6) (Papuc et al., 2017).

2.1.1. Acides hydroxybenzoïques:

Sont des dérivés de l'acide benzoïque dont la structure de base est C6-C1 (figure 2), ils incluent l'acide benzoïque, l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide protocatechique, l'acide gallique, l'acide vanillique, l'acide gentisique l'acide salicylique, l'acide vétratrique et l'acide syringique. (Ramírez-Tortosa et al., 2006 ; Laribi, 2015).

Au niveau des grains, ces acides sont généralement sous forme liée, mais au niveau des fruits et légumes, ils se trouvent à de très faibles concentrations sous forme libre. Les radis noirs, les oignons et les feuilles de thé sont des sources importantes d'acides hydroxybenzoïques libres (Papuc et al., 2017).



Nom	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Acide benzoïque	H	H	H	H
Acide p-hydroxybenzoïque	H	H	OH	H
Acide vanillique	H	OCH ₃	OH	H
Acide gallique	H	OH	OH	OH
Acide protocatéchique	H	OH	OH	H
Acide syringique	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
Acide gentisique	OH	H	H	OH
Acide vétratrique	H	OCH ₃	OCH ₃	H
Acide salicylique	OH	H	H	H

Figure 2: Structure chimique des acides hydroxybenzoïques (Stalikas, 2007).

2.1.2. Acides hydroxycinnamiques:

Sont des dérivés de l'acide cinnamique, dont la structure de base est C6-C3 (figure 3), ils incluent l'acide p-coumarique, l'acide o-coumarique, l'acide m-coumarique, l'acide caféique, l'acide férulique et l'acide sinapique (Ramírez-Tortosa *et al.*, 2006 ; Laribi, 2015).

Les acides hydroxycinnamiques sont présents dans toutes les parties des fruits et légumes. Ils sont présents sous forme liée (dérivés glycosylés ou esters d'acide quinique, acide shikimique ou acide tartrique) dans les fruits et rarement sous forme libre (uniquement dans les aliments transformés soumis à la fermentation, à la stérilisation ou à la congélation) (Papuc *et al.*, 2017).

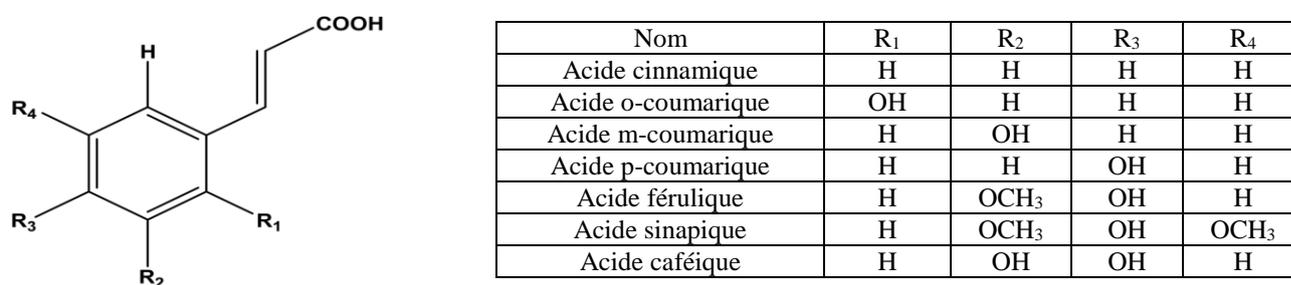


Figure 3: Structures chimiques des Acides hydroxycinnamiques (Stalikas, 2007).

On rencontre au moins un de ces acides dans pratiquement tous les végétaux supérieurs. Ces acides existent dans les tissus sous formes de différentes combinaisons (Ribereau, 1968 ; Bessas, 2008).

2.2. Stilbènes:

Ce sont des composés possédant un squelette de 14 atomes de carbone (C6-C2-C6) mais peuvent aussi avoir des structures monomères, oligomères ou polymères (Papuc *et al.*, 2017). Ils sont présents à faibles quantités dans notre alimentation. La plupart d'entre eux existant dans les plantes ont la capacité d'agir comme des phytoalexines antifongiques. Ces composés ne sont alors synthétisés que suite à une infection ou à une blessure (Pandey *et Rizvi*, 2009). En raison de leurs diverses activités biologiques (actions antioxydantes, anticancéreuses, œstrogéniques et antibactériennes), le *trans*-resvératrol a attiré l'attention de nombreux chercheurs. Le resvératrol (3, 4', 5-trihydroxystilbène) est présent dans diverses plantes (raisins, baies, arachides, cacao), ainsi que dans le vin rouge (Papuc *et al.*, 2017).

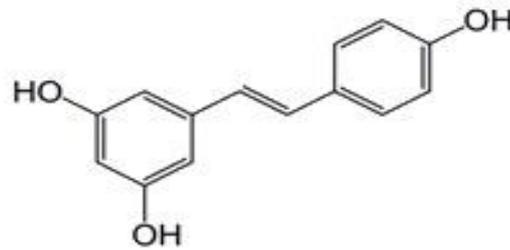


Figure 4: Structure chimique des stilbènes (Allen et Tresini, 2000).

2.3. Lignines ($\text{C}_6\text{-C}_3$)_n:

La lignine est une macromolécule tridimensionnelle hydrophobe de haut poids moléculaire. Elle est produite par toutes les plantes vasculaires ligneuses et herbacées. Elle a un rôle très important au niveau de la paroi cellulaire végétale, dont le remplissage des espaces entre la cellulose et les hémicelluloses. Elle agit aussi comme une résine qui unit l'ensemble de la lignocellulose (biomasse lignocellulosique). Ce composé phénolique est le troisième polymère naturel le plus abondant (Mogni, 2015).

2.4. Lignanes ($\text{C}_6\text{-C}_3$)₂ :

Les lignanes sont des composés phénoliques formés de deux unités monolignols. Ils sont présents dans les parois cellulaires des vaisseaux conducteurs. Malgré leur structure simple, il existe une grande variété de lignanes qui se distinguent par le type de liaison entre deux unités et les modifications intervenant après la dimérisation (Laine et *al.*, 2007).

Les lignanes sont des composés végétaux phénoliques bioactifs, non nutritifs et non caloriques qui se retrouvent en plus grande concentration dans les graines de lin et de sésame et à des concentrations plus faibles dans les céréales, les autres graines, les fruits et les légumes (Peterson et *al.*, 2011). Certains lignanes présentent la particularité d'avoir des caractéristiques structurales (cycle et groupements hydroxyles en particulier) communes avec les hormones sexuelles, leur permettant de se lier aux récepteurs d'œstrogènes. On les qualifie alors plus couramment, de phytoestrogènes. Par ailleurs, comme de nombreux composés phénoliques, ils peuvent être antioxydants (Laine et *al.*, 2007).

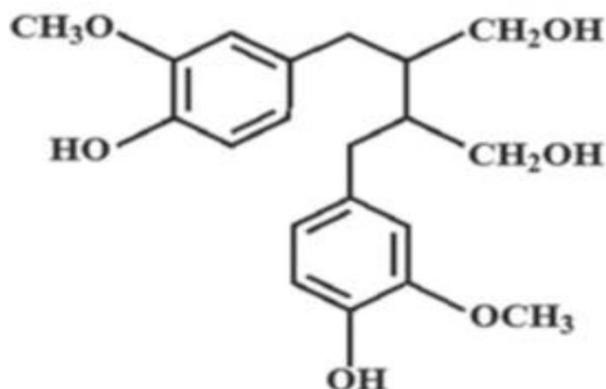


Figure 5: Structure chimique des lignanes (Pandey et Rizvi, 2009).

2.5. Coumarines C6-C3 :

Les coumarines sont des composés phénoliques non volatils, ils sont très répandues chez les végétaux, notamment dans les racines et les écorces ; d'odeurs agréables, certaines servent en parfumerie ou pour aromatiser le tabac ; d'autres sont très toxiques telles que les aflatoxines des champignons inférieurs (Garabeth et *al.*, 2007).

Les coumarines (2*H*-1-benzopyran-2-one) sont constituées de benzène condensé et d'anneaux α -pyrone. Plus de 1300 coumarines ont été identifiées comme des métabolites secondaires de plantes, de bactéries et de champignons, parmi les plus importantes sont Rutaceae, Umbelliferae, Clusiaceae (Venugopala et *al.*, 2013).

On peut considérer que les différentes coumarines dérivent des acides cinnamiques ortho-hydroxylés, de même que la coumarine elle-même dérive de l'acide o-coumarique. Les plus fréquentes d'entre eux sont l'umbelliférone ou ombelliférone, l'aesculétine, la scopolétine, dont les substitutions correspondent, respectivement, aux acides : p-coumarique, caféique et férulique (Bessas, 2008). Elles ont un rôle biologique intéressant, dont la prévention de la peroxydation des lipides, aussi bien le captage des radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (Zakkad, 2017). Ces substances ont maintes activités, dont l'action bénéfique dans les pathologies cutanées, mais aussi un pouvoir antiviral, tranquillisant, anticoagulant, hypotensif, vasodilatateurs et enfin une activité cytotoxiques (Gonzalez et Estevez-Braun, 1997).

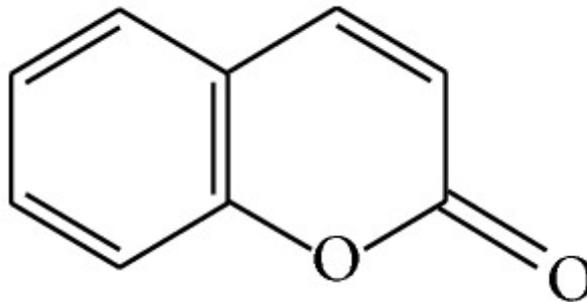


Figure 6: Structure chimique des coumarines (Venugopala et *al.*, 2013).

2.6. Flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont les composés polyphénoliques les plus abondants dans les végétaux. Leur structure (Figure 7) comprend un squelette composé de deux cycles aromatiques (A et B) porteurs de plusieurs fonctions phénol et réunis par une chaîne de trois atomes de carbone, ces derniers étant le plus souvent engagés dans un hétérocycle avec un atome d'oxygène. La présence de plusieurs fonctions phénol confère à ces composés des propriétés antioxydantes ou oxydantes, suivant la position des phénols et le milieu où la réaction prend place (Stoclet et Schini-Kerth, 2010).

Les flavonoïdes jouent une grande variété d'activités biologiques chez les plantes, les animaux et les bactéries. Chez les plantes, on sait depuis longtemps que les flavonoïdes sont synthétisés dans des sites particuliers et sont responsables de la couleur et de l'arôme des fleurs et des fruits pour attirer les pollinisateurs et par conséquent la dispersion des fruits pour favoriser la germination des graines et des spores. Les flavonoïdes protègent les plantes des différents stress biotiques et abiotiques et agissent comme des filtres UV uniques, mais aussi fonctionnent comme des molécules de signalisation, des composés allopathiques, des phytoalexines, des agents détoxifiants et des composés antimicrobiens défensifs. Les flavonoïdes jouent un rôle dans la résistance à la sécheresse (Panche et *al.*, 2016).

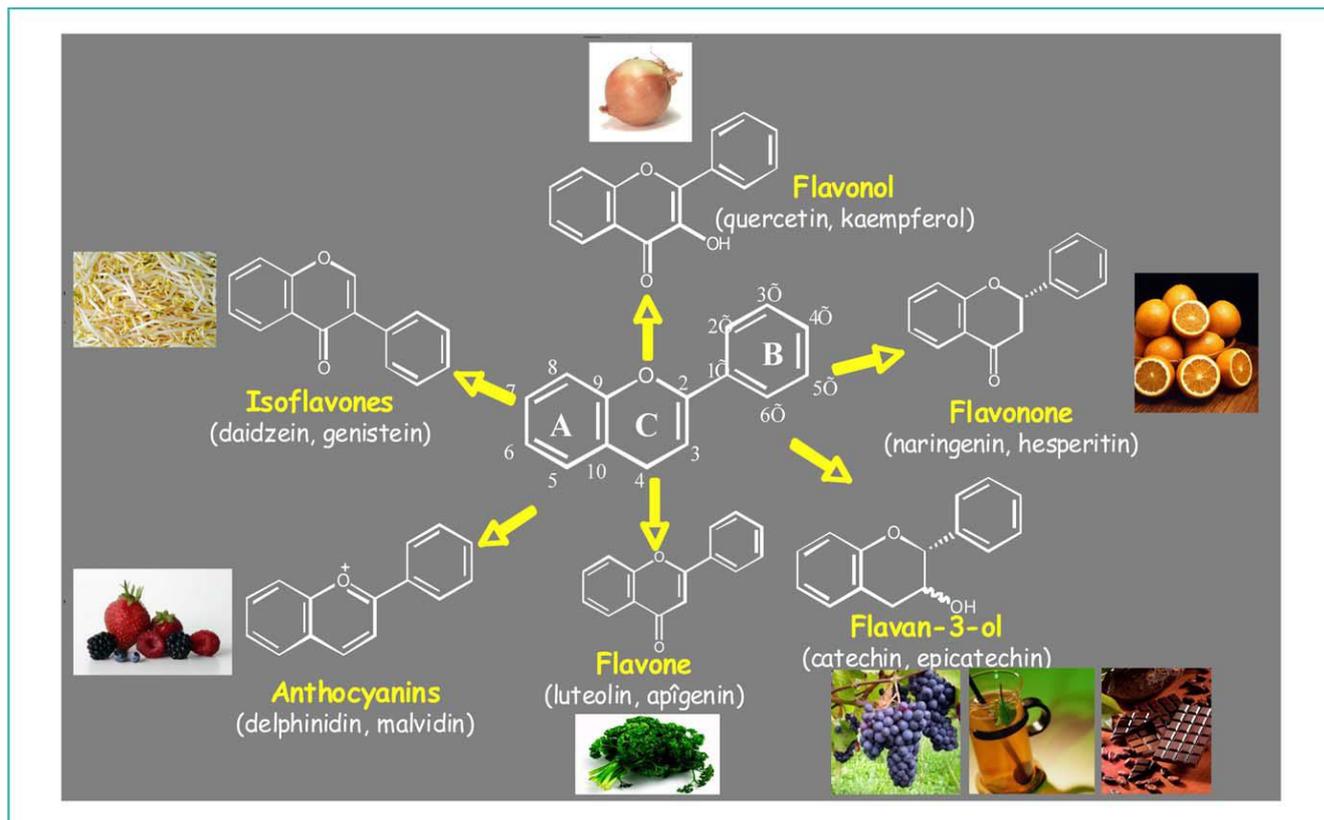


Figure 7: Structure des flavonoïdes (aglycones) et position des principaux substituants (Stoclet et Schini-Kerth, 2010).

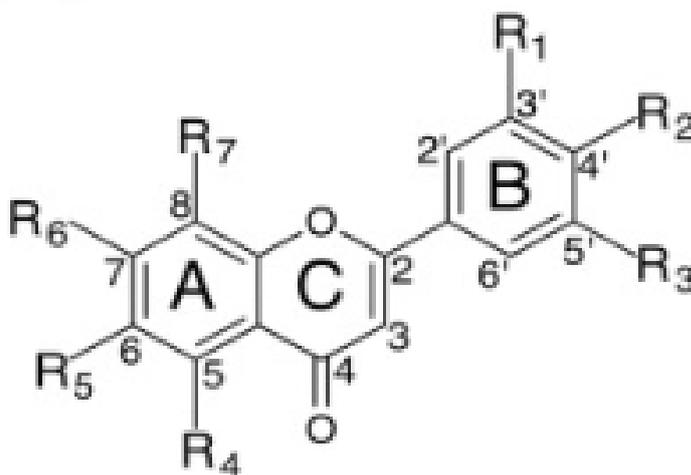
Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6 000 composés naturels, Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux. Ces composés sont rencontrés dans les fruits (notamment du genre *Citrus* où ils représentent jusqu'à 1 % des fruits frais) et les légumes. Des boissons telles que le vin rouge, le thé, le café et la bière en contiennent également des quantités importantes. Les flavonoïdes sont retrouvés également dans plusieurs plantes médicinales (Ghedira, 2005).

Dans la nature, les composés flavonoïdes sont des produits extraits de plantes et se trouvent dans plusieurs parties de la plante (tronc, tige, fleurs, fruits, racines, feuilles, écorce). Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en différents sous-groupes en fonction du carbone de l'anneau C auquel l'anneau B est attaché et du degré d'insaturation et d'oxydation de l'anneau C (Figure 7). Les flavonoïdes dans lesquels l'anneau B est lié en position 3 de l'anneau C sont appelés isoflavones. Ceux dans lesquels l'anneau B est lié en position 4 sont appelés néoflavonoïdes, tandis que ceux dans lesquels l'anneau B est lié en position 2 peuvent être subdivisés en plusieurs sous-

groupes sur la base des caractéristiques structurales de l'anneau C. Ces sous-groupes sont: les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanonols, les flavanols ou les catéchines, les anthocyanes et les chalcones (Figure 7) (Panche et *al.*, 2016).

2.6.1. Flavones:

Les flavones comprennent l'un des plus grands groupes des flavonoïdes, qui sont largement distribués dans les plantes. Ils peuvent être synthétisés par des voies différentes, selon qu'ils contiennent C - ou O -glycosylation et l'anneau B hydroxylé (Jiang et *al.*, 2016). Les flavones diffèrent des autres flavonoïdes en ce sens qu'elles ont une double liaison entre C2 et C3 dans le squelette flavonoïde, qu'il n'y a pas de substitution en position C3 et qu'elles sont oxydées en position C4 (Figure 8) (Hostetler et *al.*, 2017).



FLAVONE S	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
Chrysin	H	H	H	OH	H	OH	H
Apigénine	H	OH	H	OH	H	OH	H
Lutéoline	OH	OH	H	OH	H	OH	H
Vitexine	H	OH	H	OH	H	OH	C-glucosyl
Isovitexine	H	OH	H	OH	C-glucosyl	OH	H

Figure 8: Structure chimique des flavones (Jiang et *al.*, 2016).

Comme les autres flavonoïdes, les flavones ont une diversité de fonctions qui ont contribué à l'adaptation des plantes à un environnement terrestre, notamment: la protection contre le rayonnement UV et le stress oxydatif, les interactions interspécifiques (résistance aux pathogènes, symbiose, protection contre les herbivores et allélopathie), et le développement végétal (Copoligmentation avec des anthocyanes et la lignification). En plus de leurs fonctions physiologiques,

biochimiques et écologiques pour les plantes, les flavones exercent également des activités biologiques sur les animaux, apportant une valeur nutritionnelle importante (Jiang *et al.*, 2016). Les flavones sont largement présentes dans les feuilles, les fleurs et les fruits sous forme de glucosides. Parmi les principales sources de flavones sont: Le céleri, le persil, les poivrons rouges, la camomille, la menthe et le ginkgo biloba (Panche *et al.*, 2016).

2.6.2. Flavonols:

Les flavonols sont les flavonoïdes les plus largement répandus, ils se produisent principalement sous forme d'O-glycosides (ayant une oxygénation à carbone 3). Et aussi à la position 3 de la conjugaison de l'anneau de carbone. Néanmoins, il existe des substitutions qui peuvent également produire aux positions 3, 4, 5 et 7 de ce dernier. Ces composés comprennent la quercétine, le kaempférol, la myricétine et l'isorhamnétine. Ils sont présents en commun et consommés dans les fruits, les boissons et les légumes comme les oignons, les poireaux, les endives et le brocoli (Ahmed *et al.*, 2017).

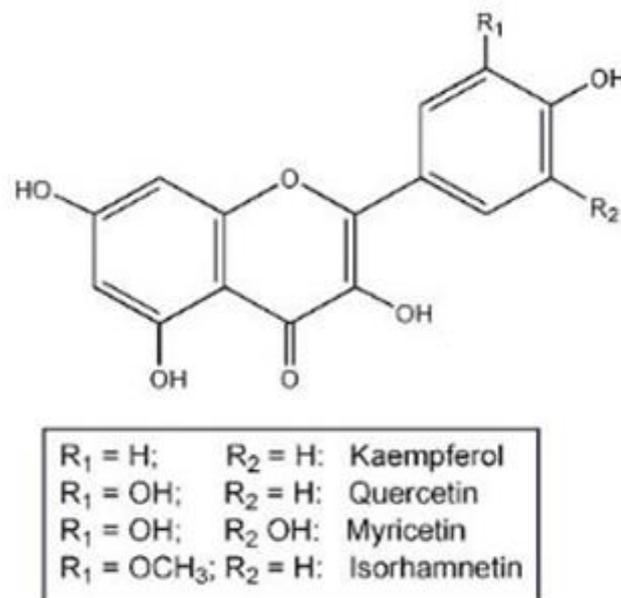


Figure 9: Structure chimique de quelques flavonols (Bessas, 2008).

2.6.3. Flavanones :

Les flavanones sont une autre classe importante qui est généralement présente dans tous les agrumes tels que les oranges, les citrons et les raisins. L'héspéridine, la naringénine et l'ériodictyol sont des exemples de cette classe de flavonoïdes. Les flavanones présentent un certain nombre

d'avantages pour la santé en raison de leurs propriétés anti-radicalaires. Ces composés sont responsables du goût amer du jus et de la peau des agrumes. Les flavonoïdes d'agrumes exercent des effets pharmacologiques intéressants en tant qu'agents antioxydants, anti-inflammatoires, hypolipémiants et hypocholestérolémiants. Les flavanones, également appelés dihydroflavones, ont l'anneau C saturé; par conséquent, contrairement aux flavones, la double liaison entre les positions 2 et 3 est saturée et c'est la seule différence structurelle entre les deux sous-groupes de flavonoïdes. Au cours des 15 dernières années, le nombre de flavanones a considérablement augmenté (Panche, *et al.*, 2016).



FLAVANONES	R ₁	R ₂	R ₃	P.M
Hespérétine	OH	OH	OCH ₃	302
Hespéridine	7-O-Rha-glu	OH	OCH ₃	610
Naringine	7-O-Rha-glu	H	OH	580
Naringénine	OH	H	OH	272
Eriocitrine	7-O-Rha-glu	OH	OH	596
Eriodyctiole	OH	OH	OH	288
Isosakuramétine	OH	H	OCH ₃	286

Figure 10: Structure chimique des flavanones (Rijik *et al.*, 2006).

2.6.4. Flavanols ou catéchines « Flavan-3-ols »:

Les flavanols ou catéchines (flavan-3-ols), précurseurs biosynthétiques de proanthocyanidines, sont caractérisés par un squelette C₆ à C₃-C₆ avec un groupe hydroxyle en position trois de l'anneau C et sont rarement trouvés dans la nature sous leur forme glycosylée. Les deux composés, la catéchine et l'épicatéchine, sont parmi les flavonoïdes les plus connus, partageant une distribution presque aussi répandue que le flavonol apparenté, la quercétine. La catéchine (C), l'épicatéchine (EC), la gallocatéchine (EGC), l'épigallocatéchine (EGCG) et leurs dérivés substitués par le galloyle (ECG et EGCG) se trouvent généralement dans les produits alimentaires d'origine végétale. Les flavanols sont principalement présents dans les fruits (les bananes, les pommes, les bleuets, les pêches et les poires) et leur graines, dans les pelures, des légumes et les produits dérivés tels que les jus de fruits ou les confitures; également dans le thé, le cacao et les céréales. Ils sont cependant presque inexistantes dans les légumes et les légumineuses, à l'exception notable des lentilles et des fèves (Pascual-Thérèse *et al.*, 2010). Les flavanols sont également appelés flavan-3-

ols car le groupe hydroxyle est toujours lié à la position 3 du cycle C. Contrairement à de nombreux flavonoïdes, il n'y a pas de double liaison entre les positions 2 et 3 (Panche, et *al.*, 2016).

