



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche
scientifique



Université Frères Mentouri Constantine

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Animale

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de master

Filière : sciences biologiques

Spécialité : toxicologie

Intitulé

**Evaluation des activités antioxydantes et l'effet hépato-protecteur de
l'extrait *n*-butanol d'une plante endémique : les tests *in vitro* et *in vivo*.**

Présentée et soutenue par : **HAMDI Abdelhadi**

Le 04/09/2019

SAHKI Ines

ZOUIOUECHE Kaouther

Jury d'évaluation

Présidente : DALICHAOUCHE Souheila

Maitre de conférences B ; Université Salah boubnider.

Encadreur : ZAMA Djamila

Professeure ; Université Frères Mentouri Constantine.

Co- Encadreur : BOULDJADJ Redouane

Maitre-Assistant A ; U Frères Mentouri Constantine.

Examinatrice : LATRECHE Aicha

Maitre de conférences B ; Université Salah boubnider.

Année universitaire

2018-2019



Remerciement

Tout un remerciement qu'on pourra l'exprimer en premier lieu : c'est au grand dieu qui nous a donné une très grande force et une bonne volonté afin d'accomplir ce travail.

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous voudrions témoigner notre reconnaissance.

Nous voudrions tout aussi adresser toute notre gratitude à l'encadreur de ce mémoire Mme ZAMA Djamila, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion.

On tient à exprimer toute notre reconnaissance au Dr, BOULDJADJ Redouane de nous avoir orienté, aidé et conseillé. Nous voudrions aussi le remercier pour l'honneur qui a fait d'avoir accepté d'être notre Co-encadreur.

Nous tenons remercier Dr, DALICHAUCHE Souheila pour l'honneur qui nous a fait d'avoir accepté de présider le jury et examiner notre mémoire.

Nous tenons remercier Dr, LATRECHE Aicha membre examinatrice du jury pour l'honneur qui a fait d'avoir accepté d'examiner notre mémoire.

On adresse nos sincères remerciements à tous les professeurs et la famille de la toxicologie, intervenants et toutes les personnes avec leurs encouragements, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté de nous rencontrer et de répondre à nos questions durant nos recherches. Merci de nous avoir montré les clés du succès.

Aussi bien, Nous tenons remercier la doctorante ZEHANI Lamia et Dr, BEHRI Laid pour leurs aides et soutiens durant la réalisation de ce mémoire.

On remercie nos très chers parents, qui ont toujours été là pour nous. On remercie nos sœurs, et nos frères pour leurs encouragements.

Un remerciement chaleureux envers nos amis et collègues qui ont apporté leur support moral et intellectuel tout au long de notre démarche.



Dédicace

Je ne sais pas comment débiter cette dédicace, Les mots parfois nous échappent dans un moment difficile, Et le temps parfois nous rend un peu réservé envers tout une fatigue vécue au cours de tout un travail réalisé.

En premier : J'aimerais bien remercier mon Dieu le plus puissant qui m'avait accordé une très grande force afin de combler ce mémoire de fin d'études.

Ainsi que j'aimerais bien dédier ce travail à la plus belle personne dans ma vie et mon seul et unique amour : chère maman MAKHLOUFI Nacira. Quoi que je fasse et quoi que je dise je ne saurais point te remercier comme il se doit, ton affection me couvre, ton bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a été toujours ma source de force pour affronter les obstacles de ce monde.

Cher papa : Tu étais toujours un très bon soutien pour moi et celui qui m'a toujours encouragé de continuer jusqu'à l'arrivée à bord, que ce travail traduit ma gratitude.

À Mes chers frères Med Lamine, Ayoub Et sœurs Ouidad, Oaufia Que dieu vous donne santé, bonheur, courage et surtout une très bonne réussite.

À mes amis Amir, Farouk, Kaouter, Inès, La source de mon sourire et ma joie, Merci pour votre soutien qui m'était toujours important.

Abdelhadi



Dédicace

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut ...

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance ...

Tout d'abord je tiens à remercier le bon Dieu le tout puissant de m'avoir donné la santé, la volonté, et la patience durant toutes mes années d'études.

Ainsi j'aimerais bien dédier ce modeste travail :

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi mon père : NACER que Dieu te protège.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; ma mère : SAMIA que j'adore que Dieu te protège.

A ma chère sœur LINA et mon frère adoré ANIS qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès que Dieu vous protège et vous garde.

A toute ma famille, mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité.

A mes amis KAOUTER, RYMA, AFFAF, YASSER, SEIF, OUSSAMA, NADJMOU, MEHDI, la source de ma joie, merci pour votre soutien je vous souhaite plus de succès.

A tous ceux que j'aime, à tous ceux que j'ai omis de citer.

Merci à ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce mémoire voie le jour.

INES

Dédicace

Dieu merci pour la santé, la volonté, le courage et la détermination qui nous ont accompagnés tout au long de la préparation et l'élaboration de ce modeste travail et qui nous ont permis de l'achever.

Je dédie cet événement marquant de ma vie ma grande réussite a la mémoire de ma grand-mère j'espère que du monde qui est sien maintenant, elle apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part de sa petite fille qui a toujours prié pour le salut de son âme puisse dieu le tout puissant l'avoir en sa sainte miséricorde.

A ma famille, elle qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui :

Particulièrement à l'homme, mon précieux offre du dieu qui doit ma vie ma réussite et tout mn respect mon cher père FAYCAL.

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse, mon adorable mère SAMIRA.

A ma petite sœur OUMEIMA, qui n'a pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études que dieu la protège et lui offre la chance et le bonheur.

A mes amis : MEHDI, INES, RYMA et KHADIDJA, pour leur soutien moral, patience et compréhension.

Sommaire

Liste des abréviations.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Pages

Introduction..... 01

La première section : données bibliographiques

Chapitre I : éthanol et mécanismes moléculaires de l'hépatotoxicité.

I- LE FOIE	04
I.1-Rappels anatomiques et physiologiques	04
I.2- L'hépatotoxicité	06
I.3- Les pathologies du foie	06
I.3.1-La stéatose hépatique non alcoolique.....	06
I.3.2-La cirrhose.....	06
I.3.3-La fibrose hépatique.....	06
I.3.4-La nécrose.....	06
I.3.5-Le cancer du foie.....	07
I.4-L'éthanol	07
I.4.1-Propriétés physico-chimiques de l'éthanol.....	07
I.4.2-Métabolisme de l'éthanol.....	07
I.4.3-Mécanismes de l'hépatotoxicité induite par l'éthanol.....	08
I.4.3.1-Éthanol et stress oxydatif.....	08
I.4.3.2-Éthanol et peroxydation lipidique.....	09
I.4.3.3-Éthanol, apoptose et nécrose.....	09
I.4.3.4-Éthanol et inflammation.....	11
I.5-Les conséquences pathologiques	12
I.5.1-L'hépatite alcoolique aiguë (HAA).....	12
I.5.2-Stéatose alcoolique.....	12
I.5.3-Fibrose alcoolique.....	13
I.5.4-Cirrhose alcoolique.....	13
I.5.5-Carcinome hépatocellulaire.....	14

Chapitre II : Plantes Médicinales et principes actifs	15
II-L 'utilisation des plantes médicinales	15
II.1-La phytothérapie	15
II.2-Les plantes médicinales	15
II.3-Différents groupes de principes actifs des plantes médicinales	15
II.3.1- Principe actif.....	15
II.3.2- Les groupes de principes actifs des plantes.....	15
II.3.2.1- les polyphénols.....	16
II.3.2.2- les flavonoïdes.....	16
II.3.2.3- les tanins.....	16
II.3.2.4- les saponines.....	16
II.3.2.5- les glucosinolates.....	16
II.3.2.6- les anthraquinones.....	17
II.4- Différents effets des plantes médicinales	17
II.5- Les plantes à effet hépato protecteur	18
II.5.1-La feuille de <i>Ceriops decandra</i>	18
II.5.2- <i>Aquilaria malaccensis</i> (<i>A. malaccensis</i>) et <i>Aristolochia longa</i> (<i>A. longa</i>)	19
II.5.3- <i>Alchemilla mollis</i> (<i>Buser</i>) <i>Rothm</i>	21
II.5.4-Les feuille de <i>Coccinia indica</i>	21
II.5.5-Le Thé vert.....	22
II.6- Plantes médicinales et hépatotoxicité de l'éthanol	22
II.6.1- La préparation polyherbale.....	22
II.6.1.1- <i>Aloe Vera</i> L. (syn : <i>Aloe barbadensis</i> Miller)	23
II.6.1.2- <i>Bacopa monniera</i>	23
II.6.1.3- <i>moringa oleifera</i> Lam.....	24
II.6.1.4- <i>Zingiber officinale</i> Roscoe.....	24
II.6.2- Les graines de citrouille (<i>Cucurbita pepo</i> L)	25
II.6.3- <i>Silybium marianum</i>	26

La deuxième section : MATERIELS ET METHODES

I-MATERIELS	28
I.1-Matériels végétal	28
I.1.1-Préparation de l'extrait <i>n</i> -butanol.....	28
I.2-Réactifs	28
I.3-Matériels animal et entretien des animaux	29

II-METHODES	29
II.1-Etude <i>in vitro</i>	29
II.1.1- Dosage des polyphénols totaux.....	29
II.1.2- Détermination des Flavonoïdes.....	30
II.1.3- Evaluation du pouvoir anti radicalaire (DPPH).....	30
II.1.4- Dosage de la capacité antioxydante totale « test de phosphomolybdate »	31
II.1.5- Dosage du pouvoir réducteur « FRAP »	32
II.2- Etude <i>in vivo</i>	32
II.2.1-Induction de l'hépatotoxicité par l'éthanol.....	32
II.2.2- Traitement des animaux.....	33
II.2.3- Dissection des rats, prélèvement du sang et des organes.....	33
II.2.4- Préparation des fractions cytosoliques.....	33
II.2.5-Méthodes de dosages des paramètres biochimiques du sang.....	34
II.2.5.1- Dosage de l'albumine.....	34
II.2.5.2-Dosage du cholestérol.....	34
II.2.6-Méthodes de dosage des paramètres du stress oxydant.....	34
II.2.6.1- Dosage du malondialdéhyde (MDA).....	34
II.2.6.2- Dosage de glutathion (GSH).....	35
II.2.6.3-Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT).....	35
II.2.6.4- Evaluation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx).....	35
II.2.6.5- Dosage de l'activité de la SOD cytosolique.....	35
II.2.6.6- Dosage de l'activité de glutathion s-Transférase (GST).....	36
II.2.6.7- Dosage de protéine totale.....	36

La troisième section : Résultats et discussions

I-RESULTATS DE L'ETUDES <i>IN VITRO</i>	37
I.1- Teneur des extraits en polyphénols et en flavonoïdes.....	37
I.2- Le piégeage du Radical DPPH.....	39
I.3- Capacité antioxydante totale « test de phosphomolybdate »	40
I.4- Pouvoir réducteur du fer (Test FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power)	42
II- LES DOSAGES REALISES <i>IN VIVO</i>	43
II.1-dosage des paramètres biochimiques.....	43
II.1.1- Evaluation de la concentration sérique de l'albumine.....	43
II.1.2- Evaluation de la concentration sérique du cholestérol total.....	44
II.2- Influence de l'administration de l'extrait et l'éthanol sur les Paramètres de stress	46

II.2.1-Variation de la concentration hépatique en malondialdéhyde (MDA).....	46
II.2.2-Activité de la Glutathion-S-Transférase (GST) hépatique.....	48
II.2.3- Evaluation de l'Activité de la catalase (CAT) et la (SOD) hépatique	50
II.2.4- Evaluation du taux (GSH) et de l'Activité de la (GPx) hépatique	52
II.2.5-Dosage des protéines totales.....	55
Conclusion et perspective	57
Résumé.....	59
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

ADH: Alcool Déshydrogénase.

ALD: alcoholic liver disease.

AP-1 : protéine activatrice-1.

CASP8 : cysteine-aspartic protease.

CAT : Catalase.

CD : Cellule Dendritique.

cIAP1: cellular inhibitor of apoptosis protein.

CSH : cellules étoilées hépatiques.

CYP2E1 : Cytochrome P450 2E1.

DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

DRO : dérivés réactifs de l'oxygène.

EAO : Espèces Activées de l'oxygène.

EGF: Epidermal growth factor.

ER: endoplasmic reticulum.

ERO : Espèces Réactives de l'oxygène.

FADD: Fas-associated protein with a death domain.

FRAP : Pouvoir antioxydant réducteur du fer.

GGT : gamma glutanyl tranférase.

GPx : GlutathionPeroxydase.

GR: Glutathion reductase.

GSH: Reduced Glutathione.

GSSG : Disulfure de Glutathion.

GST : Glutathion-S- transférases.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

HDL : lipoprotéines de haute densité.

HNE: Hydroxynonanal.

IC₅₀: Concentration d'inhibition.

IFN- γ : interféron- γ .

IKK: I-kB kinase.

IL : interleukine.

IL-6 : Interleukin 6.

LB : lymphocytes B.

LDL : lipoprotéines de basse densité.

LPO : Peroxydation lipidique.

LPS : lipopolysaccharide.

LT: lymphocytes T.

LUBAC: linear ubiquitin chain assembly complex.

MAP3K7: Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase Kinase 7.

MDA : Malondialdéhyde.

MEC : Matrice Extracellulaire.

MLKL: mixed-lineage kinase domain-like protein.

MMP: métalloprotéinase.

MTHFR: methylene tetra hydro folate reductase.

NADPH: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.

NF-KB: Facteur nucléaire-KB.

NK: Natural killer.

NKT: natural killer T.

O₂': Anion superoxide.

OPN: Ostéopontine.

PNPLA: patatin-like phospholipase domain-containing protein.

RHIM: Rip Homotypic Interactionmotif.

RIP: receptor-interacting protein kinase.

ROS: Reactive Oxygen Species.

SMAD3: Single Mothers Against Decapentaplegic.

SOD : Super Oxyde Dismutase.

SP-1 : Spécificité protéine-1.

STAT3: Signal transducer and activator of transcription 3.

TAK1: transforming growth factor β -activated kinase 1.

TLR4 : récepteur de type Toll 4.

TNFR1 : TNF receptor 1.

TNF- α : facteur de nécrose tumorale- α .

TRADD: TNF receptor-associated via death domain.

VHC: Viral hepatitis C.

γ GT : Gamma Glutamyl-Transférase.

Liste des figures

N°	TITRE DE LA FIGURE	PAGE
01	- Schéma anatomique du foie humain.	04
02	- Représentation d'une portion de sinusøide hépatique avec les différents types cellulaires présents dans le foie et l'espace de Disse.	05
03	- Métabolisme hépatique de l'éthanol.	07
04	- Les voies de l'apoptose et de la nécrose induites par l'alcool	10
05	- L'alcool et la réponse immunitaire innée.	11
06	- Mécanismes de la stéatose alcoolique.	12
07	- Mécanismes moléculaires de la fibrose alcoolique.	13
08	- Les voies biologiques impliquées dans la carcinogenèse hépatique à médiation par l'alcool.	14
09	- Différentes plantes ont des effets sur le système circulatoire.	17
10	- Différentes plantes ont des effets néphro et dermato-protecteurs.	18
11	- La plante de <i>Ceriops decandra</i> .	19
12	- La plante de <i>Aristolochia longa</i> .	20
13	- La plante de <i>Aquilaria malaccensis</i> .	20
14	- La plante de <i>l'aloë vera</i> .	23
15	- La plante de <i>Bacopa monnieri</i> .	24
16	- <i>zingiber officinale</i> .	25
17	- <i>cucurbita pepo</i> L.	26
18	- <i>silybium marianum</i> .	27
19	- Teneurs en polyphénols totaux de la phase <i>n</i> -butanol des deux extraits (A et B)	37
20	- Teneur en flavonoïdes des extraits <i>n</i> -butanol des deux plantes (A et B).	38
21	- Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• par des antioxydants de références (acide ascorbique) et les deux extraits testés.	39
22	- Histogramme comparatif de la capacité antioxydante totale des extraits des plantes A et B (Moyenne ± Ecart type, n=3).	41
23	- Evaluation de l'activité antioxydante des extraits par la méthode FRAP.	42

24	- Influence de l'administration de l'extrait <i>n</i> -butanol de la plante (100 et 200 mg/kg) et l'éthanol (3g/kg) sur la concentration sérique de l'albumine chez les Albinos Wistar. Les valeurs sont des moyennes \pm Ecart type.	43
25	- Influence de l'administration de l'extrait <i>n</i> -butanol de la plante (100 et 200 mg/kg) et l'éthanol (3g/kg) sur la concentration sérique du cholestérol total chez les rats Albinos Wistar. Les valeurs sont des moyennes \pm Ecart type.	45
26	- Influence de l'administration de l'extrait <i>n</i> -butanol de la plante (100 et 200 mg/kg) et l'éthanol (3g/kg) sur le taux d'MDA hépatique chez les rats Albinos Wistar. Les valeurs sont des moyennes \pm Ecart type.	47
27	- Influence de l'administration de l'extrait <i>n</i> -butanol de la plante (100 et 200 mg/kg) et l'éthanol (3g/kg) sur l'activité de la Glutathion-S-Transférase (GST) hépatique chez les rats Albinos Wistar. Les valeurs sont des moyennes \pm Ecart type.	49
28	- Influence de l'administration de l'extrait <i>n</i> -butanol de la plante (100 et 200 mg/kg) et l'éthanol (3g/kg) sur l'activité de la catalase hépatique chez les rats Albinos Wistar. Les valeurs sont des moyennes \pm Ecart type.	51
29	- Influence de l'administration de l'extrait <i>n</i> -butanol de la plante (100 et 200 mg/kg) et l'éthanol (3g/kg) sur l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) hépatique chez les rats Albinos Wistar. Les valeurs sont des moyennes \pm Ecart type	52
30	- Influence de l'administration de l'extrait <i>n</i> -butanol de la plante (100 et 200 mg/kg) et l'éthanol (3g/kg) sur l'activité du glutathion peroxydase (GPx) hépatique chez les rats Albinos Wistar. Les valeurs sont des moyennes \pm Ecart type.	53
31	- Influence de l'administration de l'extrait <i>n</i> -butanol de la plante (100 et 200 mg/kg) et l'éthanol (3g/kg) sur le taux du Glutathion réduit (GSH) hépatique chez les rats Albinos Wistar. Les valeurs sont des moyennes \pm Ecart type.	54
32	- Influence de l'administration de l'extrait <i>n</i> -butanol de la plante (100 et 200 mg/kg) et l'éthanol (3g/kg) sur la concentration des protéines totales hépatique chez les rats Albinos Wistar. Les valeurs sont des moyennes \pm Ecart type.	56

Liste des tableaux

Tableau 1 : le pouvoir antioxydant (exprimé par IC50 (en $\mu\text{g} / \text{ml}$)) de l'antioxydant de référence (AA) et des extraits testés (A et B)	40
---	----



Introduction



Le foie est le plus grand organe interne. Il est brun rougeâtre, pèse environ 1.5kg (chez l'homme adulte). Il est situé derrière la cage thoracique en haut à droite de l'abdomen, entouré par une capsule conjonctive (la capsule de Glisson) qui s'invagine dans le parenchyme hépatique. Cet organe est responsable d'environ 500 fonctions corporelles, en premier lieu, Il joue un rôle dans la digestion, le métabolisme du sucre et des graisses et la défense immunitaire du corps. En deuxième lieu, il traite presque tout ce qu'une personne mange, respire ou absorbe la peau. Environ 90% des nutriments du corps passent par le foie à partir des intestins. En troisième lieu, il convertit les aliments en énergie, stocke les nutriments et produit des protéines sanguines. **(Franciscus, 2015)**. Enfin, et ce n'est pas le moindre rôle, le foie agit également comme un filtre et détoxifié l'organisme d'un grand nombre de substances endogènes et exogène. **(Baudin, 2017)**.

L'hépatotoxicité des xénobiotiques comprenant les médicaments, et les agents chimiques est un problème de santé publique et constitue un véritable challenge pour les médecins, l'industrie pharmaceutique, les agences de santé. **(Larrey, 2009)**. Parmi ces xénobiotiques, on note l'alcool qui est une substance toxique liée à plus de 60 troubles différents. Selon les estimations, l'alcool provoquerait un dommage net représentant 3,7 % de l'ensemble des décès **(OMS, 2007)**. L'éthanol est principalement oxydé en acétaldéhyde par l'alcool déshydrogénase cytosolique et aux concentrations plus élevées par le cytochrome P450 2E1 microsomal. Le cytochrome P450 2E1 joue cependant un rôle important dans la maladie alcoolique, d'une part en raison de son indécible par l'alcool, et d'autre part en raison de sa capacité à produire des radicaux libres. L'acétaldéhyde formé à partir de l'éthanol, est une molécule très réactive qui joue un rôle majeur dans la genèse des lésions cellulaires capable de générer une peroxydation lipidique responsable de lésions des organites et des membranes cellulaires **(Podevin et al., 2000)**.

Une maladie hépatique alcoolique peut être décrite comme une maladie avec une atteinte de la fonction hépatique à divers degrés après une consommation chronique et excessive d'éthanol. Elle est caractérisée par différentes quantités de dépôts lipidiques dans les hépatocytes. Les dépôts de lipides dans plus de 5% des hépatocytes provoquent une dégénérescence adipeuse, tandis que la participation de plus de 50% des hépatocytes conduit à une stéatose hépatique.

INTRODUCTION

La consommation d'alcool induit une augmentation de la concentration cellulaire en nicotinamide adénine di nucléotide hydrate et une activité de l'acétaldéhyde déshydrogénase. Menant à une surcharge sévère en acides gras libres, à une accumulation de triglycérides et à une stéatose subséquente du tissu hépatique. Avec la consommation continue d'alcool, la stéatose peut évoluer en stéatohépatite, qui peut provoquer une fibrose, une cirrhose et même un carcinome hépatocellulaire (Lee, 2014).

La phytothérapie constitue un des fondements de la médecine traditionnelle pratiquée à travers le monde, par l'utilisation des plantes comme sources de substances naturelles actives. L'Algérie est considérée parmi les pays connus pour sa diversité taxonomique vu sa position biogéographique privilégiée et son étendu entre la Méditerranée et l'Afrique sub-saharienne. Elle représente une plate-forme géographique très importante qui mérite d'être explorée dans le domaine de la recherche de molécules antioxydantes et ou thérapeutiques originaires de plantes. Ces plantes ont pour longtemps servi à une grande tranche de population comme moyen incontournable de médication.

C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à étudier une plante endémique, qui est utilisée en médecine traditionnelle dans certaines régions algériennes. Ce travail vise à évaluer l'effet hépato-protecteur et antioxydant de cette plante chez un modèle de rats hépatotoxiques par l'administration de l'éthanol.

Notre travail sera présenté comme suit : une première partie est une collecte de plusieurs données bibliographiques, composée de deux chapitres : le premier résume l'anatomie et la physiologie du foie, définit l'hépatotoxicité, cite les différentes pathologies du foie, détermine la relation entre l'éthanol et stress oxydatif, peroxydation lipidique, apoptose, nécrose et inflammation, et expose les conséquences pathologiques de la consommation de l'éthanol. Le deuxième chapitre, parle de la phytothérapie, de la variété des plantes médicinales avec leurs différents groupes de principes actifs, leurs différents effets préventifs, et enfin il expose quelques exemples de plantes à effet hépato-protecteur.

La seconde section décrit le matériel et les méthodes utilisés lors du travail expérimental. La troisième section de ce mémoire expose l'ensemble des résultats obtenus et la discussion. Cette dernière comprend deux études : Etude *in vitro* et étude *in vivo*, dans la partie *in vitro* nous avons déterminé la teneur en phénol et en flavonoïdes de l'extrait *n*-butanol de la plante. Également

INTRODUCTION

l'évaluation de ces activités antioxydantes en utilisant le test DPPH, test de phosphomolybdate et le test du pouvoir réducteur FRAP. Dans L'étude expérimentale *in vivo*, nous avons évalué quelques paramètres biochimiques tels que l'albumine, et le cholestérol total, également on a suivi le statut oxydant et antioxydant à travers ses différents paramètres citant le MDA, GSH, GST, GPx, CAT et SOD.

La réalisation de ce modeste travail ouvre un vaste champ de questionnements et fait intervenir à nos esprits plusieurs questions, notamment :

Est-ce qu'une dose de 3g/kg d'éthanol est létale ? Si non, quelles sont ses conséquences pathologiques ?

Quel est le mécanisme d'action moléculaire par lequel l'éthanol induit une hépatotoxicité ? Est-ce qu'il existe un rapport avec le stress oxydatif ?

Est-ce que l'administration de l'extrait *n*-butanol de cette plante peut être associée à une réduction ou élimination de la toxicité de l'éthanol ?



La première section :
**DONNEES
BIBLIOGRAPHIQUES**



I. LE FOIE

I.1-Rappels anatomiques et physiologiques

Le foie est une volumineuse glande annexe du tube digestif, qui sécrète la bile indispensable à la digestion des graisses. Il remplit également de nombreuses fonctions métaboliques vitales. Cet organe pèse environ 1500g, sa consistance est ferme, mais friable. Il est entouré d'une capsule fibreuse mince et résistante la capsule de Glisson (**Mellal, 2010**).

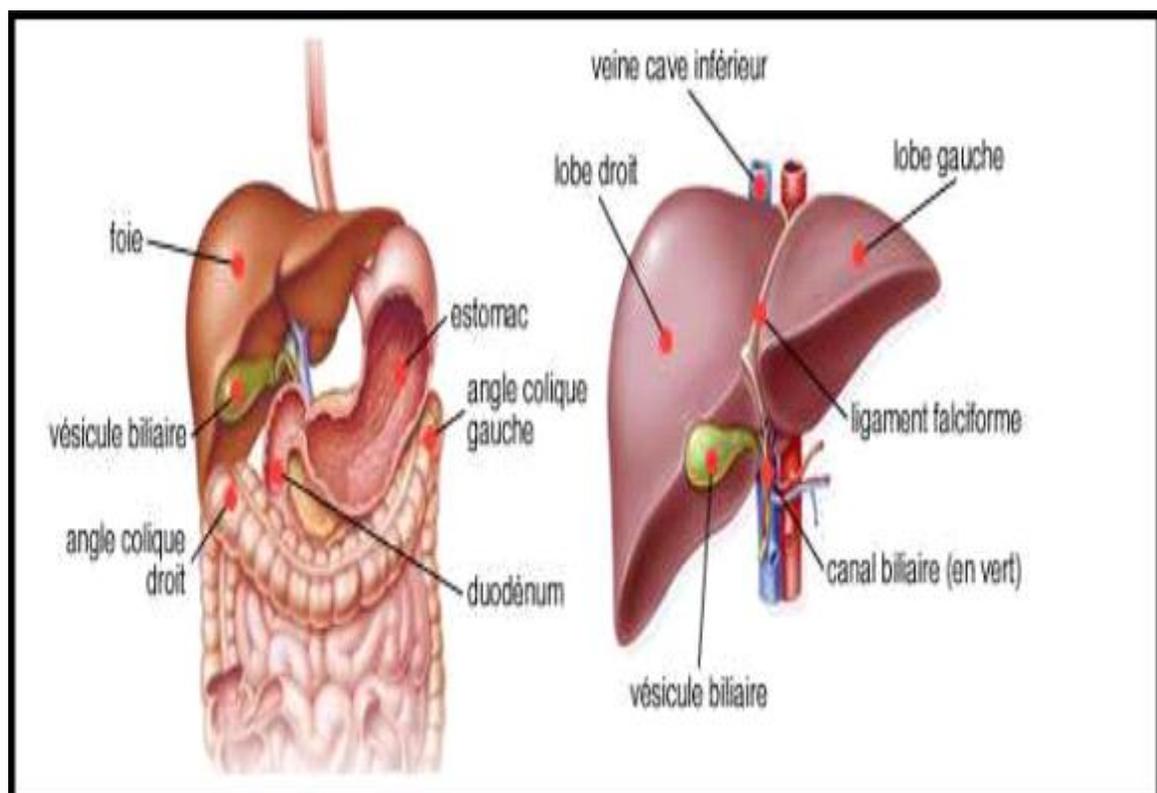


Figure 1 : Schéma anatomique du foie humain (**Pujade-Lauraine et al., 2015**).