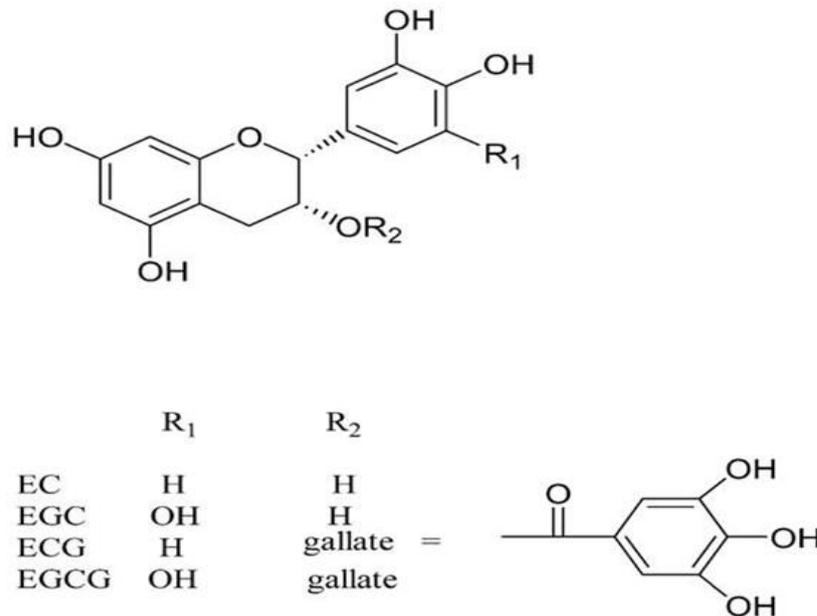
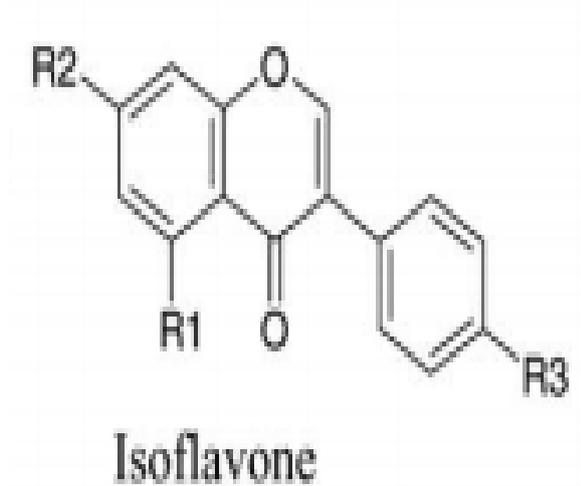


Figure 11: Structure chimique des flavanols (Henning et *al.*, 2010).

2.6.5. Isoflavones:

Les isoflavones appartiennent à un groupe de composés qui partagent une structure de base constituée de deux cycles benzéniques, liés par un noyau C pyrane hétérocyclique (Figure 12) (Faraj & Vasanthan, 2006). Ces composés se retrouvent principalement dans les fèves de soja et les légumineuses. Il est bien connu que les isoflavones agissent comme des phytoestrogènes pour exercer une activité pseudohormonale en se liant aux récepteurs des œstrogènes (ER) chez les mammifères, et possèdent également des activités antioxydantes, anticancéreuses, antimicrobiennes et anti-inflammatoires, tout comme les autres flavonoïdes. La daidzéine et la génistéine sont les isoflavones les plus courantes (Figure 12), dont la structure chimique caractéristique (B-anneau lié à la position C3 du C-anneau au lieu de la C2) ressemble à la structure des œstrogènes, en particulier le 17- β -estradiol (Yu et *al.*, 2016).

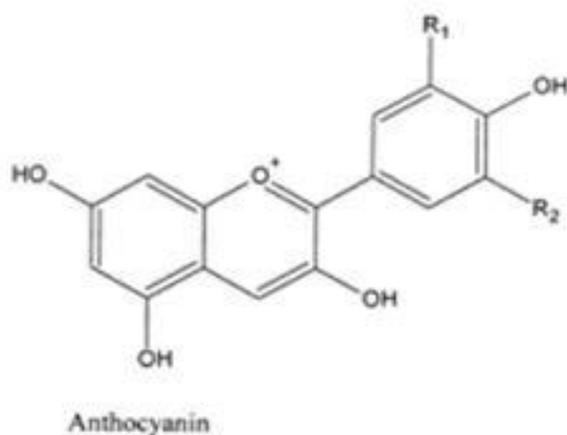


ISOFLAVONES	R ₁	R ₂	R ₃	P.M
Biochanine A	OH	OH	OCH ₃	284
Sissotrine	OH	7-O-Glu	OCH ₃	446
Génisteine	OH	OH	OH	270
Génistine	OH	7-O-Glu	OH	432
Formononétine	H	OH	OCH ₃	268
Ononine	H	7-O-Glu	OCH ₃	430
Daidzeine	H	OH	OH	254
Daidzine	H	7-O-Glu	OH	416

Figure 12: Structures chimiques des Isoflavones (Rijik et *al.*, 2006).

2.6.6. Anthocyanes :

Les anthocyanes sont des pigments responsables des couleurs des plantes, des fleurs et des fruits. La cyanidine, la delphinidine, la malvidine, la pélargonidine et la peonidine sont les anthocyanes les plus étudiées. La stabilité couplée avec les avantages pour la santé de ces composés facilite leur utilisation dans l'industrie alimentaire dans une grande variété d'applications. La couleur de l'anthocyane dépend du pH et également de la méthylation ou de l'acylation des groupes hydroxyle sur les cycles A et B. Les anthocyanes se produisent principalement dans les couches cellulaires externes de divers fruits tels que les canneberges, les cassis, les raisins rouges, les framboises, les fraises, les myrtilles et les murs (Panche et *al.*, 2016).



Anthocyanidines R=H	R ₁	R ₂
Malvidine	OCH ₃	OCH ₃
Péonidine	OCH ₃	H
Delphinidine	OH	OH
Pétunidine	OCH ₃	OH
Cyanidine	OH	H

Figure 13: Structure chimique des anthocyanes (Nijveldt et *al.*, 2001).

2.6.7. Chalcones:

Les chalcones sont des flavonoïdes à chaîne ouverte dans lesquels deux anneaux aromatiques, reliés par un lien à trois carbones, sont synthétisés par la chalcone synthétase à partir de 3-malonyl-CoA et d'un ester CoA de départ comme le 4-coumaronyl-CoA (Sweety et *al.*, 2010). Les chalcones possèdent une large gamme d'activités pharmacologiques telles que des agents antibactériens, antipaludéens, antiprotozoaires, antituberculeux, anticancéreux et antifongiques, etc (Gupta & Jain, 2015). Les principaux exemples de chalcones comprennent la phloridzine, l'arbutine, la phlorétine et la chalconaringénine. Ils sont présentes en quantité significative dans les tomates, les poires, les fraises, les baies et certains produits de blé (Panche, et *al.*, 2016).

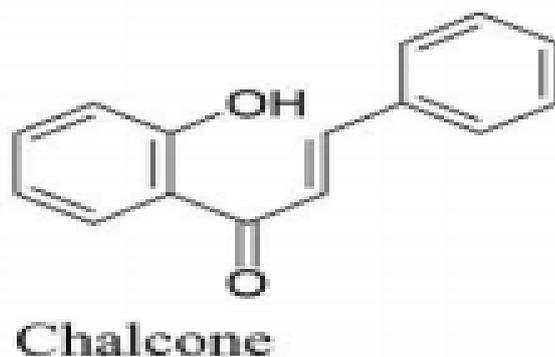


Figure 14: Structure chimique des chalcones (Rijik et *al.*, 2006).

2.7. Les tanins :

Les tanins sont des composés phénoliques qui comprennent une classe complexe de composés organiques et partagent la capacité de tanner les protéines, ces composés ayant un poids moléculaire compris entre 500 à 3000 Daltons (Krauss et *al.*, 2003).

Les tanins sont fortement hydroxylés, et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux protéines, aux glucides et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux. Les tanins sont abondants dans de nombreuses parties de la plante, y compris, fruits, cortex, racines et autres parties. Dans les régimes humains, les tanins sont présents dans les boissons, les légumineuses, certaines céréales, les fruits et les baies (Alkurd et *al.*, 2008).

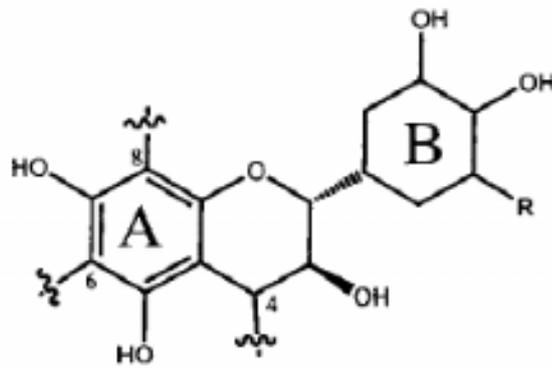


Figure 15 : Structure chimique des tannins (Krauss et *al.*, 2003).

On distingue essentiellement deux familles, en fonction de leur structure ainsi que leur origine biogénétique :

2.7.1. Tanins condensés :

Cette famille est appelée également proanthocyanidines, les tanins condensés sont des polymères de dérivés de résidus flavonols (figure 16-a) liés par des liens C-C (un exemple en figure 16-b, mais de nombreuses autres combinaisons existent), ils sont produits par la plupart des végétaux terrestres (Krauss et *al.*, 2003).

2.7.2. Tanins hydrolysables :

Ce sont des phénols liés à un résidu sucré par un lien ester (donc hydrolysable). Ils sont encore regroupés en gallitannins (figure 16-c) ; si le phénol est l'acide gallique et en ellagitannins (figure 16-d) ; s'il s'agit de l'acide hexa-hydroxy-diphénique. On trouve les tanins hydrolysables chez les dicotylédones et ils sont plus facilement hydrolysables par les microorganismes que les précédents (Krauss et *al.*, 2003).

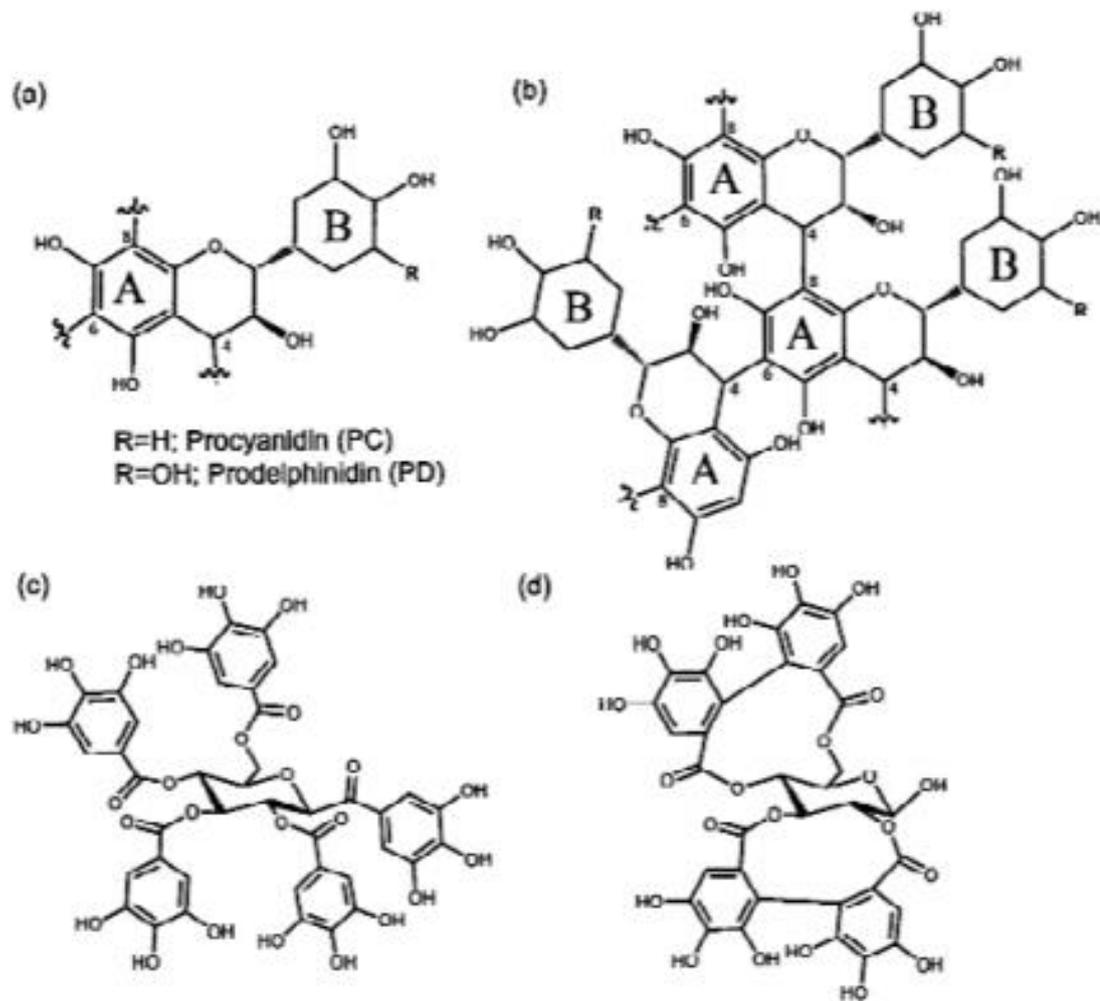


Figure 16: Structure chimique des sous-classes des tannins (Krauss et *al.*, 2003).

3. Biodisponibilité des polyphénols

Une connaissance approfondie de la biodisponibilité des polyphénols est essentielle pour bien comprendre leurs effets sur la santé ainsi que leur propriétés biologiques (Scalbert et Williamson, 2000 ; Manach, 2004).

Le site et le taux d'absorption dépendent de la structure chimique, du degré de glycosylation / acylation, de la conjugaison d'autres composés phénoliques, de la taille moléculaire, du degré de polymérisation et de la solubilité (Zern et Fernandez, 2005). Leur limite et la vitesse de l'absorption dans les intestins est décidée par leur structure chimique (Munawar et *al.*, 2016).

Généralement, les aglycones peuvent être absorbés par l'intestin grêle; Cependant, la plupart des polyphénols sont présents dans les aliments sous la forme d'esters, de glycosides ou de polymères qui ne peuvent pas être absorbés sous forme native (Pandey et Rizvi 2009). Ces substances doivent être hydrolysées par des enzymes intestinales ou par la microflore du côlon avant qu'elles puissent être absorbées. Lorsque la flore est déficitaire, l'efficacité de l'absorption est souvent réduite car la flore dégrade également les aglycones qu'elle libère et produit divers acides aromatiques simples dans le processus (Manach, 2004). Dans l'intestin grêle, les polyphénols peuvent pénétrer dans la muqueuse par diffusion passive. Dans certains cas, les fragments hydrophobes doivent être clivés pour que l'absorption ait lieu. Dans le côlon, les polyphénols sont initialement digérés en petites structures phénoliques par la microflore intestinale. Après cette digestion initiale complète, les polyphénols et leurs métabolites peuvent être absorbés (Zern et Fernandez, 2005).

Au cours de l'absorption, les polyphénols sont conjugués dans l'intestin grêle et plus tard dans le foie. Ce processus comprend principalement la méthylation, la sulfatation et la glucuronidation (Pandey et Rizvi 2009).

Une fois l'absorption réalisée, une digestion plus poussée peut avoir lieu, puis les métabolites polyphénoliques peuvent être transportés dans des tissus extra-hépatiques ou dans les reins. Pour la majorité des polyphénols, la concentration maximale dans le plasma est apparente 1-2 h après l'ingestion (Zern et Fernandez, 2005). Il s'agit d'un processus de détoxification métabolique commun à de nombreux xénobiotiques qui limite leurs effets toxiques potentiels et facilite leur élimination biliaire et urinaire en augmentant leur hydrophilie. Les mécanismes de conjugaison sont très efficaces, et les aglycones sont généralement soit absents dans le sang, soit présents à de faibles concentrations après consommation de doses nutritionnelles (Manach, 2004). Les métabolites des polyphénols circulent dans le sang lié aux protéines; en particulier, l'albumine, qui représente la protéine primaire responsable de la liaison et qui joue un rôle important dans la biodisponibilité des polyphénols. L'affinité des polyphénols pour l'albumine varie en fonction de leur structure chimique (Dangles, et *al.*, 2001).

L'accumulation de polyphénols dans les tissus est la phase la plus importante du métabolisme des polyphénols car c'est la concentration qui est biologiquement active pour exercer les effets des polyphénols. L'excrétion des polyphénols avec leurs dérivés se fait par l'urine et la bile. Il a été observé que les métabolites largement conjugués sont plus susceptibles d'être éliminés

par la voie biliaire (D'Archivio et *al.*, 2007 ; Pandey et Rizvi, 2009) dans le duodénum, où ils sont soumis à l'action d'enzymes bactériennes, en particulier la β -glucuronidase, dans les segments distaux de l'intestin (Manach, 2004), alors que les petits conjugués, tels que les monosulfates, sont excrétés préférentiellement dans l'urine. La quantité de métabolites excrétés dans l'urine est plus ou moins corrélée aux concentrations plasmatiques maximales. Le pourcentage d'excrétion urinaire est assez élevé pour les flavanones provenant des agrumes et diminue pour passer des isoflavones aux flavonols (D'Archivio et *al.*, 2007 ; Pandey et Rizvi, 2009). La demi-vie d'élimination des polyphénols est comprise entre 1 et 18 h; Cependant, pour la plupart des polyphénols, il est <8 h. Cela implique que les polyphénols sont principalement excrétés du corps un jour après l'ingestion (Hollman et *al.*, 2011).

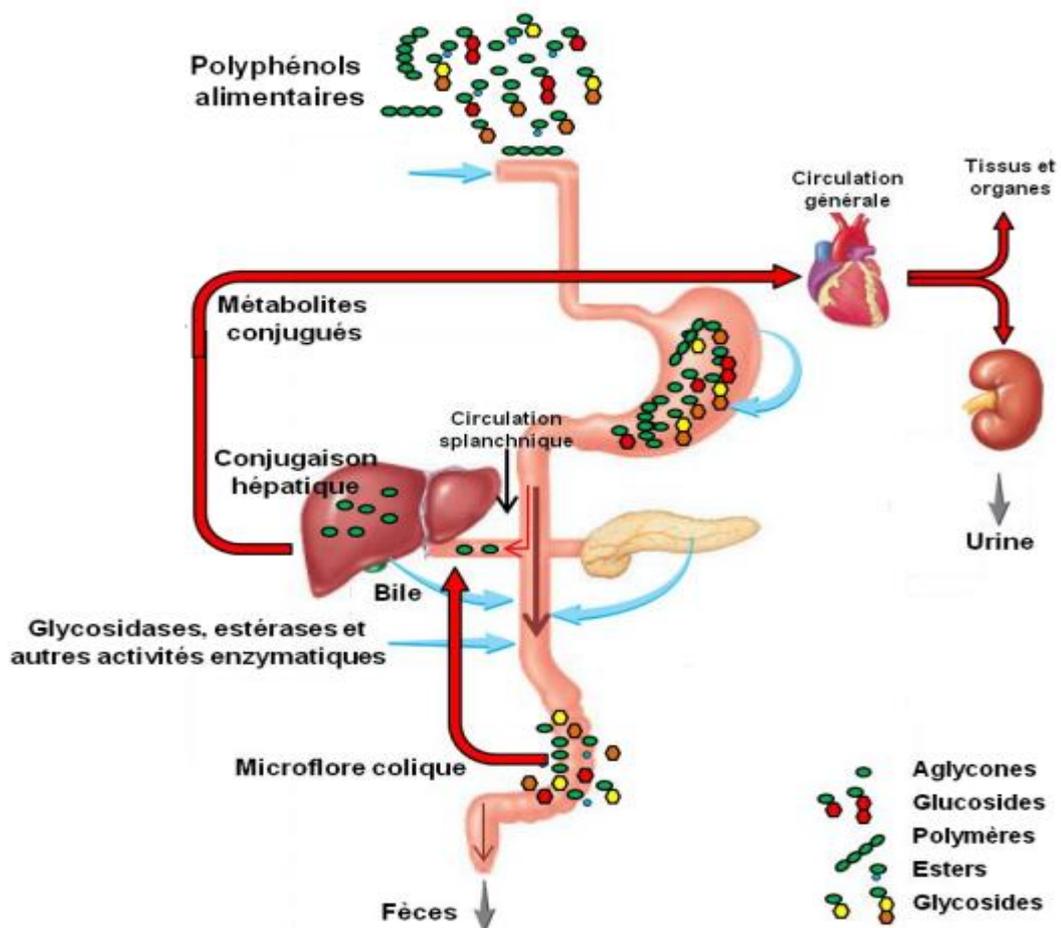


Figure 17: Schéma général du métabolisme des polyphénols (Allouche, 2012).

4. Effets biologiques des polyphénols

Des études épidémiologiques ont montré à plusieurs reprises une association inverse entre le risque de maladies humaines chroniques et la consommation d'aliments riches en composés polyphénoliques (Pandey et Rizvi , 2009). Dans le corps humain, les polyphénols sont des antioxydants, et ont des propriétés biologiques diverses comme antidiabétique , anticancéreuse, anti-inflammatoire, cardioprotectrice, ostéoprotectrice, neuroprotecteur, antiasthmatique, antihypertenseur, anti-âge, antiseptique, protection cérébrovasculaire, hypocholestérolémiant, hépatoprotecteur, antifongique, antibactérien et propriétés antivirales (Ganesan et Baojun, 2017).

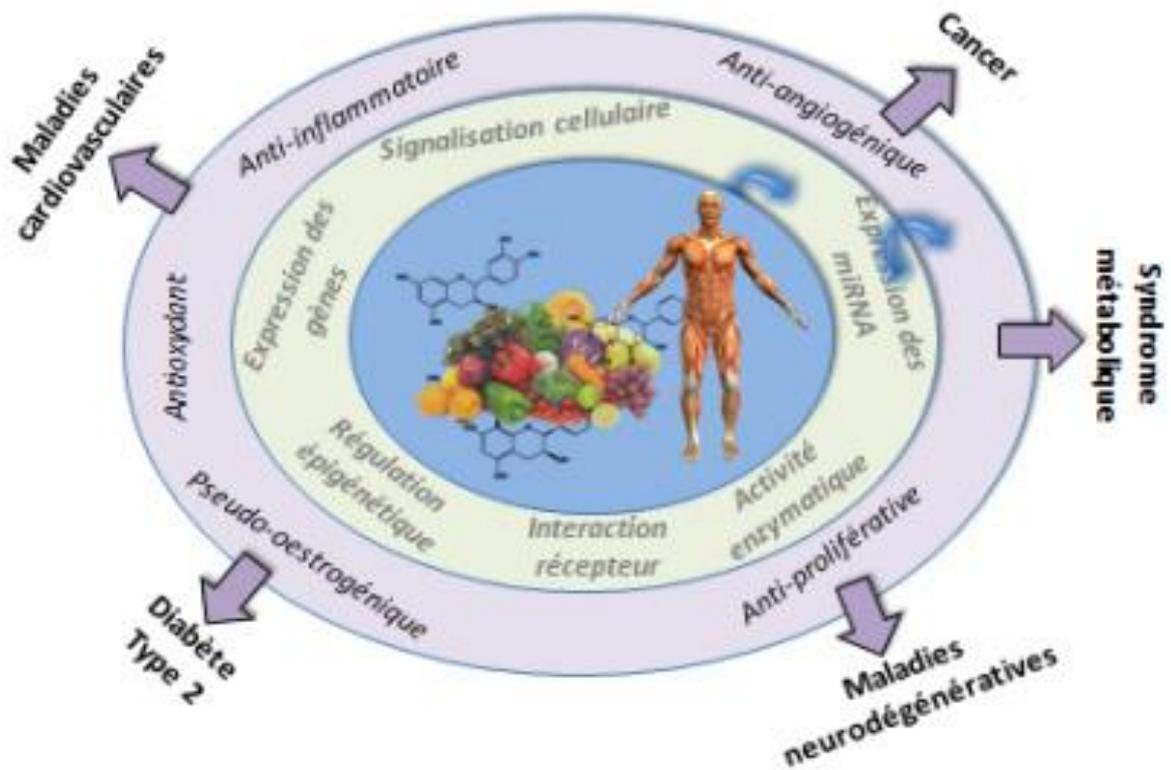


Figure 18: Modes d'action, propriétés biologiques des polyphénols et effets sur la santé (Morand et Milenkovic, 2012).

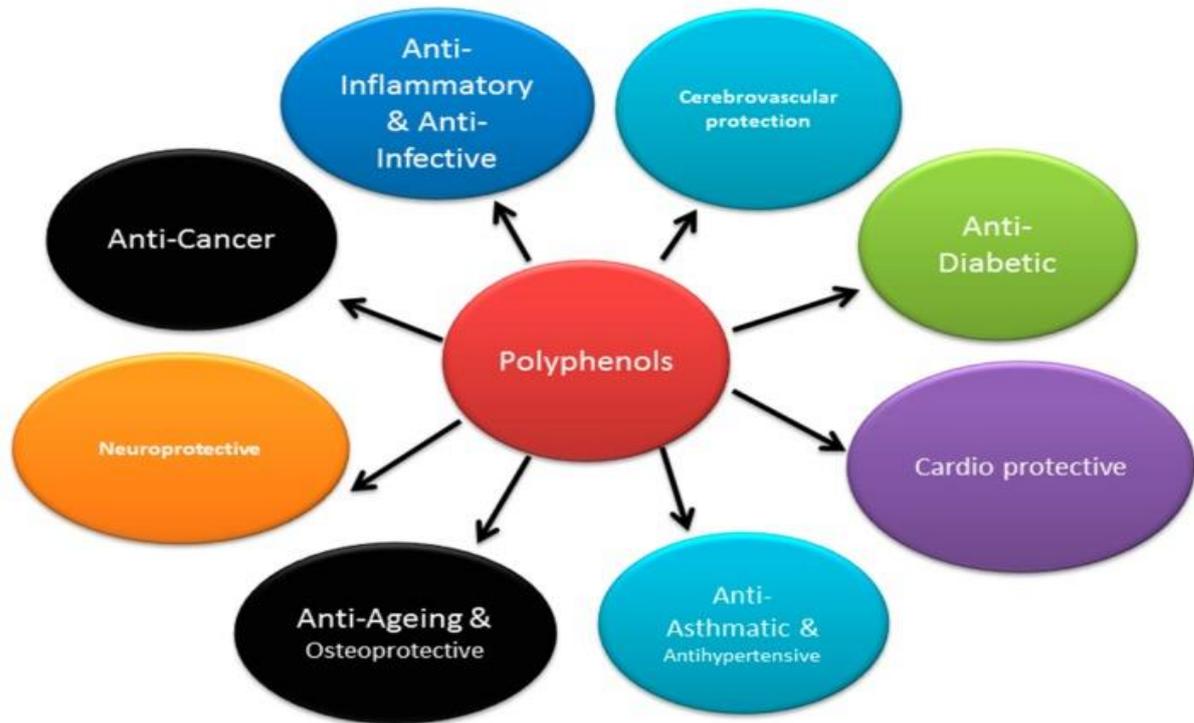


Figure 19: Rôle des polyphénols chez l'homme (Ganesan et Baojun, 2017).

4.1. Effet antioxydant:

Les polyphénols sont des agents réducteurs, ayant la capacité de ralentir ou de prévenir l'oxydation d'autres molécules. Les groupes phénoliques dans les polyphénols peuvent accepter un électron pour former des radicaux phénoxylés relativement stables, perturbant ainsi les réactions d'oxydation en chaîne dans les composants cellulaires (Landete, 2012). L'activité antioxydante des polyphénols dépend de la structure de leurs groupes fonctionnels (Hussain, et *al.*, 2016). D'ailleurs, le phénol lui-même est inactif comme antioxydant, mais les ortho- et para-diphénoliques ont la capacité antioxydante, qui augmente avec la substitution des atomes d'hydrogène par éthyle ou groupes n-butyle (Landete, 2012).

Les effets des polyphénols sont compatibles avec leurs taux dans l'organisme. En effet, les faibles taux circulants de polyphénols (maximum quelques $\mu\text{mol/L}$) par rapport à ceux des autres antioxydants endogènes (GSH, acide urique) ou exogènes (Vit E, Vit C) ne permettent pas d'envisager une action antioxydante directe des polyphénols dans l'organisme. Néanmoins, lorsqu'il s'agit du tractus gastro-intestinal où les polyphénols présents en quantité importante (Morand et Milenkovic, 2012), ces composés peuvent réduire l'activité catalytique des enzymes impliquées dans la production de ROS et ils sont capables aussi de protéger contre les dommages

oxydatifs par divers mécanismes. Il a été rapporté que la formation de ROS augmente les ions métalliques libres par réduction de l'hydrogène peroxydase avec génération du radical hydroxyle hautement réactif. Les polyphénols sont capables de réduire les radicaux libres hautement oxydants en raison de leur capacité à chélater les ions métalliques (fer, cuivre, etc.) et les radicaux libres. Par exemple, la quercétine possède des propriétés de chélation du fer et de stabilisation du fer (Hussain, *et al.*, 2016).

Il est bien établi que les aliments et les boissons riches en polyphénols peuvent augmenter la capacité antioxydante du plasma. Cette augmentation suite à la consommation d'aliments polyphénoliques s'explique soit par la présence de polyphénols réducteurs et de leurs métabolites dans le plasma, soit par leurs effets sur les concentrations d'autres agents réducteurs, ou par leur effet sur l'absorption de composants alimentaires pro-oxydants (Pandey et Rizvi, 2009).

Les flavonoïdes sont parmi les antioxydants les plus puissants, car ils possèdent un ou plusieurs éléments structuraux impliqués dans l'activité antiradicalaire: (1) un groupe o-diphénolique (dans le cycle B), (2) une double liaison 2-3 conjuguée avec la fonction 4-oxo, et (3) les groupes hydroxyles en position 3 et 5. La quercétine, un flavonol qui combine tous de ces caractéristiques, est l'un des plus puissants de la nature antioxydante. En outre, l'efficacité antioxydante des flavonoïdes est directement corrélée avec leur degré d'hydroxylation et diminue avec la présence d'une fraction de sucre (glycosides sont non antioxydants, alors que leurs aglycones correspondants sont antioxydants) (Landete, 2012).

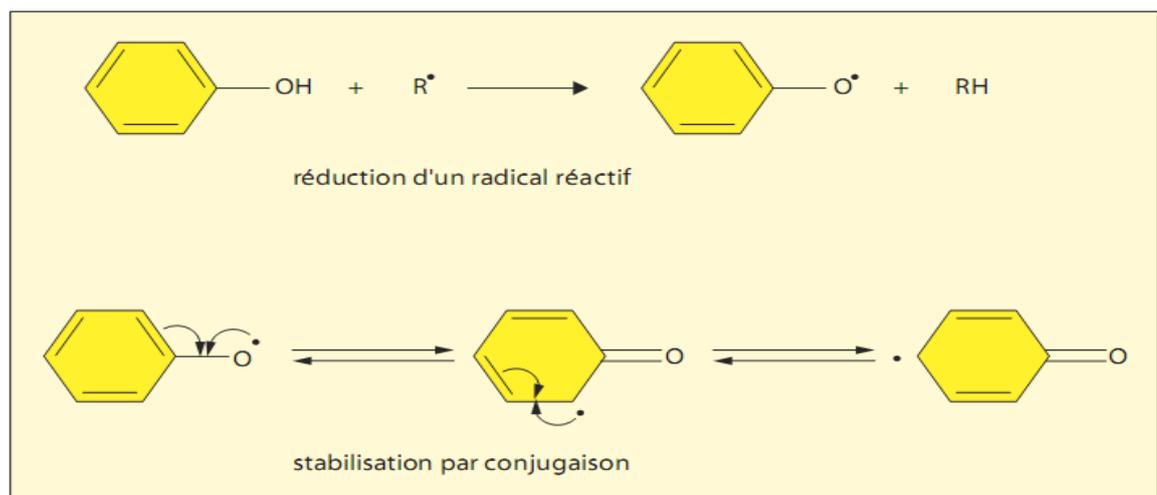


Figure 20: Propriétés réductrices des polyphénols (Rolland, 2004).

✓ Effet anti-inflammatoire :

Les composés phénoliques ont montré une activité anti-inflammatoire *in vitro* et *in vivo*, ils peuvent agir comme modificateurs des voies de transduction du signal pour obtenir leurs effets bénéfiques (Landete, 2012). Des activités anti-inflammatoires des polyphénols tels que la quercétine, la rutine, la morine, l'hespérétine et l'hespéridine ont été rapportées dans l'inflammation aiguë et chronique dans des modèles animaux. La rutine n'est efficace que dans les processus inflammatoires chroniques, en particulier dans l'arthrite; et les flavanones sont également efficaces dans l'inflammation neurogène induite par le xylène (Hussain et al., 2016).

Les composés phénoliques fonctionnent de la même manière que les anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS), et certains d'entre eux inhibent d'autres médiateurs pro-inflammatoires en plus de la COX en inhibant leur activité ou leur expression génique. En outre, certains composés phénoliques peuvent réguler les facteurs transcriptionnels, comme le facteur nucléaire kB (NF-kB) ou Nrf-2, dans les voies inflammatoires et antioxydantes (Ambriz-Pérez et al., 2016). Il existe aussi d'autres effets anti-inflammatoires qui peuvent exercer par ces composés phénoliques, et parmi lesquels: le piégeage radicalaire, la régulation des activités cellulaires dans les cellules inflammatoires et la modulation des activités des enzymes impliquées dans le métabolisme de l'acide arachidonique (phospholipase A2, COX) et le métabolisme de l'arginine (NOS) (Hussain et al., 2016).

✓ Effet cardio-protecteur :

Les polyphénols sont largement utilisés dans la prévention et le traitement des maladies cardiovasculaires (MCV) offrant une protection contre de nombreuses maladies chroniques. Leurs effets sur la santé humaine dépendent de la quantité consommée et de leur biodisponibilité. De nombreuses études ont démontré que les polyphénols ont également de bons effets sur le système vasculaire en abaissant la tension artérielle, en améliorant la fonction endothéliale, en augmentant les défenses antioxydantes, en inhibant l'agrégation plaquettaire et l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL) et en réduisant les réponses inflammatoires (tableau 2) (Pandey et Rizvi, 2009 ; Giglio et al., 2018).

Les polyphénols peuvent diminuer les molécules d'adhésion sur les monocytes et les lymphocytes T, ce qui provoque également une diminution des concentrations de TNF- α et d'IL-6. Les CAM présents sur la paroi artérielle seront également diminués, ainsi que l'absorption globale

des monocytes et des lymphocytes T est significativement diminuée en raison des altérations des CAM. Enfin, la diminution des monocytes et des lymphocytes T dans l'intima peut altérer la formation de la plaque d'athérome et finalement l'athérosclérose (figure 21) (Zern et Fernandez, 2005).

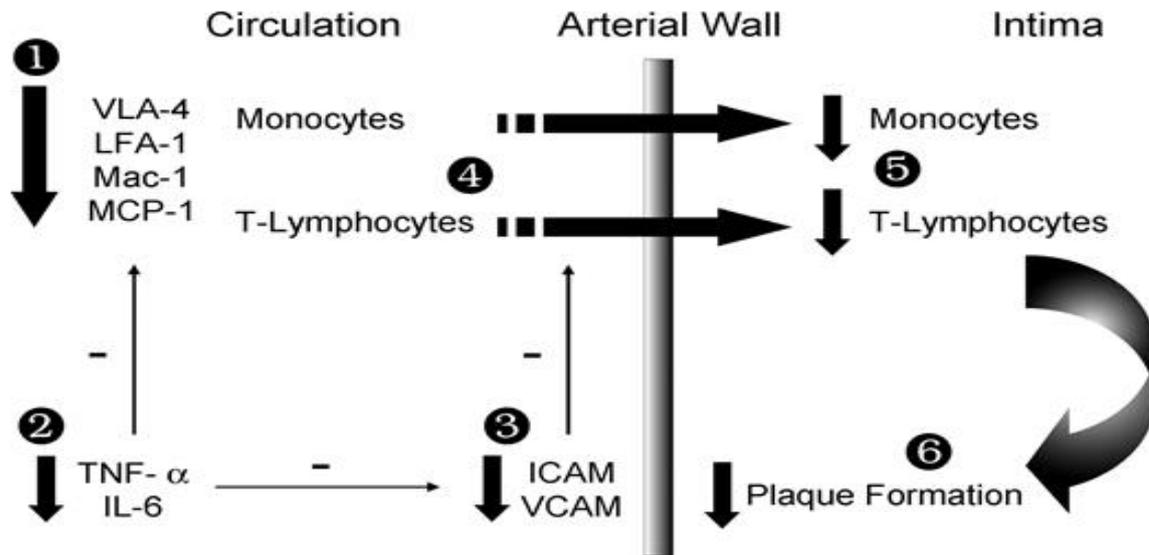


Figure 21: Mode d'action des polyphénols au niveau cardiaque (Zern et Fernandez, 2005).

Tableau 2: Effet cardio protecteur de quelques polyphénols.

Polyphénols	Sources alimentaires	Effet cardio protecteur
La quercétine	Oignon	<ul style="list-style-type: none"> Inhibition de l'expression de la MMP1. Perturbation des plaques athéroscléreuses.
Les catéchines	Thé	<ul style="list-style-type: none"> Inhibition de l'invasion et la prolifération des cellules musculaires lisses dans la paroi artérielle.
Resvératrol	Vin	<ul style="list-style-type: none"> Empêchement de l'agrégation plaquettaire par l'inhibition préférentielle de l'activité cyclooxygénase 1 (COX 1). La capacité à détendre les artères isolées et des anneaux aortiques de rat. La capacité à stimuler les canaux K⁺ activés par le Ca⁺⁺ et à augmenter la signalisation de l'oxyde nitrique dans l'endothélium, par ces voies le resvératrol exerce une activité vasorelaxante. Inhibition de l'oxydation des particules LDL via le chélatage du cuivre ou par le piégeage direct des RL.

II. La Doxorubicine

La doxorubicine (DOX), également appelée Adriamycine (Hande, 1998; Minotti et *al.*, 2004) appartient à la famille des anthracyclines. Elle fait partie du groupe d'antibiotique anti cancéreux utilisé dans la chimiothérapie du cancer (Abraham et *al.*, 2005), possède un large spectre d'activité contre plusieurs nombre des tumeurs humaines solides et hématologique (Bakker et *al.*, 1995) notamment : la leucémie lymphoblastique aiguë, le lymphome de Hodgkin, lymphomes non hodgkiniens agressif, le carcinome du sein, carcinome de l'ovaire (Hanušová et *al.*, 2013). Elle est à l'origine d'une cardiomyopathie chronique peuvent évoluer à plus ou moins long terme vers une insuffisance cardiaque Son utilisation induit une production de ROS qui participent à cette toxicité (Gilleron et *al.*, 2009). Afin de pouvoir prévenir ces effets néfastes il est nécessaire de mieux comprendre les mécanismes de production des ROS.

1. Structure chimique

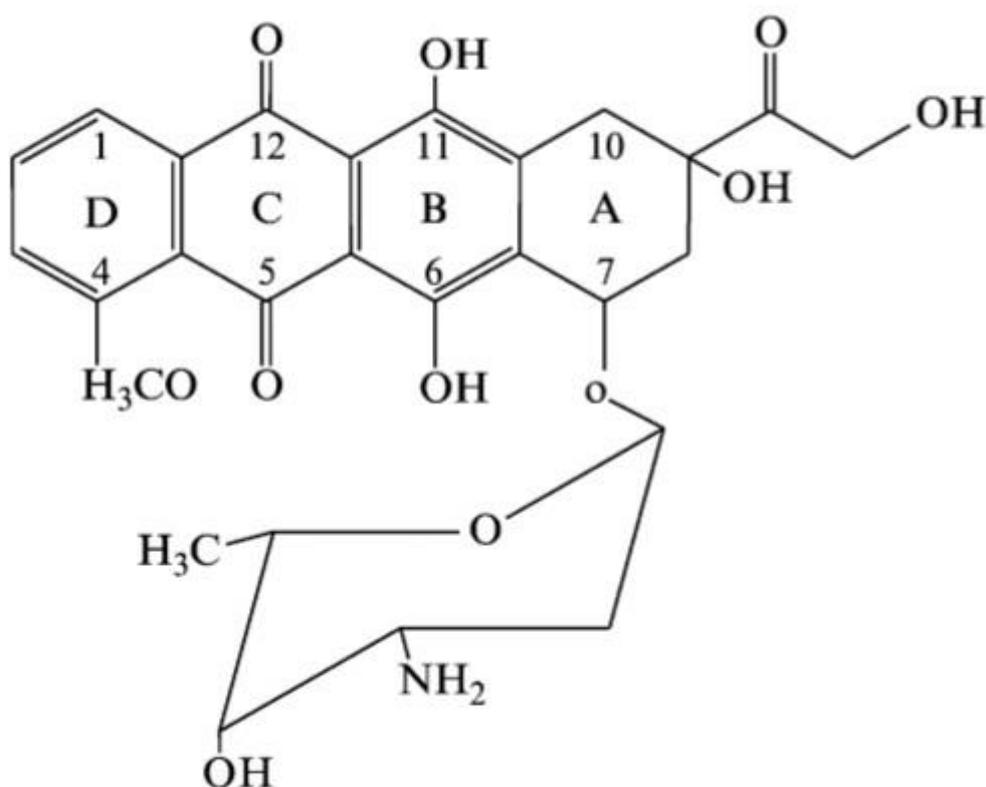


Figure 22 : Structure de la doxorubicine (Abraham et *al.*, 2005).

La DOX est composé de fractions aglyconomiques et de sucre. L'aglycone appelé doxorubicinone, est composé d'un cycle tétra cyclique contenant une quinone et d'une chaîne latérale courte avec un groupe carbonyle en C-13 et un alcool primaire en C-14; le sucre, appelé daunosamine, est attaché par une liaison glycosidique à C-7 du cycle tétra cyclique, et consiste en un fragment 3-amino-2,3,6-tridésoxy-L-fucosyle (Minotti et *al.*, 2004).

2. La pharmacocinétique de la doxorubicine

2.1. Absorption et distribution :

La DOX est généralement administrée sous la forme d'une perfusion intraveineuse de 40 à 75 mg / m² répétée à des intervalles de 3 à 4 semaines, en prenant soin de ne pas dépasser une dose cumulative de 450-550 mg / m².

La demi-vie de distribution initiale d'environ 5 minutes propose une absorption rapide des tissus de la DOX, tandis que son élimination est lente à partir des tissus qui se traduisent par une demi-vie terminale de 20 à 48 heures.

Ce médicament est rapidement distribué dans les différents types de tissus du corps où elle est concentrée dans les noyaux des cellules (due à ses caractéristiques lipophiles et à leur propriété intercalaire liée par l'ADN), et présente une concentration élevée à la fois dans le foie, l'intestin grêle, la rate et une faible concentration cérébrale (Li et Singal, 2000).

La liaison de la doxorubicine et de son principal métabolite, le doxorubicinol, aux protéines plasmatiques est d'environ 74 à 76%.

2.2. Métabolisme :

La doxorubicine est rapidement métabolisée en métabolite hydrophile, le doxorubicinol et en aglycones peu solubles dans l'eau, la doxorubicinone et la 7-désoxydoxorubicinone. Le métabolisme en doxorubicinol se produit par des aldocétoréductases cytoplasmiques NADPH-dépendantes, présentes dans toutes les cellules, mais particulièrement dans les globules rouges, et dans les cellules hépatiques et rénales. Les aglycones non cytotoxiques sont formés par un clivage de la fraction sucre aminé dans les microsomes par le cytochrome réductase NADPH dépendante (Speth et *al.*, 1988). Le métabolisme essentiel de la DOX, se déroule principalement au niveau du foie.