Le foie est de couleur rouge brun, il présente 3 faces : face supérieure ou diaphragmatique, face inférieure et une face postérieure (**Mellal, 2010**). Au niveau de la porte du foie, l'artère hépatique propre, la veine porte et le conduit hépatique commun forment la « triade portale » qui se divise en deux grands lobes (**schunke et al., 2007**). Le lobe droit qui est le plus grand, et le lobe gauche et beaucoup d'anatomistes considèrent que le lobe droit comprend un lobe carré inférieur et un lobe caudé postérieur (**Sherwood, 2012**). Dans ces lobes on peut compter au total huit segments plus ou moins indépendants les uns des autres sur le plan fonctionnel (**schunke et al., 2007**).

Le lobule est l'unité fonctionnelle du foie de forme hexagonale qui contient les cellules hépatiques (hépatocytes), des sinusôides sanguines, des espaces péri sinusôiaux (espaces de Disse), des cellules endothéliales, des macrophages (cellules étoilées de Kupffer) et des cellules de Ito (**Bommas et al., 2008**). Le foie reçoit deux courants sanguins différents : celui de l'artère hépatique et celui de la veine porte. Tout le sang du foie s'évacue ensuite à travers les sus-hépatiques (**Lacombe, 2015**).

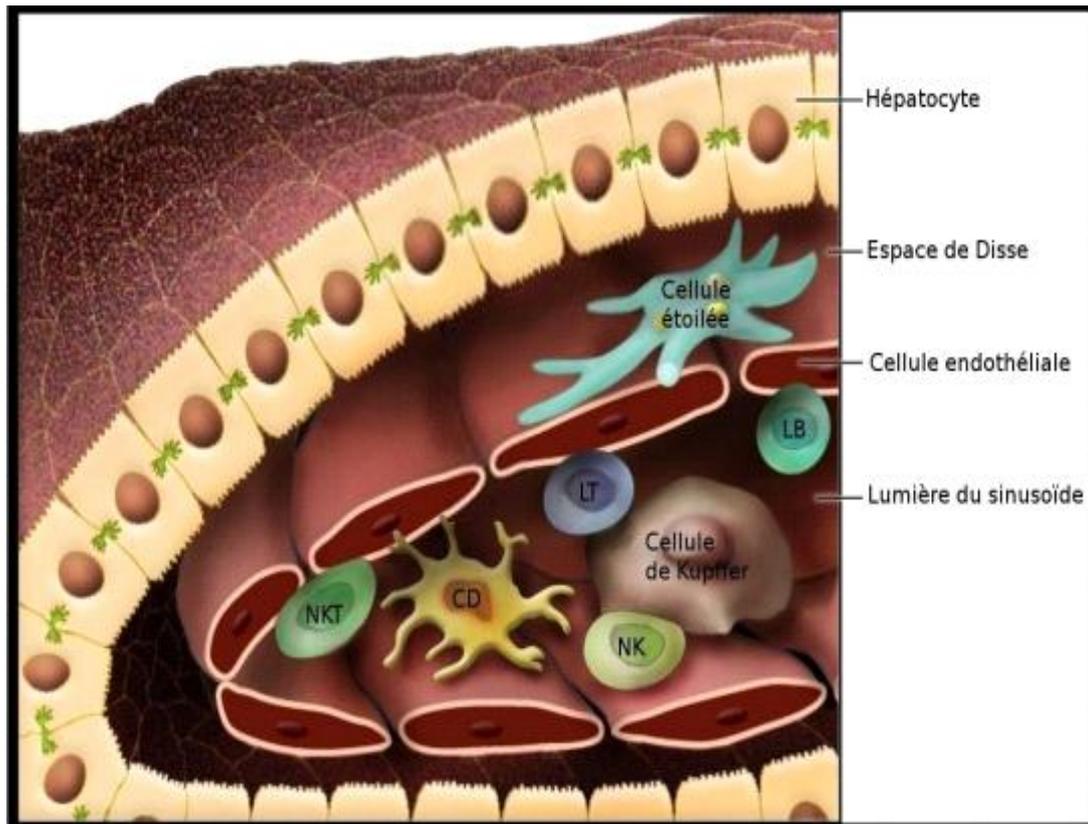


Figure 2 : Représentation d'une portion de sinusôide hépatique avec les différents types cellulaires présents dans le foie et l'espace de Disse (**Shoelson et al., 2006**).

Le foie est la glande du corps humain qui produit la bile stockée dans la vésicule biliaire (**Bommas et al., 2008**). Il intervient aussi dans le métabolisme des principaux nutriments (glucides, lipides, protéines). Aussi bien il participe à la Détoxification de déchets et d'hormones ainsi que de médicaments et d'autres composés organiques. Il joue un rôle essentiel dans la synthèse de protéines plasmatiques, stockage de glycogène, de lipides, de fer, de cuivre et de nombreuses vitamines. En plus il intervient dans l'élimination de bactéries et de globules rouges vieillissants grâce aux macrophages résidents (**Tortora et al., 2010**).

I.2-L'hépatotoxicité

L'hépatotoxicité est une lésion du foie associée à une insuffisance hépatique causée par l'exposition à un médicament ou à tout autre agent non infectieux (**Thonda et al., 2012**). La pathogenèse de la plupart des lésions hépatiques est initiée par la conversion métabolique de substances chimiques en espèces intermédiaires réactives, telles que des composés électrophiles ou des radicaux libres (**Gu et al., 2013**). Les drogues sont une cause importante de lésion hépatique (cocaïne, alcool). Plus de 900 médicaments (paracétamol, ranitidine), toxines et herbes ont été rapportés pour causer des dommages au foie. Infiltration graisseuse aiguë, jaunisse cholestatique, granulomes du foie, toxicité chronique, active hépatite, cirrhose du foie et tumeurs du foie (**Pandit et al., 2012**).

I.3-Les pathologies du foie

I.3.1-La stéatose hépatique non alcoolique : se définit par l'accumulation excessive de lipides dans le foie en absence de consommation importante d'alcool. Elle est considérée par plusieurs experts comme la manifestation hépatique du syndrome métabolique. La résistance à l'insuline associée à ce syndrome augmente la lipolyse, ce qui entraîne l'accumulation de lipides dans le foie (**Baillargeon, 2015**).

I.3.2-La cirrhose : est le stade majeur du développement de la fibrose hépatique induite par la plupart des maladies chroniques du foie. Elle est définie par l'existence d'un trouble architectural diffus du parenchyme hépatique caractérisé par l'existence d'une fibrose entourant des nodules hépatocytaires dits de régénération (**Friedman, 2003**).

I.3.3-La fibrose hépatique : est définie par l'accumulation excessive de matrice extracellulaire dans le parenchyme hépatique. C'est la complication majeure de toutes les maladies chroniques du foie, qu'elles soient d'origine alcoolique, virale, parasitaire, biliaire ou autre. Toutes les cellules hépatiques sont concernées, mais les cellules péries sinusoidales ou cellules de Ito semblent jouer un rôle majeur dans ce processus (**Roseau et al., 1994**).

I.3.4-La nécrose : est un type de mort cellulaire dépourvue des caractéristiques de l'apoptose et de l'autophagie et qui est généralement considérée comme non contrôlée. Peut inclure des signes de processus contrôlés tels que dysfonctionnement mitochondrial, génération accrue d'espèces réactives de l'oxygène, épuisement de l'ATP, protéolyse par les calpaïnes et les cathepsines et rupture précoce de la membrane plasmique (**Golstein et al., 2007**).

I.3.5-Le cancer du foie : est un des cancers les plus fréquents au monde, son incidence est en pleine expansion à cause de l'infection par le virus de l'hépatite C (merl, 2005). Il est défini comme étant la multiplication de manière incontrôlée des cellules anormales, la mutation de certains gènes est à l'origine de leur apparition. Certains se développent d'emblée dans le foie. On parle de tumeurs dites primaires, et certaines cellules cancéreuses migrent dans le sang jusque dans le foie. On parle de métastases ou de tumeurs secondaires (Faivre, 2015).

I.4-L'Ethanol

I.4.1-Propriétés physico-chimiques de l'éthanol

De formule C_2H_5OH et de masse molaire 46, l'éthanol est totalement miscible à l'eau, mais peu soluble dans les graisses. C'est un produit volatile à $78,5\text{ }^\circ\text{C}$, il est absorbé dans l'infrarouge à $3,4\text{ }\mu\text{m}$ (liaison carbone hydrogène) et à $9,4\%$ (liaison carbone hydroxyle). Ces deux dernières caractéristiques physico-chimiques sont mises à profit pour le dosage de l'éthanol dans l'air expiré. Plus léger que l'eau, sa densité est de $0,79$ (Goullé, 2015).

I.4.2-Métabolisme de l'éthanol

Environ 90% de l'alcool ingéré est métabolisé dans le foie. L'alcool est principalement oxydé en acétaldéhyde par l'acétaldéhyde déshydrogénase (ADH) dans le cytosol des hépatocytes et il est partiellement métabolisé par le cytochrome P450 et la catalase dans les microsomes et les peroxyosomes d'hépatocytes, respectivement. (ALDH) convertit l'acétaldéhyde en acétate principalement dans les mitochondries des hépatocytes (Jinyao, 2014).

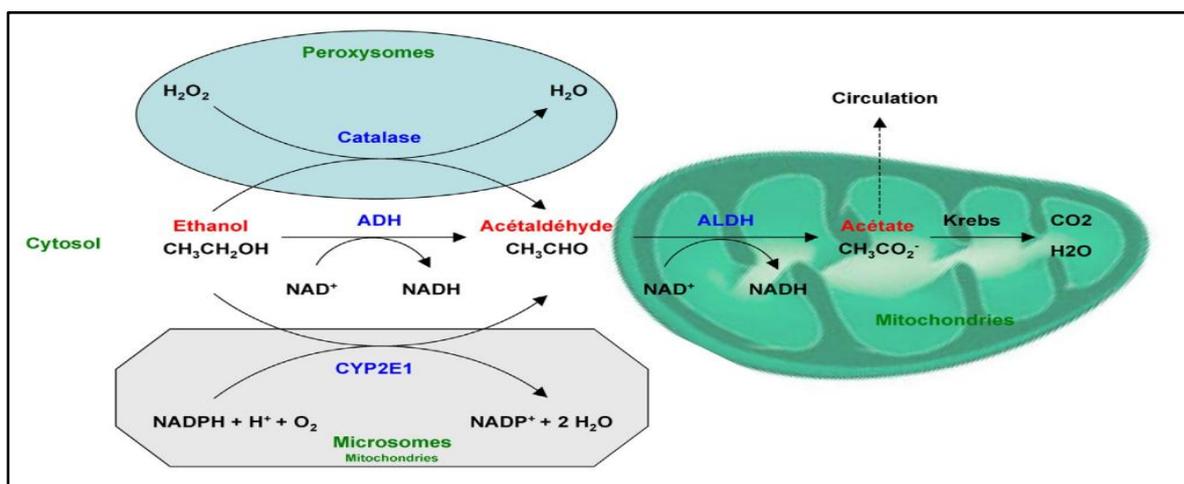


Figure 3 : Métabolisme hépatique de l'éthanol (Teixeira-Clerc, 2015).

I.4.3-Mécanismes de l'hépatotoxicité induite par l'éthanol

I.4.3.1-Éthanol et stress oxydatif

L'induction d'un stress oxydatif est liée à une grande partie de la consommation de l'éthanol qui résulte un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants, formant des espèces réactives de l'oxygène dites : « EAO ».

L'administration d'éthanol provoque une augmentation de la production hépatique des dérivés réduits de l'oxygène $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 et $O^{\bullet}H$ au niveau de nombreux sites cellulaires, par différents systèmes enzymatiques (Nordmann *et al.*, 1992). La formation des espèces réactives de l'oxygène suite au métabolisme de l'éthanol peut avoir lieu dans le cytosol, la mitochondrie ou le réticulum endoplasmique.

✓ Au niveau microsomal

Le système microsomal (MEOS) d'oxydation de l'éthanol une des trois voies du métabolisme de l'éthanol en acétaldéhyde est situé dans le réticulum endoplasmique, lors de l'intoxication chronique par l'éthanol, l'activité de la NADH réductase est augmentée et le cytochrome P450 2E1 induit au cours de métabolisme de l'éthanol par le MEOS. Le mécanisme de production varie selon les autres, pour les uns, la NADPH cytochrome P450 réductase est essentielle à la réduction de fer^{3+} en fer^{2+} pour déclencher ainsi une réaction de fenton (Sergent *et al.*, 2001).

✓ Au niveau mitochondrial

La chaîne respiratoire mitochondriale utilise l' O_2 pour la production de l'ATP, qui résulte des fuites électroniques lors du transfert des électrons par les complexes de la chaîne respiratoire.

Pendant un traitement aigu et chronique par l'éthanol, une augmentation de la production d'anions superoxydes est observée dans la mitochondrie du foie des rats (Sinaceur *et al.*, 1985 ; Kukielka *et al.*, 1994). Cette production est justifiée par l'augmentation du flux de NADH due au métabolisme de l'éthanol par l'alcool déshydrogénase (ADH) et l'aldéhyde déshydrogénase (ALDH), et la diminution de l'activité des complexes de la chaîne respiratoire et à la diminution du système de défense représenté par le glutathion (GSH). L'augmentation du Facteur de nécrose tumorale Alcoolique (TNFa) a souvent été décrite dans certaines conditions d'alcoolisation avec une élévation de la synthèse intracellulaire d' O_2^{\bullet} (Hennet *et al.*, 1993).

✓ Au niveau cytosolique

Une autre source importante de radicaux libres est représentée par l'activation des cellules de Kupffer consécutive à l'administration d'éthanol. Cette élévation apparaît liée à l'activation de la NADPH oxydase qui catalyse la formation d' O_2^- . Cet anion superoxyde libéré à l'intérieur de la cellule se dismute rapidement en H_2O_2 ce qui conduit à des lésions histologiques hépatiques sévères (Pertoft *et al.*, 1987).

I.4.3.2-Éthanol et peroxydation lipidique

L'attaque oxydative des lipides membranaires est un processus de réactions radicalaires en chaîne appelé « peroxydation lipidique », au cours duquel les acides gras polyinsaturés entrant dans la composition des phospholipides membranaires sont oxydés en lipoperoxydes.

La peroxydation des membranes va altérer leur fonctionnalité par modification de leur perméabilité, de leur fluidité et perte d'activité d'enzymes et de récepteurs (Cillard, 2006; Sergent *et al.*, 2001). Les acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjuguée, oxydé en radical peroxyde cette réaction est appelée la peroxydation lipidique. La formation de réaction en chaîne se fait par le radical peroxyde, se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical diène conjuguée (Sahnoun, 1997). Les hydroperoxydes peuvent subir plusieurs modes d'évolution être réduits et neutralisés par la glutathion peroxydases ou continuer à s'oxyde et à se fragmenter en aldéhydes acides et en alcanes de par leur volatilité, le radical peroxyde après évolution en un peroxyde cyclique et coupure de la molécule peut libérer différents aldéhydes toxiques dont la malondialdéhyde ou l'hydroxynonanal. Cette attaque des lipides peut concerner les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides des membranaires (Favier, 2003).

I.4.3.3-Éthanol, apoptose et nécrose

La consommation d'alcool augmente la perméabilité intestinale, ce qui entraîne un afflux accru de lipopolysaccharide (LPS) dans le foie. Le LPS active les cellules de Kupffer pour produire du TNF. Le TNF se lie à son récepteur (TNFR1), qui recrute le TNFR domaine de la mort associée (TRADD, RIP1, inhibiteur cellulaire des protéines d'apoptose 1 (cIAP1 / 2), et complexe d'assemblage de la chaîne de l'ubiquitine linéaire (LUBAC) et favorise l'ubiquitination linéaire de RIP1. Ceci conduit à l'activation de NF-KB par le recrutement dépendant de la chaîne de

l'ubiquitine facteur de croissance transformant bêta activé kinase 1 / protéines de liaison 2 (TAB2) et 3 (TAB3) MAP3K7, facteur de croissance transformant kinase 1 activée (TAK1), et le complexe I-KB kinase (IKK). CYLD élimine la chaîne d'ubiquitine de RIP1 et RIP1 désubiquitiné interagit avec TRADD, une protéine associée à fas avec un domaine de mort (FADD⁺), la caspase-8, et les régulateurs de l'apoptose de type CASP8 et FADD (CFLAR), aboutissant à une caspase-8 activation. Caspase-8 activée clive Bid pour activer la voie de l'apoptose mitochondriale et induire l'apoptose. Elle clive également RIP1 et RIP3 pour inactiver la nécroptose induite par RIP1 – RIP3. Lorsque les cIAP sont épuisés et que la caspase-8 est inhibée, RIP1 et RIP3 interagissent via des domaines RHIM de nécrosome de type amyloïde. Les RIP1 et RIP3 auto- et transphosphorylés recrutent ensuite des MLKL en aval pour initier la nécroptose. En absence de cIAP, RIP1, RIP3, TRADD, la caspase-8 et le CFLAR forment un complexe appelé le ripoptosome, qui active la caspase-8 et l'apoptose et requiert l'activité de la RIP1 kinase (Nagy *et al.*, 2016).

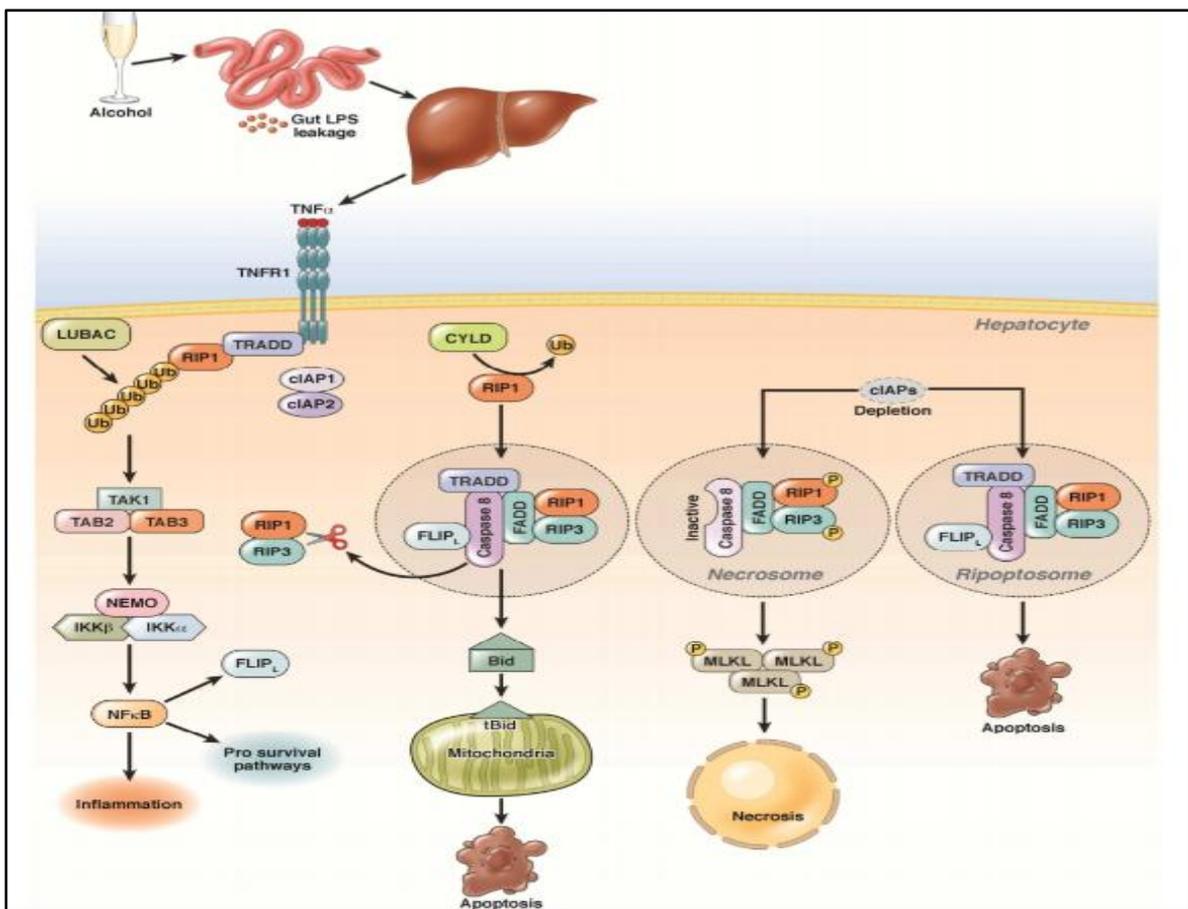


Figure 4 : Les voies de l'apoptose et de la nécrose induites par l'alcool (Nagy *et al.*, 2016).

I.4.3.4-Éthanol et inflammation

L'alcool et l'acétaldéhyde augmentent tous les deux la perméabilité intestinale et le taux de (LPS) dans la circulation portale. Le LPS se lie au TLR4 et induit le phénotype pro inflammatoire des cellules de Kupffer. L'acétaldéhyde et le LPS stimulent également les cellules parenchymateuses et non parenchymateuses afin qu'elles produisent des cytokines et des chimiokines pro inflammatoires. Le système immunitaire inné libère également des cytokines anti-inflammatoires et hépato protectrices qui activent la signalisation STAT3 dans les cellules du foie.

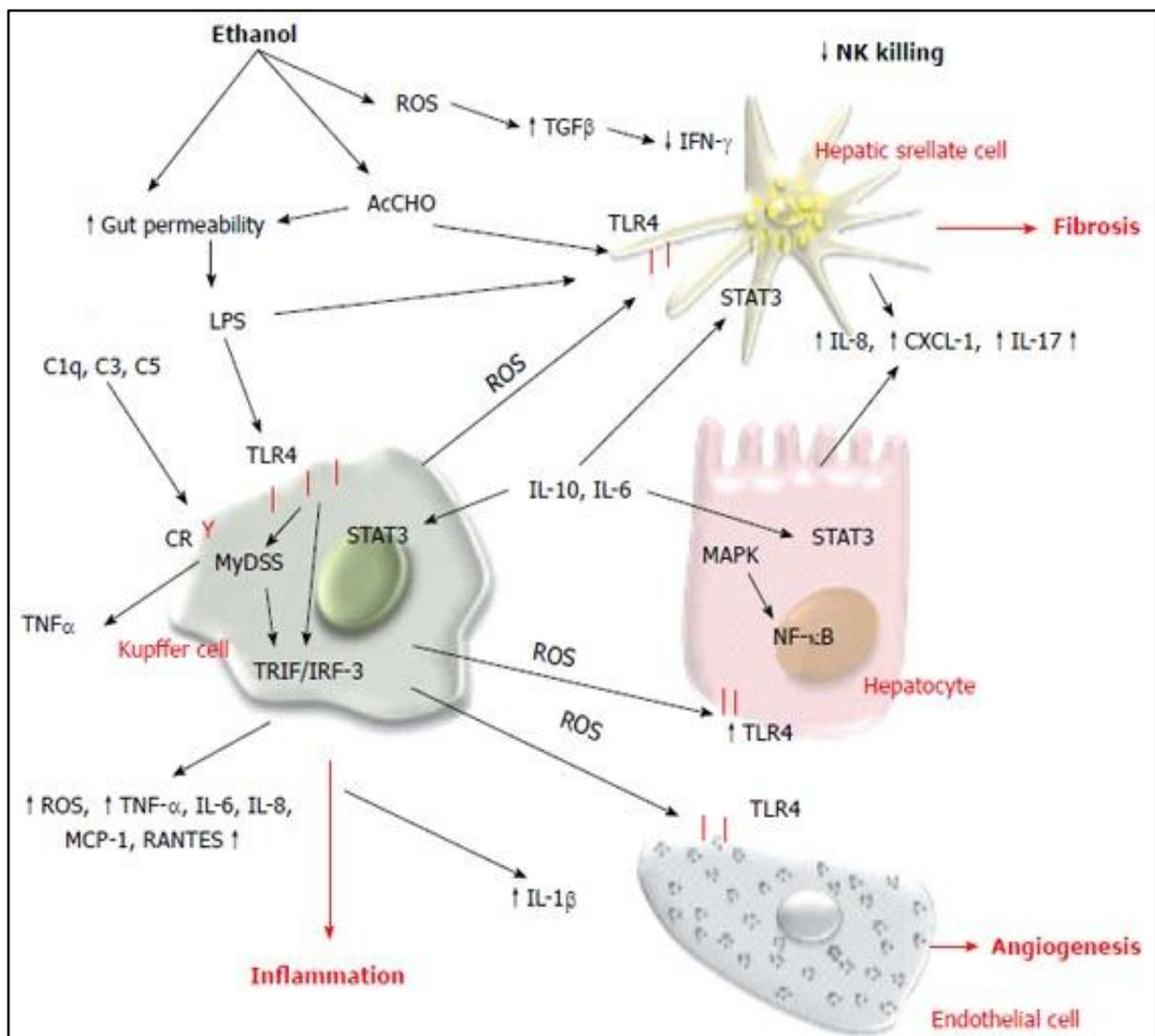


Figure 5 : L'alcool et la réponse immunitaire innée (Ceni et al., 2014).

I.5-Les conséquences pathologiques

I.5.1-L'hépatite alcoolique aiguë (HAA)

Se caractérise par des lésions de souffrance hépatocytaires (clarification, ballonnisation des hépatocytes) et par un infiltrat à polynucléaires neutrophiles au voisinage des hépatocytes altérés. L'infiltrat à polynucléaires neutrophiles est fréquemment associé à la présence de cellules mononuclées et à une hyperplasie des cellules de Kupffer (Naveau, 2001).

I.5.2-Stéatose alcoolique

La stéatose est la conséquence d'une accumulation de triglycérides dans les hépatocytes. Ces triglycérides sont issus de l'estérification à l'alcool de trois acides gras avec un glycérol-3-phosphate. Les acides gras utilisés pour la synthèse des triglycérides hépatiques peuvent être des acides gras non estérifiés, issus de la lipolyse du tissu adipeux, et des acides gras néo synthétisés à partir du glucose par la voie de la lipogenèse hépatique. Les acides gras peuvent alors servir de substrats pour produire de l'énergie principalement par la voie de β -oxydation mitochondriale. Elles peuvent être estérifiées et stockés sous forme de triglycérides dans des gouttelettes lipidiques ou sécrétés dans le sang sous forme de lipoprotéines de très faible densité (VLDL). La stéatose résulte d'un déséquilibre de l'homéostasie lipidique hépatique associant un apport accru d'acides gras dans le foie et une diminution de leur utilisation (Teixeira-Clerc, 2015).

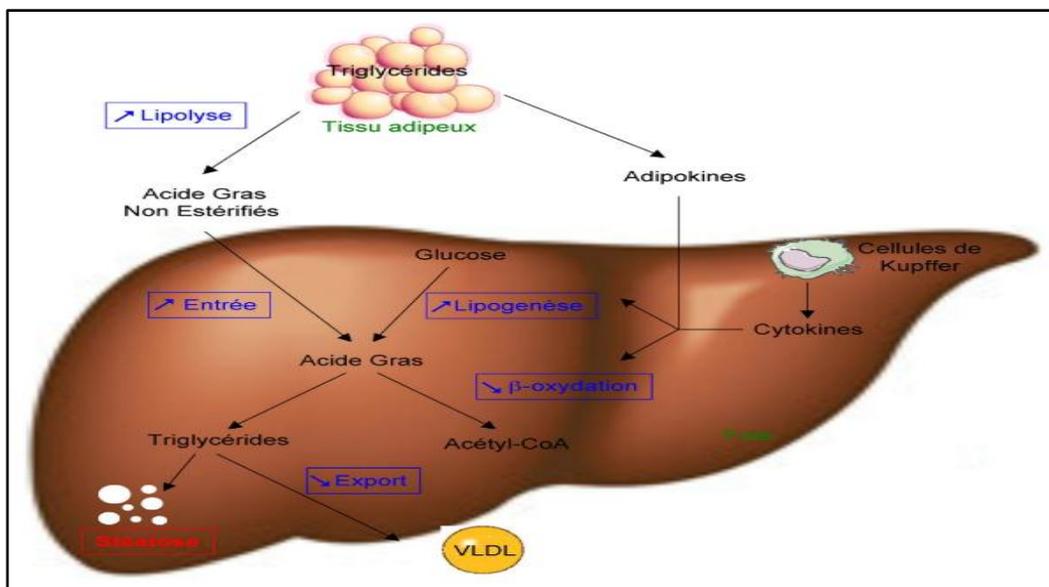


Figure 6 : Mécanismes de la stéatose alcoolique (Teixeira-Clerc, 2015).

I.5.3-Fibrose alcoolique

L'acétaldéhyde est l'un des principaux médiateurs de la fibrogénese hépatique induite par l'alcool. Il provoque une synthèse accrue des composants du collagène et de la matrice extracellulaire (MEC) par l'activation de la voie de signalisation du facteur de croissance transformant (TGF) β / SMAD3. De plus, les ROS issus du métabolisme microsomale de l'éthanol, dérivées de neutrophiles sont capables d'induire la peroxydation des lipides et les adduits de protéines MDA / HNE dans les CSH, ce qui entraîne une augmentation de la synthèse de collagène.

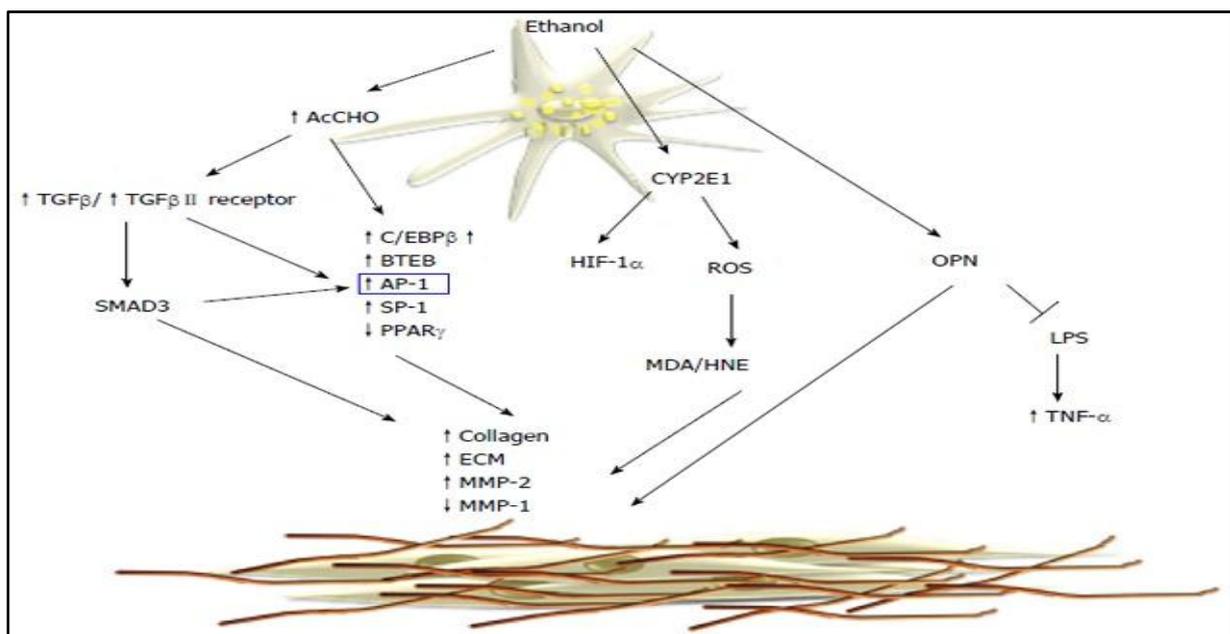


Figure 7 : Mécanismes moléculaires de la fibrose alcoolique (Ceni *et al.*, 2014).

I.5.4-Cirrhose alcoolique

La cirrhose alcoolique est une maladie de constitution progressive. Les principales causes sont l'acétaldéhyde et les ROS formés lors du métabolisme hépatique de l'alcool. Les altérations oxydatives des macromolécules cibles favorisent la progression vers la cirrhose alcoolique du foie (Ratna *et al.*, 2017).

L'éthanol est d'abord métabolisé par l'ADH (ADH) en acétaldéhyde cancérogène, qui provoque des dommages importants aux cellules en formant des adduits à l'ADN et aux protéines. Le CYP2E1 déclenche également la formation d'acétaldéhyde et d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Le stress oxydatif secondaire à l'accumulation de ROS endommage les composants cellulaires par la peroxydation des lipides et la mutagenèse de l'ADN via la formation de produits d'addition et l'altération des mécanismes de réparation. Les effets de l'accumulation de fer et de lipides habituellement observés dans les maladies alcooliques du foie participent également à l'accumulation de ROS et aggravent encore les effets néfastes du stress oxydatif. De plus, l'alcool favorise l'inflammation via la translocation des bactéries intestinales et du lipopolysaccharide, qui sont responsables de la production de cytokines et de chimiothérapies inflammatoires dans la formation de ROS. L'acétaldéhyde modifie également le transfert de méthyle, conduisant à une hypométhylation de l'ADN associée à des modifications de l'expression génique (gènes d'oncogènes et de gènes suppresseurs de tumeurs) (ganne-carrié, 2019).

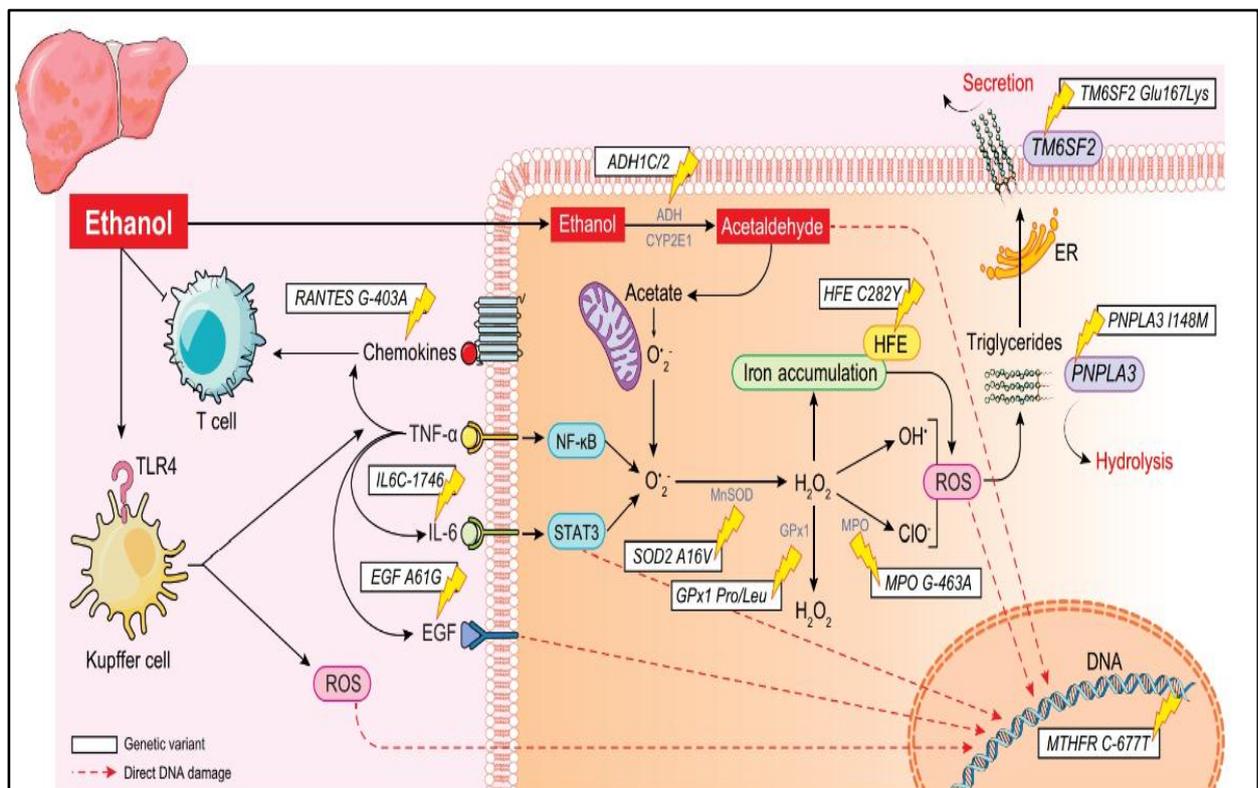


Figure 8 : Les voies biologiques impliquées dans la carcinogenèse hépatique à médiation par l'alcool (ganne-carrié, 2019)

I.5.5-Carcinome hépatocellulaire

II-L 'utilisation des plantes médicinales

L'utilisation des plantes médicinales comprend la consommation des plantes entières, des matières végétales, des préparations à base de plantes et des médicaments à base de plantes. Par utilisation traditionnelle, on entend une utilisation très ancienne de ces plantes dont l'innocuité et l'efficacité ont été bien établies et qui sont même parfois agréées par certaines autorités nationales (**Dutertre, 2011**).

II.1-La phytothérapie

La Phytothérapie est une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes. Elles soient consommées ou utilisées en voie externe. On distingue deux types de phytothérapies ; la phytothérapie traditionnelle et la phytothérapie clinique (**Chabrier, 2010**).

II.2-Les plantes médicinales

Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (**Sanago, 2006**).

II.3-Différents groupes de principes actifs des plantes médicinales

II.3.1-Principe actif

C'est une molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'Homme ou l'animal. Le principe actif est contenu dans une drogue végétale ou une préparation à base de drogue végétale (**Chabrier, 2010**).

II.3.2-Les groupes de principes actifs des plantes

Les éléments actifs qui sont l'origine des actions thérapeutiques des plantes, ont été récemment isolés et étudiés. Donc il est indispensable de connaître la composition des plantes pour comprendre comment elles agissent sur l'organisme (**Chevallier, 2001**). Les plantes produisent des métabolismes primaires entrant dans la fonction cellulaire vitale et elles synthétisent aussi beaucoup de composés secondaires qualifiés, citant les :

II.3.2.1-Les polyphénols : Les composés phénoliques, constituent l'un des groupes de substances les plus largement distribués du règne végétal, avec plus de 8000 structures phénoliques connues à ce jour. Ils ont au moins un cycle aromatique avec un ou plusieurs groupes hydroxyle, et peuvent être classés en tant que flavonoïdes et non-flavonoïdes. Ils participent à l'élimination des radicaux libres, la protection et la régénération d'autres antioxydants alimentaires (par exemple, la vitamine E) et la chélation de métaux pro-oxydants. (Lima et al., 2014).

II.3.2.2-Les flavonoïdes : sont des composés poly phénoliques comprenant 15 atomes de carbone formant une structure $C_6C_3C_6$, soit deux noyaux aromatiques reliés par un pont de 3 carbones. Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils ont des rôles variés dans les plantes en tant que métabolites secondaires, étant impliqués dans les processus de défense contre les UV, la pigmentation, et la résistance aux certaines maladies. (Chira et al., 2008).

II.3.2.3-Les tanins : sont des polyphénols solubles dans l'eau que l'on trouve dans presque toutes les parties de la plante. Les propriétés des tanins sont basées sur leurs structures chimiques comportant deux ou trois groupes hydroxyle phénoliques sur un noyau phénol. Elles ont un effet antimicrobien lié à l'inhibition des enzymes microbiennes extracellulaires, telles que la cellulase, la pectinase, la xylanase, la peroxydase, la laccase et la glycosyl transférase. (Marta et al., 2018).

II.3.2.4-Les saponines : constituent un groupe diversifié de glycosides métaboliques présents dans de nombreuses plantes supérieures (Bhatia et al., 2015). Ce sont des composés phytochimiques qui produisent une mousse lorsqu'ils sont dissous dans de l'eau (Bone et al., 2013).

II.3.2.5-Les glucosinolates : sont des composés biologiquement actifs de la famille des plantes Brassicaceae, notamment le brocoli, le chou, le chou-fleur, la moutarde et le raifort. Leurs effets bénéfiques sont, les fonctions régulatrices de l'inflammation, la réponse au stress, le métabolisme de phase I et les activités antioxydantes, ainsi que les propriétés antimicrobiennes directes. (Karyn et al., 2016).

II.3.2.6-Les anthraquinones : se présentent généralement sous leurs formes glycosidiques. Ces composés confèrent une couleur aux plantes et ont été largement utilisés comme colorants

naturels. En outre, ils sont également utilisés comme laxatifs et possèdent des activités antifongiques et antivirales. (Simpson et al., 2017).

II.4-Différents effets des plantes médicinales

Plusieurs milliers de plantes sont utilisées par le monde. Leur champ d'action est vaste et leur puissance varie. La plupart ont des effets spécifiques sur certaines parties de l'organisme et sont reconnues pour pouvoir traiter divers cas (Chevallier, 2001).

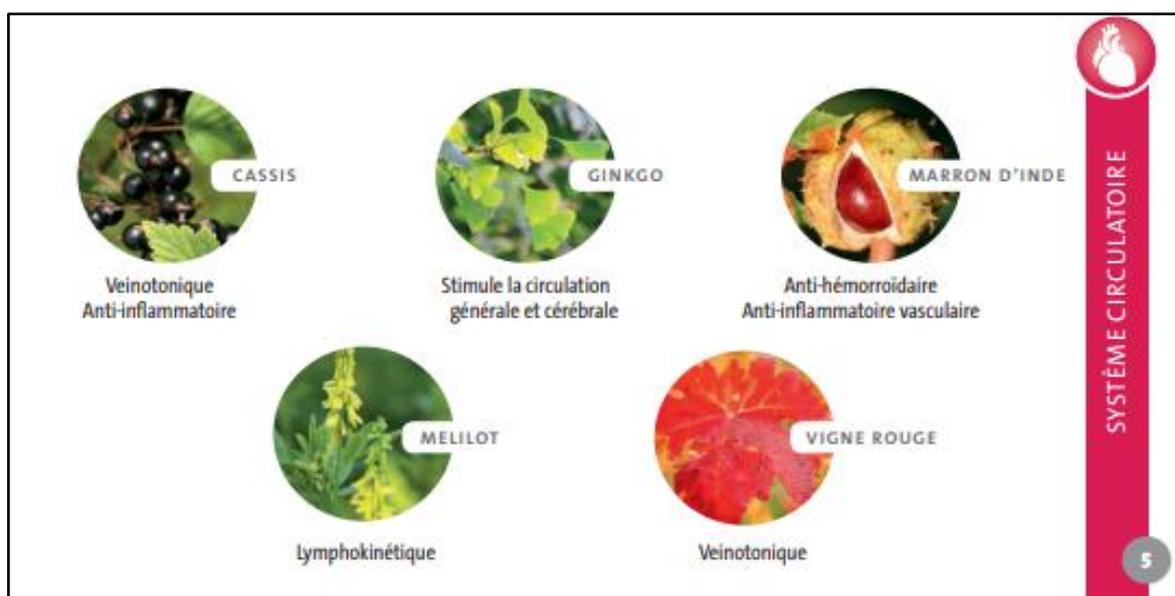


Figure 9 : Différentes plantes ont des effets sur le système circulatoire.

www.iesv.org.com.(2015-2016)

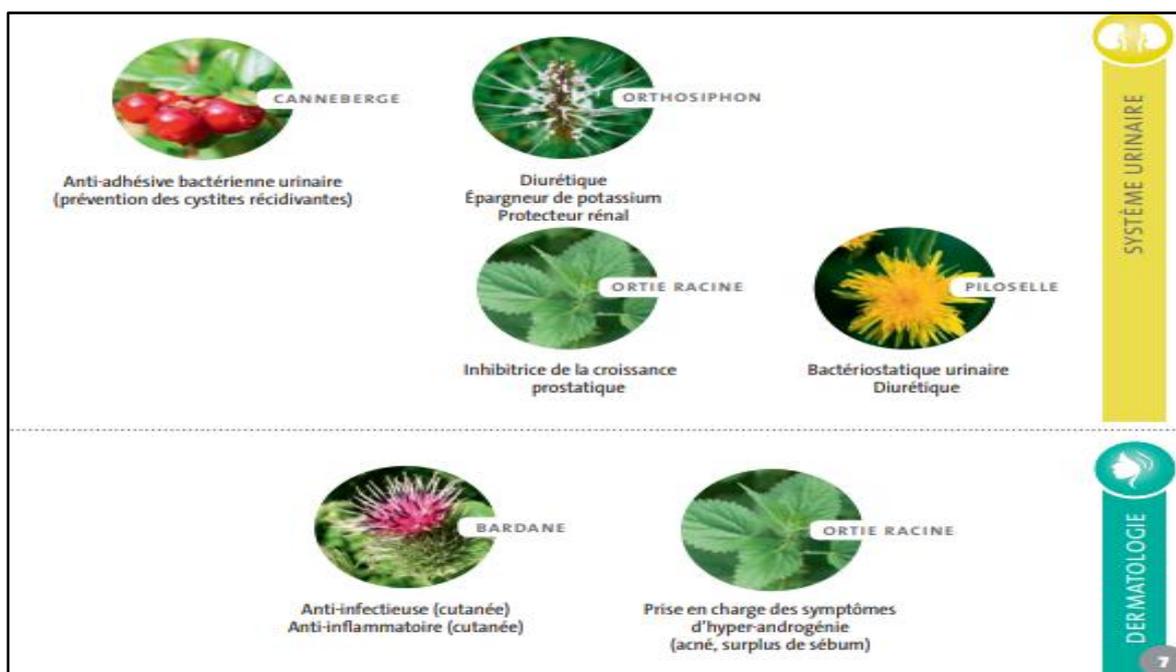


Figure 10 : Différentes plantes ont des effets néphro et dermato-protecteurs.

www.iesv.org.com.(2015-2016)

II.5-Les plantes à effet hépato protecteur

Le mécanisme d'hépatoprotection par les composants des plantes exerce généralement de multiples effets. Bien qu'ils montrent une hépatoprotection due à un effet antioxydant. Il existe d'autres effets immunomodulateurs, antiviraux (Wiert *et al.*, 2005) et anti-inflammatoires. (Sandur *et al.*, 2007). Parmi les plantes médicinales hépatoprotectrices, on cite les exemples suivants :

II.5.1-La feuille de *Ceriops decandra*

Prélevée dans la forêt de mangroves de Pichavaram à Tamilnadu (Inde). Elle possède une activité protectrice contre l'hépatotoxicité induite par le tétrachlorure de carbone chez les rats Albinos Wistar, traités par l'extrait de feuilles de *C. decandra* contenant des doses faibles, moyennes et élevées (respectivement 100, 200 et 400 mg kg⁻¹ poids corporel). Des études *in vitro* ont été effectuées avec les tests DPPH, HRSA, NO, FRAP et LPO. Les résultats présentent un niveau réduit de propriétés enzymatiques, ce qui pourrait être dû à la stabilisation de la membrane cellulaire hépatique, à l'inhibition de la peroxydation des lipides et aux propriétés piégeuses radicalaires. Donc

la nature hépato protectrice de l'extrait de feuille de *C. decandra* pourrait être expliqués par la présence de métabolites secondaires uniques et à leurs propriétés antioxydantes tels que les groupes phénoliques, d'alcaloïdes, de triterpénoïdes, de flavonoïdes, de catéchine et d'antraquinone (Gnanadesigan et al., 2017).



Figure 11 : la plante de *Ceriops decandra*, (www.toxiplant.fr.2018).

II.5.2-Aquilaria malaccensis (A. malaccensis) et Aristolochia longa (A. longa)

Sont des Plantes très bien connues par leur utilisation dans la médecine populaire contre le cancer dans plusieurs régions d'Algérie. *A. malaccensis* a de nombreuses activités biologiques, y compris activité antimicrobienne, antitumorale, antioxydante. *A. Longa* a également plusieurs propriétés thérapeutiques contre les insuffisances ovariennes, et des effets analgésiques, anti-inflammatoires, anti-hyperglycémiant.

L'étude réalisée pour clarifier les effets protecteurs de (*A. longa*) et (*A. malaccensis*) vis-à-vis de l'hépatotoxicité aiguë induite par une dose de plomb (10g/Kg de poids corporel) chez les rattes Wistar albinos.

Les résultats révèlent que le traitement au plomb a entraîné une augmentation significative des taux sériques de GOT, GPT et ALP et de la concentration d'MDA dans le foie et l'activité de la catalase. Également une modification de la fonction des différents tissus hépatiques.

Par contre, le traitement par *A. malaccensis* et *A. longa* a apporté une correction partielle des paramètres précédents. Les observations histologiques confirment les effets hépatoprotecteurs de ces deux extraits. Ceci démontre les effets bénéfiques du traitement par *A. longa* et *A. malaccensis* sur les maladies induites par le plomb, stress oxydatif et lésions tissulaires du foie (Derouiche et al., 2017).



Figure 12 : la plante de *Aristolochia longa* ([Http://guadarramistas.com](http://guadarramistas.com).2010).



Figure 13 : la plante de *Aquilaria malaccensis* (Floraofsingapore.wordpress.com.2011).

II.5.3-*Alchemilla mollis* (Buser) Rothm, du genre *Alchemilla*, est également utilisée en médecine traditionnelle européenne, et pousse naturellement et largement en Turquie.

Une autre étude porte sur les effets protecteurs d'*Alchemilla mollis* vis-à-vis de l'hépatotoxicité et l'hypoglycémie induites par le tétrachlorure de carbone sur des souris diabétiques induit par l'alloxan. Les résultats de l'activité hépatoprotectrice ont révélé que les taux sériques d'ALAT étaient significativement réduits à la fois par les extraits de parties aériennes et de racines à des doses de 100 mg / kg et de 200 mg / kg.

Parallèlement, les résultats de L'examen histopathologique montrent que les parties aériennes et les racines d'*A. Mollis* induisaient une récupération significative des dommages cellulaires, par rapport au groupe du tétrachlorure de carbone. L'activité la plus significative a été observée avec une dose de 200 mg / kg des extraits des parties aériennes de *A. mollis*. Donc il existe des preuves d'une activité hépatoprotectrice d'*A. Mollis* sur le contenu phénolique de la plante, en particulier dans le cas des flavonoïdes, qui possèdent de puissantes propriétés anti oxydantes (Ozbeka et al., 2017).

II.5.4-Les feuille de *Coccinia indica*

Coccinia indica est une plante appartenant aux cucurbitacène. Contient des matières premières importantes pour la production de médicaments, tels que des composés bioactifs comme les métabolites secondaires dans la partie aérienne. **Vinothkumar et al., 2019** ont étudié l'activité hépatoprotectrice de l'extrait de feuille de *C. indica* (400 mg / kg de poids corporel / par voie orale / jour pendant 7 jours) ; contre les effets toxiques induits par l'énalapril (1,5 g / kg de poids corporel / par voie orale) chez des rats albinos femelles.

L'étude histologique du foie des animaux traités par l'énalapril (1,5g/kg de poids corporel) a montré une dégénérescence et une nécrose des hépatocytes graves dans la zone centriozonale. Des cellules inflammatoires ont également été observées dans la triade. Une section hépatique de rats traités par l'énalapril et l'extrait d'éther diéthylique de feuille de *C. indica*, a montré une réduction de la zone nécrosée et des infiltrats inflammatoires dans la zone centriozonale avec disparition de l'infiltrat inflammatoire autour triade de portail. Egalement à la même tendance, une augmentation significative des niveaux de bio marqueur enzymatique, notamment de la GPT, GOT, GGT, ALP, LDH et de la bilirubine totale chez les animaux traités à l'énalapril. Donc L'effet hépatoprotecteurs, antioxydant et anti inflammatoire de l'extrait de feuille de *C indica* pourrait être expliqué par la

présence de métabolites secondaires uniques et à leurs propriétés tels que les glucides, les glycosides, les alcaloïdes, les tanins et les flavonoïdes (Vinothkumar et al., 2019).

II.5.5-Le Thé vert

Le thé vert est un produit non oxydé et non fermenté pour inactiver les enzymes oxydantes. Il contient plusieurs polyphénols, principalement des catéchines, également les antioxydants comme les vitamines ont diverses activités biologiques. Aussi le stress oxydatif semble-t-il atténué par les antioxydants nutritionnels non enzymatiques tels que la vitamine c

Tahoun et al., (2018) ont étudiés les effets histopathologiques, hépatoprotecteurs et biochimiques du stress oxydant due à la toxicité du fénitrothion (10 / kg de poids corporel / par voie orale) chez des rats albinos traités par un extrait de feuille de thé vert (3%) et une dose de vitamine C (2g/l) pendant 6 semaines. Les résultats obtenus ont révélé une augmentation significative du malondialdéhyde (MDA), associée à une diminution significative des valeurs des paramètres antioxydants (SOD, GSH, CAT et TAC) comparés au témoin. Par contre l'administration d'extraits de thé vert et de la vitamine C a entraîné une augmentation significative du SOD, GSH, CAT et TAC, dans les groupes traités avec le fénitrothion et le thé vert et les groupes traités par le fénitrothion et à la vitamine C par rapport au groupe traité par fénitrothion

L'étude histopathologique a révélé que le foie des rats administré le fénitrothion présentait une congestion des vaisseaux portaux, un canal biliaire et une dégénérescence hydropique des hépatocytes et de grandes zones de nécrose coagulante infiltrées par des lymphocytes dans la région portale. Donc l'extrait de thé vert diminue le stress oxydatif hépatique, probablement en raison de ses propriétés antioxydantes et des polyphénols qui éliminent les radicaux libres. (Tahou et al., 2018).

II.6-Plantes médicinales et hépatotoxicité de l'éthanol

II.6.1-La préparation polyherbale

Les formulations polyherbales sont considérées meilleures qu'une simple herbe. Par conséquent, les paramètres biochimiques et les études histopathologiques révèlent que Herbal Preparation (HP-4) est une formulation polyherbale d'extrait de feuilles d'*Aloe vera*, de *Bacopa monniera*, de *Moringa oleifera* et de rhizome de *Zingiber officinale* offrant des effets hépatoprotecteurs

synergiques dus aux divers composés phytochimiques présents dans le produit, contre l'hépatotoxicité induite par l'alcool. (Padmanabhan et al., 2014).

II.6.1.1- *Aloe vera* L. (syn. : *Aloe barbadensis* Miller)

Est une plante vivace et succulente appartenant à la famille des Liliacées. *L'Aloe Vera* leaf possède de nombreuses activités pharmacologiques telles que purgatif, antibactérien, anticancéreux, antifongique et antioxydant, (Patil, 2010). Dans l'étude rapportée par Saka et al., 2011, l'effet hépatothérapeutique d'*Aloe veramay* est apporté par ses propriétés antioxydantes de ses principes bioactifs par le biais de mécanismes de stabilisation de la membrane. Cette étude constitue également la preuve pharmacologique et l'appui de l'utilisation médicinale traditionnelle de la plante dans le traitement des lésions hépatiques induites par l'alcool. (Padmanabhan et al., 2014).



Figure 14 : La plante de *l'aloë vera* (Leech, 2017).