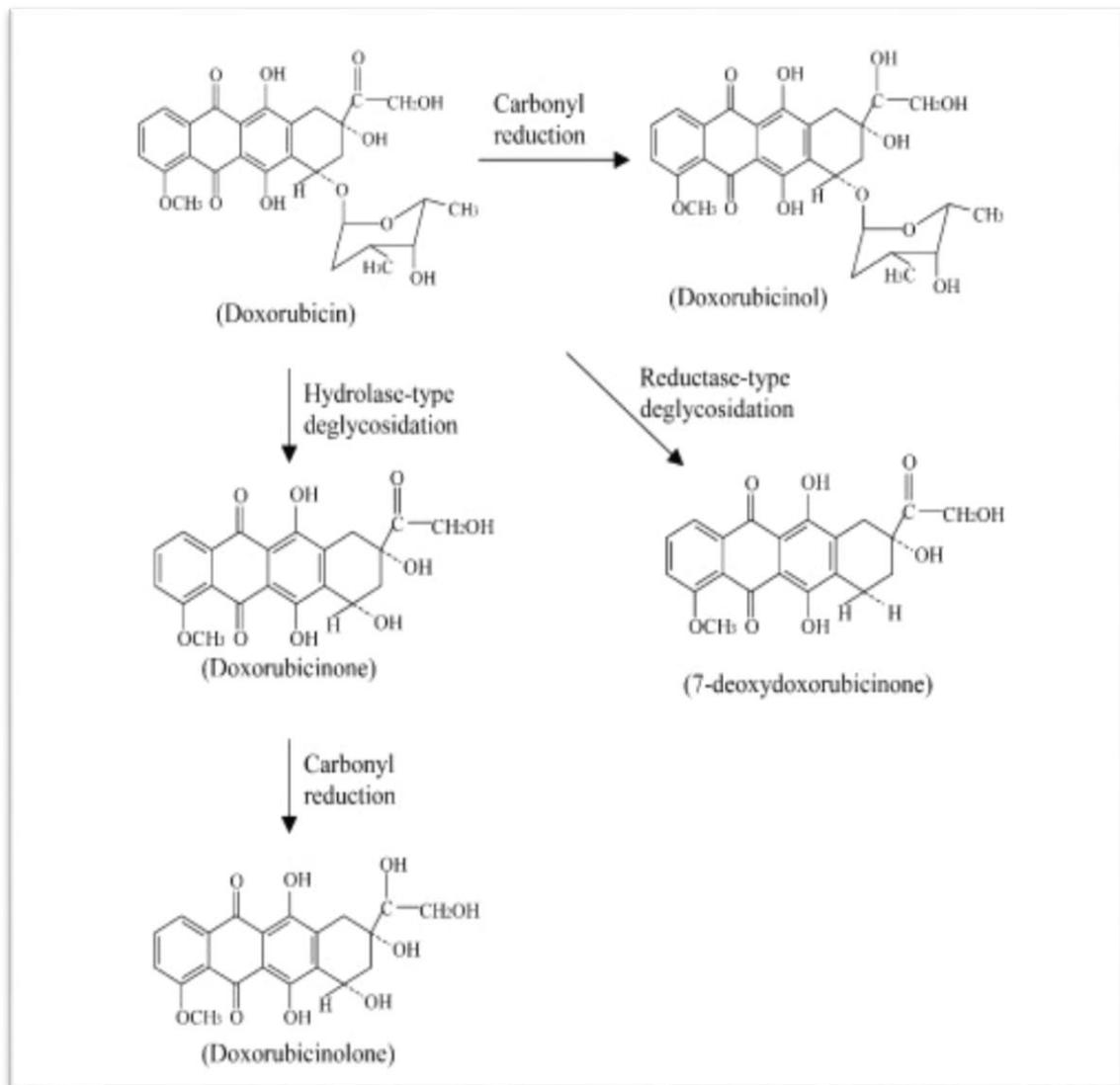


Figure 23 : Métabolisme hépatique de la Doxorubicine (Zhou et Chowbay, 2002).

2.3. Elimination :

La doxorubicine est éliminée essentiellement par l'excrétion biliaire (Boige et *al.*, 2003). En effet, 10 à 15 % de la dose administrée sont retrouvées dans les urines, ce qui explique la coloration rouge de l'urine, quelques jours après le traitement (Hortobágyi, 1997).

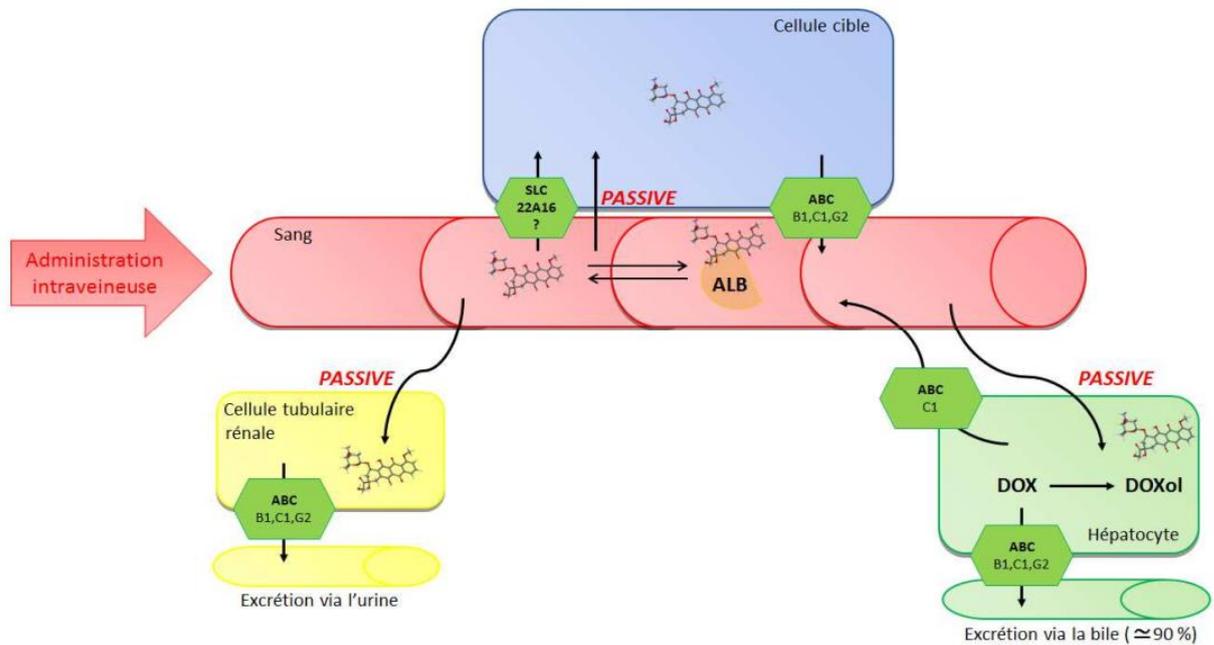


Figure 24 : ADME de la doxorubicine (Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination)
(Chavalle, 2017).

3. Cardiotoxicité de la doxorubicine

L'utilisation de la DOX à une dose de 500-550 mg / m² provoque une cardiomyopathie chez environ 4% des patients, alors qu'une dose de 551-600 mg / m² provoque une cardiomyopathie chez environ 18% des patients et la dose supérieure de 600 mg / m² provoque une cardiomyopathie chez 36% des patients (Lefrak et *al.*, 1973).

Cette cardiotoxicité peut être aiguë, subaiguë ou chronique. La cardiotoxicité aiguë survient dans environ 11% des cas et se manifeste dans les 2-3 jours de traitement. Elle peut être réversible et son apparition prédit le risque d'insuffisance cardiaque dans le futur. L'incidence de la cardiomyopathie chronique est beaucoup moins importante que la toxicité aiguë et est estimée chez 1,7%. Bien qu'il se manifeste habituellement dans les 30 jours suivant l'exposition à la dernière dose, il peut ne se manifester qu'après 6 à 10 ans plus tard. La cardiotoxicité subaiguë et chronique est permanente et irréversible. La cardiotoxicité induite par la doxorubicine peut se manifester par l'une des symptômes suivantes: hypotension, tachycardie, arythmies transitoires ou cardiomyopathie

tardive sous forme de fatigue, de dyspnée et d'œdème des membres inférieurs (Abushouk et *al.*, 2017).

Sur le plan physiopathologique, l'étude histologique de biopsies endomyocardiques de tissus atteints met en évidence des altérations caractéristiques : déformation du réticulum sarcoplasmique, formation de vacuoles cytoplasmiques, distorsions myofibrillaires, raréfaction des myofibrilles associées à une nécrose myocardique.

4. Les mécanismes cardiotoxiques de la doxorubicine

Plusieurs mécanismes ont été suggérés pour la cardio-toxicité induite par la DOX (figure 25), comme le stress oxydatif, produit par des niveaux accrus de radicaux libres (espèces réactives de l'oxygène) (Kim et *al.*, 2006), le fer intracellulaire (Ghibu et *al.*, 2012) et une diminution des antioxydants par exemple le glutathion (GSH).

Les radicaux libres générés par les anthracyclines sont issus de mécanismes enzymatiques et non-enzymatiques. L'ajout d'un électron à la structure quinone de la doxorubicine induit la formation d'une semi quinone qui se régénère en quinone par la réduction de l'oxygène en espèces réactives de l'oxygène (ROS) telles que l'anion superoxyde. Ce cycle est entretenu par les oxydases et l'endothelial nitric oxide synthase (eNOS). La doxorubicine sous forme de quinone accepte un électron. Cette réaction génère un radical libre semi-quinone DOX•. Le radical superoxyde ainsi formé est converti en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) par la superoxyde dismutase (SOD). La génération non enzymatique de radicaux libres par la doxorubicine résulte de la formation d'un complexe associant la doxorubicine et le fer ferrique (DOX-Fe³⁺) qui subit une réduction, aboutissant à la production du radical superoxyde. Le donneur d'électron pour cette réaction est le glutathion (GSH). Les anthracyclines entrent dans la mitochondrie, entraînant le relargage de l'oxydase du cytochrome C et affectant sélectivement la phosphorylation oxydative. Ces thérapies anticancéreuses engendrent la mort des cardiomyocytes par l'induction de l'apoptose cellulaire, la réduction de la production d'ATP par la mitochondrie, et la génération d'espèces réactives de l'oxygène (Rochette et *al.*, 2015). Ce stress oxydatif entraîne une augmentation du calcium intracellulaire (Les anthracyclines prolongent aussi la durée d'ouverture des canaux calciques dans le réticulum sarcoplasmique et agissent sur les canaux de type L) (Troyano et *al.*, 2001) et une accélération de la peroxydation lipidique qui

endommager la membrane cellulaire et d'autres composants cellulaires (Doroshov, 1983; Mimnaugh *et al.*, 1985).

De plus, la DOX peut stimuler l'enzyme inductible de l'oxyde nitrique synthase (iNOS), augmentant ainsi la production d'oxyde nitrique (NO), associée à la cardiomyopathie dilatée et à l'insuffisance cardiaque congestive (Ishibashi *et al.*, 2008). L'interaction entre le NO et la superoxyde (H_2O_2) génère l'anion peroxyde ($ONOO^-$), connu pour causer des dommages à l'ADN (Schildknecht *et al.*, 2011). Le processus métabolique très actif et le système antioxydant mal développé dans les cellules musculaires cardiaques le rendent plus vulnérable à ce mécanisme toxique (Barry *et al.*, 2007).

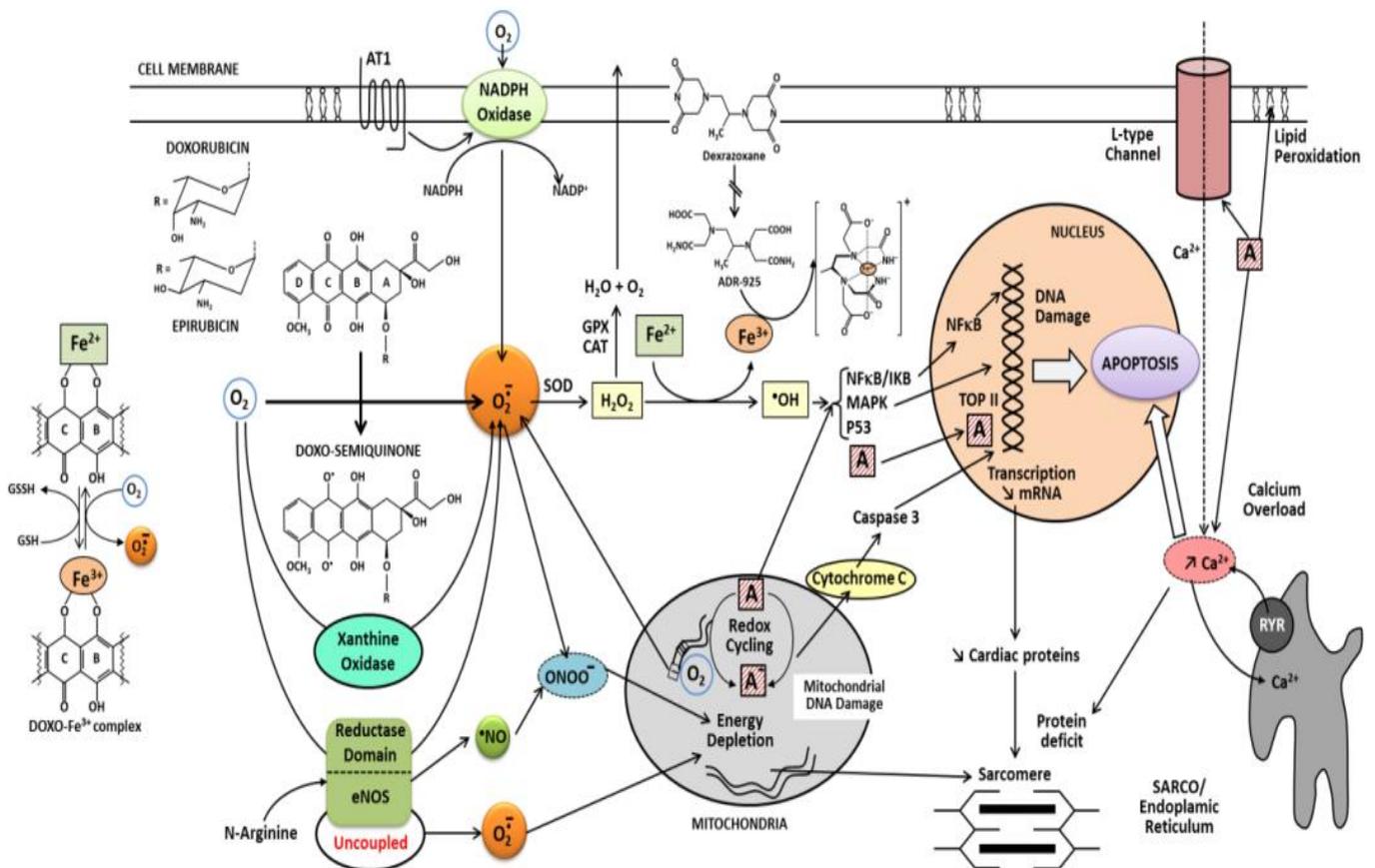


Figure 25 : Mécanismes physiopathologiques de la toxicité des anthracyclines dans le cardiomyocyte (Rochette *et al.*, 2015).

La doxorubicine peut également induire l'apoptose par deux voies différentes: intrinsèque en régulant positivement l'expression de la p53 et la caspase-3 (Chen *et al.*, 2007; Alkreathy *et al.*, 2012) et extrinsèque en stimulant le récepteur de mort (Fas) et son ligand (FasL) par l'augmentation

du calcium intracellulaire (Monti *et al.*, 1995). De plus, l'augmentation du taux de ROS supprime l'expression du facteur nucléaire associé au facteur érythroïde 2 (Nrf2), ce qui augmente la susceptibilité cellulaire au stress oxydatif et à l'apoptose (Papaiahgari *et al.*, 2006). Ceci est détectable sur le plan histologique sous forme de perte myofibrillaire et de vacuoles intracellulaires dues à la dilatation du réticulum sarcoplasmique (figure 26) (Abushouk *et al.*, 2017).

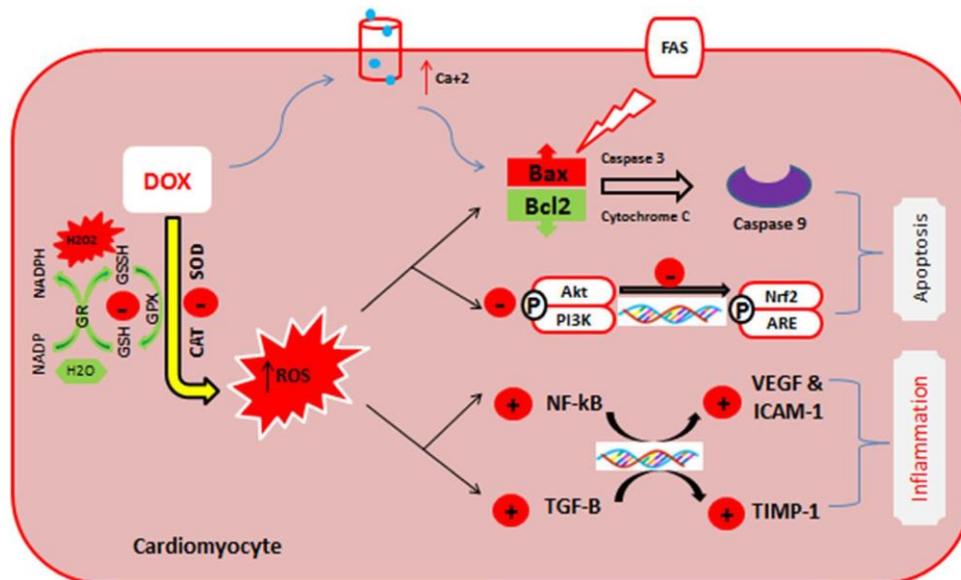


Figure 26 : les effets pathogènes de la DOX sur le niveau moléculaire et le rôle central des espèces réactives de l'oxygène dans la cardiomyopathie induite par la DOX (Abushouk *et al.*, 2017).

Plusieurs essais précliniques ont montré que la DOX peut induire une réponse inflammatoire dans le tissu cardiaque en augmentant les taux de facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α) et en induisant l'expression de molécules d'adhésion neutrophiles sur les cellules endothéliales vasculaires (El Hassan *et al.*, 2003 ; Mantawy *et al.*, 2014). Arafa *et al.* ont montré que le traitement DOX induit l'expression du facteur de croissance transformant- β 1 (TGF- β 1) (Arafa *et al.*, 2014), qui est sécrété par les myofibroblastes cardiaques pour augmenter le taux d'apoptose et de fibrose cardiaque (Wang *et al.*, 2002).

La doxorubicine peut également induire une cardiotoxicité en modifiant le métabolisme des lipides. Abdel-aleem *et al.* ont suggéré que la cardiotoxicité de la DOX peut être partiellement expliquée par l'inhibition de l'oxydation des acides gras cardiaques, entraînant un déséquilibre énergétique et une insuffisance cardiaque congestive (Abdel-aleem *et al.*, 1997). D'autres études ont montré que le traitement par la DOX augmente le cholestérol total (TC), les triglycérides (TAG) et

les lipoprotéines de basse densité (LDL), suggérant que la DOX peut interférer avec la biosynthèse (activation de l'adénosine monophosphatase cyclique) (Minotti *et al.*, 1996) des lipides (inhibiteurs de la lipoprotéine lipase) (Thayer, 1985 ; Abushouk *et al.*, 2017).

5. Mécanismes cardio protecteurs des extraits des plantes (composés phytochimiques)

La doxorubicine est un médicament très efficace pour le traitement des tumeurs malignes (Carvalho *et al.*, 2009) ; par conséquent, les efforts de recherche doivent viser à prévenir et à traiter la cardiotoxicité associée. Le dexrazoxane (ICRF-187), un médicament utilisé pour réduire la cardiotoxicité induite par la DOX par chélation du fer, n'est pas préféré de nos jours en raison de son action myélosuppressive (Seifert *et al.*, 1994). En outre, il existe un large débat sur le fait de savoir s'il réduit l'effet antitumoral de DOX. Par conséquent, les chercheurs ont essayé d'utiliser des composés phytochimiques pour la prévention et le traitement de la cardiotoxicité induite par la DOX (Pavlova *et al.*, 2014 ; Khan, *et al.*, 2014).

Les composés phytochimiques (petites molécules d'origine végétale) sont des substances chimiques végétales non nutritives qui ont des propriétés protectrices ou préventives contre les maladies (Ojha *et al.*, 2016). Ces produits chimiques peuvent avoir des valeurs pharmaceutiques plus élevées que les médicaments actuels parce qu'ils sont moins chers et facilement disponibles dans les aliments naturels (Kok, *et al.*, 2000). Les essais précliniques ont identifié plusieurs mécanismes, sous-jacents aux effets cardio protecteurs observés des composés phytochimiques, y compris les mécanismes antioxydants, anti-inflammatoires et anti-apoptotiques. Comprendre ces mécanismes aux niveaux cellulaire et moléculaire aidera à développer de nouveaux agents prophylactiques et thérapeutiques pour la cardiotoxicité de la DOX (Abushouk *et al.*, 2017).

La figure 27 montre les principaux effets bénéfiques des composés phytochimiques contre la cardiotoxicité induite par la DOX (Abushouk *et al.*, 2017).

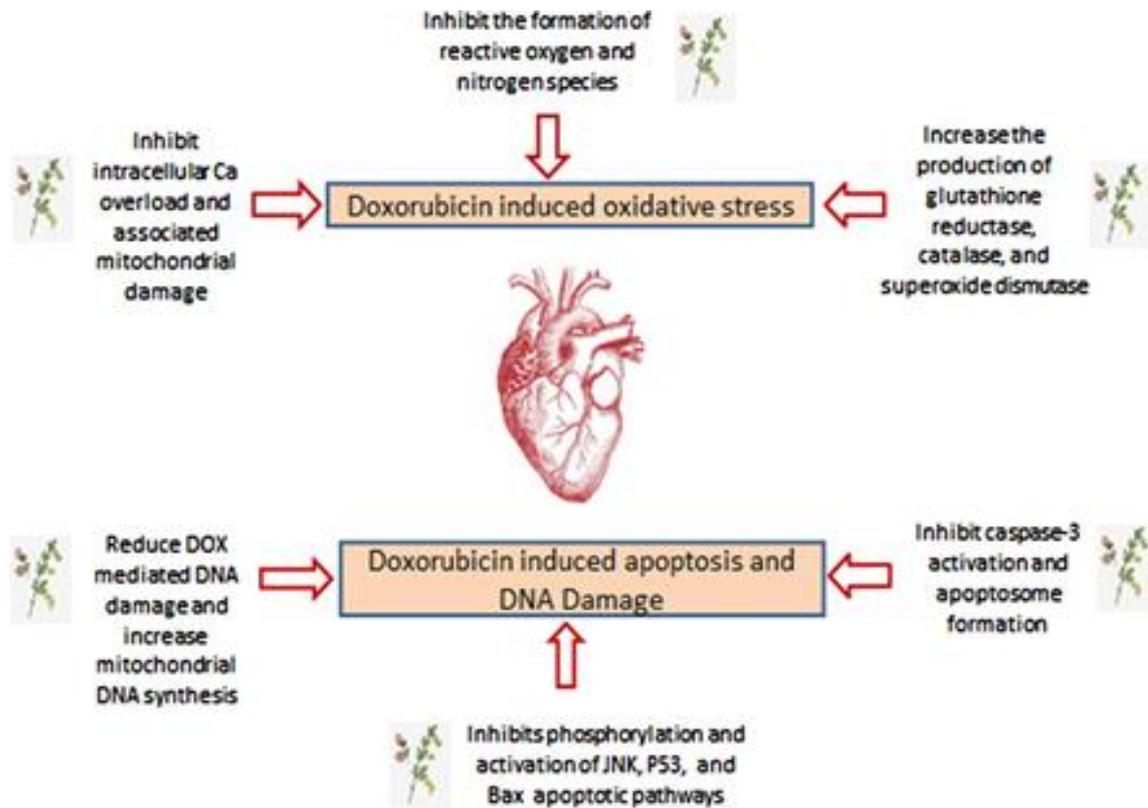


Figure 27 : Résumé des effets cardioprotecteurs des composés phytochimiques contre la cardiotoxicité induite par la DOX (Abushouk *et al.*, 2017).