II.6.1.2- *Bacopa monniera*

Appartient à la famille Scrophulariaceae, est une petite plante herbacée qui pousse dans les zones marécageuses et humides des régions tropicales. C'est une herbe rampante avec de nombreuses branches, de petites feuilles charnues oblongues. La tige et les feuilles de la plante sont largement utilisées comme extraits aux propriétés anti-ulcérogènes, anticancéreuses et hépato protectrices (Padmanabhan et al., 2014).



Figure 15 : la plante de *Bacopa monniera*. (Www.aquaticmag.com.2019).

II.6.1.3-Moringa oleifera Lam

Est l'espèce géographique la plus répandue de la famille des Moringacées. Présent principalement dans les pays asiatiques ; a des vertus médicinales et nutritionnelles. Les feuilles sont très nutritives comparées à d'autres parties également bénéfiques, sources de protéines, de β -carotène, de vitamines A, B, C et E, de riboflavine, d'acide nicotinique, d'acide folique, de pyridoxine, d'acides aminés, de minéraux et de divers composés phénoliques (**Fakurazi et al., 2012**). Dans une étude rapportée par (**Nadro et al., 2006**) sur l'extrait des feuilles de *Moringa oleifera* contre l'hépatotoxicité induite par l'alcool, on a conclu que le prétraitement de l'extrait protégeait le foie contre les dommages aigus provoqués par l'alcool. Tandis que le post-traitement avec l'extrait présentait effet thérapeutique. Cela signifie que les propriétés à la fois préventives et curatives sont démontrées, ce qui a été attribué à la richesse de l'extrait des feuilles en antioxydants présentés de manière dose-dépendante (**Nador et al., 2006**).

II.6.1.4-Zingiber officinale Roscoe

Ou communément appelé « gingembre » appartient à la famille des Zingibéracées. La partie largement utilisée est le rhizome dans les médecines traditionnelles. Il a été utilisé pour traiter les maux de tête, les rhumatismes, les brûlures, l'ulcère peptique, la dyspepsie, la dépression, l'impuissance et les maladies du foie (**Patil, 2010**). Dans le rhizome de gingembre frais, les

composés polyphénoliques gingerols se présentant sous la forme de 6-gingérol, Le 8-gingérol et la zingérone sont les composants actifs responsables a l'hépatotoxicité à cause de leur effet antioxydant (Saka et al., 2011).



Figure 16: *zingiber officinale* (<http://www.alvita.com/herbal-teas.html>).

II.6.2-Les graines de citrouille (*Cucurbita pepo* L.)

Elle constitue une source riche en acides gras insaturés, antioxydants et de fibres, connues pour leurs activités antiathérogènes et hépato protectrices. L'huile de graines de citrouille comprend les acides gras suivants : palmitique, stéarique, oléique et linoléique, et les principaux nutriments de l'huile de graine de citrouille sont : acide gras oméga 6, oméga - 9, les phytostérols, et des antioxydants tels que les caroténoïdes, la vitamine A et la vitamine.

L'évaluation des effets protecteurs et antioxydants de l'huile de citrouille contre l'hépatotoxicité et le stress oxydant induits par l'alcool chez les rats albinos a été réalisée en donnant de l'alcool éthylique absolu (10%) dans de l'eau de boisson pendant 15 jours avant l'expérience. La dose d'huile de citrouille a été ajustée à 50mg/ kg et administrée quotidiennement pendant 4 semaines. Les résultats ont affirmé une augmentation marquée des activités sériques de (ALT), (AST), (ALP) et (γ GT). En ce qui concerne le stress oxydatif et le système de défense antioxydant, il a été enregistré une diminution des activités de la GST et la catalase chez les rats traités par l'alcool

était potentiellement supérieure à la normale par rapport au traitement préalable à l'huile de citrouille. Cependant, bien que la peroxydation lipidique soit élevée chez les rats traités par l'alcool, le prétraitement à l'huile de citrouille a entraîné une diminution détectable du taux de peroxydation lipidique. Donc Les composants naturels des plantes contenus dans la citrouille pourraient améliorer le foie contre la toxicité hépatique induite par l'alcool et le stress oxydatif. Donc l'effet améliorant de l'huile de citrouille (*Cucurbita pepo* L.) contre l'hépatotoxicité et le stress oxydatif induits par l'alcool chez le rat Albinos. (Abou Seif, 2014).



Figure 17 : *cucurbita pepo* L (various, 2013).

II.6.3-*Silybium marianum*

Silybium est un membre de la famille des Asteraceae, une plante connue dans le monde entier, aux graines noires et brillantes. Des extraits de graines de *Silybium marianum* ont été utilisés en médecine traditionnelle pour le traitement des maladies du foie, les maladies du foie et des voies biliaires. Das et al., 2006 ont examiné l'effet de la silymarine, médicament hépato protecteur, sur les paramètres biochimiques, en particulier le statut antioxydant des rats exposés à l'éthanol avec une dose de 1.6g/kg de poids corporel/jour pendant 4 semaines. Les résultats ont démontré que le

superoxyde dismutase (SOD) et de la glutathion-s-transférase (GST) ont été significativement augmentées, alors que les activités du catalase, glutathion réductase (GR) et GPx (glutathion peroxydase) et le contenu en GSH ont été considérablement réduites suite à l'exposition à l'éthanol. Mais la *silybine* a permis d'inverser ces changements. Il a également été observé que l'abstinence d'éthanol pourrait aider à la régénération hépatique (Das et al., 2006).



Figure 18: *silybium marianum* (www.amazon.com).



DEUXIEME SECTION :
MATERIELS
ET
METHODES



I-MATERIELS

I.1-Matériels végétal

I.1.1-Préparation de l'extrait *n*-butanol

L'extraction ou les différentes étapes de la préparation des phases chloroformique, acétate d'éthyle et *n*-butanolique de la partie aérienne de la plante sont réalisées au niveau de l'unité de recherche : Valorisation des Ressources Naturelles et Analyses Physico-Chimiques et Biologiques, Faculté des Science Exactes, Université Frères Mentouri Constantine 1. L'extraction est réalisée suivant un protocole bien défini est détaillé de l'unité de recherche.

Les parties aériennes (feuilles, tiges et fleurs) des deux plantes ont été coupées en petits morceaux et mises à macérer dans un mélange méthanol-eau (7 : 3) pendant sept (07) jours, cette opération est répétée trois fois avec renouvellement de solvant. Après concentration à une température n'excédant pas 40°C, nous avons obtenu un résidu sirupeux, qui est dilué avec 1500 ml d'eau distillée. La solution obtenue est laissée au repos à froid pendant une nuit pour décantation. Cette décantation permet le dépôt de la chlorophylle, des cires, du sable...etc. Après filtration, la phase aqueuse obtenue est épuisée successivement par une extraction liquide-liquide dans une ampoule à décanter en utilisant des solvants non miscibles à l'eau et de polarité croissante en commençant par l'éther de pétrole, le chloroforme, l'acétate d'éthyle, et le *n*-butanol. Les trois phases organiques récupérées ont été séchées, concentrées sous pression réduite à sec et pesées. La phase *n*-Butanol obtenus des deux plantes a été utilisée dans cette étude.

I.2-Réactifs

Les solvants organiques utilisés dans les différents compartiments de cette étude sont de grade analytique (Le méthanol, le chloroforme, et l'acétate d'éthyle) ont été fournis par *Sigma-Aldrich*. L'éthanol par Honeywell et le *n*-butanol par PROLABO.

Les différents acides sont : Le Trichloroacide Acétique (TCA), l'acide sulfurique et l'acide ascorbique et l'acide gallique sont achetées de *Sigma*.

Les réactifs chimiques sont : le DPPH diphénylpicryl β hydrazyl, le Molybdate d'ammonium, le Folin-Ciocalteu (FCR) et le trichlorure d'aluminium ont été fournis par *Sigma-Aldrich*, le Ferricyanide de Potassium par UCB Belgique.

Partie pratique

Les sels sont : Bicarbonate de sodium, Chlorure de Sodium (NaCl), potassium Phosphate dibasique (K_2HPO_4), Phosphate de potassium monobasique (KH_2PO_4) ont été fournis par Honeywell-Fluka, Sigma-aldrich, Vel.

D'autres produits chimiques utilisés : la quercétine, le Chlorure de fer ($FeCl_3$), le butylhydroxytoluène (BHT) et le BHA. Chlorure de potassium (KCl) Par Vel, acétate de sodium (CH_3COONa) par Merck, aluminium chlorure par Chiminova, sodium phosphate monobasic (NaH_2PO_4) et TRIS par Sigma-aldrich.

I.3-Matériels Animal et entretien des Animaux

L'étude a été réalisée sur des rats mâles de souche Wistar Albinos, pesant entre 250 et 300g (au début de l'expérimentation), issus par élevage au niveau de l'animalerie de l'Université des frères Mentouri Constantine 1, logés dans des cages en matière plastique ayant un couvercle en acier inoxydable où chaque cage regroupe 4-5 rats. Ils ont libre accès à l'eau et à la nourriture.

Avant leur utilisation les rats ont subi une période d'adaptation de 3 semaines au niveau de l'animalerie à une température constante (22 ± 2) °C et soumis à un cycle de lumière/obscurité de 12/12h pour le respect de leur horloge biologique. Ils ont été traités conformément au principe et directive énoncés dans le manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation. L'identification individuelle des rats se fait par numérotation au niveau de la queue à l'aide d'un marqueur permanent.

II-METHODES

II.1-Etude *in vitro*

II.1.1- Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux se fait à travers le réactif de Folin-Ciocalteu qui est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols en milieu alcalin, en un mélange d'oxydes bleu de tungstène et de molybdène (**Ribéreau, 1968**). La coloration produite, dont l'absorption maximum à environ 760-765 nm est égale à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot et al., 2006**).

Partie pratique

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode de spectrophotométrie, suivant le protocole de **Wong et al., 2006**. 125 µl d'extrait végétal dilué dans le méthanol et mélangé avec 500 µl d'eau distillée et 125 µl de réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) tout a été ajouté successivement. Après 5 minutes, on ajoute 1250 µl de 2% de carbonate de sodium (Na₂CO₃) et 1000 µl d'eau distillée. Après une incubation du mélange réactionnel pendant 90 minutes à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 760 nm.

La courbe d'étalonnage est réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations (0-500 µg/ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi présentés en mg d'équivalent d'acide gallique par 1g poids sec de l'extrait (mg EAG/1g Exst). Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

II.1.2- Détermination des Flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes de la phase *n*-butanol des deux plantes (A et B) est effectuée par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) (**Quitter et al., 2000**). La coloration jaunâtre observée dans cette méthode est due à la formation d'un complexe entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. 1ml d'extrait préparé dans du méthanol est ajouté à 1ml de AlCl₃-6H₂O (Solution méthanolique de 2%). Après 1 h d'incubation à température ambiante, l'absorbance est lue à 415 nm.

La courbe d'étalonnage est effectuée par la quercétine à différentes concentration (0- 100µg/ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en mg d'équivalent de quercétine par 1 g poids sec de l'extrait (µg EQU/1gExst). Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

II.1.3- Evaluation du pouvoir anti radicalaire (DPPH)

Le test DPPH (diphénylpicrylhydrazyl) est une méthode utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydante. La présence de ces radicaux DPPH[•] Donne lieu à une coloration violette foncée de la solution. La réduction des radicaux DPPH[•] par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution (**Molyneux, 2004**). Le changement de couleur peut être suivie par spectrophotométrie à 517nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminée (**Popovici et al., 2010 ; Molyneux, 2004**).

Partie pratique

Dans notre étude, ce test a été réalisé selon la méthode de (Kuramasamy et al., 2007). Brièvement, 1 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,2 mM) a été mélangé avec 1ml de différentes dilutions des extraits de plante (0-1 mg/ml). Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance est mesurée à 517 nm contre un témoin composé de 1ml de la solution de DPPH et de 1ml de méthanol.

Les échantillons, les témoins (l'acide ascorbique, la quercétine, le BHA, le BHT, et le torolox) et le banc sont préparés dans les mêmes conditions opératoires. La décroissance de l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre. La réalisation de la cinétique de cette activité permet de déterminer les concentrations qui correspondent à 50 % d'inhibition (IC₅₀). La valeur d'IC₅₀ la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée. La valeur de l'IC₅₀ est exprimée en µg/ml (3 répétitions pour chaque concentration).

II.1.4- Dosage de la capacité antioxydante totale « test de phosphomolybdate »

Le test est basé sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions Molybdate MoO₄²⁻ à molybdène Mo (V) MoO²⁺ en présence de l'extrait ou d'un agent antioxydant. Cette réduction se matérialise par la formation d'un complexe verdâtre (phosphate/Mo (V) à un pH acide (Prieto et al., 1999). On mesure l'augmentation de la coloration du complexe molybdène (VI) en présence d'antioxydant. A la différence des autres tests, ce test permet non seulement de quantifier l'apport de l'activité antioxydante des polyphénols mais aussi d'autres composés antioxydants tel que les vitamines (C, E...).

La méthode consiste à introduire dans un tube 200 µl de chaque extrait à différentes concentrations mélangés à 2000µl d'un réactif composé de H₂SO₄ (0,6 M), de Na₂PO₄ (28 mM) et du molybdate d'ammonium (4 mM). Le tube est ensuite bien fermé puis incubé à 95°C pendant 90 minutes. Après les avoir refroidis, l'absorbance est mesurée à 695 nm. Le témoin est constitué de 200 µl de méthanol mélangé avec 2000 µl du réactif mentionné ci-dessus.

Les échantillons et les témoins sont incubés dans les mêmes conditions. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent acide ascorbique par gramme de matière sèche de l'extrait (mg EAA/g Exst).

II.1.5- Dosage du pouvoir réducteur (FRAP)

La méthode FRAP est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}). Cette méthode évalue le pouvoir réducteur des composés (Ou et al., 2001). La présence des réducteurs (AH) dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+} /complexe Ferricyanide à la forme ferreuse. Par conséquent, le Fe^{2+} peut être évalué en Mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm (Chung et al., 2002). En effet, le système $\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ confère à la méthode la sensibilité pour la détermination « semi quantitative » des concentrations des antioxydants, qui participent à la réaction redox (Amarowicz et al., 2004).

Le protocole utilisé au laboratoire est basé sur celui décrit par Oyaizu, 1986. Dans un tube à essai en verre contenant 200 μl de solution d'échantillon à différentes concentrations, ont été ajoutés 500 μl de tampon phosphate (0,2M : pH 6,6) puis 500 μl de potassium hexacyanoferrate [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] 1% dans l'eau distillée. L'ensemble est chauffé à 50°C au bain marie pendant 20 minutes. Un volume de 500 μl d'acide trichloracétique (10%) est ensuite ajouté et le mélange est centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes. Un aliquote de 500 μl de surnageant est transféré dans un autre tube auquel ont été ajoutés 500 μl d'eau distillée et 100 μl de FeCl_3 1% fraîchement préparé dans de l'eau distillée. Un blanc sans échantillon est préparé dans les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par le méthanol.

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre le blanc en utilisant l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

II.2- Etude *in vivo*

II.2.1-Induction de l'hépatotoxicité par l'éthanol

Pour produire le modèle hépatotoxique, nous avons utilisé une seule dose de l'éthanol (30%) à (3 g/kg) administrée par gavage chaque jour pendant 15 jours.

II.2.2- Traitement des animaux

Les rats sont divisés en 6 groupes de 6 rats comme suit :

Groupe 01 : Sain témoin ou contrôle(S) : reçoit chaque jour l'eau distillée et après une heure l'eau physiologique par gavage, le volume dépend du poids corporel de chaque rat.

Groupe 02 : éthanol (ET-OH) : reçoit chaque jour une dose de 3g/kg d'éthanol par gavage.

Groupe 03 : éthanol + extrait 200mg/kg (ET-OH +p200) : reçoit chaque jour une dose de 3g/kg d'éthanol et après une heure 200mg/kg d'extrait par gavage.

Groupe 04 : témoin + extrait 200mg/kg (S+p200) : reçoit chaque jour l'eau distillée et après une heure 200mg/kg d'extrait par gavage.

Groupe 05 : éthanol + extrait 100mg/kg (ET-OH +p100) : reçoit chaque jour une dose de 3g/kg d'éthanol et après une heure 100mg/kg d'extrait par gavage.

Groupe 06 : témoin + extrait 100mg/kg(S+p100) : reçoit chaque jour l'eau distillée et après une heure 100mg/kg d'extrait par gavage.

La mesure du poids des rats est effectuée à jeun, de façon régulière ; avant le début du traitement puis après chaque semaine de traitement puis le jour du sacrifice.

II.2.3- Dissection des rats, prélèvement du sang et des organes

Après 15 jours de traitement, les rats ont été par la suite sacrifiés par anesthésie en utilisant le chloroforme et la collecte du sang s'effectue à partir de la veine porte dans des tubes (héparinés, EDTA) centrifugé à 6000 tours/minute pendant 15 minutes puis le sérum est récupéré et utilisé pour les dosages des paramètres biochimiques.

Au moment du sacrifice les organes (foies, cœur, cerveau, et reins) sont récupérés, rincés par l'eau physiologique salin 0.9 % puis pesés, aliquotes et conservés à -24°C pour des études ultérieures.

II.2.4- Préparation des fractions cytosoliques

0.5 g de foie (une aliquote) est additionné à 3ml de solution tampon Tris-EDTA phosphate 0.1M pH ; 7.4 contenant du KCl 1,15M, le mélange est homogénéisé à 1200 tours/minute par un

Partie pratique

homogénéiseur de douce. L'homogénat est ensuite centrifugé à 1000 tours/minute pendant 15 minutes à 4°C. Le surnageant est récupéré puis centrifugé à 9600 tour /minute pendant 45 minutes à 4°C, La fraction cytosolique est récupérée et utilisée pour les dosages du taux de malondialdéhyde (MDA), le taux du glutathion réduit (GSH) et l'activité de la catalase (CAT).

II.2.5-Méthodes de dosages des paramètres biochimiques du sang**II.2.5.1- Dosage de l'albumine**

L'albumine se lie au vert de bromo crésol (BCG) à pH 4,2. ce qui entraîne un déplacement. Le dosage d'albumine est mesuré au niveau d'hôpital cité El-Bir en utilisant des bandelettes commerciales.

II.2.5.2- Dosage du cholestérol

Le dosage du cholestérol est réalisé selon la méthode de **(naito,1984)**. Le cholestérol présent dans l'échantillon donne lieu à un composé coloré, L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol présent dans l'échantillon testé.

II.2.6-Méthodes de dosage des paramètres du stress oxydant**II.2.6.1- Dosage du malondialdéhyde (MDA)**

Le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) médiées par les radicaux libres. Dans notre étude, le taux du MDA hépatique a été évalué selon la méthode **d'Ohkawahawa et al., 1979**. En milieu acide et à chaud (100°C) une molécule d'MDA est condensée avec deux molécules de l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un complexe coloré en rose, absorbant à 530 nm.

A 0.5ml de la fraction cytosolique 10% (KCl 1,15M) de foie nous avons additionné 0.5 ml d'acide trichloracétique (TCA) 20% et 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) 0.67%. Le mélange est chauffé à 100°C pendant 15 minutes, refroidi puis additionné de 4 ml de *n*-butanol. Après centrifugation de 15 minutes à 3000 tours/min, la densité optique est déterminée sur le surnageant au spectrophotomètre à 520 nm. La quantité du MDA dans l'échantillon est exprimée en nmol/gramme de tissu (foie).

II.2.6.2- Dosage du glutathion réduit (GSH)

Le dosage du GSH est réalisé selon la méthode colorimétrique **d'Ellman, 1959**. Son principe est basé sur la réaction d'oxydation du GSH par l'acide 5,5'-Dithiobis2-nitrobenzoïque (DTNB), libérant ainsi l'acide thionitrobenzoïque (TNB).

A 0.5ml de la fraction cytosolique 10% (KCl 1,15M) du foie nous avons additionné 0.5 ml d'acide trichloracétique (TCA) 10% puis centrifugé à 2000 tours/min pendant 5 minutes. Ensuite, à 1.7 ml du tampon phosphate 0.1 M, PH :8 nous avons additionné 0.2 ml de surnageant et 0.1 ml du réactif d'Ellman 0.1M. La lecture de la densité optique est effectuée après 5 minutes à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le TCA 10%.

II.2.6.3-Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)

Le principe repose sur la disparition de l' H_2O_2 à 25°C par la présence de la source enzymatique dans la fraction cytosolique. La méthode utilisée est basée sur la propriété de la catalase à dégrader le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 (**Aebi, 1984**). On effectue une lecture continue du changement d'absorbance à 240 nm chaque minute dans un intervalle de temps de 2 minutes.

II.2.6.4- Evaluation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx)

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de (**Flohe et Gunzler, 1984**). Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en présence de glutathion réduit (GSH). La densité optique a été mesurée à 412 nm et l'activité de l'enzyme GPx a été exprimée en $\mu\text{mol GSH/mg protéine}$.

II.2.6.5- Dosage de l'activité de la SOD cytosolique

L'activité de la SOD cytosolique est déterminée selon la méthode de (**Marklund, 1985**).

Le principe repose sur la capacité de l'inhibition de l'autoxydation du pyrogallol par la SOD. Prélever un volume de 20 μl de la fraction cytosolique de l'échantillon (foie), ajouter 4ml de tric HCL et 40 μl de pyrogallol (20Mm) puis lire la DO à 420 nm après 1 min et 3 min. contre un blanc préparé dans les mêmes conditions.

II.2.6.6- Dosage de l'activité de glutathion s-Transférase (GST)

La mesure de l'activité de glutathion S-Transférase est déterminée selon la méthode de **(Habig et al., 1974)**. Le principe est basé sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-Chloro-2,4 dinitrobenzène) en présence d'un cofacteur le glutathion (GST), la conjugaison entraîne la formation d'une nouvelle molécule : 1-S-Glutathionyle 2-4-Di nitrobenzène permettant de mesurer l'activité de GST. La valeur de la densité optique mesurée est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formé elle-même liée à l'intensité de l'activité GST.

Le dosage consiste à faire réagir 25 µl du surnageant avec 100 µl du mélange CDNB (30 mM), 100% 1 GSH (30 mM) et 2.5 ml de BPS. La lecture des absorbances est effectuée chaque minute pendant 3 minutes à une longueur d'onde de 340 nm pendant 3 min contre un blanc contenant 25 µl d'eau distillée remplaçant le surnageant.

II.2.6.7- Dosage de protéine totale

Le dosage des protéines totales est réalisé par la méthode de **(Koller, 1984)** en utilisant un kit commercial (Spinreact). Les protéines de l'échantillon donnent une couleur violette/bleue avec le réactif de Biuret. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de protéines totales dans l'échantillon.



Troisième section :

RESULTATS

ET

DISCUSSION



I- RESULTATS DE L'ETUDE *IN VITRO*

I.1-Teneur des extraits en polyphénols et en flavonoïdes

Au cours des dernières années, un grand nombre de plantes naturelles ont été essayées pour éliminer les dommages hépatiques. Et les composés bioactifs responsables du soulagement du stress oxydatif sont généralement indistinctement attribués aux composés de polyphénols et de flavonoïdes. Ces derniers, ont été considérés comme les composés les plus importants et les plus répandus dans le règne végétal (Yadav et al., 2016). Les polyphénols naturels constituent le plus grand groupe de composés phytochimiques et attirent de plus en plus l'attention en tant qu'agents potentiels pour la prévention et le traitement des maladies liées au stress oxydatif (Li et al., 2014).

De nombreuses expériences *in vitro* ont prouvé que les composés phénoliques étaient généralement des contributeurs majeurs aux capacités antioxydantes des plantes (Li et al., 2014 ; Bousaha et al., 2015 ; Mohamadi et al., 2015 ; Bekhouche et al., 2018).

Dans notre étude réalisée *in vitro*, et menée sur le dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes totaux, l'extrait *n*-butanol des deux plantes (A et B) montre une grande richesse envers ces composés. Nos données sont en accord avec ceux publiés par (Costa et al., 2016).

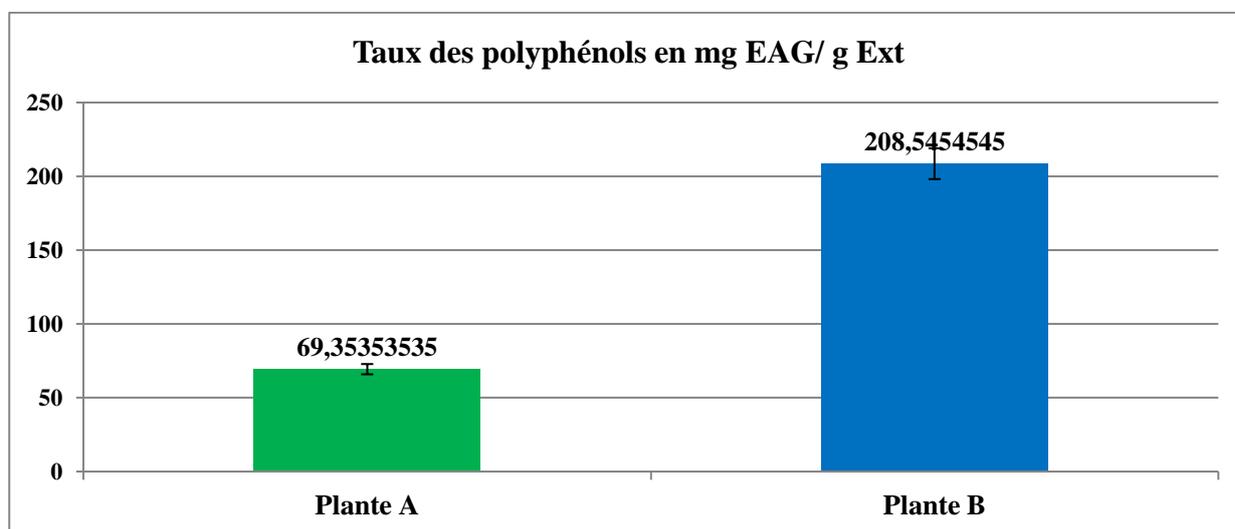


Figure 19 : Teneurs en polyphénols totaux de la phase *n*-butanol des deux extraits (A et B)

Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g de l'extrait sec (mg EAG/1g Ext).

D'après les résultats, on peut constater que les extraits des deux plantes étudiées, sont riches en polyphénols mais avec des quantités différentes. La (figure 19) montre que l'extrait *n*-butanol de la plante B possède la plus haute teneur en polyphénols par rapport à la plante A. les valeurs des polyphénols de l'extrait des deux plantes A et B sont (208.54 et 69.35 mg EAG/g Ext) respectivement.

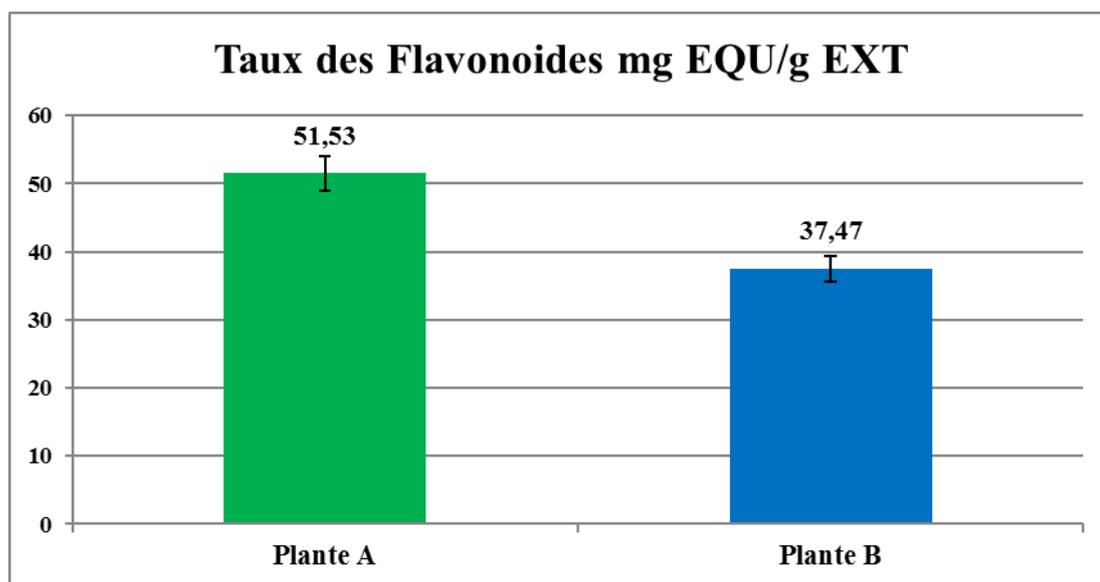


Figure 20 : teneur en flavonoïdes des extraits *n*-butanol des deux plantes (A et B).