5.1. Produits phytochimiques à activité antioxydante et anti-inflammatoire :

Les Composés phytochimiques peuvent atténuer le stress oxydatif par plusieurs voies:

- 1) réduire la génération de ROS par l'amélioration de la peroxydation lipidique induite par la DOX,
- 2) effectuer une puissante activité piégeant les radicaux libres,
- 3) améliorer les mécanismes antioxydant cellulaires en augmentant la concentration de GSH et l'activité des enzymes superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT) et glutathion réductase (GR).
- 4) réguler l'expression de Nrf2, ce qui augmente l'expression de l'hème oxygénase-1 (HO-1), et ainsi réduire la susceptibilité cellulaire au stress oxydatif.

En outre, ces produits chimiques peuvent exercer des activités anti-inflammatoires, notamment:

- 1) la réduction de la synthèse des médiateurs pro-inflammatoires en inhibant les enzymes cyclo-oxygénase-II et lipo-oxygénase,

- 2) la régulation ou la baisse de l'expression de TNF- α et des molécules d'adhérence des neutrophiles sur l'endothélium vasculaire,
- 3) réduction du dépôt de collagène dans les tissus enflammés et amélioration de la nécrose fibrinoïde induite par la DOX (Abushouk et al., 2017).

Plusieurs essais précliniques ont montré les activités antioxydantes et anti-inflammatoires d'un large éventail de composés phytochimiques, y compris les extraits d'*Aronia melanocarpa* (Pavlova et al., 2014), *Astragalus polysaccharide* (Cao, et al., 2014), *Boswellia ovalifoliolata* (Uma Mahesh, et al., 2013), graine de raisin (Mokni et al., 2012), *Aerva lanata* (Ragavendran et al., 2012), *Bombyx mori* (Khan, et al., 2014), et *Allium stavium* (Mukherjee et al., 2013).

5. 2. Agents ayant des effets anti-apoptotiques :

Les plantes peuvent inhiber l'apoptose et réduire les dommages à l'ADN tels que les extraits d'*Astragalus polysaccharide* (Cao et al., 2014), *Azadirachta indica* (Koul et al., 2014), *Bombyx mori* (Khan et al., 2014), et *Allium stavium* (garlic extract) (Alkreaty et al., 2012). Les essais précliniques ont listé certains mécanismes moléculaires de l'effet anti-apoptotique des produits phytochimiques, notamment: l'atténuation de la phosphorylation de la kinase Jun N-terminale (JNK) (Chang et al., 2011), l'inhibition du clivage induit par la DOX des caspases (-3, -7, -9) et poly-ADP-ribose polymérase (Choi et al., 2008), inhibant la surexpression induite par la DOX de la p53 et les kinases extracellulaires liées au signal (ERK) (Psotová et al., 2005), et augmentant les taux de kinase Akt régulant les voies apoptotiques MAPK (Chatterjee et al., 2008).

Les effets protecteurs des composés phénoliques contre l'apoptose des cardiomyocytes induite par la DOX ont également été étudiés de manière approfondie. La surproduction des ROS due à la toxicité du DOX augmente la teneur en Ca^{2+} cytosolique par l'ouverture du récepteur du ryanodine et la libération subséquente de Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique dans les cardiomyocytes. La teneur en Ca^{2+} mitochondrial augmente également au-delà d'un seuil après l'élévation du Ca^{2+} cytosolique, ces événements perturbent l'intégrité mitochondriale qui implique la chute du potentiel membranaire mitochondrial (MMP) et par conséquent, la libération de cytochrome c à partir de mitochondries ce qui déclenche l'activation des caspases protéases et la mort cellulaire subséquente. Il a été démontré que de nombreux composés phénoliques peuvent perturber cette voie à différents stades. Par exemple, l'eugénol (Figure 28) (Ojha et al., 2016).

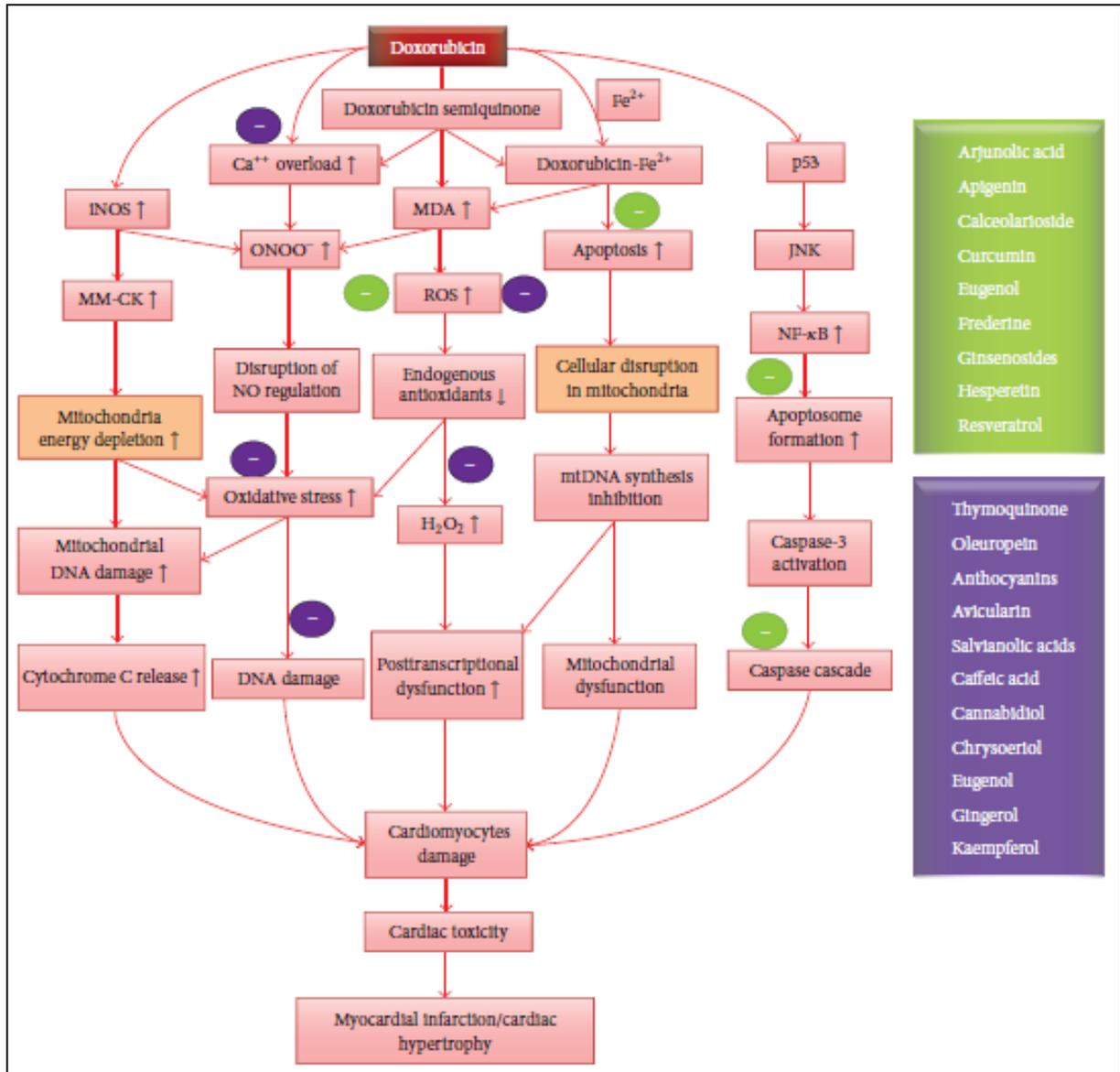


Figure 28 : Le rôle protecteur des composés phénoliques contre la toxicité induite par la doxorubicine (Ojha et al., 2016)

De nombreuses études ont suggéré que l'expression de p53 est impliquée dans l'activité protectrice des composés phénoliques. Les dommages causés par l'ADN, par les ROS ou directement par la DOX peuvent déclencher la protéine suppresseur de tumeur p53 pour induire le gène Bax et finalement pousser la voie intrinsèque d'apoptose. Certains composés phénoliques tels que l'isorhamnetine, le kaempferol et le resvératrol peuvent inhiber cette activation de p53 induite par la DOX. Le facteur de transcription NF-κB est un régulateur clé de l'apoptose, de l'inflammation et de la division cellulaire dans une variété de types de cellules. La DOX active le NF-κB dans les cardiomyocytes néonataux de rats et exerce une action proapoptotique par l'activation des gènes

FasL, Fas, c-Myc et p53 ainsi que des cytokines pro-inflammatoires. La curcumine, le plantainoside D et l'eugénol (figure 28) sont parmi les inhibiteurs de NF-kB. En outre, l'activité antiapoptotique dans les voies intrinsèque et extrinsèque est l'un des effets les plus étudiés des composés phénoliques qui inhibent les cascades de signalisation d'apoptose (Razavi-Azarkhiavi et al., 2016).

5.3. Autres mécanismes cardio protecteurs

A. Amélioration du profil lipidique plasmatique et réduction des taux de Triglycerides (TG) et de LDL: Barman et al. (2013) ont trouvé que l'extrait des feuilles d'*Urtica Parviflora* (400 mg / kg par jour pendant 3 semaines) abaissait significativement les taux plasmatiques de TG et de LDL chez les rats intoxiqués par la DOX. Des résultats similaires ont été rapportés avec les extraits chimiques de *Flacourtia indica* (Palani et al., 2013), *Curcuma longa* (Mohamad et al., 2009) et l'association polyherbal *Terminalia arjuna*, *Inula racemosa* and *Commiphora mukul* (lipistat) (Koti et al., 2009).

B. Modification de l'expression des gènes: Choi et al. (2008) ont constaté que le prétraitement de cellules musculaires cardiaques H9c2 exposées à la DOX avec 300 µg / mL d'extrait de *Schisandra fructus* induisait l'expression de l'enzyme cellulaire glutathion S-transférase (GST). Arafa et al (2014). Ont rapporté que le traitement des souris ayant reçu une injection de la DOX avec 20 mg / kg de resvératrol améliorait l'expression génique du TGF-B1.

C. Modulation intracellulaire du calcium et amélioration de la fonction contractile du ventricule gauche (VG): Liu et al. ont constaté que le traitement quotidien de souris intoxiquées par la DOX avec 100 mg / kg de saponines (extrait de *Panax notoginseng*) pendant 5 jours améliorait la contraction musculaire du VG en régulant l'influx de Ca^{+2} dans la cellule myocardique (Liu et al., 2008), Des résultats similaires ont été rapportés pour les saponines à des doses plus faibles (10-40 mg / kg) par Wang et al. (2015) Chez les patientes atteintes d'un cancer du sein. Le periplogénine (stéroïdes cardioactifs sous forme de glycoside), isolé de l'extrait d'*Aegle marmelos*, a montré une action chez des rats *Wistar albinos* intoxiqués par la DOX, augmentant les taux intracellulaires de Ca^{+2} et améliorant la contractilité myocardique (Panda et Kar, 2009; Abushouk et al., 2017).

D. Il a été prouvé que l'extrait de *Berberis vulgaris* (à raison de 50-200 mg / kg / jour) améliore la cardiotoxicité de la DOX en limitant sa transformation en doxorubicinol (un métabolite actif) dans le cytoplasme des cellules cardiaques du rat (Hao et al., 2015 ; Abushouk et al., 2017).

La deuxième partie : Etude expérimentale

I .Matériels et méthodes

1. L'extraction de la plante

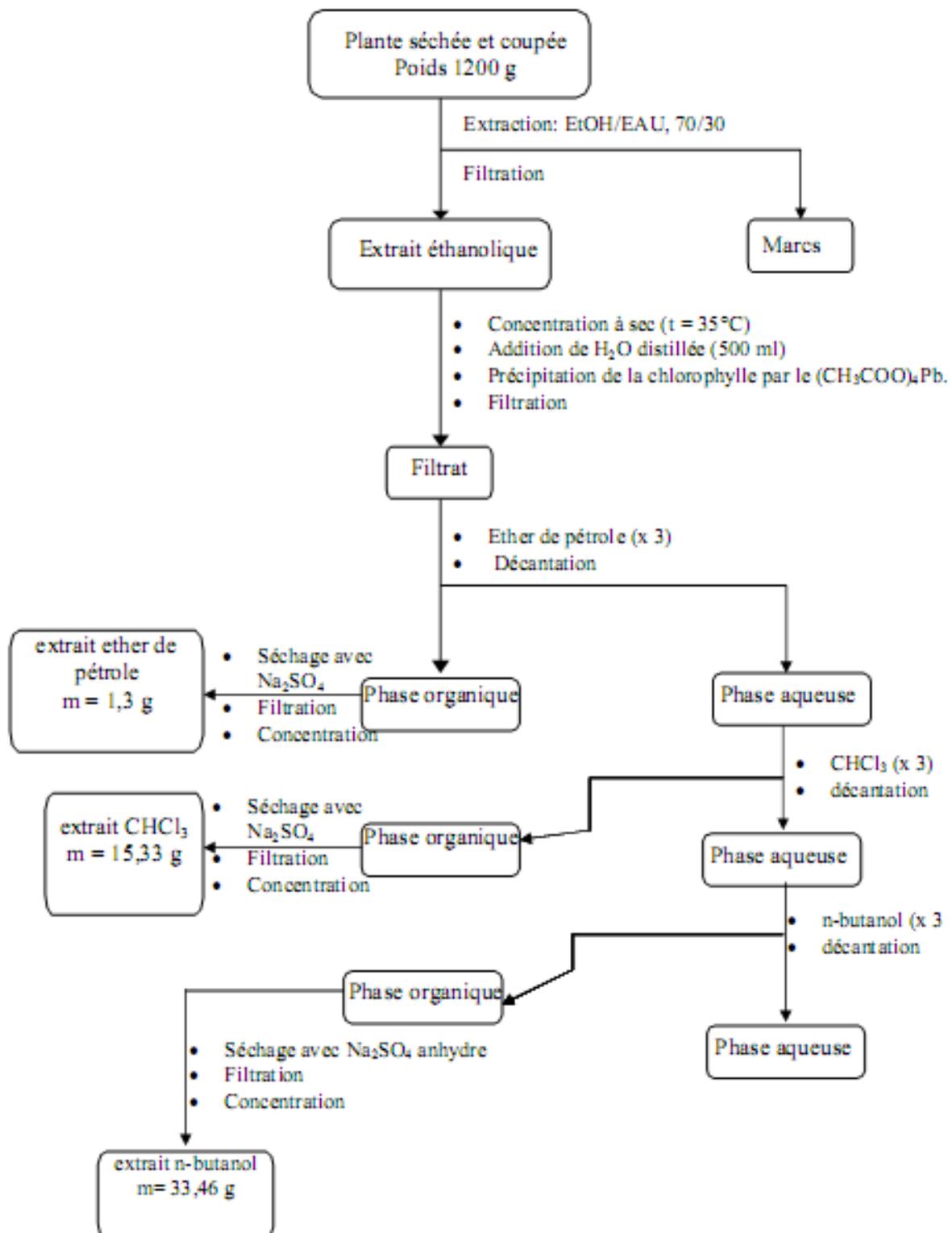
La plante a été récoltée au mois de mai dans la région Djemila de la wilaya de Sétif (Nord-Est de l'Algérie) et identifiée par Dr. Sari (université M'Sila).

1.1.Procédures de l'extraction de la plante

La matière végétale sèche obtenue (1200 g) est ensuite broyée puis mise à macérer dans l'éthanol 70% (1 L) à température ambiante pendant 24 heures. Après filtration, la macération est répétée 2 autres fois sur le marc avec renouvellement du solvant. Les filtrats sont rassemblés, puis concentrés (non à sec) sous pression réduite à une température n'excédant pas 35°C. L'extrait obtenu est additionné d'eau distillée puis traité par le tétra acétate de plomb $(\text{CH}_3\text{COO})_4 \text{Pb}$, sous agitation magnétique pendant quelques heures, pour précipiter la chlorophylle.

Après filtration, la solution obtenue est soumise à des affrontements successifs à l'aide de solvants de polarité croissante en commençant par l'éther de pétrole, puis le chloroforme, ensuite le *n*-butanol. Les trois phases organiques sont séchées au sulfate de sodium (Na_2SO_4), filtrées puis concentrées sous pression réduite (35°C environ). Cette extraction permet d'obtenir des extraits secs pateux: ether de pétrole (1.3g), CHCl_3 (15.33 g) et *n*-BuOH (33.46 g).

Le processus de l'extraction est résumé sur le schéma 1.

Schéma 1: Récapitulatif de l'extraction de *Genista* sp.

2. Modèle expérimental *in vitro*

2.1. Dosage des polyphénols totaux

L'extrait *n*-butanol est solubilisé dans le méthanol à une concentration de 1 mg/mL pour le dosage des polyphénols totaux. Le taux de polyphénols totaux est déterminé par spectrophotométrie en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Le dosage de ces polyphénols est réalisé selon la méthode décrite par Singleton et al. 1999.

La concentration des composés phénoliques totaux dans l'extrait a été déterminée en µg d'équivalents d'acide gallique (GAE) par mg d'extrait à l'aide d'une équation obtenue à partir d'une droite d'étalonnage d'acide gallique.

2.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Le teneur total en flavonoïdes a été estimé selon la méthode décrite par Wang et al. 2008. Le teneur totale en flavonoïdes est calculé en µg d'équivalents de quercétine (QE) pour 1 mg d'extrait à l'aide d'une équation obtenue à partir d'une droite d'étalonnage de la quercétine (standard).

2.3. Test de piégeage du radical libre DPPH

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. En présence de composés antiradicalaires, il est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon. Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger ce radical. Le pourcentage de piégeage du radical (I%) est calculé selon l'équation suivante :

$$I\% = [(A1 - A2)/A1] \times 100$$

A1: absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

A2: absorbance en présence d'extrait.

L'effet de l'extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par Braca et al. 2001.

Calcul des concentrations inhibitrice à 50 % « IC₅₀ » :

L'IC₅₀ (inhibitory concentration 50%) permet de calculer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % des radicaux DPPH. Elle est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'extrait et le standard (Vitamine C).

3. Modèle expérimental *in vivo*

3.1. Animaux et conditions d'hébergement

Notre étude expérimentale a porté sur des rats mâles adultes de souche *Wistar albinos*, pesant 200 g - 250 g, acclimatées à une température ambiante. Les rats ont eu un régime standard de laboratoire et l'eau est donnée *ad libitum*.

3.2. Toxicité aigüe par la Doxorubicine

Une toxicité expérimentale est induite par la doxorubicine à raison de 15 mg/kg. Les rats sont répartis en 5 lots expérimentaux à raison de 7 rats par lot:

- témoins (contrôle)
- traités par, la doxorubicine (DOX) par injection intrapéritonéale (1dose) à raison de 15 mg/kg
- traités par l'extrait par gavage à raison de 100 mg/kg dissous dans l'eau distillée pendant 10 jours.
- traités par l'extrait et la doxorubicine (Ext+DOX) à raison de 15 mg/kg le 8^{ème} jour.
- traités par la vitamine E par gavage à raison de 100 mg/kg dissous dans l'eau distillée pendant 10 jours et par la doxorubicine (VitE+DOX) à raison de 15 mg/kg le 8^{ème} jour.

3.3. Dosages des paramètres biochimiques

Les taux plasmatiques du cholestérol, HDL, LDL et des triglycérides sont estimés en utilisant les kits BIOMAGHREB. Les activités plasmatiques des enzymes ASAT, ALAT, LDH et CPK ont été mesurées en utilisant des kits SPINREACT.

3.4. Étude anatomopathologique

Certains cœurs de chaque groupe ont été introduits dans le formol 10 % pour l'étude anatomopathologique. Ces cœurs ont été fixés à la paraffine, coupés en fines tranches par un microtome, puis colorés à l'hématoxyline-éosine pour être visualisées au microscope optique. L'évaluation histopathologique a été faite par un pathologiste expert.

3.5. Mesure des paramètres du stress oxydant

3.5.1. Peroxydation lipidique (LPO)

Le malondialdéhyde (MDA) est un marqueur de la peroxydation lipidique, il a été mesuré par la méthode d'Uchiyama et Mihara, 1978, à partir d'homogénats de cœurs par le TBARS assay. Le dosage des TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances) est basé sur la réaction du MDA avec le TBA (acide thiobarbiturique), sous conditions de haute température et d'acidité. Le complexe de couleur rouge MDA-TBA formé a été mesuré par colorimétrie. L'homogénats des cœurs ou du standard ont été ajoutés à la solution contenant le TBA (0.67%) et l'acide phosphorique (1%). Le mélange réactionnel a été incubé pendant 45 min à 100 °C. Après l'incubation, les échantillons et les standards ont été refroidis pendant 10 min afin d'arrêter la réaction et 4 ml of n-butanol ont été ajoutés. Puis, une centrifugation a été effectuée à 3000 rpm pendant 20 min. Ensuite, l'absorbance du surnageant soit mesurée à 532 nm et le niveau de MDA exprimé en nmol/g tissue.

3.5.2. Dosage de glutathion cardiaque

Le dosage du glutathion cardiaque (GSH) est déterminé par la méthode colorimétrique d'Ellman, 1959. Le principe est basé sur la réaction d'oxydation du GSH par l'acide 5, 5'- dithiobis 2-nitrobenzoïque (DTNB) libérant ainsi l'acide thionitrobenzoïque (TNB) absorbant à 412 nm. Pour ce dosage, le foie est homogénéisé dans cinq volumes de TCA 5% puis centrifugé à 2000 rpm. 200 µl de surnageant sont dilués dans 1,8 ml de tampon phosphate (0.1 M, pH 8). À 2 ml du mélange de dilution, 100µl de DTNB (0.01M) sont additionnés. L'absorbance est lue à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le TCA 5 %. Les concentrations sont exprimées en n mol/gr de cœur.

3.5.3. Glutathion peroxydase (GPX)

L'activité de la GPx est mesurée par la technique de Flock et Gunzler, 1984 modifiée, utilisant le H₂O₂ comme substrat. La formation de GSH peut être détectée indirectement grâce à l'ajout de l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB). Le groupe sulfhydryl (-SH) du glutathion réagit spontanément avec le DTNB et forme un composé jaune, l'acide 5-thio-2-nitrobenzoïque (TNB).

La glutathion réductase catalyse la réaction suivante :



La formation de GSH peut être détecté indirectement grâce à l'ajout de l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB)



Pour un dosage spectrophotométrique on mélange 200 μ l de l'homogénat du cœur, 200 μ l tampon TBS (100mM), 400 μ l GSH (0,1 mM) et 200 μ l H₂O₂ (1,3 mM). On les incube ensuite pendant 5 min à 25°C puis on ajoute 1 ml TCA 1 %. Le mélange est ensuite centrifugé pendant 5 min à 1500g. 480 μ l du surnageant est récupéré et on lui ajoute 2.2 ml tampon phosphate et 320 μ l DTNB (1 mM). Ensuite on note l'absorbance mesuré après 5 min.