Les résultats sont exprimés en μg d'équivalent de quercétine/mg d'extrait

L'évaluation quantitative des flavonoïdes montre que l'extrait *n*-butanol de la plante A contient une quantité importante en flavonoïdes égale à 51.53 μg d'équivalent de quercétine/mg d'extrait par rapport à la plante B qui est moins riche en flavonoïdes avec une quantité de 37.47 μg d'équivalent de quercétine/mg d'extrait.

Parmi les bioactivités notables des composés phénoliques, les activités antioxydantes ont été largement étudiées, y compris l'élimination des radicaux libres, l'inhibition de l'oxydation des macromolécules tel que les lipides, la réduction de la formation d'hydroperoxyde. Ces activités sont principalement dues à leurs propriétés rédox, qui leur permettent d'agir en tant qu'agents réducteurs, donateurs d'hydrogène et agents d'extinction de l'oxygène (Yadav et al., 2016 ; Li et al., 2014).

Partie pratique

De nombreux facteurs influencent l'accumulation phénolique chez les plantes, même si certains sont plus importants que d'autres. Il a été démontré que le stress hydrique et d'autres facteurs de croissance exogènes, l'exposition à diverses sources de lumière et la présence de pressions fongiques ou prédatrices altéraient la biosynthèse des plantes. Également leur utilisation est délimitée par plusieurs facteurs comprenant : la culture, la période de culture, les facteurs climatiques, l'humidité, la luminosité, la partie de la plante, le procédé de transport, le stockage, le processus de séchage et le processus d'extraction, qui peuvent éventuellement modifier la composition du produit, affecter directement son rendement. (Costa et al., 2016).

I.2- Le piégeage du Radical DPPH

En règle générale, l'activité antioxydante des composés bioactifs est due à leurs effets anti-radicalaires. (Kazeem et al., 2012). Le DPPH est un radical libre, stable à la température ambiante, qui produit une couleur violette dans une solution de méthanol. Il est réduit en présence d'une molécule antioxydante, donnant lieu à des solutions d'éthanol non colorées ou jaunes. L'effet de l'antioxydant sur le piégeage des radicaux du DPPH est dû à leur capacité à donner de l'hydrogène (Glauco et al., 2008).

La méthode du DPPH est indépendante de la polarité du substrat. Les graphes ci-dessous représentent la variation du pourcentage du pouvoir inhibiteur en fonction de la concentration de chaque extrait. D'après les résultats représentés dans la (figure 21), il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour le standard (l'acide ascorbique) ou pour les extraits des 2 plantes (A et B).

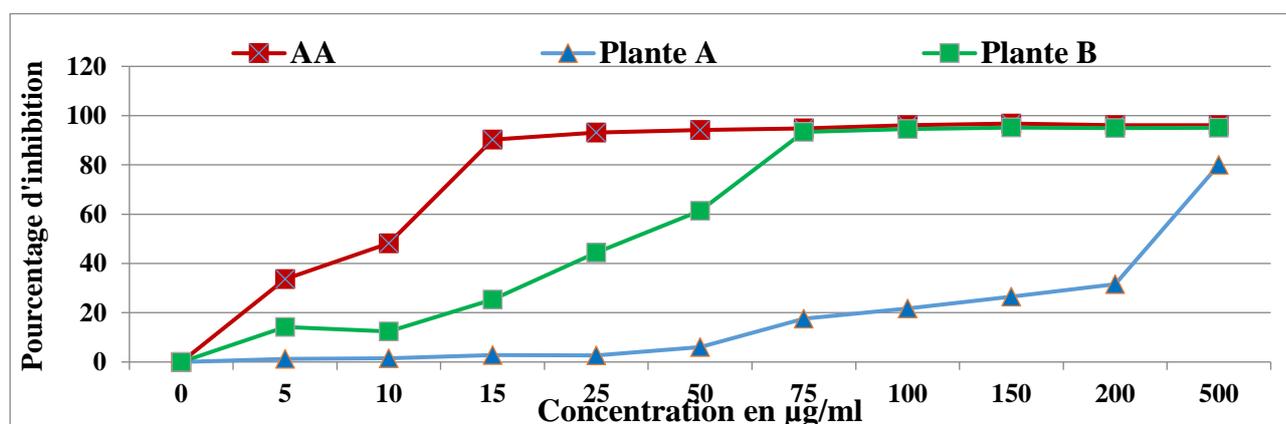


Figure 21 : Pourcentages d'inhibition du radical DPPH* par des antioxydants de références (acide ascorbique) et les deux extraits testés.

Partie pratique

On a remarqué que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour les 2 extraits (A et B) était inférieur à celui du standard pour toutes les concentrations utilisées. Ceci est en accord avec les résultats de (Bougandoura et al., 2012) qui ont démontré que les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique, tocophérol, flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène.

La capacité antioxydante des extraits a été déterminée à partir de l'IC₅₀, c'est la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radicale DPPH. Plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande. Nous avons déterminé pour chaque extrait, sa IC₅₀. À partir des équations des régressions linéaires des graphes. Les valeurs sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 1 : le pouvoir antioxydant (exprimé par IC₅₀ (en µg /ml)) de l'antioxydant de référence (AA) et des extraits testés (A et B) :

	IC ₅₀ ±Ecart type (En µg /ml)
Acide ascorbique	8,40± 0,06
Plante A	303,5±3,06
Plante B	37,02 ± 0,95

En ce qui concerne les extraits des deux plantes, l'extrait *n*-butanol de la plante B présente une IC₅₀ (de l'ordre de 37.02 ± 0,95 µg /ml) largement inférieur à celui de l'extraits *n*-butanol de la plante A. Ce résultat pourrait s'expliquer par l'augmentation des composés phénoliques et flavonoïdes dans les échantillons de la plante B (Tuyen Thi et al., 2017). La présence des polyphénols qui semblent être des donneurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur structure chimique idéale riche en groupements hydroxyles responsables de la stabilisation des radicaux libres. Nos résultats sont en accord avec (Athamena et al., 2010).

I.3-Capacité antioxydante totale « test de phosphomolybdate »

Le test de phosphomolybdate d'ammonium est aussi utilisé pour déterminer la capacité antioxydante totale ; il est basé sur la réduction d'ions Mo⁶⁺ en ions Mo⁵⁺ par les antioxydants contenus dans l'extrait. Par conséquent, il y a formation d'un complexe phosphate-Mo⁵⁺ de couleur verdâtre, en milieu acide, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en antioxydants. (Prieto et al., 1999).

Les valeurs obtenues lors de la mesure des activités antioxydantes des extraits des plantes A et B par le test de phosphomolybdate d'ammonium sont illustrées dans la figure (22).

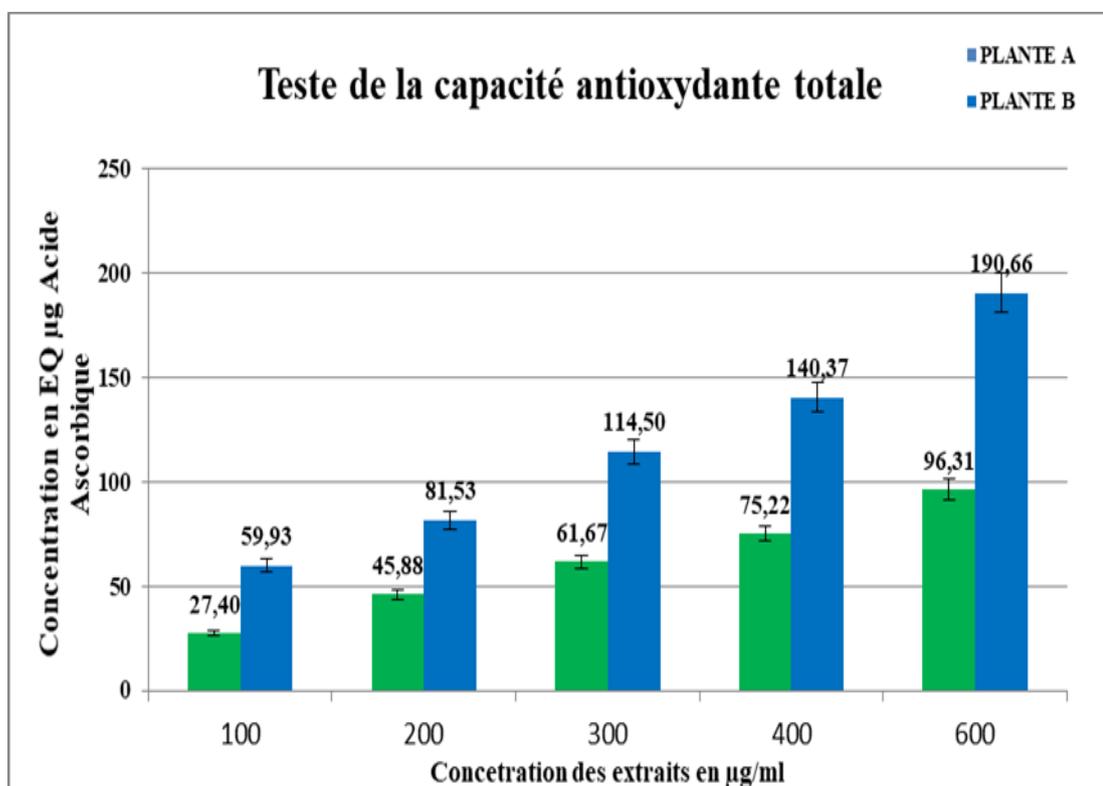


Figure 22 : Histogramme comparatif de la capacité antioxydante totale des extraits des plantes A et B (Moyenne ± Ecartype, n=3).

Les résultats de la figure (22) indiquent clairement que les extraits des plantes A et B ont une capacité antioxydante permettant de réduire les ions Mo^{6+} en ions Mo^{5+} .

Les résultats montrent aussi que de la plus faible concentration (100 µg/ml) à la plus forte concentration (600 µg/ml). L'extrait de plante B possède une activité antioxydante plus élevée que la plante A. (59.93 vs 27.40 31 EQ µg Acide Ascorbique) et (190.66 vs 96.31 EQ µg Acide Ascorbique) respectivement.

Cette variance d'activité entre les deux plantes renvoie à la différence entre la composition chimique de chaque plante et la teneur en éléments phénoliques. Ceci est en accord avec les résultats de (Jayaprakaska et al., 2008 ; Heim et al., 2002) qui ont démontré que l'activité antioxydante dépend de la teneur en composés phénoliques et la position des groupements hydroxyles et

généralement, les polyphénols avec un nombre élevé de groupements hydroxyles présentent l'activité antioxydante la plus élevée. Due à leur pouvoir de donner plus d'atomes pour stabiliser les radicaux libres (Torres et al., 2007).

I.4-Pouvoir réducteur du fer (Test FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power)

L'activité antioxydante de l'extrait *n*-butanol, de la plante a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP. Il s'agit d'une technique rapide, facile et reproductible, qui mesure la puissance des substances à réduire le fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} , l'un des mécanismes antioxydants. La capacité réductrice d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle. Également il existe une relation directe entre les activités antioxydantes et la puissance de réduction des composants des plantes. (Bentabet et al., 2014).

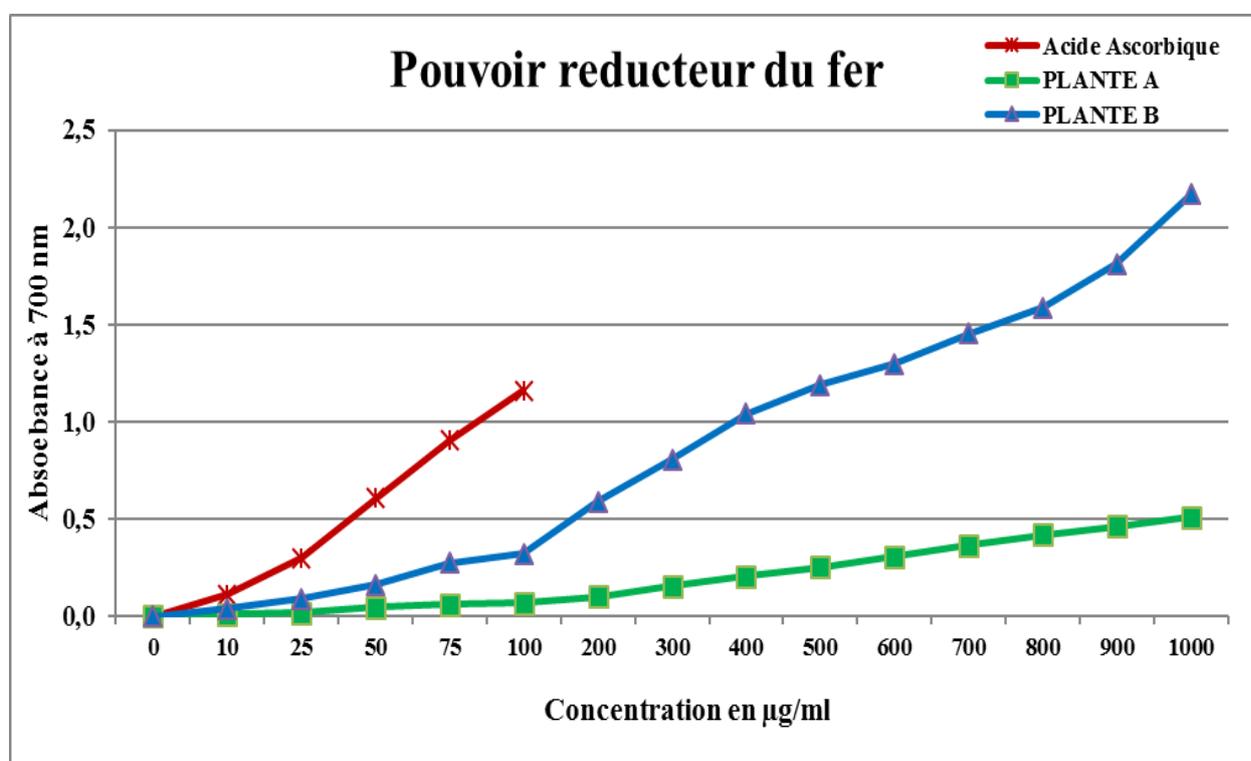


Figure 23 : Evaluation de l'activité antioxydante des extraits par la méthode FRAP

D'après nos résultats, nous remarquons que la capacité de réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des échantillons. L'extraits de la plante A présente des activités antioxydantes nettement inférieures à celle de la référence (l'acide ascorbique) et l'extrait de la plante B. Par contre ce dernier a la concentration de 980 µg/ml, présente un pouvoir réducteur (DO=2.2) beaucoup plus important que celui de l'acide ascorbique et celui

Partie pratique

de l'extrait de la plante A(DO=0.5).donc, Si nous classons nos extraits selon la puissance de réduction de fer par rapport à l'acide ascorbique, nous obtiendrons l'ordre suivant : l'extrait B > l'acide ascorbique > l'extrait A.

La capacité réductrice des extraits peut être due à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants. (Bougandoura et al., 2013 ; Cristiane et al., 2015).

II- LES DOSAGES REALISES IN VIVO

II.1-dosage des paramètres biochimiques

II.1.1- Evaluation de la concentration sérique de l'albumine

L'albumine est une protéine synthétisée par le foie et localisée dans les tissus hépatiques et est libérée dans le plasma sanguin dont le rôle est de surveiller la fonction de l'organe (Kamoun et al., 2016 ; Debebe et al., 2017). La figure (24) représente la variation de la concentration sérique d'albumine chez des rats traités avec l'éthanol et des rats traités avec l'éthanol plus l'extrait *n*-butanol de la plante B par rapport aux témoins.

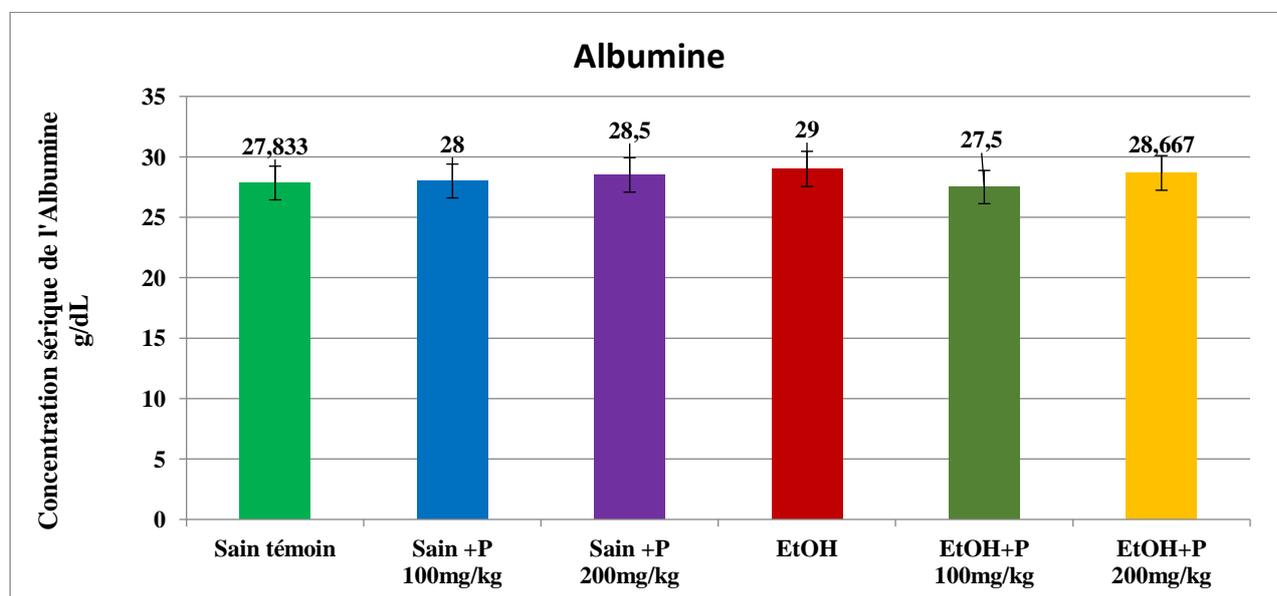


Figure 24 : Influence de l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante (100 et 200 mg/kg) et l'éthanol (3g/kg) sur la concentration sérique de l'albumine chez les Albinos Wistar. Les valeurs sont des moyennes ± Ecart type.

Dans notre étude, en comparant le groupe traité par l'éthanol, on note une augmentation (4.20 %) de la concentration sérique de l'albumine par rapport au groupe sain. Ces résultats sont en accord avec ceux publiés par (Seo et al., 2018), qui ont aussi enregistré des résultats similaires et ils ont constaté que l'administration d'éthanol a induit de légères augmentations d'albumine sérique.

Aussi bien en a enregistré également une diminution (5.17%) chez le groupe traité par l'extrait par rapport au groupe traité par l'éthanol uniquement. Ces données sont conformes aussi avec celles publiées par (Seo et al., 2018). Par contre ces mêmes résultats sont contradictoires avec ceux présentés par (madrigal et al., 2015), qui ont constaté que les rats traités avec l'éthanol présentaient une diminution de la concentration sérique d'albumine. Ces études démontrent un effet hépatotoxique de l'éthanol. La diminution de l'albumine sérique est peut-être directement liée à une diminution de l'ATP généré dans le foie, cet effet est dû à la consommation d'éthanol. D'après ces résultats on remarque que les deux traitements : par l'éthanol et l'extrait *n*-butanol de la plante n'avaient aucune influence sur la concentration sérique de l'albumine.

II.1.2- Evaluation de la concentration sérique du cholestérol total

Le cholestérol est un composant clé des membranes cellulaires qui module la structure et l'organisation de la bicouche lipidique, y compris la formation de ce que l'on appelle les radeaux lipidiques (Drotningsvik et al., 2018). La consommation chronique d'alcool entraîne des modifications du métabolisme des lipoprotéines et constitue donc un puissant inducteur d'hyperlipidémie chez les animaux et chez l'homme.

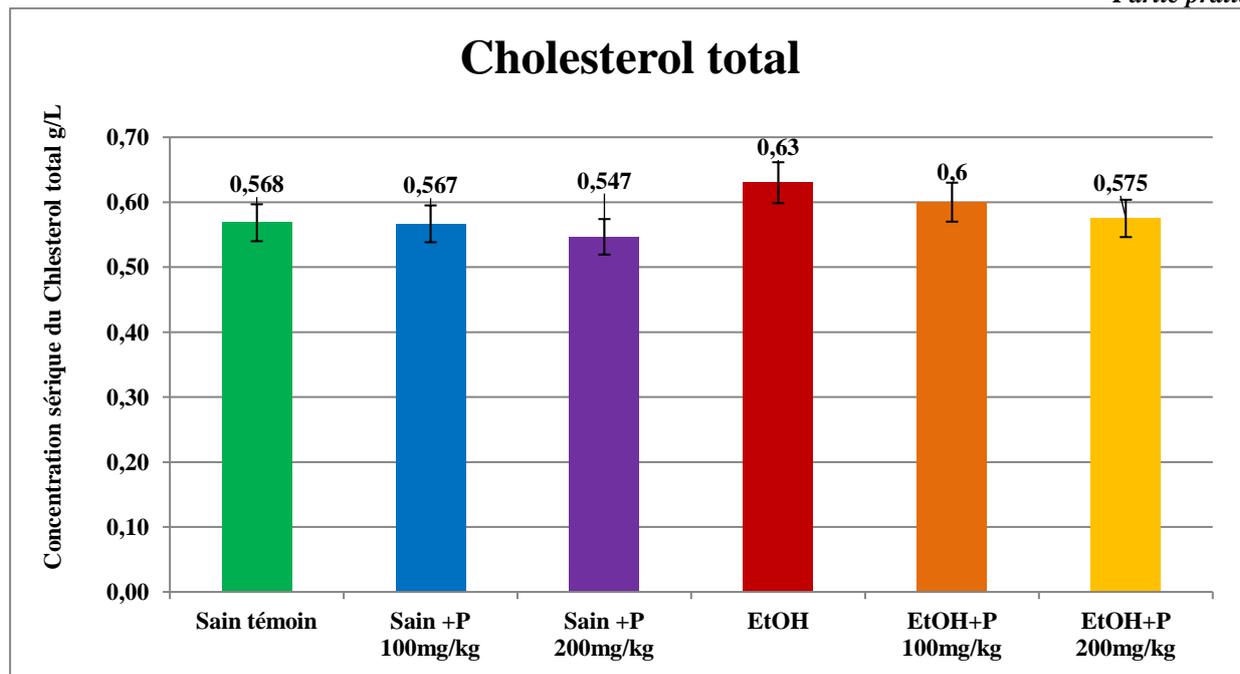


Figure 25 : Influence de l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante (100 et 200 mg/kg) et l'éthanol (3g/kg) sur la concentration sérique du cholestérol total chez les rats Albinos Wistar. Les valeurs sont des moyennes \pm Ecart type.

Dans cette étude, on a marqué une augmentation à l'ordre de 10.52% du taux du cholestérol chez les rats traités par l'éthanol en la comparant avec celle marquée chez le groupe des rats sains. Ces résultats sont en accord avec ceux de (Li *et al.*, 2015). Selon (Chae-Young *et al.*, 2016), l'augmentation du taux de cholestérol et de TG peut être l'indice d'une stéatose hépatique alcoolique, due à une modification du potentiel rédox NADH/NAD⁺ dans le foie en raison d'une consommation chronique d'éthanol qui augmente la mobilisation des acides gras des tissus adipeux et le processus de lipogenèse. La présence d'acides gras dans le foie facilite la formation de TG et de phospholipides. De plus, l'alimentation en alcool augmente la synthèse du cholestérol, diminue la β -oxydation des acides gras par la mitochondrie et atténue la sécrétion de lipides sous forme de sérum ou de bile.

En outre, l'augmentation des taux du cholestérol dans le sérum et le tissu hépatique induite par l'éthanol a été supprimée par l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante. Cette diminution est à l'ordre de 7.93%. Ce qui confirme l'amélioration du profil lipidique des rats traités par l'éthanol, et qui représente un bon signal envers la diminution de l'hyperlipidémie. Ces résultats sont en accord avec les travaux de (Hyoung *et al.*, 2014). Concernant le groupe des rats sains,

Partie pratique

l'administration de la même dose de l'extrait pendant 15 jours n'a pas un effet sur le profil lipidique ou la concentration sérique du cholestérol total. La présente étude révèle la capacité de l'extrait *n*-butanol à moduler le profil lipidique modifié par l'éthanol.

II.2- Influence de l'administration de l'extrait et l'éthanol sur les Paramètres de stress

L'alcool est absorbé dans le sang et est principalement métabolisé par le foie par deux voies. Ces voies génèrent des sous-produits potentiellement dangereux, tels que des molécules hautement réactives appelées radicaux libres ou espèces réactives de l'oxygène (ROS). Ces derniers provoquent un stress oxydatif et sont capables d'attaquer les membranes cellulaires et les biomolécules.

Le stress oxydatif se produit lorsque la production de ROS dépasse le niveau auquel les mécanismes de défense antioxydants naturels du corps peuvent faire face ; causant des dommages aux macromolécules telles que les lipides. Ceci est souvent caractérisé par un niveau élevé de malondialdéhyde (MDA), une chute de l'activité de la GST, épuisement complet du GSH et diminution des activités enzymatiques de la SOD et la CAT dans le foie et le sérum (Cao *et al.*, 2015 ; Macdonald *et al.*, 2010).

II.2.1-Variation de la concentration hépatique en malondialdéhyde (MDA)

Le malondialdéhyde est un composé hautement réactif résultant de la peroxydation lipidique d'acides gras polyinsaturés. C'est l'un des marqueurs clé du stress oxydatif (Seena *et al.*, 2015).