Le dosage des protéines dans l'homogénat est réalisé par la méthode de Lowry, 1951.

4. Évaluation statistique

Les résultats sont donnés sous forme de moyennes \pm écart-types, et analysés par le test de Student. Les valeurs de $p < 0,05$ ont été considérés comme significatifs

II. Résultats

1. Rendements d'extraction

L'extraction des flavonoïdes montre que l'extrait *n*-butanol de *Genista sp* représente le rendement le plus élevé (27,88 %), suivi de l'extrait chloroformique (12,77 %). Le rendement le plus faible est obtenu par l'extrait Ether de pétrole (1,08%) (Tableau 1).

Tableau 1 : Rendement des extraits

Matériel végétal	Extrait	Masse (g)	Rendement
Feuilles sèche (1200 g)	Ether de pétrole	1, 3	1,08 %
	Chloroforme	15,33	12,77 %
	<i>n</i> -Butanol	33,46	27,88 %

2. Dosage des composés phénoliques et flavonoïdes totaux

Les résultats obtenus montrent la richesse de l'extrait *n*-butanol de *Genista sp* en polyphénols et en flavonoïdes dont la teneur représente $586 \pm 33,80$ μg d'équivalents d'acide gallique/mg d'extrait et $27,15 \pm 0,61$ μg d'équivalents de quercétine /mg d'extrait respectivement.

3. Piégeage du radical libre DPPH

Le radical DPPH a été largement utilisé pour l'étude de l'activité antiradicalaire des différents extraits végétaux. Le composé 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. La réduction de ce radical s'accompagne par son passage de la couleur violette caractéristique de la solution de DPPH à la couleur jaune mesurable par spectrophotométrie à 514-518 nm. La mesure de l'absorbance a été effectuée par spectrophotométrie à 515 nm. À partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition en utilisant la formule citée plus haut. Les valeurs obtenues ont permis de tracer les courbes représentées sur la Figure 29, qui montrent la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de notre extrait. Nous avons déterminé graphiquement la concentration correspondant à 50 % d'inhibition (IC₅₀).

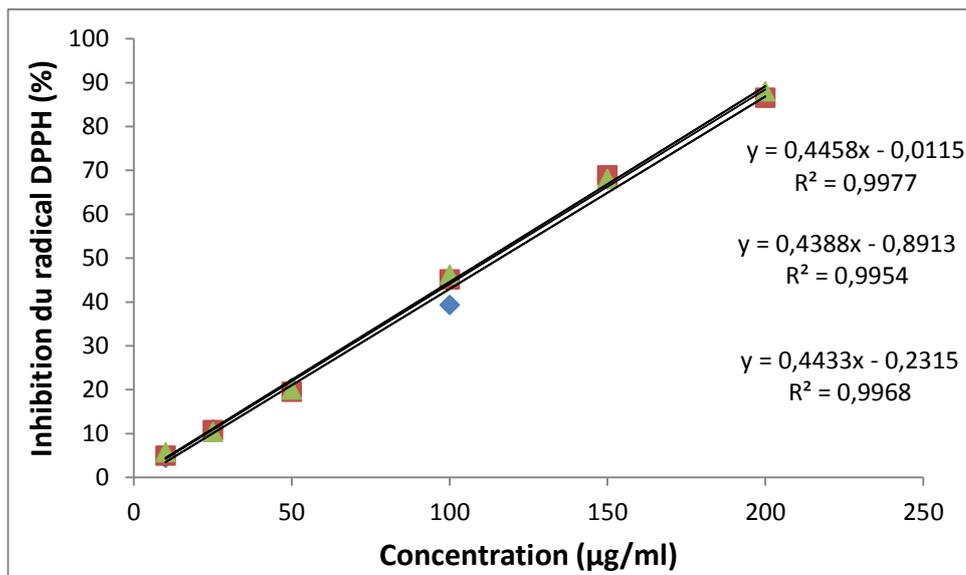


Figure 29 : Pourcentage de l'activité antiradicalaire de l'extrait *n*-butanol de *Genista sp* vis-à-vis du radical libre DPPH.

En comparant les IC_{50} de l'extrait testé ($113,99 \pm 1,90 \mu\text{g/mL}$) par rapport à celle de la vitamine C ($5 \pm 0,10 \mu\text{g/mL}$), nous remarquons que l'activité antiradicalaire de l'extrait est inférieure à la capacité du piégeage du radical DPPH \bullet de la substance de référence.

4. Influence du traitement sur la fonction hépatique et cardiaque

Nos résultats ont révélé une augmentation significative ($P < 0,05$) de l'activité enzymatique de l'ALAT, l'ASAT, la CPK et la LDH chez les rats traités par la DOX (15 mg/kg) en comparaison avec les rats témoins (Figure 30).

Chez le groupe traité par l'extrait et la DOX, nous avons constaté une diminution significative du taux sérique d'ASAT, ALAT, CPK et LDH. L'administration de l'extrait *n*-butanol de *Genista sp* temporelise l'effet de la DOX et normalise uniquement la valeur de l'ASAT et de la LDH contre le groupe traité par la DOX. Les mêmes remarques pour le groupe traité par la vitamine E et la DOX (Figure 30). En conséquence, nos études biochimiques ont prouvé que la DOX a causé une cardiotoxicité qui a été empêchée par l'extrait butanolique et par la vitamine E.

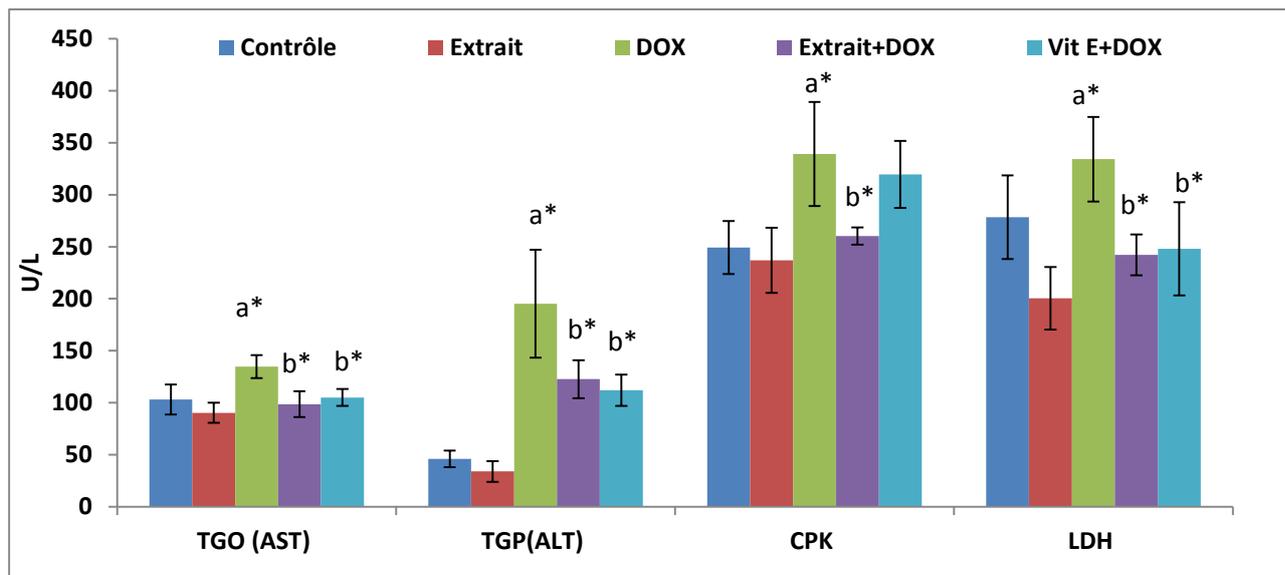


Figure 30 : Effet de la DOX, la vitamine E et de l'extrait *n*-butanol de *Genista sp* sur les taux sériques des enzymes ASAT, ALAT, CPK et LDH. Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. a : comparativement au groupe témoin. b : comparativement au groupe traité par la DOX. Test *t* student : * $p < 0,05$

5. Influence du traitement sur le profil lipidique

L'exposition des rats au DOX à 15 mg/kg du poids corporel provoque une augmentation significative des triglycérides, du cholestérol et des LDL ($P < 0,05$) et une augmentation non significative du HDL en comparaison avec les rats témoins.

Les résultats obtenus montrent aussi une diminution significative du cholestérol ($P < 0,05$), des triglycérides et des LDL chez le groupe traité par la DOX et l'extrait *n*-butanol de *Genista sp* ou la vitamine E (Figure 31).

6. Effet protecteur de l'extrait *n*-butanol vis à vis la peroxydation lipidique

L'effet de la doxorubicine sur la peroxydation des lipides est illustré par la figure 32. La peroxydation lipidique est matérialisée par une augmentation significative du MDA ($p < 0,01$), comparé au groupe témoin. Le prétraitement par l'extrait et la vitamine E a diminué l'oxydation des lipides membranaires chez les rats traité par la DOX.

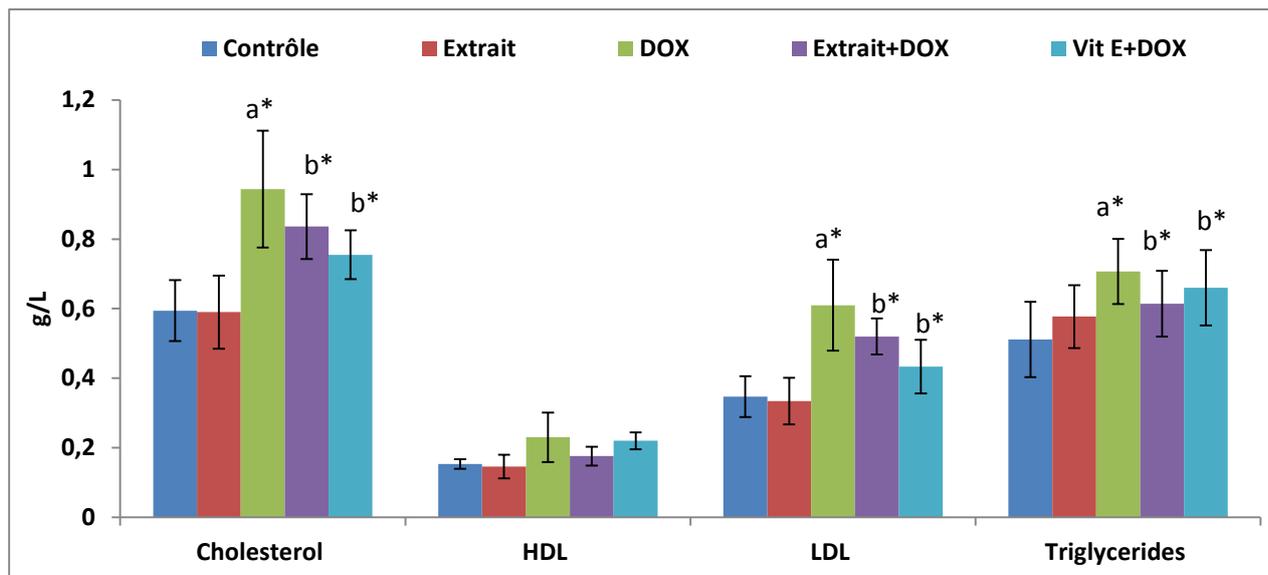


Figure 31 : Effet de la DOX, de la vitamine E et de l'extrait *n*-butanol de *Genista sp* sur les taux sériques de cholestérol, LDL, HDL et des triglycérides. Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. a : comparativement au groupe témoin. b : comparativement au groupe traité par la DOX. Test *t* student : * $p < 0,05$

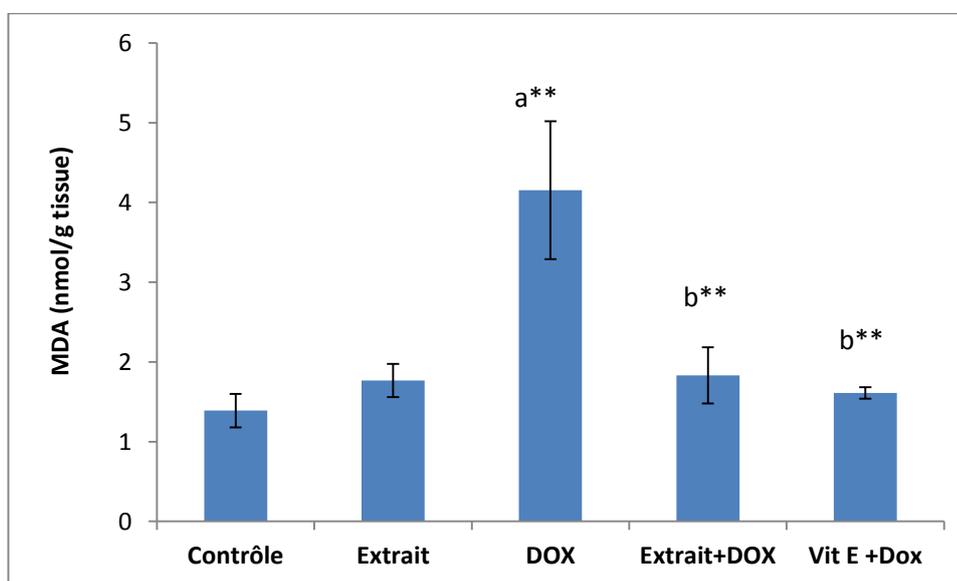


Figure 32 : Effet de l'extrait *n*-butanol, la vitamine E et la DOX sur la production du MDA dans Les cellules cardiaque. Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. Test de student : ** $p < 0.01$; a : comparativement au groupe témoin b : comparativement au groupe traité par la DOX.

7. Effet de l'extrait *n*-butanol, la vitamine E et la DOX sur le niveau de GSH cardiaque

La figure 33 illustre l'effet de l'extrait sur la variation de glutathion (GSH) dans les cellules cardiaque chez les rats recevant la doxorubicine, prétraités ou non par l'extrait butanolique. Nous avons remarqué une diminution très hautement significative ($p < 0.01$) de GSH chez les rats recevant la doxorubicine par rapport au groupe témoin. Par contre, chez les rats recevant la doxorubicine et traités par l'extrait on constate une élévation significative ($p < 0.05$) de GSH par rapport au groupe recevant la doxorubicine.

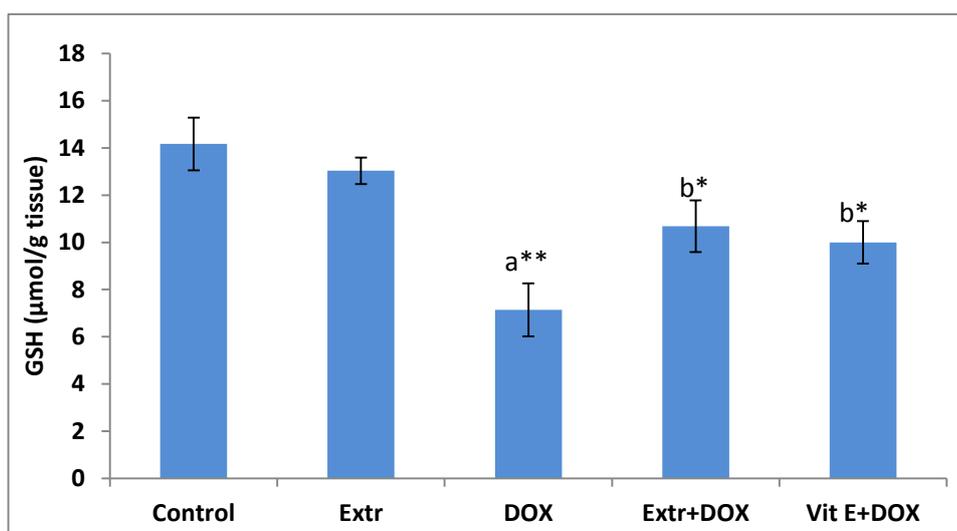


Figure 33 : Effet de l'extrait *n*-butanol, la vitamine E et la DOX sur la variation de glutathion (GSH) dans Les cellules cardiaque. Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. Test de student : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. a : comparativement au groupe témoin. b : comparativement au groupe traité par la DOX.

8. Effet de l'extrait *n*-butanol, la vitamine E et la DOX sur l'activité de la GPx cardiaque

La figure 34 montre que l'administration de la doxorubicine provoque une diminution significative ($p < 0.05$) de l'activité de la GPx chez les rats traités par la doxorubicine comparés au groupe normal. Par ailleurs, le traitement des animaux par l'extrait (100 mg/kg) et la vitamine E associés avec la doxorubicine, a augmenté la teneur cellulaire en ce facteur antioxydant dans le cœur.

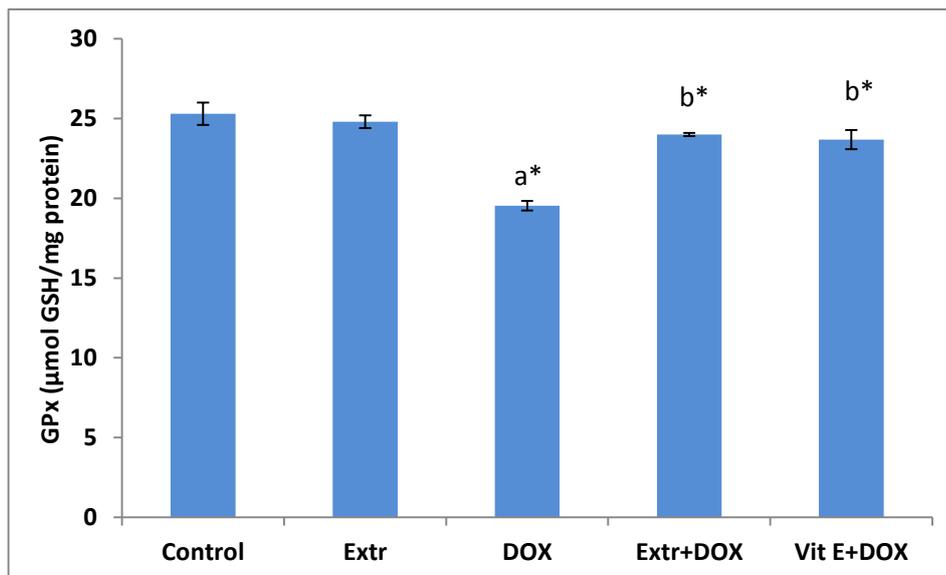


Figure 34 : Effet de l'extrait *n*-butanol, la vitamine E et la DOX sur l'activité de la glutathion peroxidase (GPx) dans Les cellules cardiaque. Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. Test de student : * $p < 0.05$. a : comparativement au groupe témoin. b : comparativement au groupe traité par la DOX.

9. Examen histopathologique du tissu cardiaque

Chez les rats traités par la DOX seule, le tissu du myocarde apparaît fortement endommagé par comparaison à l'histologie du myocarde du lot témoin. La DOX induit une perte sévère de l'architecture cardiaque (congestion, nécrose et inflammation). Les modifications pathologiques induites par la DOX ont été nettement améliorées dans les groupes traités avec *Genista* sp et la vitamine E (tableau 4). L'architecture du cœur est conservée chez 70% des animaux traités avec 100 mg / kg de l'extrait *n*-butanol de *Genista* sp et de la vitamine E.

Tableau 4: effet protecteur de l'extrait *n*-butanol de *Genista* sp et de la vitamine E vis avis les changements histopathologiques induite par la DOX chez les rats.

Changements histopathologiques	Contrôle	Extrait	DOX	Extr+DOX	Vit E+DOX
Congestion	-	+/-	+++	+	+
Nécrose	-	-	+++	+	+
Inflammation	-	-	+++	+	+

(-): pas de changement histopathologique significatif; (+/-): degré léger; (+): degré modéré; (+++): degré sévère

III. Discussion

La doxorubicine (DOX), appartenant à la famille des anthracyclines, est l'un des agents chimiothérapeutiques le plus utilisé dans le traitement d'une variété de tumeurs, mais son utilisation clinique est limitée par des effets secondaires cardiotoxiques sévères. Le mécanisme de la cardiotoxicité est attribué à la génération de radicaux libres au cours d'une réaction redox entre la forme quinone de la DOX et sa forme semi-quinone qui auraient un potentiel délétère au niveau des cardiomyocytes du fait de leur faible capacité antioxydante. De nombreuses molécules antioxydantes ont été proposées comme protectrices de la cardiotoxicité induite par la DOX (Injac et Strukelj, 2008). Dans ce contexte s'inscrit notre travail qui a été consacré à l'étude de l'effet antioxydant et cardioprotecteur des polyphénols d'une plante endémique (*Genista Sp*) vis-à-vis la cardiotoxicité induite par la DOX. Deux voies de recherche ont été développées au même temps afin de lutter contre cette cardiotoxicité : l'une ayant comme objectif de prévenir son apparition et l'autre ayant pour but de traiter cette cardiotoxicité.

L'activité sérique des enzymes CPK, LDH, AST et ALT est souvent utilisée comme marqueur de lésions cardiovasculaires. Selon des articles publiés antérieurement, de multiples augmentations des niveaux de CPK et LDH dans le sérum ont été observées comme résultat d'un stress oxydatif provenant de la toxicité induite par la DOX (Dobriæ et al., 1998 ; Yin et al., 1998 ; Kimura et al., 2000). Notre étude menée sur des rats mâles de souche *Wistar albinos*, a révélé que l'administration d'une dose unique de la DOX (15 mg/kg) a provoqué une augmentation significative de l'activité des enzymes hépatiques et cardiaques dans le sang (ALAT, ASAT, LDH et CPK) qui peut être due à des lésions tissulaires dans le cœur ou en raison des modifications de la perméabilité de la membrane cellulaire (Ahmed et Urooj, 2012). En outre, l'ALAT, l'ASAT et la LDH sont les biomarqueurs les plus sensibles, directement impliqués dans l'étendue des dommages cellulaires et de la toxicité, car ils sont cytoplasmiques et libérés dans la circulation après l'atteinte cellulaire. Ces résultats sont en accord avec les résultats de Jambhulkar et al. (2014) et Al-Syaad et Ibrahim (2014). Les animaux protégés par 100 mg / kg de l'extrait présentaient des niveaux presque physiologiques d'activité enzymatique (CPK, LDH, AST et ALT).

Il est admis qu'il existe une corrélation entre la cardiotoxicité de la DOX et le stress oxydant. Ce dernier semble jouer un rôle primordial dans l'apparition des effets secondaires cardiotoxiques sévères. Aujourd'hui, les plantes cardioprotectrices ont pris un grand intérêt comme

source énorme d'antioxydants. Des études menées sur les plantes à effet cardioprotecteur, ont révélé que certaines possèdent des propriétés anti-oxydantes, donnant ainsi l'espoir de prévenir les effets secondaires de la DOX (Abushouk et al., 2017). Dans ce cadre, les antioxydants enzymatiques (GPx) et non enzymatiques (GSH) et un marqueur du stress oxydatif (LPO) ont été dosés dans les cœurs des rats traités pendant 10 jours avec l'extrait *n*-butanol en vue d'évaluer le pouvoir antioxydant de ce dernier.

La peroxydation lipidique est la dégradation oxydative des lipides membranaires en présence des radicaux libres oxydants, et les TBARS, produits de cette peroxydation lipidique, sont utilisés comme marqueurs pour en évaluer l'intensité (Kamalakkanan et Prince, 2004). Dans notre étude, l'intoxication des rats par la DOX induit une élévation des taux de TBARS au niveau cardiaque, confirmant des dommages oxydatifs aboutissant à des altérations membranaires.

Des publications antérieures ont examiné l'activité biologique des extraits des plantes de genre *Genista* pour montrer son potentiel antioxydant par la mesure de l'intensité de la peroxydation des lipides *in vivo* (Popa et al., 2014) et *in vitro* (Boubekri et al., 2014). Les différents extraits de *Genista quadriflora* et *Genista tinctoria* ont réduit la peroxydation lipidique induite *in vivo* par le bisphénol A et *in vitro* par le FeSO₄ respectivement (Popa et al., 2014; Boubekri et al., 2014). Dans nos expériences, l'intensité de la peroxydation lipidique était significativement plus élevée dans les groupes traités uniquement avec la DOX deux jours après le traitement par la DOX. Notre extrait a aboli l'effet toxique de la DOX et maintenu la peroxydation lipidique à un niveau basal. Appliquée seule, la dose de 100 mg / kg n'a causé aucune altération du taux de TBARS.

L'augmentation significative ($p < 0,01$) de l'activité de la GPx dans le cœur des rats prétraité par l'extrait *n*-butanol, comparativement aux rats traités par la DOX (Figures 34) témoigne d'une suppression ou inhibition du stress oxydatif induit par la DOX. La baisse de l'activité de cet enzyme chez les rats traité par la DOX est le signe d'une atteinte oxydative (Anghel et al., 2018). En d'autres termes, l'extrait *n*-butanol contient des substances antioxydantes qui neutralisent les espèces réactives de l'oxygène, empêchant ainsi l'inactivation ou la destruction de la GPx et, donc, favorisant la protection du cœur contre tout dommage tissulaire induit par ces composés réactifs. Des résultats similaires ont été obtenus par Seema et al. 2018 et Rocha et al., 2018.

Le glutathion réduit (GSH), constitue la première ligne de défense antiradicalaire (C'est un piègeur direct des radicaux libres, un co-substrat nécessaire pour l'activité de GPx et de GST et participe dans la régénération de la vitamine E oxydée). C'est l'agent détoxifiant le plus efficace de l'organisme (Haleng et *al.*, 2007). Sa diminution significative ($p < 0,01$) chez les rats traité par la DOX (Figure 33) témoigne d'un épuisement de GSH dû à une production élevée des espèces réactives de l'oxygène, et donc d'un faible pouvoir de défense du système antiradicalaire. L'augmentation significative ($p < 0,01$) des taux de GSH cardiaque chez les rats prétraités avec l'extrait *n*-butanol suggère que l'extrait améliore les performances antioxydantes de l'organisme. Des résultats semblables ont été obtenus avec les extraits d'*Angelica sinensis* (Xin et *al.*, 2007), *Prunella vulgaris* (Psotová et *al.*, 2005), *Salvia miltiorrhiza* (Youet *al.*, 2007), *Camellia sinensis* (Nagai et *al.*, 2013), *Phyllanthus urinaria* (Chularojmontri et *al.*, 2005) et *Centella asiatica* (Gnanapragasam et *al.*, 2007)

La doxorubicine peut également induire une cardiotoxicité en modifiant le métabolisme des lipides. Des études antérieures ont montré que le traitement par la DOX augmente le cholestérol total (TC), les triglycérides (TG) et les lipoprotéines de basse densité (LDL), suggérant que la DOX peut interférer avec la biosynthèse des lipides (inhibiteurs de la lipoprotéine lipase) (Thayer, 1985).

L'exposition des rats au DOX à 15 mg/kg du poids corporel provoque une augmentation significative des triglycérides, du cholestérol et des LDL ($P < 0,05$) en comparaison avec les rats témoins. Ces résultats sont en accord avec les travaux d'Iliskovic et al. (1997) et Hong et al. (2002). Les résultats obtenus montrent aussi une diminution significative du cholestérol ($P < 0,05$), des triglycérides et des LDL chez le groupe traité par la DOX et l'extrait *n*-butanol ou la vitamine E (figure 31). Ce résultat est confirmé par l'étude d'Olaleye et al. (2013).

Dans la présente étude, la capacité de l'extrait végétale de moduler le profil lipidique chez les rats recevant la doxorubicine représente un bon signal de cardioprotection, prise en considération le rôle qui joue l'hyperlipidémie dans l'étiologie et la progression de nombreuses maladies cardiovasculaires. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Subashini et al. (2007).

Conclusion

Conclusion

Le traitement des rats par la doxorubicine a provoqué:

- ✓ Une augmentation significative de la peroxydation lipidique ainsi qu'une diminution significative du taux de GSH et de l'activité de GPx.
- ✓ Des changements notables des paramètres biochimiques caractérisés surtout par une élévation des triglycérides, du cholestérol et des LDL. Aussi bien on a constaté une augmentation de l'activité des aminotransferase (AST, ALT), la LDH et la CPK qui sont libérés par les cellules cardiaques lésées une fois que leurs membranes perforées.
- ✓ Des altérations tissulaires.

Le prétraitement des rats par l'extrait butanolique de la plante *Genista* sp a permis de :

- ✓ Améliorer les paramètres antioxydants et les paramètres biochimiques.
- ✓ Réduire le pourcentage des changements morphologiques provoqué par la DOX.

Les tests *in vitro* et *in vivo* montre que :

- ✓ l'extrait *n*-butanol de la plante *Genista* sp révèle des propriétés antioxydantes intéressantes dues à la présence d'un contenu élevé des polyphénols et flavonoïdes.

Références

- Abdel-aleem S, El-Merzabani M, El-Merzabani, Sayed-Ahmed M, et al., Acute and chronic effects of adriamycin on fatty acid oxidation in isolated cardiac myocytes, *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1997 20:789–797.
- Abraham SA1, Waterhouse DN, Mayer LD, Cullis PR, Madden TD, Bally MB. The liposomal formulation of doxorubicin. *Methods Enzymol.* 2005 391:71-97.
- Abushouk AI, Ismail A, Salem AMA, Afifi AM, Abdel-Daim MM. Cardioprotective mechanisms of phytochemicals against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Biomed Pharmacother.* 2017 90:935-946.
- Ahmed, F, Urooj, A. Cardioprotective activity of standardized extract of *Ficus racemosa* stem bark against doxorubicin-induced toxicity. *Pharmaceutical Biology.* 2012 50: 468–473.
- Alkreathy H.M, Damanhoury Z.A. Ahmed N, et al., Mechanisms of cardioprotective effect of aged garlic extract against doxorubicin-induced cardiotoxicity, *Integr. Cancer Ther* 2012 11:364–370.
- Alkurd A, Hamed TR, Al-Sayyed H. Tannin contents of selected plants used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 2008 4, 265 – 274.
- Allen RG, Tresini M. Oxidative stress and gene regulation. *Free Radic Biol Med.* 2000 (3):463-99.
- Allouche M A. Validation fonctionnelle d'approches nutritionnelles à allégation «Bien vieillir», Capable de prévenir le vieillissement cérébral et les maladies neurodégénératives. These de doctorat .Université de LORRAINE. 2012 P:129.
- Al-Syaad K, Ibrahim E H. The protective effects of the aqueous extract of saliva against biochemical and histopathological changes in kidney and liver of male rats treated with the anticancer drug doxorubicin. 2014 *RJPBCS* 5(6) : 237-245.
- Ambriz-Pérez DL, Leyva-López N, Gutierrez-Grijalva EP, Heredia JB. Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. *Cogent. Food Agric.* 2016, 2 : 1131412.
- Anghel N, Herman H, Balta C, Rosu M, Stan MS, Nita D, Ivan A, Galajda Z, Ardelean A, Dinischiotu A, Hermenean A. Acute cardiotoxicity induced by doxorubicin in right ventricle is associated with increase of oxidative stress and apoptosis in rats. *Histol Histopathol.* 2018 33(4):365-378.
- Arafa M.H, Mohammad N.S, Atteia H.H. Abd-Elaziz, H.R. Protective effect of resveratrol against doxorubicin-induced cardiac toxicity and fibrosis in male experimental rats, *J. Physiol. Biochem.* 2014 70:701–711.
- Arcamone F, Cassinelli G, Fantini G, Grein A, Orezzi P, Pol C, Spalla C. Adriamycin, 14-hydroxydaimomycin, a new antitumor antibiotic from *S. peuceetius* var. *caesius*. *Biotechnol. Bioeng.* 1969 11: 1101–1110.
- Bakker M, van der Graaf WTA, Groen H J M, Smit E F, de Vries E E.G. Anthracyclines - Pharmacology and resistance, a review. *Current Pharmaceutical Design.* 1995 1(1):133-144

- Barman N.R, Kar P.K., Hazam P.K, et al., Cardioprotective effect of *Urtica parviflora* leaf extract against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats, *Chin. J. Nat. Med.*2013 11 :38–42.
- Barry E, Alvarez J, Scully R, Miller T, Anthracycline-induced cardiotoxicity: course, pathophysiology, prevention and management, *Expert Opin. Pharmacother.* 2007 8:1039–1058.
- Bessas A. Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien. Université Djillali Liabes –Sidi Bel Abbès. 2008 P37,40.
- Boige V., Malka D., Ducreux M. Quel est l'impact des anomalies biologiques hépatiques sur la pharmacocinétique et la tolérance des médicaments cytotoxiques ? - septembre-octobre *La Lettre du Cancérologue.* 2003 XII(5): 177-186.
- Boizot N, Charpentier J-P. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 2006 79-82.
- Boubekri C. Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de doctorat Université Mohamed Khider – Biskra 2014 p 24 25 29.
- Boubekri N, Belloum Z, Boukaabache R, Amrani A, Kahoul N, Hamama W, Zama D, Boumaza O, Bouriche H, Benayache F, Benayache S. In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of *Genista quadriflora* Munby extracts. *Der Pharmacia Lettre*, 2014: 6 1 1-7.
- Boubekri N, Boukaabache R, Amrani A, Belfarhi L, Zama D, Boumaza O, Benayache F, Benayache S. Hepatoprotective effect of *Genista quadriflora* munby extract against ethanol induced toxicity. *Asian J Pharm Clin Res*, 2014: 7(1):226-229.
- Boutaghane N, Alabdul Magid A, Abedini A, Cafolla A, Djeghim H1, Gangloff, SCVoutquenne-Nazabadioko L, Kabouche Z. Chemical constituents of *Genista numidica* Spach aerial parts and their antimicrobial, antioxidant and antityrosinase activities. *Nat Prod Res.* 2018 : 15 1-7.
- Braca A, De Tommasi N, Di Bari L, Pizza C, Politi M, Morelli Antioxidant principles from *Bauhinia terapotensis*. *J. Nat. Prod I* 2001; 64:892-895.
- Bruneton J. Acides phénols. In: *Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales.* Ed : Lavoisier, Paris. 2009 pp 198-260.
- Cao Y, Ruan Y, Shen T. Shen, et al., Astragalus polysaccharide suppresses doxorubicin-induced cardiotoxicity by regulating the PI3k/Akt and p38MAPK pathways, *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2014: 674219.
- Carvalho C, Santos R.X, Cardoso S, et al., Doxorubicin: the good, the bad and the ugly effect, *Curr. Med. Chem.* 2009 16: 3267–3285.
- Chang W.T, Li J, Haung H.-H, et al., Baicalein protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity by attenuation of mitochondrial oxidant injury and JNK activation, *J. Cell. Biochem.*20011 112 :2873–2881.
- Chang W.T, Li J, Haung H.H, et al., Baicalein protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity by attenuation of mitochondrial oxidant injury and JNK activation, *J. Cell. Biochem.* 2011 112: 2873–2881.

- Chavalle T. Contribution à l'étude de la pharmacocinétique et de la tolérance de la doxorubicine chez le chien. Université Claude Bernard (Lyon)., VetAgro Sup. 2017. P180
- Chen B, Peng X, Pentassuglia L, et al., Molecular and cellular mechanisms of anthracycline cardiotoxicity, *Cardiovasc. Toxicol.* 2007 7 :114–121.
- Choi E.H, Lee N, Kim H.J, et al., Schisandra fructus extract ameliorates doxorubicin-induced cytotoxicity in cardiomyocytes: altered gene expression for detoxification enzymes, *Genes Nutr.*2008 2: 337–345.
- Choi H.J, Seon M.R, Lim S.S,et al., Hexane/ethanol extract of *Glycyrrhiza uralensis* licorice suppresses doxorubicin-induced apoptosis in H9c2 rat cardiac myoblasts, *Exp. Biol. Med.* (Maywood, NJ) 2008 233 :1554–1560.
- Chularojmontri L, Wattanapitayakul S.K, Herunsalee A, et al., Antioxidative and cardioprotective effects of *Phyllanthus urinaria* L. on doxorubicin-induced cardiotoxicity, *Biol. Pharm. Bull.* 2005 ; 28: 1165–1171.
- Cuendet M, Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : « *Fagraea blumei* » (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude : « *Bartsia alpina* » (Scrophulariaceae), « *Loiseleuria procumbens* » (Ericaceae) et Camp, Thèse de doctorat 1999, p 24.
- Dai J, Mumper R J. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecule.* 2010;15(10):7313-52.
- Dangles O, Dufour C, Manach C, Morand C, Remesy C. Liaison des flavonoïdes aux protéines plasmatiques. *Méthodes Enzymol.* 2001 335 : 319-333.
- D'Archivio M, C Filesi, RD Benedetto, R Gargiulo, C Giovannini, Masella R. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanità* 2007 43:348–361.
- Dobriæ S, Dragojeviæ Simiæ V, Bokonjiæ D, Milovanoviæ S, Marinèiæ D, Joviæ P. The efficacy of selenium WR-2721, and their combination in the prevention of adriamycin-induced cardiotoxicity in rats. *J Environ Pa-thol Toxicol Oncol*, 1998 17:291–299.
- Doroshov J.H. Effect of anthracycline antibiotics on oxygen radical formation in rat heart, *Cancer Res.* 1983 43:460–472.
- Ejaz A, Arshad M, Khan MZ, Amjad MS, Sadaf MH, Riaz I, Sabir S, Ahmad N, Saboon. Secondary metabolites and their multidimensional prospective in plant life. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2017 6(2): 205-214.
- El Hassan M.A.I.A, Verheul H.M.W., Jorna A.S., et al., The new cardioprotector monohydroxyethylrutoside protects against doxorubicin-induced inflammatory effects in vitro, *Br. J. Cancer* 2003 89 :357–362.
- El-Boghdady N.A. Increased cardiac endothelin-1 and nitric oxide in adriamycin-induced acute cardiotoxicity: protective effect of *Ginkgo biloba* extract, *Indian J. Biochem. Biophys.* 2013 50 :200–209.
- Ellman GL. Plasma Antioxidants. *Arch. Biochem Biophys*, 1959 ; 82:70-77.

- Faraj A, Vasanthan T. Soybean Isoflavones: Effects of Processing and Health Benefits. 2006: 51-75.
- Flohe L, Gunzler WA. Analysis of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol*, 1984; 105: 114-121.
- Ganesan K, Xu B .A Critical Review on Polyphenols and Health Benefits of Black Soybeans. *Nutrients*. 2017;9(5).
- Garabeth F, Bouaoun D , Elyafi-Elzahri G. Etude quantitative des coumarines d'une plante sauvage *Prangos asperula* Boissier. 2007 5 (5) :259–263 .
- Gayon P R. Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod, Paris 1968 : p 254.
- Ghedira K. Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytotherapie*. 2005 3: 162–169.
- Ghibu S, Delemasure S, Richard , et al., General oxidative stress during doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats: absence of cardioprotection and low antioxidant efficiency of alpha-lipoic acid, *Biochimie*, 2012 94: 932–939.
- Giglio RV, Patti AM, Cicero AFG, Lippi G, Rizzo M, Toth PP, Banach M. Polyphenols: Potential Use in the Prevention and Treatment of Cardiovascular Diseases. *Curr Pharm Des*. 2018;24(2):239-258
- Gilleron M1, Marechal X, Montaigne D, Franczak J, Neviere R, Lancel S. NADPH oxidases participate to doxorubicin-induced cardiac myocyte apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009 388(4):727-31.
- Gnanapragasam A, Yogeeta S, Subhashini R, et al., Adriamycin induced myocardial failure in rats: protective role of *Centella asiatica*, *Mol. Cell. Biochem*. 2007 ;294: 55–63
- Gonzalez AG, Estevez-Braun A. Coumarins. *Nat. Prod. Reprod*, 1997 14: 465-475.
- Gravot A. Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Equipe pédagogique *Physiologie Végétale*. Université de Rennes.2016 UMR 118 APBV.
- Gupta D, Jain DK. Chalcone derivatives as potential antifungal agents: Synthesis, and antifungal activity. *J Adv Pharm Technol Res*. 2015; 6(3):114-7.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C. and Chapelle, J.P. Oxidative stress. *Rev Med Liege*. 2007; 62: 628–638
- Hanušová V., Pavel T., Lenka K., Alena P, Iva B., Lenka S. In vivo effect of oracin on doxorubicin reduction, biodistribution and efficacy in Ehrlich tumor bearing mice. *Pharmacological Reports*. 2013 65: 445-452.
- Hao G, Yu Y, Gu B, et al., Protective effects of berberine against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats by inhibiting metabolism of doxorubicin, *Xenobiotica* 2015 45 :1024–1029.
- Hennebelle T, Sahpaz S, Bailleul F. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytotherapie* 2004 2(1) : 3–6.

- Hollman PC, Cassidy A, Comte B, Heinonen M, Richelle M, Richling E, Serafini M, Scalbert A, Sies H, Vidry S. The biological relevance of direct antioxidant effects of polyphenols for cardiovascular health in humans is not established. 2011;141(5):989S-1009S.
- Hong YM, Kim HS, Yoon HR. Serum lipid and fatty acid profiles in adriamycin-treated rats after administration of L-carnitine. *Pediatr Res.* 2002 ; 51(2):249-55.
- Hortobàgyi GN. Anthracyclines in the treatment of cancer. An overview. *Drugs.* 1997 54(4):1-7
- ostetler GL, Ralston RA, Schwartz SJ. Flavones: Food Sources, Bioavailability, Metabolism, and Bioactivity. 2017 8: 423-35.
- Hussain T, Tan B, Yin Y, Blachier F, Tossou MC, Rahu N. Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us?. *Oxid Med Cell Longev.* 2016:7432797
- Iliskovic N1, Singal PK. Lipid lowering: an important factor in preventing adriamycin-induced heart failure *Am J Pathol.* 1997; 150(2):727-34.
- Injac R, Strukelj B. Recent advances in protection against doxorubicin-induced toxicity. *Technol Cancer Res Treat.* 2008 7(6):497-516.
- Ishibashi Y, Takahashi N, Tokumaru A, et al., Activation of inducible NOS in peripheral vessels and outcomes in heart failure patients, *J. Card. Fail.* 2008 14:724–731.
- Jambhulkar S, Deshiredy S, Jestadi D B and Periyasamy L. Quercetin Attenuating Doxorubicin Induced Hepatic, Cardiac and Renal Toxicity in Male Albino Wistar Rats. *AJPCT.* 2014 ; 2 (8) : 985-1004.
- Jiang N, Doseff AI, Grotewold E. Flavones: From Biosynthesis to Health Benefits. *Plants (Basel).* 2016 5(2): 27.
- Khan M.S, Singh M, Khan M.A, et al., Scientific validation of cardioprotective attribute by standardized extract of *Bombyx mori* against doxorubicin-induced cardiotoxicity in murine model, *EXCLI J.*2014 13 :1043–1054.
- Kim S.Y, Kim S.-J, Kim B.-J. et al., Doxorubicin-induced reactive oxygen species generation and intracellular Ca²⁺ increase are reciprocally modulated in rat cardiomyocytes, *Exp. Mol. Med.* 2006 38 : 535–545.
- Kimura T, Fujita I, Itoh N, Muto N, Nakanishi T, Taka-hashii K, Azuma J, Tanaka K. Metallothionein acts as a cytoprotectant against doxorubicin toxicity. *J Pharma-col Exp Ther,* 2000 ; 292: 299–302.
- Kok L.D, Wong Y.P, Wu T.W, et al., Morin hydrate: a potential antioxidant in minimizing the free-radicals-mediated damage to cardiovascular cells by anti-tumor drugs, *Life Sci.* 2000 67: 91–99.
- Kone D. Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes extraction, identification d'alcaloïdes –caractérisation quantification de polyphénols: étude de leurs activité antioxydant. These de doctorat .Université Paul Verlaine de metz-upv-m.2009 P46.

- Koti B.C, Vishwanathswamy A.H.M, Wagawade J, Thippeswamy, A.H.M. Cardioprotective effect of lipistat against doxorubicin induced myocardial toxicity in albino rats, *Indian J. Exp. Biol.* 2009 : 47 41–46.
- Laine E, Hano C, Lamblin F. Les lignanes phytoestrogènes du lin sont-ils des bienfaiteurs méconnus ? *Phytothérapie.* 2007 5 (3) : 121–128.
- Landete JM .Updated Knowledge about Polyphenols: Functions, Bioavailability, Metabolism, and Health. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2012;52(10):936-48.
- Laribi R. Les composés phénoliques de quelques variétés de l'huile d'olive algérienne: identification et propriétés. These de doctorat . Université Ferhat Abbas Sétif 1. 2015. P11.
- Lefrak E, J Pitha, Rosenheim S, Gottlieb J. A clinicopathologic analysis of adriamycin cardiotoxicity. 1973 : *Cancer* 32 302–314.
- Li T, Singal PK. Adriamycin-induced early changes in myocardial antioxidant enzymes and their modulation by probucol. *Circulation.* 2000 102(17):2105-10.
- Liu L, Shi R, Shi Q, et al., Protective effect of saponins from *Panax notoginseng* against doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice, *Planta Med* 2008 74: 203–209.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951 ;193:265-275.
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez I. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 2004 79(5): 727–747.
- Mantawy E.M, El-Bakly W.M, Esmat A, et al., Chrysin alleviates acute doxorubicin cardiotoxicity in rats via suppression of oxidative stress, inflammation and apoptosis, *Eur. J. Pharmacol.* 2014 728 :107–118.
- Middleton E J, Kandaswami C, Theoharides TC. The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev.* 2000 52(4):673–751.
- Mimnaugh E.G, Trush M.A, Bhatnagar M, Gram T.E. Enhancement of reactive oxygen-dependent mitochondrial membrane lipid peroxidation by the anticancer drug adriamycin, *Biochem. Pharmacol.* 1985 84:847–856.
- Minotti G, Mancuso C, Frustaci A, Mordente A, Santini S.A, Calafiore A.M, G. Liberi, N. Gentiloni. Paradoxical inhibition of cardiac lipid peroxidation in cancer patients treated with doxorubicin. Pharmacologic and molecular reappraisal of anthracycline cardiotoxicity, *J. Clin. Invest.* 1996 98 :3- 650.
- Minotti G1, Menna P, Salvatorelli E, Cairo G, Gianni L. Anthracyclines: Molecular Advances and Pharmacologic Developments in Antitumor Activity and Cardiotoxicity *Pharmacol Rev* 2004 56:185–229.
- Mohamad R.H, El-Bastawesy A.M, Zekry Z.K, et al., The role of *Curcuma longa* against doxorubicin (adriamycin)-induced toxicity in rats, *J. Med. Food* 2009 12 :394–402.