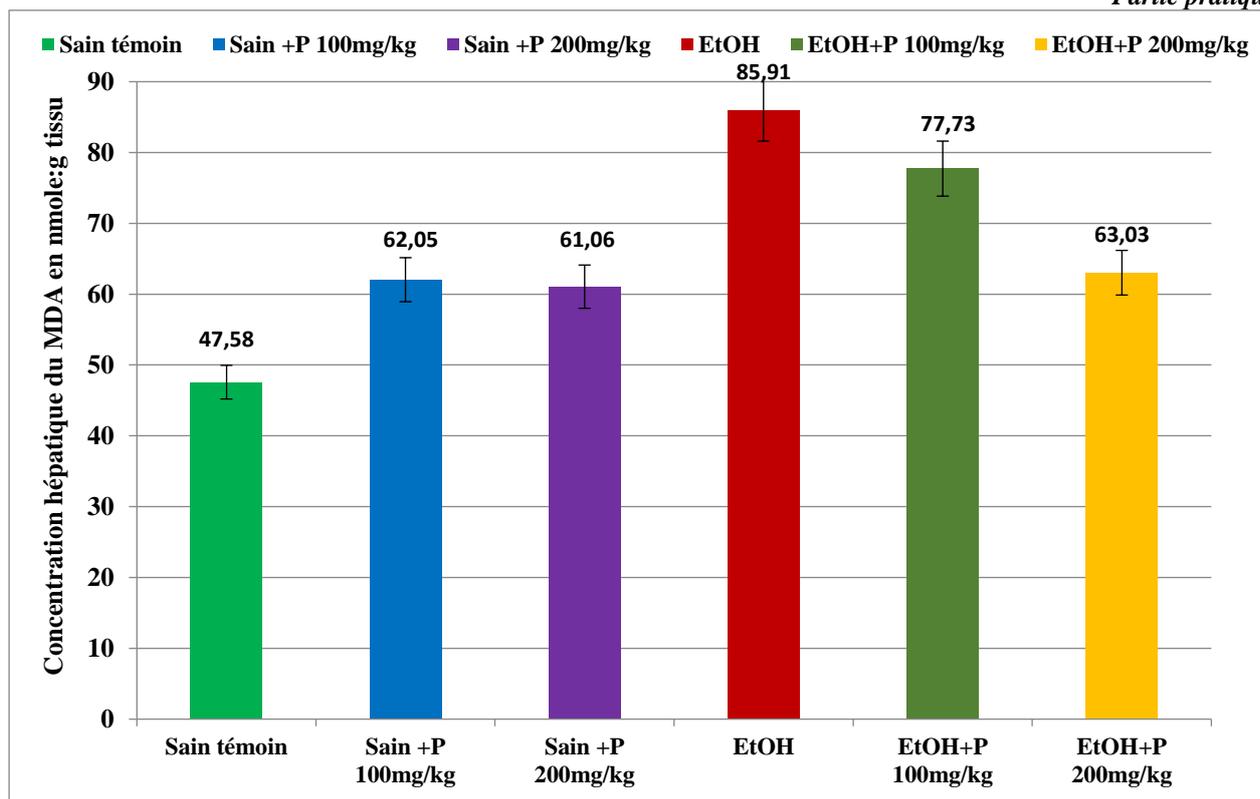


Figure 26 : Influence de l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante (100 et 200 mg/kg) et l'éthanol (3g/kg) sur le taux d'MDA hépatique chez les rats Albinos Wistar. Les valeurs sont des moyennes \pm Ecart type.

Pour cette étude, le dosage d'MDA a été déterminée sur la fraction cytosolique du foie. Nous avons constaté que chez les rats traités par l'éthanol, l'hépatotoxicité provoquée est associée à une peroxydation lipidique exprimée par l'augmentation du taux d'MDA au niveau hépatique à l'ordre de 80.18% par rapport aux témoins.

Ces résultats sont en accord avec ceux publié par (Cao *et al.*, 2015), qui ont expliqué cette augmentation par la présence en excès des ROS, responsables d'un épuisement des défenses antioxydantes endogènes conduisant à des effets délétères sur les hépatocytes. Ces ROS induites par l'éthanol réagissent également avec les acides gras polyinsaturés, entraînant des lésions des membranes cellulaires.

(Li *et al.*, 2018), ont également considéré le contenu en MDA comme indicateur de la gravité des dommages hépatiques dues à sa modification de la perméabilité de la membrane, induisant ainsi une série de réactions physiologiques et biochimiques.

Partie pratique

De nombreuses études expérimentales ont montré les effets bénéfiques de l'administration des extraits de plantes, dans la prévention de l'hépatotoxicité et sur la balance oxydant/antioxydant. Nos données ont montré qu'un traitement de 15 jours par l'extrait *n* butanol de la plante a baissé le taux d'MDA avec un pourcentage de (9.52%) par rapport aux témoins traités par l'éthanol. Ceci peut être dû à l'augmentation du statut antioxydant, et également la présence de flavonoïdes pourrait être directement liée à l'effet hépatoprotecteur et antioxydant de la plante. Ce présent résultat prouve l'efficacité de l'extrait à inhiber la peroxydation lipidique provoquée par la surproduction des radicaux libres induite par l'éthanol.

II.2.2-Activité de la Glutathion-S-Transférase (GST) hépatique

La glutathion S-transférase (GST) est l'une des enzymes de détoxification polyvalentes parmi les enzymes de phase II, impliquées dans le métabolisme des xénobiotiques. Elle joue un rôle majeur dans la protection cellulaire contre le stress oxydatif. (Dasari et al., 2017).

Les GST ont été regroupées en 8 classes, à savoir Alpha, Mu, Pi, Thêta, Sigma, Zeta, Kappa et Omega, chez les mammifères. (Choi et al., 2019). Il existe des GST cytosolique, mitochondriales et membranaires, mais la désintoxication est la fonction clé des GST cytosoliques (Dasari et al., 2017).

Dans notre étude (Figure 27), nous avons constaté une chute de l'activité de la GST chez les rats recevant l'éthanol. Cette diminution est à l'ordre de (69.81%) dans le foie par rapport au groupe sain témoin. Nos résultats sont en accord avec ceux apportés par (Song et al., 2018) qui ont constaté que l'exposition à l'éthanol altère les mécanismes enzymatiques et non enzymatiques qui protègent les cellules contre les ROS, telles que la GST. De même (Yuanheng Guo et al., 2017), ont aussi enregistré des résultats similaires et suggèrent que l'administration de l'alcool réduisait considérablement l'activités de GST et il devient un indicateur important d'une hépatotoxicité.

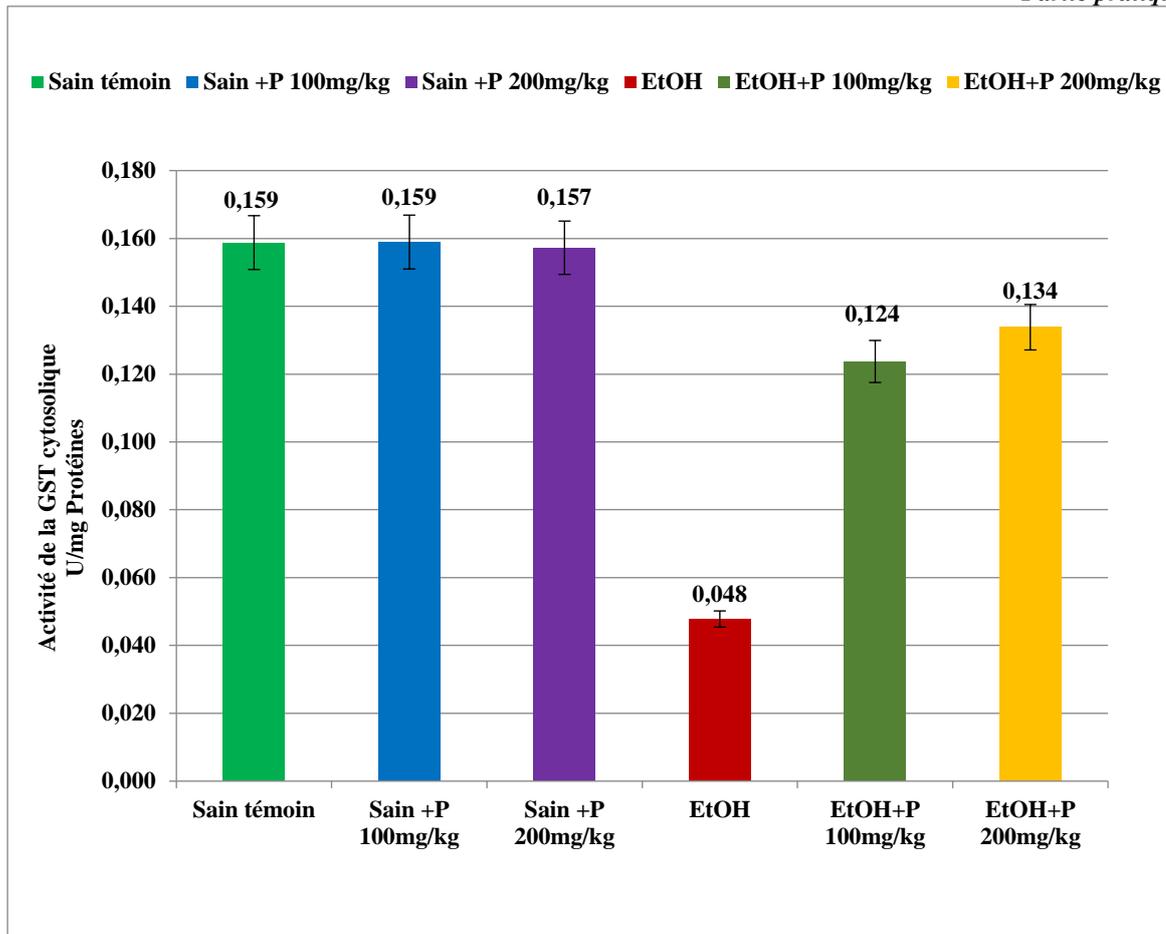


Figure 27 : Influence de l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante (100 et 200 mg/kg) et l'éthanol (3g/kg) sur l'activité de la Glutathion-S-Transférase (GST) hépatique chez les rats Albinos Wistar. Les valeurs sont des moyennes \pm Ecart type.

Par contre, nous avons remarqué une augmentation de l'activité de la GST de (79.16 %) chez le groupe éthanol traité par l'extrait *n*-butanol de la plante par rapport au groupe traité uniquement par l'éthanol. Ces résultats suggèrent que le traitement par l'extrait *n*-butanol favorise l'activité antioxydante, et la réaction de conjugaison catalysée par la GST peut former des produits moins réactifs et facilement excrétés sous forme des groupes thiol. Ces données sont conformes avec celles publiées par (Dogan et al., 2019).

II.2.3-Evaluation de l'Activité de la catalase (CAT) et la (SOD) hépatique

La SOD et la CAT sont deux enzymes appartenant aux systèmes antioxydants. La SOD est un ubiquitous Chain Breaking antioxydant, trouvé dans tous les organismes aérobies. C'est une métalloprotéine largement distribuée dans toutes les cellules et joue un rôle protecteur important contre les dommages oxydatifs induits par les espèces réactives de l'oxygène (ROS). La SOD convertit l'ion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) à l'hydrogène peroxyde (H_2O_2) et le peroxyde d'hydrogène ainsi formé est dégradé par CAT et GPx. La CAT est une hémoprotéine présente dans tous les organes des animaux et des humains. Elle est particulièrement concentrée dans le foie et les érythrocytes. L'anion superoxyde et le radical hydroxyle sont connus pour causer des blessures marquées aux tissus et aux organes périphériques. Donc, le scavaging des anions superoxydes et les radicaux hydroxyles sont probablement l'un des mécanismes de défense les plus efficaces contre une variété de maladies (**Sathiavelua, 2009**).

Dans la présente étude, Une réduction de l'activité de la catalase de (48.99%), et de l'activité de la SOD de (39.51%) a été observée lors du traitement des rats par l'éthanol à une dose de 3g/kg, par rapport à celle enregistrée chez des rats sains témoins. Cette diminution entraîne l'accumulation de l'anion superoxyde et H_2O_2 , qui produisent des effets délétères tels que la peroxydation lipidique accrue et la diminution des activités des enzymes antioxydantes et la perte des cellules responsables du bon fonctionnement de la membrane (**Pushpakiran, 2004**). Ce résultat est similaire aux résultats des travaux de (**Lee, 2004**). Qui a également rapporté que la SOD hépatique et l'activité de la CAT étaient évidemment diminués chez les rats traités par l'éthanol. Cette diminution de l'activité de SOD peut être associée à l'élévation de la concentration intracellulaire de H_2O_2 à la suite d'inactivation de la CAT. Et peut être due à l'inactivation oxydante de l'enzyme (SOD) à la suite de la génération excessive des espèces réactives d'oxygène, ou la génération du radical α -hydroxy éthyle qui inactive la SOD. La diminution de la l'activité de la CAT peut être due à l'épuisement ou à l'inhibition de l'enzyme suite à l'augmentation de production de radicaux libres.

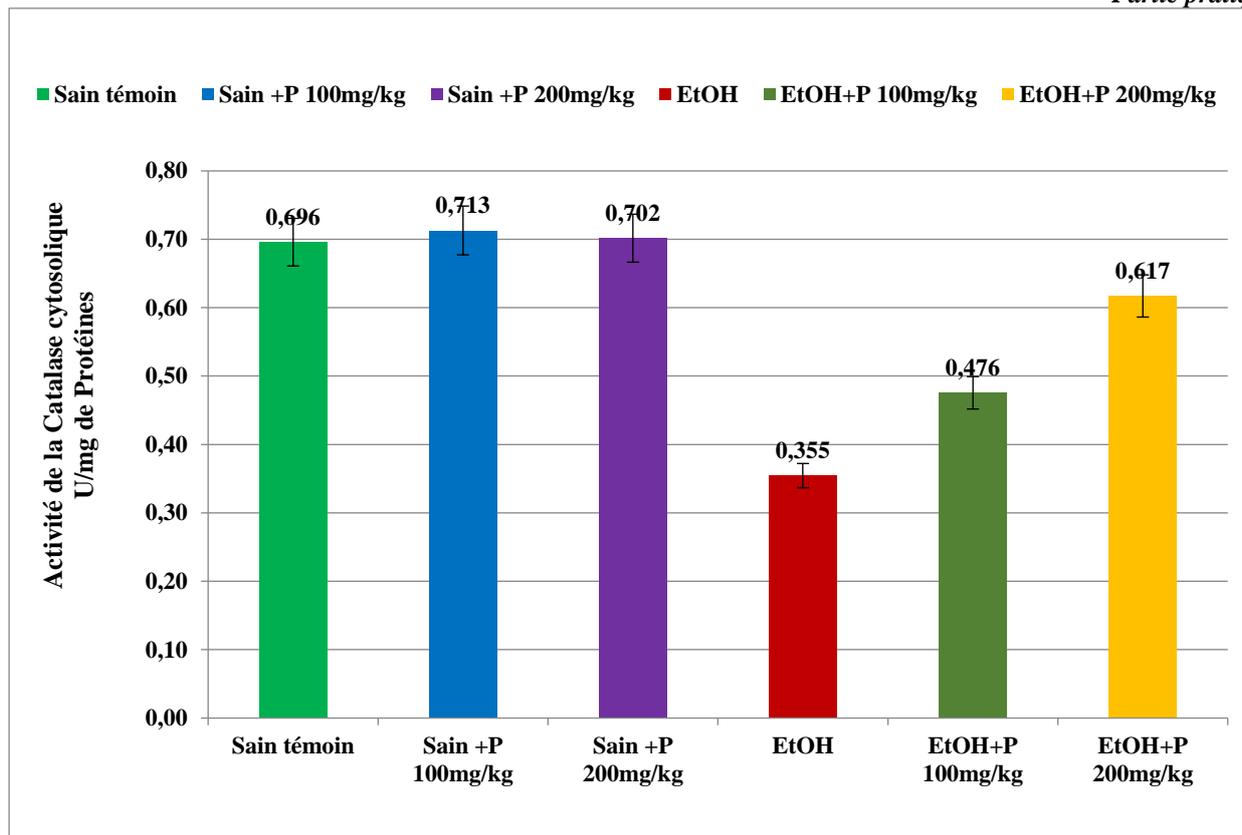


Figure 28 : Influence de l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante (100 et 200 mg/kg) et l'éthanol (3g/kg) sur l'activité de la catalase hépatique chez les rats Albinos Wistar. Les valeurs sont des moyennes \pm Ecart type.

En outre, l'administration de l'extrait a permis une augmentation de l'activité de la catalase de (34.08%) et de la SOD de (51.38%) par rapport aux rats traités par l'éthanol. Ce qui prouve son efficacité à améliorer le statut antioxydant. Ceci est en accord avec les travaux de (kowti et al., 2013) qui ont relié les propriétés hépato protectrices et antioxydantes de leur extrait à sa richesse en flavonoïdes et de composés phénoliques. Concernent le groupe des rats sains, l'administration de la même dose de l'extrait pendant 15 jours n'a pas altéré l'activité hépatique de la catalase et de la SOD.

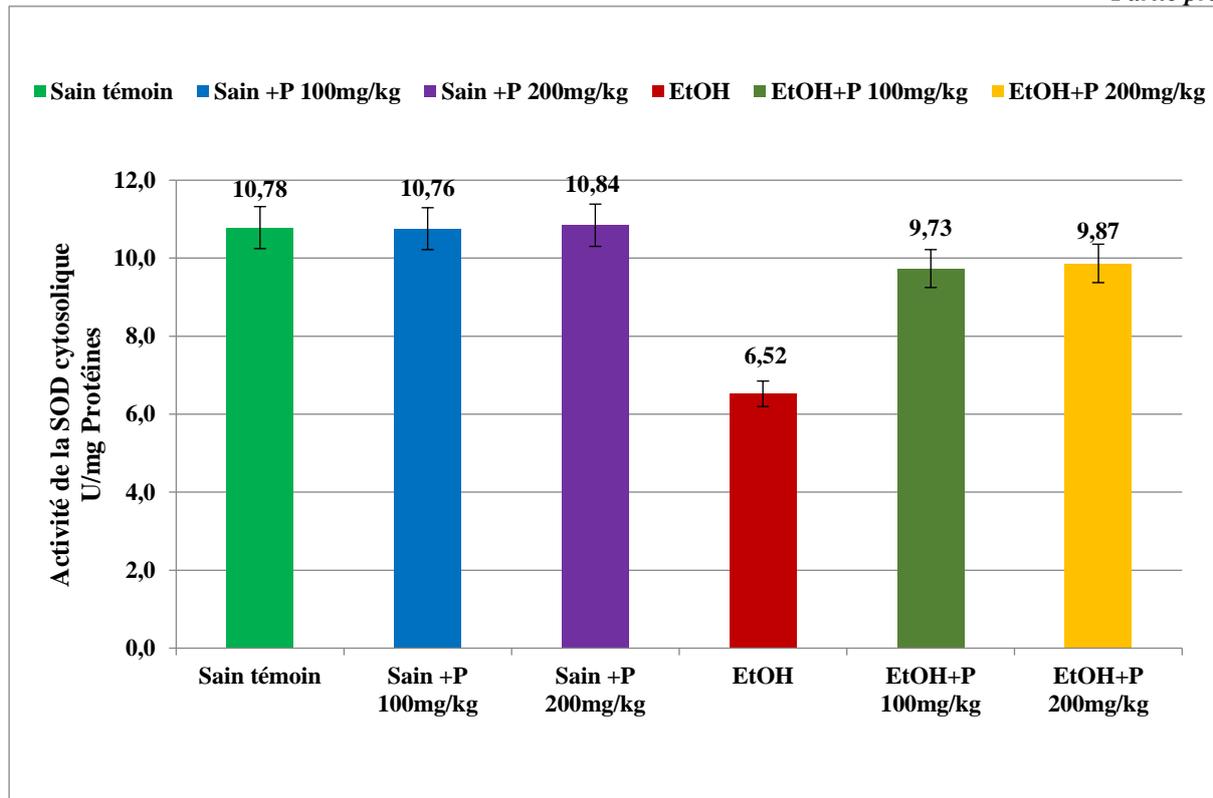


Figure 29 : Influence de l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante (100 et 200 mg/kg) et l'éthanol (3g/kg) sur l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) hépatique chez les rats Albinos Wistar. Les valeurs sont des moyennes \pm Ecart type.

II.2.4-Evaluation du taux GSH et de l'Activité de la (GPx) hépatique

La production excessive des radicaux libres épuise les défenses antioxydantes. Ces dernières sont des molécules qui inhibent ou limitent les réactions des radicaux libres et leurs dégâts cellulaires. Parmi ces antioxydantes le glutathion peroxydase GPx ; ce sont des enzymes tétramérique à sélénium qui peuvent réduire le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ en eau, en utilisant les capacités réductrices du couple glutathion/glutathion disulfure (GSH/GSSG). Elles permettent également de limiter la propagation des réactions radicalaires en chaîne, en réduisant les peroxydes instables en acide gras hydroxylés. Ce système ne fonctionne que si le GSSG formé est continuellement réduit en GSH, ce qui est assuré par la glutathion réductase en présence de NADPH (Matés *et al.*, 1999 ; Lacolley *et al.*, 2007).

Partie pratique

Le glutathion réduit (GSH) est l'un des antioxydants biologiques endogènes non enzymatiques les plus abondants présents dans le foie. C'est un tripeptide intracellulaire contenant trois acides aminés (L-glutamyl-L-cystéinyl-glycine), impliqué dans la détoxification des xénobiotiques, des ROS et des peroxydes. Il agit également comme un substrat essentiel pour les enzymes antioxydantes, notamment GPx et GST (Narasimha et al., 2017).

Dans la présente étude, l'administration de l'éthanol à des rats males de la souche Wistar Albinos a provoqué une diminution de l'activité de la GPx (32.81%) et de taux du GSH (62.5%). Cette diminution entraîne l'accumulation des espèces réactives de l'oxygène. Il a été rapporté que les ROS affectent l'oxydation des protéines, l'oxydation des lipides, les dommages causés à l'ADN, l'inactivation d'enzymes et l'épuisement de diverses enzymes antioxydantes. Ces résultats peuvent conduire à des stades précoces de la maladie et du dysfonctionnement du foie (Choi et al., 2016).

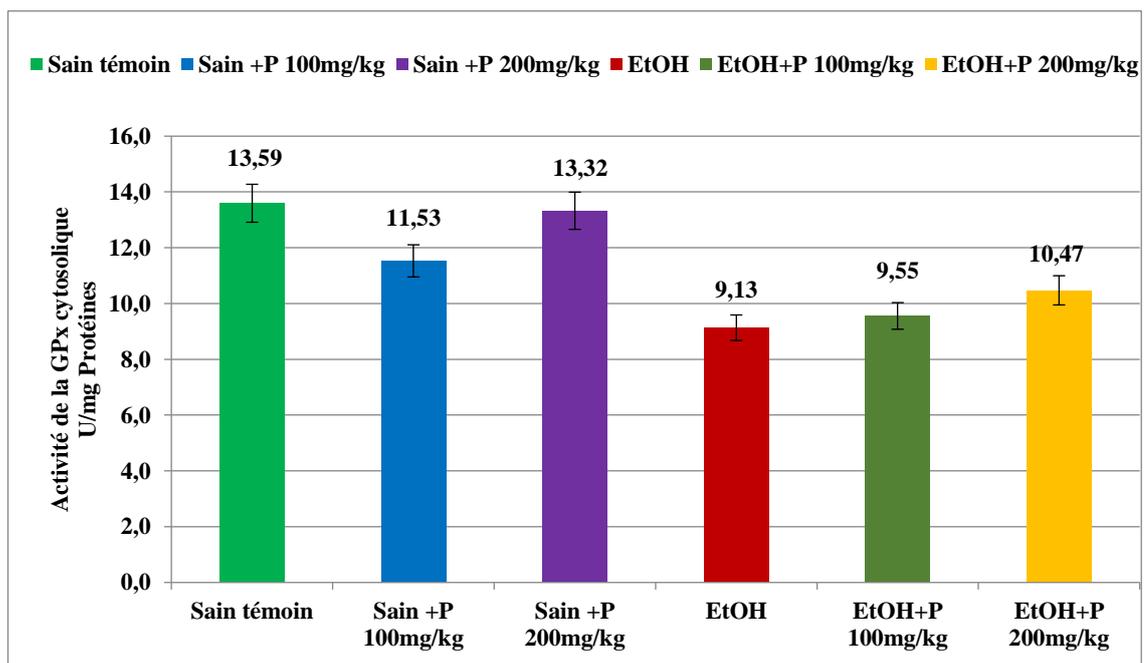


Figure 30 : Influence de l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante (100 et 200 mg/kg) et l'éthanol (3g/kg) sur l'activité du glutathion peroxydase (GPx) hépatique chez les rats Albinos Wistar. Les valeurs sont des moyennes ± Ecart type.

Partie pratique

Nos résultats sont en accord à l'étude menée par (Cao et al., 2015) qui a montré que l'activité de la GPx et de taux du GSH étaient évidemment diminués chez les rats traités par l'éthanol. Cette diminution de l'activité de la GPx peut être associée à l'induction du cytochrome P450 qui produit une quantité importante de H₂O₂. Ou à l'inactivation de la GPx à la suite d'une surproduction des ROS. Concernant la diminution de taux du GSH hépatique peut être provoquée par la réquisition directe de GSH par le GPx pour piéger des radicaux libres formés par l'administration de l'éthanol ou peut être due à l'inhibition de la biosynthèse du GSH au niveau génétique.

Par contre l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante a permis une augmentation à l'ordre de (14.67%) de l'activité de la GPx et de (40%) du taux de la GSH chez les rats recevant l'éthanol. Ceci est en accord avec l'étude de (Fakurazi et al., 2012), qui ont associé les propriétés antioxydantes et hépatoprotectrice de leur extrait a sa richesse en flavonoïdes et en composés phénoliques. Concernant le groupe des rats sains, l'administration de la même dose de l'extrait (200mg/kg) pendant 15 jours n'a pas altéré l'activité hépatique du GPx et le taux du GSH.

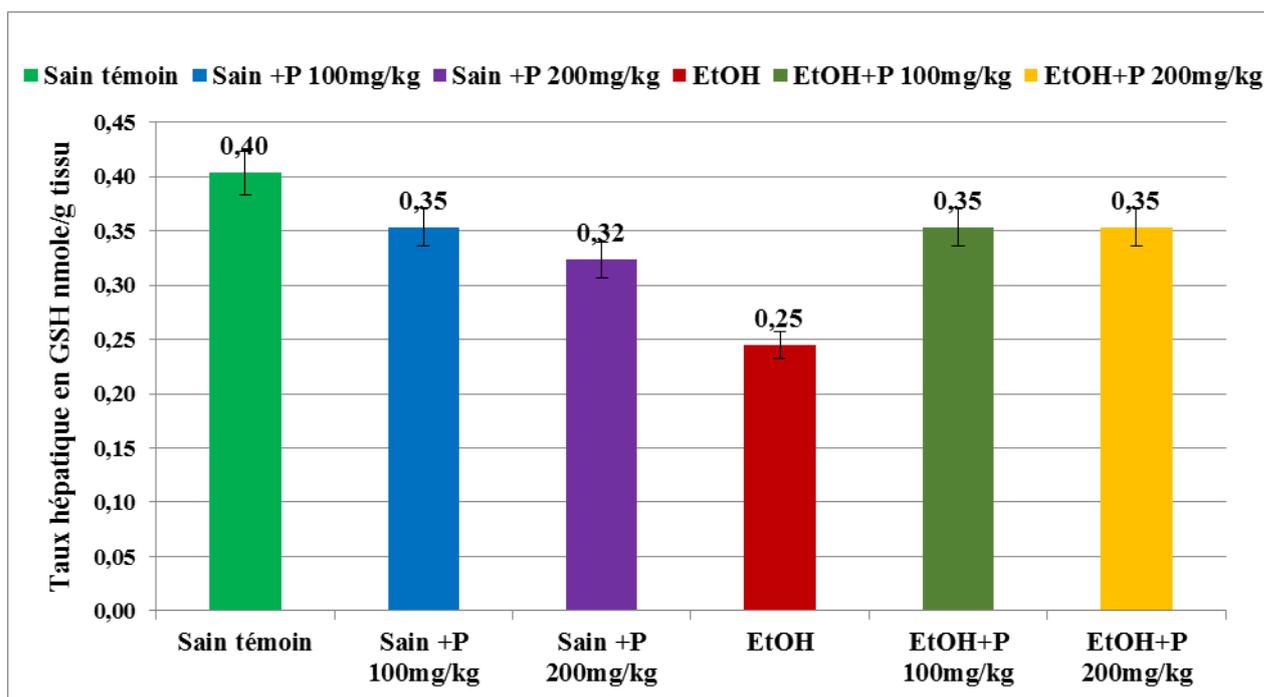


Figure 31 : Influence de l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante (100 et 200 mg/kg) et l'éthanol (3g/kg) sur le taux du Glutathion réduit (GSH) hépatique chez les rats Albinos Wistar. Les valeurs sont des moyennes ± Ecart type.