- Mokni M., Hamlaoui-Guesmi S, Amri. M, et al., Grape seed and skin extract protects against acute chemotherapy toxicity induced by doxorubicin in rat heart, *Cardiovasc. Toxicol.*2012 12 :158–165.
- Monti E, Prosperi E, Supino R, Bottiroli G. Free radical-dependent DNA lesions are involved in the delayed cardiotoxicity induced by adriamycin in the rat, *Anticancer Res.* 1995 15:193–197.
- Morand C, Milenkovic D. Polyphénols et santé vasculaire: mise en évidence du rôle direct des polyphénols dans les effets bénéfiques des agrumes dans la protection vasculaire. *Innovations Agronomiques* 2014 :42 47-62.
- Mukherjee S, Banerjee S.K, Maulik M,et al., Protection against acute adriamycin-induced cardiotoxicity by garlic: role of endogenous antioxidants and inhibition of TNF-alpha expression, *BMC Pharmacol.*2003 3 :16.
- Munawar A, Farhan S, Faqir M, Anjum M, Afzaal T, Tufail M, Shakeel B , Adnan I, Shahzad H, & Hafiz A R S. Natural polyphenols: An overview. 2016 20: 1689-1699.
- Nagai K, Konishi H, Protection of theanine against doxorubicin-induced acute cardiac toxicity, *Biomed. Prev. Nutr.* 2013 3: 197–199.
- Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications .*The American Journal of Clinical Nutrition* .2001 74(4):418-25.
- Ojha S, Al Tae H, Goyal S, et al., Cardioprotective potentials of plant-derived small molecules against doxorubicin associated cardiotoxicity, *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016 :5724973.
- Olaleye TM, Komolafe K, Akinmoladun F, Akindahunsi A. Methanolic Leaf Extract of *Parkia biglobosa* Protects against Doxorubicin-induced Cardiotoxicity in rats. *Planta Med* 2013; 79 - PJ34
- Palani S, Jayakumar M, Karthi S, Raja S, Protective effects of *Flacourtia indica* on doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats, *Toxicol. Environ. Chem.*2012 94:1014–1025.
- Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science.* 20165 45 :1-15.
- Panda S, Kar A. Periplogenin-3-O-D-Glucopyranosyl-(1!6)–D-Glucopyranosyl–(1!4)-d-cymaropyranoside, isolated from *Aegle marmelos* protects doxorubicin induced cardiovascular problems and hepatotoxicity in rats, *Cardiovasc. Ther.* 2008 27: 108–116.
- Pandey K B, Rizvi SI. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2009 2 (5): 270-278.
- Papaiahgari S,Zhang Q, Kleeberger S.R, et al., Hyperoxia stimulates an Nrf2- ARE transcriptional response via ROS-EGFR-PI3K-Akt/ERK MAP kinase signaling in pulmonary epithelial cells, *Antioxid. Redox Signal.* 2006 8:43– 52.
- Papuc C , Gheorghe V. Goran, Corina N. Predescu, Nicorescu V, Stefan G. Plant Polyphenols as Antioxidant and Antibacterial Agents for Shelf-Life Extension of Meat and Meat Products: Classification, Structures, Sources, and Action Mechanisms. 2017: 1243-1268.

- Pascual-Teresa S, Moreno D A, and García-Viguera C. Flavanols and Anthocyanins in Cardiovascular Health: A Review of Current Evidence. 2010; 11(4): 1679–1703.
- Paul Keirn P. Polyphénols: définition, actions, liste des plantes actives. 2010 <http://www.natures-paul-keirn.com/article-polyphenols-definition-actions-liste-des-plantes-actives-50222976.html>.
- Pavlova V, Sainova I, Alexieva B, et al., Antioxidant effect of aronia melanocarpa extract after doxorubicin abstract, Bulg. J. Agric. Sci.2014 20 :188–192.
- Peterson J, Dwyer J, Adlercreutz H, Scalbert A, Jacques P, McCullough ML. Dietary lignans: physiology and potential for cardiovascular disease risk reduction. Nutr Rev. 2010;68(10):571-603.
- Popa DS, Bolfă P, Kiss B, Vlase L, Păltinean R, Pop A, Cătoi C, Crișan G, Loghin F. Influence of Genista tinctoria L. or methylparaben on subchronic toxicity of bisphenol A in rats. Biomed Environ Sci. 2014 ;27(2):85-96..
- Psotová J, Chlopčíková S, Miketová P, Simánek V. Cytoprotectivity of Prunella vulgaris on doxorubicin-treated rat cardiomyocytes, Fitoterapia 2005 76 :556–561.
- Psotová J, Chlopčíková S, Miketová P, Simánek V. Cytoprotectivity of Prunella vulgaris on doxorubicin-treated rat cardiomyocytes, Fitoterapia 2005 ;76 : 556–561.
- Ragavendran P, Sophia D, Arulraj C, V.K. Gopalakrishnan, Cardioprotective effect of aqueous, ethanol and aqueous ethanol extract of Aerva lanata (Linn.) against doxorubicin induced cardiomyopathy in rats, Asian Pac. J. Trop.Biomed. 2012 2: S212–S218.
- Ramirez-Tortosa MC , Granados S, Quiles JL. Chemical composition, types and characteristics of olive oil In Olive oil and health. CABI Publishing, 2006 45-62.
- Rijke, E, Out P, Wilfried MA , Niessen B, Ariese, F , Gooijer C, Udo A, Brinkman TH. Analytical separation and detection methods for flavonoids. Journal of Chromatography 2006 11 12: 31-63.
- Rocha PDSD, Campos JF, Nunes-Souza V, Vieira MDC, Boleti APA, Rabelo LA, Dos Santos EL, de Picoli Souza K. Antioxidant and Protective Effects of Schinus terebinthifolius Raddi Against Doxorubicin-Induced Toxicity. Appl Biochem Biotechnol. 2018;184(3):869-884.
- Rochette L, Guenancia C, A Gudjoncik, Olivier Hachet, Marianne Zeller, Yves Cottin, Catherine Vergely. Anthracyclines/trastuzumab: new aspects of cardiotoxicity and molecular mechanisms. Trends in Pharmacological Sciences. 2015 ; 36:326–348
- Rolland Y, Antioxydants naturels végétaux. OCL - Oilseeds and Fats, Crops and Lipids. OCL 2004 ; 11(6) : 419–424
- Scalbert A, Williamson G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. 2000 130: 2073S—2085S.
- Schildknecht S, Pape R, Müller N, et al, Neuroprotection by minocycline caused by direct and specific scavenging of peroxynitrite, J. Biol. Chem. 2011 286:4991–5002.
- Seema M, Lawrence L, Sivaram V P, J Padikkala. Oroxyllum indicum root bark extract prevents doxorubicin-induced cardiac damage by restoring redox balance. Journal of Ayurveda and Integrative Medicine. Available online 3 February 2018 (in press)

- Seifert CF, Nesser ME, Thompson DF. Dexrazoxane in the prevention of doxorubicin-induced cardiotoxicity, *Ann. Pharmacother.* 1994 28 :1063– 1072.
- Sentkowska A, Biesaga M, Pyrzyńska, K. “Application of Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography for the Quantification of Flavonoids in *Genista tinctoria* Extract,” *Journal of Analytical Methods in Chemistry.* 2016 10:1155 -3789348.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos. RM Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. In: Packer L, editor. *Methods in enzymol: oxidant and antioxidants (part A)*, 1999 vol. 299. San Diego, CA: Academic Press p: 152–78
- Sobiesiak M. Chemical Structure of Phenols and Its Consequence for Sorption Processes. In book: *Phenolic Compounds - Natural Sources, Importance and Applications.* 2017. Marcos Soto-Hernández, IntechOpen, DOI: 10.5772/66537.
- Speth P.A.J., van Hoesel Q.G.C.M, and Haanen C. Clinical Pharmacokinetics of Doxorubicin. *Clinical Pharmacokinetics* 15: 15-31 (1988).
- Srivastava T, Mishra S K. Novel Function of Polyphenols in Human Health: A Review. 2015 9(3): 116-126.
- Stalikas CD. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. 2007 (18):3268-95.
- Stoclet JC, Schini-Kerth V. Flavonoïdes alimentaires et santé humaine. *Annales Pharmaceutiques Françaises.* 2011 69: 78-90.
- Subashini, R, B. Ragavendran, Gnanapragasam A, Kumar S. Yogeeta, Devaki T. Biochemical study on the protective potential of *Nardostachys jatamansi* extract on lipid profile and lipid metabolizing enzymes in doxorubicin intoxicated rats. *Pharmazie* 2007 ;62: 382–387
- Sunday S, Arogba. Mango (*Mangifera indica*) Kernel: Chromatographic Analysis of the Tannin, and Stability Study of the Associated Polyphenol Oxidase Activity. *Journal of Food Composition and Analysis* 2000 :13(2) : 149-156.
- Sweety, S. Kumar, K. Nepali, S. Sapra, O. P. Suri, K. L. Dhar, G. S. Sarma, and A. K. Saxena. Synthesis and Biological Evaluation of Chalcones having Heterosubstituent(s). *Indian J Pharm Sci.* 2010;72(6):801-6.
- Tacar O, Sriamornsak P, Dass, C.R. Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems, *J. Pharm. Pharmacol.* 2013 65: 157–170.
- Tamara E. C. Kraus¹, Randy A. Dahlgren & Robert J. Zasoski. Tannins in nutrient dynamics of forest ecosystems - A review. 2003 256(1):41-66.
- Teresa SP, Diego A, Moreno, Viguera CG. Flavanols and Anthocyanins in Cardiovascular Health: A Review of Current Evidence. *Int J Mol Sci.* 2010; 11(4): 1679–1703.
- Thayer W.S, Decreased cardiac lipoprotein lipase activity in rats treated chronically with adriamycin, *Life Sci.* (1985); 36: (7) 635–641.

- Thayer W.S. Decreased cardiac lipoprotein lipase activity in rats treated chronically with adriamycin, *Life Sci.* 1985 : 36 (7) 635–641.
- Troyano A, Fernández C, Sancho P, et al., Effect of glutathione depletion on antitumor drug toxicity (apoptosis and necrosis) in U-937 human promonocytic cells. The role of intracellular oxidation, *J. Biol. Chem.* 2001;276 47107–47115.
- Tsao R. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients.* 2010 2 (12):1231-46.
- Uma Mahesh B, Shrivastava S, Kuncha M, et al., Ethanolic extract of *Boswellia ovalifoliolata* bark and leaf attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2013 36: 840–849.
- Venugopala KN , Rashmi V, Odhav B .Review on Natural Coumarin Lead Compounds for Their Pharmacological Activity. 2013: 963248, p 14.
- Visioli F, Borsani L, Galli C. Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of Phytochemicals. *Cardiovascular Research.* 2000 47: 419–425.
- Wang B, Hao J, Jones S.C, et al., Decreased Smad 7 expression contributes to cardiac fibrosis in the infarcted rat heart, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2002 282:H1685–H1696.
- Wang H, Dong Gao X, Zhou GC, Cai L., Yao WB. In vitro and in vivo antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit. *Food Chem.* 2008 106:888-895.
- Wang X, Chen L, T. Wang, et al., Ginsenoside Rg3 antagonizes adriamycin-induced cardiotoxicity by improving endothelial dysfunction from oxidative stress via upregulating the Nrf2-ARE pathway through the activation of akt, *Phytomed. Int. J. Phytother. Phytopharmacol.* 2015 22 :875–884.
- Yu J, Bi X, Yu B, Chen D. Isoflavones: Anti-Inflammatory Benefit and Possible Caveats. *Nutrients.* 2016 10;8(6). pii: E361
- Zakkad F. Etude phytochimique et évaluation de quelques propriétés biologiques de trois espèces de l'Euphorbia. Université Badji Mokhtar -annaba, Faculté des Sciences Département de Chimie. P10-11.
- Zern TL, Fernandez ML. Cardioprotective Effects of Dietary Polyphenols. 2005 135 (10): 2291-4.
- Zhou Q, Chowbay B. Determination of doxorubicin and its metabolites in rat serum and bile by LC: application to preclinical pharmacokinetic studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 2002 30 : 1063-1074.

Résumé :

La doxorubicine (DOX) est l'un des médicaments anticancéreux les plus importants en chimiothérapie et en oncologie clinique. Cependant, son utilisation clinique est limitée en raison de plusieurs effets secondaires comme la cardiotoxicité. Dans la présente étude, nous avons étudié l'efficacité protectrice de l'extrait *n*-butanol d'une plante médicinale *Genista* sp de la famille Fabaceae (riche en polyphénols) contre la toxicité cardiaque induite par la DOX chez des rats Wistar *albinos* mâles en utilisant des paramètres biochimiques tels que le cholestérol total, les triglycérides, les lipoprotéines de haute densité (HDL), les lipoprotéines de basse densité (LDL), l'alanine aminotransférase (ALAT), l'aspartate aminotransférase (ASAT), la lactate déshydrogénase (LDH), la créatine phosphokinase (CPK) et le malondialdéhyde (MDA). L'activité des enzymes antioxydantes comme la glutathion peroxydase (GPx) et le niveau de la glutathion (GSH) ont été réalisées. Les modifications histopathologiques du cœur chez les rats mâles traités par la DOX et l'effet de la vitamine E et de l'extrait *n*-butanol ont également été observées.

Les résultats ont montré que le traitement par la DOX (15 mg/kg) pendant 1 jour entraînait une augmentation significative ($P \leq 0,05$) du profil lipidique, de l'ALT, de l'AST, de la LDH, du CPK et du MDA cardiaque. L'administration oral pré- et post-phy lactique concomitant de l'extrait *n*-butanol (100 mg / kg) et la vitamine E a considérablement diminué les taux des marqueurs sérique de la toxicité provoqué par la DOX.

L'état antioxydant endogène comme l'activité de la GPx et le taux de la GSH s'est avéré être diminué de manière significative dans le cœur du groupe traité par la DOX, qui ont été augmentés de manière significative dans les groupes traité par l'extrait *n*-butanol et la vitamine E. Le cœur des rats traités par la DOX a montré des dommages sévères au niveau des tissus cardiaques. Les données suggèrent que l'extrait *n*-butanol exerce son effet protecteur en modulant l'étendue du statut oxydatif et en améliorant le système de défense antioxydant enzymatique / non-enzymatique, diminue les changements pathologiques provoqués par la DOX.

Le test antioxydant *in vitro* (piégeage de DPPH) de l'extrait *n*-butanol a indiqué que l'extrait a une activité antioxydante (anti-radicalaire), de plus ces activités sont fortement corrélées avec les teneurs en flavonoïdes et en phénols totaux.

Mots clés : Doxorubicine, Cardiotoxicité, Polyphénols, *Genista* sp, Antioxydant.

Abstract

Doxorubicin (DOX) is an anticancer drug used in the treatment of many human malignancies. However, its clinical use is limited because of several side effects like cardiotoxicity. In the present study, we investigated the protective efficacy of *n*-butanol extract of *Genista* sp (Medicinal plant of the Family of Fabaceae) against DOX-induced cardiac toxicity in male *Wistar* rats using biochemical approaches such as some biochemical aspects such as total serum cholesterol, triglycerides, high density lipoprotein (HDL), low density lipoprotein (LDL); asalanine aminotransferase (ALT), aspartate amino transferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH), creatine phosphokinase (CPK) and malondialdehyde levels (MDA). Antioxidant enzyme activity like glutathione peroxidase (GPx), and the levels of glutathione (GSH) were performed. The histopathological changes in heart in DOX treated male rats and the effect of vitamin E and *n*-butanol extract were also observed.

The results pointed out that treatment with DOX for 1 day caused a significant increased ($P \leq 0.05$) in lipid profile, ALT, AST, LDH,CPK and cardiac MDA ($P \leq 0.01$). The concomitant pre- and post-phyllactic oral treatment of *n*-butanol extract and vitamin E (100 mg/kg b.wt.) significantly decreased the levels of serum and cardiac toxicity markers.

Endogenous antioxidant status as the activity of GPx and GSH levels were found to be decreased significantly in the heart of the DOX treated group, which were significantly raised in *n*-butanol extract-administered groups. The heart of DOX -treated rats showed severe damage of the cardiac tissues. The data suggested that *n*-butanol extract exerts its protective effect by modulating the extent of oxidative status and improving the enzymatic/non-enzymatic antioxidant defense system, moreover, decreases the pathological changes in animals against the heart damage caused by DOX.

Antioxidant activity (DPPH test) of *n*-butanol extract was studied *in vitro*. The total phenolic and flavonoid contents of the extract were determined. The extract showed a good antioxidant effects which are strongly correlated with the total flavonoid and phenol contents.

Keywords: Doxorubicin , Cardiotoxicity , Polyphenols, *Genista* sp, Antioxidant.

الملخص

يعتبر الدوكسوروبيسين (DOX) عقار مضاد للسرطان ذو فاعلية كبيرة في معالجة العديد من الأورام السرطانية التي تصيب الإنسان، ولكن نظراً للأثار الجانبية التي يسببها والتي من أهمها السمية الحادة للقلب ، فإن استخدامه أصبح بشكل محدود . لذا تهدف هذه الدراسة إلى تقييم التأثير الوقائي للمستخلص البيتانولي لنبات *Genista sp* و فيتامين E اتجاه السمية الحادة المحرصة بواسطة دواء DOX عند ذكور الجرذان من سلالة *Wistar* و تتبع الأثر السمي لهذا الدواء و ما ينجم عنه من اضطرابات بيوكيماوية من خلال معايرة الكولسترول، الجلوسريدات الثلاثية، البروتينات الدهنية منخفضة (LDL) و عالية (HDL) الكثافة، إنزيمات LDH, CPK, TGO, TGP و إنزيمات مضادات الأكسدة الخاصة بالقلب (GPX)، ومستوى الأكسدة الفوقية للدهون (MDA)، ونسبة GSH، كما تمت دراسة التغيرات النسيجية على مستوى القلب.

لهذا الغرض تم حقن الجرذان بعقار DOX (15مجم/كجم من وزن الجسم) في تجويف البطن. وقد أوضحت نتائج البحث ارتفاع مستوى تأكسد الدهون، وارتفاع مستوى الكولسترول، الجلوسريدات الثلاثية و البروتينات الدهنية منخفضة الكثافة (LDL) ، وتغيرات في نشاط إنزيمات مضادات الأكسدة كتنقص في انزيم (GPx) و انخفاض مستوى GSH، وأيضاً زيادة في مستويات إنزيمات LDH, CPK, TGO, TGP.

أظهرت المعاملة بالمستخلص البيتانولي لنبات *Genista sp* و فيتامين E بجرعة (100مجم/كجم من وزن الجسم) تأثيراً وقائياً ضد التأثير الضار لعقار DOX على المستوى الوظيفي البيوكيميائي للقلب، حيث خفض معنويًا التغيرات التي ظهرت في النتائج البيو كيميائية لمجموعة DOX، كما قلل من التغيرات المورفولوجيا المحرصة بدواء DOX.

تشير النتائج إلى أن المستخلص البيتانولي يمارس تأثيره الوقائي عن طريق تعديل الأكسدة الفوقية للبيدات وتحسين نظام الدفاع المضاد للأكسدة في أنسجة القلب، وذلك راجع إلى احتواء المستخلص على كمية معتبرة من الفينولات و الفلافونويدات التي لها القدرة على اقتناص الجذور الحرة ، و ذلك استدلالاً بالنتائج المتحصل عليها في الدراسة خارج العضوية.

الكلمات المفتاحية دوكسوروبيسين، السمية الحادة للقلب ، متعددات الفينول، *Genista sp*، مضاد الأكسدة.

Effet antioxydant et cardio protecteur des polyphénols de la plante *Genistasp.*

Résumé :

La doxorubicine (DOX) est l'un des médicaments anticancéreux les plus importants en chimiothérapie et en oncologie clinique. Cependant, son utilisation clinique est limitée en raison de plusieurs effets secondaires comme la cardiotoxicité. Dans la présente étude, nous avons étudié l'efficacité protectrice de l'extrait n-butanol d'une plante médicinale *Genista sp* de la famille Fabaceae (riche en polyphénols) contre la toxicité cardiaque induite par la DOX chez des rats Wistaralbinos mâles en utilisant des paramètres biochimiques tels que le cholestérol total, les triglycérides, les lipoprotéines de haute densité (HDL), les lipoprotéines de basse densité (LDL), l'alanine aminotransférase (ALAT), l'aspartate aminotransférase (ASAT), la lactate déshydrogénase (LDH), la créatine phosphokinase (CPK) et le malondialdéhyde (MDA). L'activité des enzymes antioxydantes comme la glutathion peroxydase (GPx) et le niveau de la glutathion (GSH) ont été réalisées. Les modifications histopathologiques du cœur chez les rats mâles traités par la DOX et l'effet de la vitamine E et de l'extrait n-butanol ont également été observées.

Les résultats ont montré que le traitement par la DOX (15 mg/kg) pendant 1 jour entraînait une augmentation significative ($P \leq 0,05$) du profil lipidique, de l'ALT, de l'AST, de la LDH, du CPK et du MDA cardiaque. L'administration oral pré- et post-phyllactique concomitant de l'extrait n-butanol (100 mg / kg) et la vitamine E a considérablement diminué les taux des marqueurs sériques de la toxicité provoqué par la DOX.

L'état antioxydant endogène comme l'activité de la GPx et le taux de la GSH s'est avéré être diminué de manière significative dans le cœur du groupe traité par la DOX, qui ont été augmentés de manière significative dans les groupes traité par l'extrait n-butanol et la vitamine E. Le cœur des rats traités par la DOX a montré des dommages sévères au niveau des tissus cardiaques. Les données suggèrent que l'extrait n-butanol exerce son effet protecteur en modulant l'étendue du statut oxydatif et en améliorant le système de défense antioxydant enzymatique / non-enzymatique, diminue les changements pathologiques provoqués par la DOX.

Le test antioxydant in vitro (piégeage de DPPH) de l'extrait n-butanol a indiqué que l'extrait a une activité antioxydante (anti-radicalaire), de plus ces activités sont fortement corrélées avec les teneurs en flavonoïdes et en phénols totaux.

Mots clés : Doxorubicine, Cardiotoxicité, Polyphénols, *Genista sp*, Antioxydant.

Présenté et soutenu par : Kouider khaoula

Le : 27 /06/2018

Boukalaa khadidja Nour El houda

Jury d'évaluation :

Président du jury : Menad Ahmed (Pr- UFM Constantine).

Rapporteur : Amrani Amel (MCA- UFM Constantine).

Examineurs : Dekdouk Nadia (MCB- UnivBatna).

Boukandoul Ramzi (MAA- UFM Constantine).