II.2.5-Dosage des protéines totales

Les protéines sont des composés organiques macromoléculaires, répartis largement dans l'organisme, elles fonctionnent comme des éléments structurels et de transport, elles sont divisées en deux fractions, globulines, et albumines. Ces dernières sont synthétisées par le foie et libérées dans le plasma sanguin dont le rôle est de surveiller la fonction de l'organe (**Kamoun et al., 2016**).

Dans la présente étude, Une diminution du taux des protéines totales de 9.15%, a été observée lors du traitement des rats par l'éthanol a une dose de 3g/kg, par rapport à celle enregistrée chez des rats sains témoins. Ces résultats sont en accord avec ceux publiés par (**AKUBA et al., 2015 ; madrigal et al., 2015**) qui ont constaté que cette hypoprotéïnémie peut être due à une insuffisance de la synthèse des protéines, et la diminution de l'albumine est peut-être directement liée à une diminution de l'ATP généré dans le foie. Cet effet est dû à l'exposition chronique de l'éthanol qui provoque des maladies au niveaux hépatique.

Par contre, l'administration de l'extrait a permis une augmentation du taux des protéines totales de 20.14% par rapport aux rats traités par l'éthanol. Ces données sont conformes avec celles publiées par (**Zahid et al.,2018**), qui ont relié les propriétés hépato protectrices et antioxydantes de leur extrait a sa richesse en flavonoïdes et de composés phénoliques.

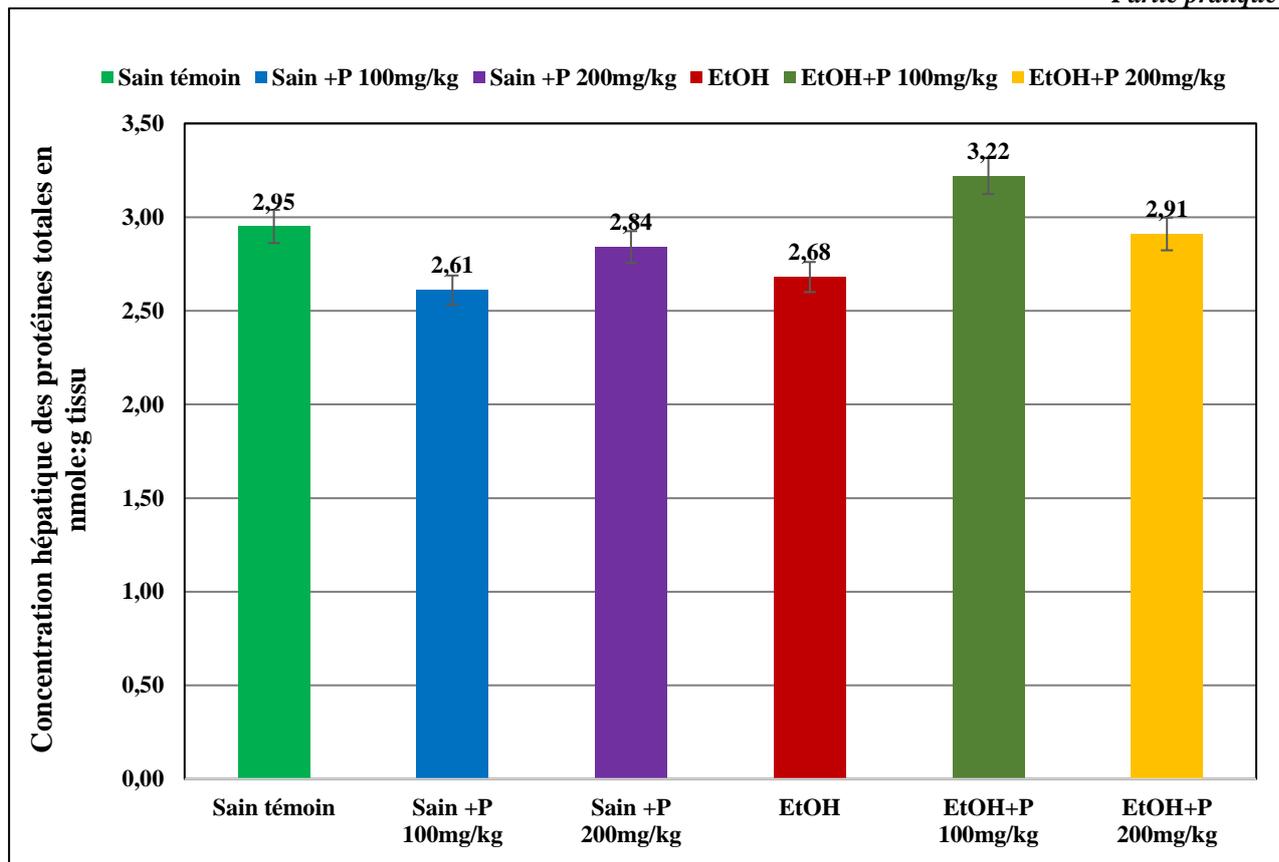


Figure 32 : Influence de l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante (100 et 200 mg/kg) et l'éthanol (3g/kg) sur la concentration des protéines totales hépatique chez les rats Albinos Wistar.

Les valeurs sont des moyennes \pm Ecart type.

Conclusion

De nombreuses études ont mis en évidence que le métabolisme de l'alcool contribue à la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) : l'anion superoxyde conduisant, en présence d'eau oxygénée (H_2O_2) et de fer, à la formation de radicaux hydroxyles, et hydroxy-éthyles formés par le CYP2E1. Les ERO peuvent provenir de l'activité microsomale liée au CYP2E1, de la chaîne respiratoire mitochondriale, lors de la régénération du NADH, H^+ , de l'activité de la NADPH oxydase, de l'oxydation de l'acétaldéhyde par la xanthine oxydase et de l'activation des cellules de Kupffer. Les ERO produits réagissent avec les macromolécules et peuvent par conséquent oxyder les lipides, l'ADN ou les protéines cellulaires. Ils sont ainsi à l'origine de l'oxydation des acides gras polyinsaturés contenus dans les membranes cellulaires qui mènent à la formation de Lipoperoxydes. Ils modifient alors les caractéristiques de la membrane et perturbent ses fonctions. (Attignona *et al.*, 2015).

Également, la mort hépatocytaire, les lésions de stéatohépatite alcoolique comportent des corps de Mallory, une fibrose ou une cirrhose (due à l'activation des cellules péri sinusoidales et la synthèse de collagène par ces cellules), et un filtrat inflammatoire a polynucléaire. En sus de leurs effets directs sur le pore de transition de perméabilité, les ERO pourraient contribuer à ces lésions par 2 mécanismes : par peroxydation lipidique (la formations des aldéhydes ; MDA et 4HNE), et par synthèse accrue de cytokines. (Fromonty *et al.*, 2000).

Dans la partie *in vitro* de notre étude, l'évaluation quantitative des polyphénols totaux par la méthode de Folin-ciocalteu a révélé la présence des quantités importantes en polyphénols dans l'extrait *n*-butanol des deux plantes étudiées. De même, nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d' $AlCl_3$ qui nous a menées à conclure que l'extrait des 2 plantes est également riche en flavonoïdes. Ainsi que le test du DPPH a validé sa capacité à piéger ce radical libre.

L'ensemble de nos travaux *in vivo* a permis de souligner que l'administration de l'éthanol à une dose de (3g/kg) chez des rats du genre Albinos Wistar, provoque une hépatotoxicité qui s'est traduite par une augmentation du profil lipidique « cholestérol » Ainsi qu'un effondrement du statut antioxydant hépatique été observé, Elle est caractérisé par une augmentation du malondialdéhyde (MDA) issue de la peroxydation lipidique, une déplétion des agents antioxydants comme le glutathion (GSH), le glutathion peroxydase (GPx) et GST et une inhibition fonctionnelle de la catalase et la SOD.

En outre, les résultats indiquent que l'extrait *n*-butanol de la plante offre une protection efficace contre le stress oxydant dans le tissu hépatique induit par la consommation chronique de l'éthanol. Cette protection se traduit par la diminution du taux de cholestérol et le taux d'MDA, et l'augmentation du niveau des enzymes antioxydantes (GSH, GPx, GST, SOD et CAT).

L'ensemble de nos travaux a permis de souligner les effets bénéfiques de l'administration de l'extrait *n*-butanol de la plante choisie dans l'amélioration du statut oxydant et du profil lipidique et soutiennent plus ou moins son utilisation, en Algérie, en médecine traditionnelle dans le traitement des maladies alcoolique du foie.

Après la réalisation de ce modeste travail, encore il reste un sujet de discussion.

Au premier temps, il serait bien de confirmer nos résultats par la réalisation des coupes histologique pour observer l'ultrastructure des tissus et des cellules hépatiques des différents lots, et réalisé des études avec des différentes doses afin de trouver la dose préventive ou thérapeutique adéquate de la plante. En fin d'autres investigations sont nécessaires pour explorer exactement les mécanismes moléculaires intervenant dans les effets pharmacologiques observés.

Evaluation des activités antioxydantes et l'effet hépato-protecteur de l'extrait *n*-butanol d'une plante endémique : les tests *in vitro* et *in vivo*.

Résumé

L'hépatotoxicité est un effet indésirable causé par plusieurs xénobiotiques, dont l'éthanol. Dans cette contribution, nous nous intéressons à l'évaluation de l'activité hépatoprotectrice et antioxydante de l'extrait *n*-butanol d'une plante endémique vis-à-vis de la toxicité induite par l'éthanol.

Le travail a été effectué sur six groupes comprenant chacun six rats : le premier est considéré comme témoin, gavé quotidiennement par l'eau distillée et après une heure d'eau physiologique. Le second a été traité avec l'éthanol à une dose de 3 g / kg de poids corporel. Un troisième groupe a reçu l'éthanol à la même dose et au bout d'une heure, l'extrait *n*-butanol de la plante (200 mg / kg). Un quatrième groupe a reçu l'eau distillée et une heure après, une dose d'extrait de plante (200 mg / kg) a été administrée. L'avant-dernier groupe a reçu l'éthanol (3 g / kg) et au bout d'une heure, l'extrait de *n*-butanol (100 mg / kg). Le dernier groupe a reçu de l'eau distillée et au bout d'une heure l'extrait (100 mg / kg).

Le traitement par l'éthanol pendant 15 jours a provoqué une hépatotoxicité en augmentant le cholestérol total sérique et le MDA hépatique, et en supprimant le système de défense hépatique des antioxydants, notamment (SOD, CAT, GPx, GSH et GST).

D'autre part, l'extrait *n*-butanol de la plante a également entraîné une nette amélioration du statut antioxydant dans le foie. En effet, la diminution du cholestérol, MDA, de (7,93%), (9,52%) et l'augmentation du GSH de (40%).également l'augmentation significative de l'activité enzymatique de SOD, CAT, GST et GPx de (51,38%), (34,08%), (79,16%), (14,67%) respectivement.

En conclusion, la consommation d'éthanol semble confirmer la génération de stress oxydatif dans le foie de rat. Les résultats suggèrent que l'extrait *n*-butanol de la plante contenait une grande quantité de composés flavonoïdes et de polyphénols totaux. Cela justifie son effet hépato protecteurs en modulant les processus d'oxydoréduction, en activant les enzymes antioxydantes et en diminuant la peroxydation des lipides. Cela en fait un candidat thérapeutique pour les troubles et lésions du foie et pour d'autres pathologies liées au stress oxydatif.

Mots clés : éthanol, stress oxydant, extrait de *n*-butanol, hépatotoxicité, activité antioxydante, polyphénols.

Evaluation of the antioxidant activities and hepatoprotector effect of *n*-butanol extract from an endemic plant: *in vitro* and *in vivo* tests.

Abstract

Hepatotoxicity is an adverse effect caused by several xenobiotic including ethanol. In this contribution, we are interested in evaluating the hepatoprotective and antioxidant activity of the *n*-butanol extract of an endemic plant against ethanol-induced toxicity.

The work was carried out on six groups, each included six rats: the first one served as a control which was daily gavaged by distilled water and after one-hour physiological water. The second was treated with ethanol at a dose of 3g/kg body weight. A third group received ethanol at the same dose and after one hour the *n*-butanol extract of the plant (200 mg / kg). A fourth group received the distilled water and after one hour a dose of the plant extract (200 mg / kg) was administered. The penultimate group received ethanol (3g/kg) and after one hour the *n*-butanol extracts (100 mg / kg). The last group received distilled water and after one hour the extract (100mg / kg).

Ethanol treatment for 15 days elicited hepatotoxicity by increasing serum total cholesterol and livers MDA, and suppressing hepatic antioxidant defense system including (SOD, CAT, GPx, GST).

On the other hand, the *n*-butanol extract of the plant also resulted in a marked improvement in antioxidant status in the liver. Indeed, the decrease in cholesterol, MDA, by (7.93%), (9.52%) respectively and the increase in GSH by (40%).in addition, a significant increase in enzymatic activity of SOD, CAT, GST and GPx by (51.38%), (34.08%), (79.16%), (14.67%) respectively.

In conclusion, ethanol consumption appeared to confirm the generation of oxidative stress in rat's liver. The results suggest that the *n*-butanol extract of the plant contained a large amount of flavonoid compounds and total polyphenols. This justifies its hepatoprotective effect by modulating the oxidation-reduction processes, activating antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation. This makes it a therapeutic candidate for liver disorders and lesions and for other pathologies related to oxidative stress.

Key words: ethanol, oxidative stress, *n*-butanol extract, hepatotoxicity, antioxidant activity, polyphenols.

تقييم الأنشطة المضادة للأكسدة والواقية للكبد لمستخلص بيتانولي لنبات محلي: دراسة مخبرية ودراسة تجريبية

ملخص

السمية الكبدية عبارة عن تأثير ضار ناتج عن استهلاك بعض المواد الغريبة عن الجسم بما في ذلك الإيثانول.

في هذا الإطار نحن مهتمون بتقييم النشاط الوقائي وكذا الأثر المضاد للأكسدة لمستخلص بيتانولي من نبتة محلية

ضد السمية الكبدية المحرصة بالإيثانول.

أجريت التجارب على ست مجموعات تضم كل منها ستة فئران:

تمت معاملة مجموعة الشاهد يوميا عن طريق الفم بالماء المقطر وبعد ساعة بالمحلول الفيزيولوجي، والثانية عوملت بالإيثانول 3غ/كغ، اما الثالثة فعوملت بالإيثانول وبعد ساعة بالمستخلص النباتي (200 ملغ / كغ)، كما تلقت المجموعة الرابعة الماء المقطر وبعد ساعة أعطيت جرعة من المستخلص النباتي (200 ملغ / كغ). فيما يخص المجموعة قبل الأخيرة فقد عوملت بالإيثانول وبعد ساعة بجرعة من المستخلص البيتانولي بجرعة (100 ملغ / كغ). بالنسبة للمجموعة الأخيرة تمت معاملتها بالماء المقطر وبعد ساعة بالمستخلص (100 ملغ / كغ).

أدت المعاملة بالإيثانول لمدة 15 يوما الى تسمم كبدى تجلى ذلك في زيادة الكوليسترول الكلي في الدم وMDA في النسيج الكبدى، وخفض معدل GSH وكذلك كبح النظام المضاد للأكسدة بما في ذلك (SOD، CAT، GPX، GST).

من ناحية أخرى، أدى المستخلص البيتانولي إلى تحسن ملحوظ في مستوى و نشاط مضادات الأكسدة في الكبد ظهر ذلك في انخفاض تركيز الكوليسترول في الدم و مستوى MDA، بنسبة (7.93 %)، (9.52 %) على التوالي وزيادة معدل GSH بنسبة (40%) والزيادة الكبيرة في النشاط الإنزيمي لل SOD، CAT، GST و GPx بنسبة (51.38%)، (34.08%)، (79.16%)، (14.67%) على التوالي.

في الختام، يبدو أن استهلاك الإيثانول، يؤكد توليد الإجهاد التأكسدي في كبد الفئران، في حين بينت نتائج هذه الدراسة ان المستخلص النباتي البيتانولي يحتوي على كمية كبيرة من مركبات الفلافونويد ومركبات البوليفينول الكلية مما يبرر تأثيره الوقائي الكبدى عن طريق تعديل عمليات الحد من الأكسدة، وتفعيل الإنزيمات المضادة للأكسدة وتقليل تأكسد الدهون. مما يجعله مرشحا علاجيا لاضطرابات وآفات الكبد وأمراض أخرى متعلقة بالإجهاد التأكسدي.

الكلمات المفتاحية: الإيثانول، الإجهاد التأكسدي، المستخلص البيتانولي، السمية الكبدية، النشاط المضاد للأكسدة، البوليفينول.



Références bibliographiques



A

1. **Amarowicz, R; Pegg, R.B; Rahimi-Moghaddam, P; Barl, B; Weil, J.A. (2004).** Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies/*Food Chemistry*, 84, 551 – 562. doi:10.1016/s0308-8146(03)00278-4.
2. **Amel, Amrani; Nassima, Boubekri; Somia, Lassed; Djamilia, Zama; Fadila, Benayache; Samir, Benayache. (2017).** Alcool induced hepatocardiotoxicity and oxidative damage in rats: The protective effect of *n*-butanol extract of green tea (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze *Cardiovascular & Hematological Disorders - Drug Targets*17,1,18-23.
3. **Athamena, S ; Chalghem, I ; Kassah-Laouar, A ; Laroui, S ; Khebri, S. (2010)** Activite anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de cuminum cyminum / *Lebanese Science Journal* 11 (1) : 69 – 81.

B

4. **Baillargeon Jean-Daniel. (2015).** La stéatose hépatique pas que du foie gras.50,4 -51.
5. **Baudin, B. (2017).** Exploration biochimique du foie/*Revue Francophone Des Laboratoires* ; (490) : 25–33.
6. **Bentabet, N ; Boucherit-Otmani, Z ; Boucherit, K. (2014).** Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Pharmacognosie*.
7. **Bernard, fromonty ; Abdellah, Mansouri ; Françoise, Degoul ; Christine, Demeilliers ; Isabelle, Gaou ; Dominique, Pessayre. (2000).** Vieillesse, alcool et mitochondrie / *gastroenterol clin biol.* 24 :349-358.
8. **Boizot, N ; Charpentier, J. P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des orges d'un forestier/*Le cahier des techniques de l'Inra*, 79 – 82.
9. **Bommas, U ; Teubner, F ; Voss, R. (2008).** Cours d'anatomie 1er cycle des études médicales. ED 1 .de Boeck. P274.
10. **Bougandoura, N ; Bendimerad, N. (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp/Nepeta* (L.) Briq (9) : 14 – 19.
11. **BOUGANDOURA, Nabila ; BENDIMERAD, Nassima. (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp.Nepeta* (L.) Briq / *Revue « Nature & Technologie ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques*, 09.
12. **Boussaha, Sara ; Khadidja, Bekhouche ; Azzedine, Boudjerda ; Francisco, León; Serkan, Koldaş; Ayse Sahin, Yaglioglu; Ibrahim, Demirtas; Ignacio, Brouard; Eric, Marchioni;**

Djamila, Zama; Samir, Benayache; Fadila, Benayache. (2015). Chemical constituents, in vitro antioxidant and antiproliferative activities of *Perralderia coronopifolia* Coss. Subsp. eu-coronopifolia M. var. typica M / *extract Records of Natural Products*. 9(3), 312-322.

C

- 13. Cao YW, Jiang Y, Zhang DY, Zhang XJ, Hu YJ, Li P, Su H, Wan JB. (2015).** The hepatoprotective effect of aqueous extracts of *Penthorum chinense* Pursh against acute alcohol-induced liver injury is associated with ameliorating hepatic steatosis and reducing oxidative stress / *Food Funct*, 6(5):1510-7. doi: 10.1039/c5fo00098j.
- 14. Ceni, E ; Mello, T ; Galli, A. (2014).** Pathogénese de la maladie alcoolique du foie : rôle du métabolisme oxydatif/*Monde J Gastroenterol*. 20 (47) : 17756-17772.
- 15. Chabrier Jean-Yves. (2010)** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie/*Sciences pharmaceutiques* hal.univ-lorraine.fr/hal-01739123 Submitted on 20 Mar 2018.
- 16. Chae-Young Bang; Jae-Hyuk Byun; Hye-Kyung Choi; Jae-Sue Choi; Se-Young Choung. (2016).** Effets protecteurs de l'extrait d'*Ecklonia stolonifera* sur le foie gras induit par l'éthanol chez le rat. 24 (6) : 650–658.
- 17. CHAIB, G; Siah, S; Benabdelkadder, A; Bouchibi, B.N; Benlaribi, M. (2015).** Quantitative and Qualitative study of Phenolic compounds in three varieties of Durum Wheat *Triticum durum* Desf and their activities Antimicrobial/ *Int'l Journal of Research in Chemical*, 2, 1, 2349-1442, 2349-1450.
- 18. Chevallier, Andrew. (2001).** Larousse. VUEF 2eme edition. P14-16.
- 19. Chira, J.-H ; Suh, C ; Saucier, P.-L ; Teissédre. (2008).** Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie* 6 : 75–82.
- 20. Chiu, Y.-J; Chou, S.-C; Chiu, C.-S; Kao, C.-P; Wu, K.-C; Chen, C.-J; Peng, W.-H. (2018).** Hepatoprotective effect of the ethanol extract of *Polygonum Orientale* on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice/ *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(1), 369–379. doi: 10.1016/j.jfda.2017.04.007.
- 21. CHOI, J.W; IN-HYE, K; YOUNG-MIN, K; MIN-KYEONG LEE, YOUN-HEE CHOI; TAEK-JEONG, N. (2016).** Protective effect of *Pyropia yezoensis* glycoprotein on chronic ethanol consumption-induced hepatotoxicity in rats/*MOLECULAR MEDICINE REPORTS* 14: 4881-4886.
- 22. Chung, Y.C; Chang C. T; Chao W. W; Lin C. F; Chou S. T. (2002).** Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *J Agric Food Chem*. 10;50(8):2454-8. Doi :10.1021/jf011369q.

- 23. Cillard, J ; Cillard, P. (2006).** Mécanisme de la peroxydation lipidique et desantioxydants. OCL, 13 :24-29.
- 24. Costa, G; Grangeia, H; Figueirinha, A; Figueiredo, I. V; Batista, M. T. (2016).** Influence of harvest date and material quality on polyphenolic content and antioxidant activity of *Cymbopogon citratus* infusion/ Industrial Crops and Products, 83, 738–745. doi: 10.1016/j.indcrop.2015.12.008.
- 25. Cristiane, C; Denardin, E; Gabriela, E; Hirsch Ricardo, F; da, Rocha; Márcia, Vizzotto; Amélia, T; Henriques José, Moreira; Fátima, Guma; Tatiana, Emanuelli. (2015).** Capacité antioxydante et composés bioactifs de quatre fruits indigènes du Brésil / *Journal of Food and Drug Analysis* 23,3,387-398.

D

- 26. Das ; SK ; Vasudevan ; DM. (2006).** Effets protecteurs de la *silymarine*, un dérivé du chardon-Marie (*Silybium marianum*) sur le stress oxydatif induit par l'éthanol dans le foie. P306-311/*Journal indien de biochimie et de biophysique* 43.5.
- 27. Dasari, S; Ganjayi, MS; Oruganti, L; Balaji, H; Meriga, B. (2017).** Glutathione S-transferases Detoxify Endogenous and Exogenous Toxic Agents/*Minireview J Dairy Vet Anim Res.*2017;5(5):157-159. doi: 10.15406/jdvar.2017.05.00154.
- 28. Debebe Mokennon; Mekbeb Afework; Eyasu Makonnen; AsfawDebella; Bekesho Geleta; Negero Gameda. (2017).** Evaluations of Biochemical, Hematological and Histopathological Parameters of Subchronic Administration of Ethanol Extract of *Albizia Gummifera* Seed in Albino Wistar Rat/ *Journal of Clinical Toxicology*, 7:1 doi: 10.4172/2161-0495.1000337.
- 29. Derouiche Samir; Zeghib Khaoula; Gharbi Safa; Khelef Yahia; Feriani Anouar. (2017).** Protective effects of *Aristolochia longa* and *Aquilaria malaccensis* against lead induced acute liver injury in rats/ *J Acute Dis* 6(5): 193-197.
- 30. Dogan Abdulahad; Ozgur Ozan Anuk. (2019).** Investigation of the phytochemical composition and antioxidant properties of chinar (*Platanus orientalis* L.) leaf infusion against ethanol-induced oxidative stress in rats/*Molecular Biology Reports* 46, 3, 3049–3061. doi.org/10.1007/s11033-019-04741-7.
- 31. Dutertre J.M, (2011).** Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. P274.

E

- 32. Eduardo Madrigal-Santillán ; Mirandeli Bautista ; Juan A Gayosso-De-Lucio ; Yadira Reyes-Rosales ; Araceli Posadas-Mondragón ; Ángel Morales-González ; Marvin A Soriano-Ursúa ; Jazmín García-Machorro ; Eduardo Madrigal-Bujaidar, Isela Álvarez-González ; José A Morales-González. (2015);** Hepatoprotective effect of Geranium schiedeanum against ethanol toxicity during liver regeneration/*World J Gastroenterol*.21(25): p7718–7729, doi: 10.3748/wjg.v21.i25.7718.
- 33. Eléonore, Attignona ; Hélène, Rouacha ; Etienne, Blanca. (2015).** Bases moléculaires des effets toxiques de l'alcool / *Cahiers de nutrition et de diététique* 50, 84-93
- 34. Ellman G. (1959).** Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys*, 82: 70 -7. estimating antioxidant activity / *Songklanakarim J-Sci. Technol*, 26, 211 – 219.

F

- 35. Faivre Jean. (2015)** Les cancers du foie, fondation arc pour la recherche sur le cancer - centr'imprim, conception éditoriale & création graphique, ELSEVIER Masson.
- 36. Fakurazi, S; Sharifudin, AS; Palanisamy, A. (2012).** *Moringa oleifera* hydro ethanolic extracts effectively alleviate acetaminophen induced hepatotoxicity in experimental rats through their antioxidant nature/ *Molecules*,17 :8334-8350. doi :10.3390/molecules17078334.
- 37. Favier, A. (2003)** Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique / *Actualité chimique*. 270 :14-19
- 38. Friedman, S. L. (2003).** Liver fibrosis – from bench to bedside/*Journal of Hepatology*, 38, 38–53. doi:10.1016/s0168-8278(02)00429-4.

G

- 39. Ganne-Carrié, N ; Nahon, P. (2019).** Hepatocellular carcinoma in the setting of alcohol-related liver disease/ *Journal of Hepatology*, 70(2), 284–293. doi: 10.1016/j.jhep.2018.10.008.
- 40. Giuseppina Pace Pereira Lima; Fabio Vianello; Camila Renata Corrêa; René Arnoux da Silva Campos; Milena Galhardo Borguini.(2014).** Polyphenols in Fruits and Vegetables and Its Effect on Human Health / *Food and Nutrition Sciences*, 5, 1065-1082
- 41. Gnanadesigan; Sundaram Ravikumar; Muthusamy Anand. (2017).** Hepatoprotective activity of *Cerriops decandra* (Griff.) Ding Houmangrove plant against CCl4induced liver damage/ *journal of Taibah University for Science* 11 (2017) 450–457.
- 42. Golstein Pierre; Guidokroemer. (2007).** Cell death by necrosis: towards a molecular definition/*Trends in Biochemical Sciences*; 32: p37-43.

- 43. Goullé J-P ; Guerbet M. (2015).** Éthanol : pharmacocinétique, métabolisme et méthodes analytique/. *Ann Pharm Fr*, doi.org/10.1016/j.pharma.2015.03.003.
- 44. Gu, X ; Manautou, J. E. (2012).** Molecular mechanisms underlying chemical liver injury/ *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 14. Doi :10.1017/s1462399411002110.

H

- 45. Harborne, J. B. (1967).** Comparative biochemistry of Flavonoids-V: Luteolin 5- glucoside and its occurrence in the umbelliferae/ *Phytochemistry*, 6 (11), 1569 – 1573.
- 46. Heim, K.E; Tagliaferro, A.R; Bobilya D.J. (2002).** Flavonoid antioxidants: chemistry metabolism and structure-activity relationships / *Journal of Nutrition and Biochemistry*. 13: 572–584.
- 47. Hennet, B; Richter, C; Peterhans, E. (1993).** Tumour necrosis factor-alpha induces superoxide anion generation in mitochondria of L929 cells / *Biochem J* ;289 :587-592.
- 48. Howida S. Abou Seif. (2016)** Physiological changes due to hepatotoxicity and the protective role of some medicinal plants / *beni-suef university journal of basic and applied sciences* 5 134–146.
- 49. Hyoung Joon Park ; Soo-Jung Lee ; Chanson Yunoo ; Sun-Hee Jang ; Yeoung-Gyu Ko ; Suk Nam Kang; Byung Yeoup Chung; Hong-Duck Kim ; Gon- Sup Kim; Jae-Hyeon Cho. (2014).** Schisandra chinensis Prevents Alcohol-Induced Fatty Liver Disease in Rats/ *Journal of Medicinal Food*. 17 (1): 103-110.

I

- 50. Ighodaro Osasenaga Macdonald. (2010).** Effects of Chronic Ethanol Administration on Body Weight, Reduced Glutathione (GSH), Malondialdehyde (MDA) Levels and Glutathione-s-transferase Activity (GST) in Rats. IMR-NK1/ *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 50, 2454 – 2458.

J

- 51. Jayaprakasha, G.K; Girenavar, B; Patil, B.s. (2008).** Antioxydant capacity of pummel and navel orange: Extraction efficiency of solvents in sequence / *LWT*, 41: 376-384.
- 52. Jeong-Sook Lee. (2004).** Supplementation of *Pueraria radix* water extract on changes of antioxidant enzymes and lipid profile in ethanol-treated rats / *Clinica Chimica Acta* 347 ;121–128.
- 53. Jinyao Liu. (2014).** Éthanol et foie : aperçus récents sur les mécanismes du foie gras induit par l'éthanol / *Monde J Gastroenterol* .20 (40) : 14672-14685.

54. **Joe Leech. (2017).** What are the benefits of aloe Vera?

K

55. **Kamoun Zeineb; Alya Sellami Kamoun; Ali Bougatef; Rim Marrakchi Kharrat; Housseem Youssfi; Tahia Boudawara; Mouna Chakroun; Moncef Nasri; Najiba Zeghal. (2016).** Hepatoprotective and nephroprotective effects of sardinelle (*Sardinella aurita*) protein hydrolysate against ethanol-induced oxidative stress in rats/ *Environ Sci Pollut Res.* doi 10.1007/s11356-016-7424-4.

56. **Karyn, L; Bischoff. (2016).** Chapitre 40 –Glucosinolates. Nutraceutical Efficacité, sécurité et toxicité., 551-554

57. **Kerry, Bone ; Simon, Mills. (2013).** Principes de pharmacologie à base de plantes. Principes et pratique de la phytothérapie (Deuxième édition).17 à 82 cest un livre.

58. **Khadidja, Bekhouche ; Tefvik, Ozen ; Sara, Boussaha ; Serkan, Koldas ; Semiha Yenigun ; Somia, Lassed ; Ibrahim, Demirtas ; Fadila, Benayache ; Samir, Benayache ; Djamila, Zama. (2018).** Anti-oxidant, DNA-damage protection and anti-cancer properties of *n*-butanol extract of the endemic *Perralderia coronopifolia* / *Bangladesh Journal of Pharmacology (Bangladesh J Pharmacol)* 13: 82-89.

59. **Kowti Rajesh; Vishwanath Swamy; Shivakumar Inamdar; Vedamurthy Joshi; Abdul nasir kurnool. (2013).** Hepatoprotective and Antioxidant Activity of Ethanol Extract of *Mentha arvensis* Leaves Against Carbon Tetrachloride Induced Hepatic Damage in Rats/ *International Journal of PharmTech Research* 5, (2) : 426-430.

60. **Kukielka, E; Dicker, E; Cederbaum, Ai. (1994).** Increased production of reactive oxygen species by rat liver mitochondria after chronic ethanol treatment / *Arch Biochem Biophys*, 309: 377-386.

L

61. **Lacolley, P ; Babuty, D ; Boulanger, C ; Ghaleh, B ; Loirand, G ; Pinet, F ; Samuel, J.L. (2007).** Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux/ *Edition John Libbey Eurotext, Paris*, p312, 316, 317.

62. **Lacombe Michel. (2015).** L'abrégé d'anatomie et de physiologie humaine. 7é ED. LAM <http://www.arcagy.org>.

63. **Larrey, D. (2009).** Hepatotoxicity of drugs and chemicals/ *Gastroentérologie Clinique et Biologique*;33(12): 1136-1146.

64. **Lassed, Somia; Cláudia, Deus; Radja, Djebbari; Djamila, Zama; Paulo, J. Oliveira; Albert, Rizvanov; Abderrezak, Dahdouh; Fadila, Benayache; Samir, Benayache. (2017).**

Protective effect of green tea (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) against prostate cancer: from in vitro data to Algerian patients. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Special issue: "Medicinal Plants and Natural Active Compounds for Cancer Chemoprevention/Chemotherapy. 2017.

- 65. Lee Jeong-Sook. (2004).** Supplementation of *Pueraria* radix water extract on changes of antioxidant enzymes and lipid profile in ethanol-treated rats/ *Clinica Chimica Acta*. (347) :121-128.
- 66. Li, A.-N; Li, S; Zhang, Y.-J; Xu, X.-R; Chen, Y.-M; Li, H.-B. (2014).** Resources and Biological Activities of Natural Polyphenols / *Nutrients*, 6(12), 6020–6047. doi:10.3390/nu6126020.
- 67. Li, X.-X ; Jiang, Z.-H ; Zhou, B ; Chen, C ; Zhang, X.-Y. (2018).** Hepatoprotective effect of *gastrodin* against alcohol-induced liver injury in mice / *Journal of Physiology and Biochemistry*. doi:10.1007/s13105-018-0647-8.

M

- 68. Maameri Z; Djerrou Z; Halmi S; Djaalab H; Riachi F; Hamdipacha Y. (2015)** Evaluation of Hepatoprotective Effect of *Pistacia lentiscus* L. Fatty Oil in Rats Intoxicated by Carbon Tetrachloride/ *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 7(2); 251- 254.
- 69. Marta, Ribeiro; Lúcia, C; Simões, Manuel Simões. (2018).** Biocides. *Reference Module in Life Sciences*. (mafihech vol hka lgitha.)
- 70. Matés, J. M ; Perez-Gomez, C ; Castro, N.I. (1999).** Antioxidant enzymes and human diseases/ *Clin Biochem*, 32, 595 – 603.
- 71. Mellal Ahmed. (2010).** Application pratique de l'anatomie humaine tome 1 viscères du tronc. ED.EPU. P174-176.
- 72. Mohamadi, Sabrina ; Minjie, Zhao ; Amel, Amrani; Eric, Marchioni; Djamila, Zama; Fadila, Benayache; Samir, Benayache. (2015).** On-line screening and identification of antioxidant phenolic compounds of *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur / *Industrial Crops and Products*. 76, 910-919.
- 73. Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for
- 74. MORALES, G ; PAREDES, A ; SIERRA, P ; LOYOLA, L. A. (2008).** Antioxidant activity of 50% aqueous - ethanol extract from *Acantholippia deserticola*/ *Biological Research*, 41(2) 151-155. doi:10.4067/s0716-97602008000200004.

N

- 75. Nadro; Arungbeni RM; Dahini D. (2006).** Evaluation of *Moringa oleifera* leaf extract on alcohol-induced hepatotoxicity / *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5(1): 539-544).
- 76. Nagy, LE; Ding, W.X; Cresci, G; Saikia, P; Shah, VH; Linking, Pathogenic. (2016).** Mechanisms of Alcoholic Liver Disease with Clinical Phenotypes / *Gastroenterology*, 150(8), 1756–1768. doi: 10.1053/j.gastro.2016.02.035.
- 77. Narasimha, K.G; Chitikela, P.P; Dhanunjaya, S; Dayanand, R.G; Yuvasree. (2017).** Hepatoprotective and *in Vivo* Antioxidant Potential of Aqueous Seed Extract of *Vigna Unguiculata* Against Carbon Tetrachloride Induced Hepatotoxicity in Rats/ *Int. Res. J. Pharm.* 8 (1) 2230 –8407. 2017.Doi: 10.7897/2230-8407.080115.
- 78. Naveau, S. (2001).** Mécanismes de la réaction inflammatoire impliquée dans l'hépatite alcoolique aiguë expérimentale / *Gastroentérologie Clinique et Biologique*. 25(2) : 137-143.
- 79. NIEMELÄ, O ; PARKKILA, S ; JUVONEN, RO ; VIITALA, K ; GELBOIN, HV ; PASANEN, M. (2000).** Cytochromes P450 2A6, 2E1, and 3A and production of protein-aldehyde adducts in the liver of patients with alcoholic and non-alcoholic liver diseases / *J Hepatol*, 33 893-901.
- 80. NORDMANN, R; ROUACH, H; HOUZE, P. (1990).** Alcool, fer et stress oxydatif / *Bull Acad Natl Med*, 174: 95-104

O

- 81. Ohkhawa, H; Ohishi, N; Yagi, K. (1979).** Assay of lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction / *Analytical Biochemistry*, 95: 351–358.
- 82. OMS. (2007)** Comité oms d'experts des problèmes liés à la consommation d'alcool (2ème Rapport).2007 : 64.
- 83. Ou, B; Hampsch-Woodill, M; Prior, R.L. (2001).** Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe / *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 49, 4619 – 4626.
- 84. Ozbeka, Hanefi; Ozlem, Bahadir Acikarab; Ilknur, Keskin; Neriman, Ipek Kirmizid; Serkan Ozbilginb; Burcin, Ergene Ozb; Ekin Kurtulb; Bade Cevriye Ozrenkd; Mehmet Tekine; Gulcin Saltan. (2017).** Evaluation of hepatoprotective and antidiabetic activity of *Alchemilla mollis* / *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 86 172 -176).

P

- 85. Padmanabhan; Jangle S.N. (2014).** Hepatoprotective Activity of herbal preparation (HP-4) against alcohol induced hepatotoxicity in mice/ *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 2(1): 50-58. 413736. doi:10.3126/ijasbt. v2i1.9346.
- 86. Pandit A; Sachdeva T; Bafna P. (2012).** Drug-Induced Hepatotoxicity / *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 02 (05); 233-243. Doi: 10.7324/JAPS.2012.2541.
- 87. Patil, B. (2010)** In vitro study of cytoprotection by *Aloe vera leaf gel* against APAP (AAP) mediated oxidative stress in rat liver slices / *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 1(2): 73-86).
- 88. PERTOFT, H; SMEDSROD, B. (1987).** Separation and characterization of liver cells. In: Cell separation: methods and applications. PRETLOW II TG, PRETLOW TP/ eds. *Academic Press, New York, USA*, 4: 1-24.
- 89. Podevin, P et Calmus, Y. (2000).** Physiopathologie de la maladie alcoolique du foie.
- 90. Popovici, C, Saykova, I., & Tylkowskib. (2010).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH / *Revue de Génie Industriel*, (4), 1– 8.
- 91. Prieto, P; Pineda, M; & Aguilar, M. (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E / *Anal. Biochem*, 269, 337 – 341.
- 92. Pujade-Lauraine, Eric ; Bénédicte Votan, ARCAGY – GINECO** [en ligne], mis à jour le 25/11/2013 [consulté 02/2015], <http://www.arcagy.org> (Sites certifiés en partenariat avec la Haute Autorité de Santé (HAS)).
- 93. Pushpakiran, G ; Mahalakshmi, K ; Anuradha, C.V. (2004).** Taurine restores ethanol-induced depletion of antioxidants and attenuates oxidative stress in rat tissues / *Amino Acids*, 27(1).91-96 doi:10.1007/s00726-004-0066-8.

Q

- 94. Quitter, D.C; Gressier, B ; Vassiur, J ; Dine, T ; Brunet, C ; Luyckx, M.C; Cayin, J.C; Bailleul, F; Trotin, F. (2000).** Phenolic compounds and antioxidant activities of buck wheat (*Fagopyrum sculentum* Moench) hulls and flour / *J. Ethnopharmacol.* 72: 35-42.

R

- 95. Ratna, A; Mandrekar, P. (2017).** Alcohol and Cancer: Mechanisms and Therapies / *Biomolecules*, 7(4), 61. doi :10.3390/biom7030061.

- 96. Rezaee-Khorasany, A; Razavi, B. M; Taghiabadi, E; Yazdi, A. T; Hosseinzadeh, H. (2019).** Effect of saffron (stigma of *Crocus sativus* L.) aqueous extract on ethanol toxicity in rats: A biochemical, histopathological and molecular study / *Journal of Ethnopharmacology*. doi: 10.1016/j.jep.2019.03.048.
- 97. Ribéreau-Gayon, J ; Peynaud, E ; Sudraud, P ; Ribéreau-Gayon, P. (1968).** Sciences et techniques du vin. Tome 1. Edition. Dunod, Paris, p 671.
- 98. Rosenbaum, Jean ; Ariane, Mallat ; Philippe Mavier. (1994).** La fibrose hépatique, une itopathie " 10,12. 1245-52.

S

- 99. Sahnoun Z, Jamoussi K, Zeghal KM. (1997).** Free radicals and antioxidants / *Therapia* ,52(4) :251-257
- 100. Saka, WA; Akhigbe, RE; Ishola, OS; Ashamu, EA. Olayemi, OT; Adeleke, GE. (2011).** Hepatotherapeutic effect of *Aloe verain* alcohol induced hepatic damage / *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 14 (14): 742-746. doi.org/10.3923/pjbs.2011.742.746.
- 101. SANAGO R. (2006).** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle.
- 102. Sandur SK, Pandey MK, Sung B, Ahn KS, Murakami A, Sethi G, Limtrakul P, Badmaev V, Aggarwal BB. (2007).** Curcumin, demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin, tetrahydrocurcumin and turmerones differentially regulate anti-inflammatory and anti-proliferative responses through a ROS-independent mechanism. *Carcinogenesis*. Aug;28(8):1765-73
- 103. Sarawoot, Palipoch; Phanit, Koomhin; Chuchard, Punsawad; Prasit, Suwannalert (2019).** Effect of aqueous leaf extract of *Thunbergia laurifolia* on alcohol-induced liver injury in rats / *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 18(4): 823-828. doi.org/10.4314/tjpr.v18i4.20.
- 104. Sathiavelua, Jayanthi; Giftson Jebakkan, Senapathya; Rajkumar, Devarajb; Nalini, Namasivayama. (2009).** Hepatoprotective effect of *chrysin* on prooxidant–antioxidant status during ethanol-induced toxicity in female albino rats / *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. (61): 809–817.
- 105. Saurabh, Bhatia ; Randhir, Dahiya. (2015).** Chapitre 8 - Produits biotechnologiques d'origine végétale avec leur hôte de production, leurs systèmes de distribution et leurs tests de stabilité / *Applications modernes de la biotechnologie végétale en sciences pharmaceutiques* 293-331.
- 106. Schunke, M; Schulte, E; Schumacher, U; voll, M; Wesker, K. (2007).** ATLAS D'ANATOMIE. prométhée.cou et organes internes. P208.

- 107. Seo, E.J; Kim, S; Yoo, K; Hong, H.S. (2018).** Substance P blocks ethanol-induced hepatotoxicity/*Life Sciences*, 203, 268–275. doi: 10.1016/j.lfs.2018.05.004.
- 108. Sergent, O; Griffon, B; Cillard, P; Cillard, J. (2001).** Alcool et stress oxydatif / *Pathologie Biologie* 49(9), 689-695. doi :10.1016/s0369-8114(01)00244-9.
- 109. Sherwood. (2012).** Physiologie humaine. 2^e ED. P488
- 110. Shoelson SE, Lee J,Goldfine AB. (2006).** Cellulaires présents dans le foie et l'espace de Disse.
- 111. Simpson, D ; Amos, S. (2017).** Autres métabolites de plantes / *Pharmacognosy Fondements, applications et stratégies* 267-280.
- 112. Sinaceur, J ; Ribiere, C; Sabourault, D; Normann, R; Poli, G; Cheeseman, Kh; Dianzani, Mu; Slater, Tf. (1985).** Superoxide formation in liver mitochondria during ethanol intoxication : possible role in alcohol hepatotoxicity. In: Free radicals in liver injury / eds. *IRL Press, Oxford*:175-177.
- 113. Song, D.H; Kim, G.J; Chung, K.H; Lee, K.J; An, J. H. (2018).** Ormosanine from *Akebia quinata* suppresses ethanol-induced inflammation and apoptosis and activates antioxidants via the mitogen activated protein kinase signaling pathway / *Journal of Functional Foods*. 48, 357–366. doi: 10.1016/j.jff.2018.07.033.

T

- 114. Tahou Enas Abd El-Aziz; Rasha Salah Mohammed; Gehad Rashad Donia (2018).** Histopathological and Biochemical Studies on The Effect of *Green Tea* Extract and *vitamin C* Against Fenitrothion Toxicity in Male Albino Rats / *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*. 57 (1): 74-86. doi:10.5455/ajvs.296219.
- 115. Teixeira-Clerc, F. (2015).** Effets hépatiques de l'alcool / *Cahiers de nutrition et de diététique* ,50(2)94-102. doi.org/10.1016/j.cnd.2014.12.002.
- 116. Thadathil Pandarekandy Seena. (2015).** Comparative Study of Oxidative Stress Marker Malondialdehyde on Dasamoolarishta and Ethanol Treated Healthy Wistar Albino Rats
- 117. Thonda V.S et Shivalinge G.K. (2012).** Hepatotoxicity Mechanisms and its Biomarkers. 675-682.
- 118. Torres de pinedo A ; Pen alver P ; Morales J.C. (2007).** Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidant: structure-activity relationship / *Food Chemistry*. 103: 55-61.
- 119. Tortora, Derrickson. (2010).** Principes d'anatomie et de physiologie. 4^eED. de boeck. P993.
- 120. Tuyen Thi Kim Nguyen; Chamroon Laosinwattana; Montinee Teerarak; Komkhae Pilasombut. (2017).** Potential antioxidant and lipid peroxidation inhibition of *Phyllanthus*

acidus leaf extract in minced pork / *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*; 30(9): 1323-1331.

V

- 121. Vinothkumar, G; Venkataraman, P; Sathishkumar, D; & Lavanya, R. (2019).** Effect of *Coccinia indica* leaf extract on Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors induced Hepatotoxicity in wistar albino rats/ *Clinical Nutrition Experimental*. doi: 10.1016/j.yclnex.2019.01.004.

W

- 122. Wei Li; Ying Liu; Zi Wang; Ye Han; Yu-Hong Tian; Gui-Shan Zhang; Yin-Shi Sun; Ying-Ping Wang (2015).** Platycodin D isolated from the aerial parts of *Platycodon grandiflorum* protects alcohol-induced liver injury in mice / *Food Function*. 6: 1418–1427.
- 123. Wiart, C; Mogana, S; Khalifah, S; Mahan, M; Ismail, S; Buckle, M; Narayana, A.K; Sulaiman, M; (2004).** Antimicrobial screening of plants used for traditional medicine in the state of Perak, *Peninsular Malaysia. Fitoterapia* 75, 68–73.

Y

- 124. Yadav, B. S; Yadav, R; Yadav, R.B; Garg, M. (2016).** Antioxidant activity of various extracts of selected gourd vegetables / *Journal of Food Science and Technology*, 53(4), 1823–1833. doi:10.1007/s13197-015-1886.
- 125. Yi-Wei, Cao; Yun, Jiang; Da-Yong, Zhang; Meng, Wang; Wan-Sheng, Chen; Huanxing Su; Yi-Tao, Wang; Jian-Bo Wan. (2015).** Protective effects of *Penthorum chinense* Pursh against chronic ethanol-induced liver injury in mice / *Journal of Ethnopharmacology* 161 p92–98
- 126. Yuanheng Guo. (2017).** Hepatoprotective effect of Gan Kang Yaun against chronic liver injury induced by alcohol / *J Ethnopharmacol*. 17;208:1-7. doi: 10.1016/j.jep.2017.06.033.

Z

- 127. Zahid, M; Arif, M; Rahman, M.A; Mujahid, M. (2018).** Hepatoprotective and antioxidant activities of *Annona squamosa* seed extract against alcohol-induced liver injury in Sprague Dawley rats / *Drug and Chemical Toxicology*, 1–7. doi: 10.1080/01480545.2018.15177720.

Les Sites

- 128. <http://Floraofsingapore.wordpress.com>. (2011)**
- 129. <http://guadarramistas.com>. (2010)**
- 130. <http://www.alvita.com/herbal-teas.html>.**
- 131. www.amazon.com**
- 132. www.aquaticmag.com. (2019)**
- 133. www.iesv.org.com.(2015-2016)**
- 134. www.toxiplant.fr. (2018)**

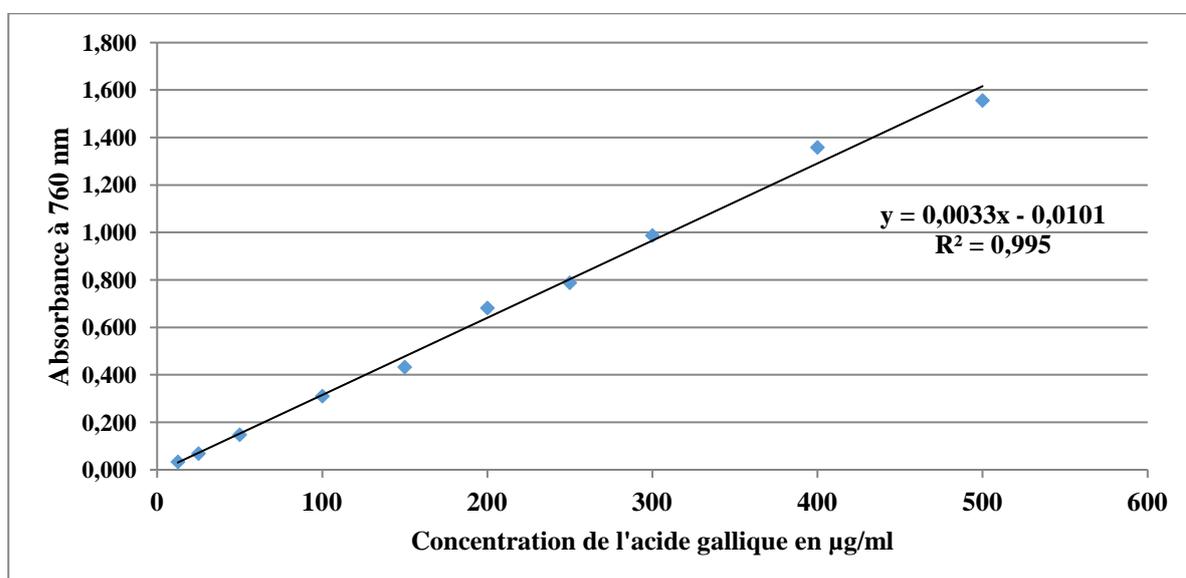


Annexes



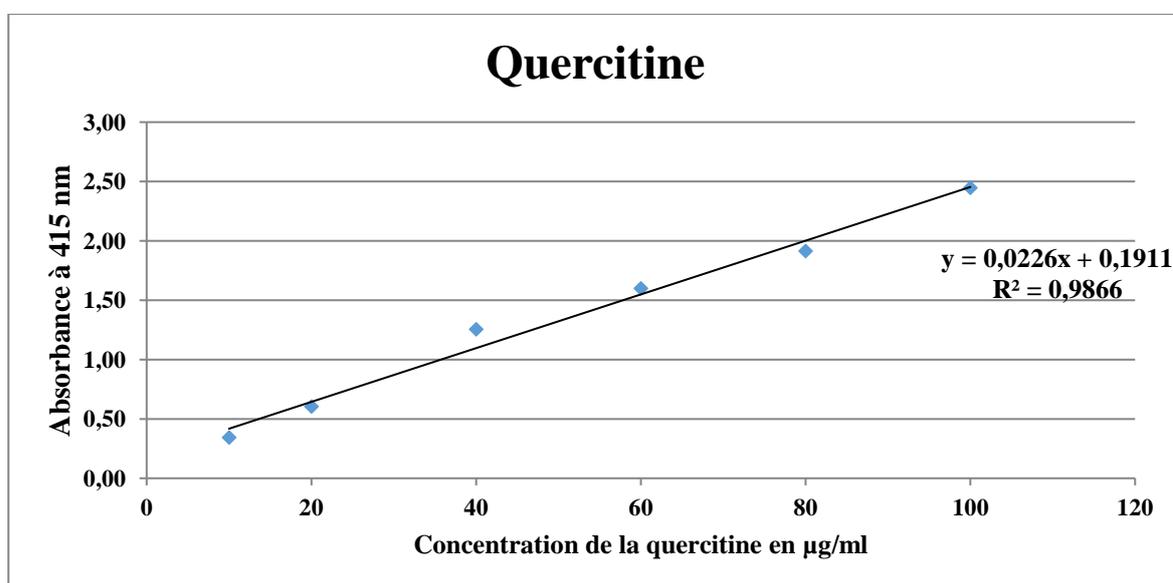
Annexes:

Annexes 1:



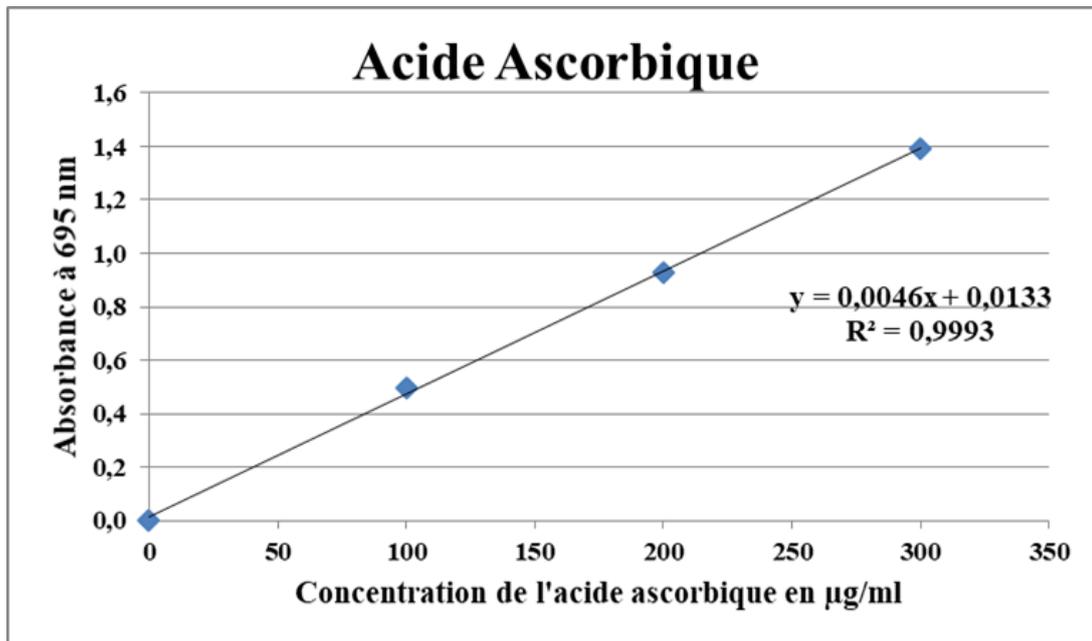
Droite d'étalonnage de l'Acide Gallique

Annexes 2 :



Courbe d'étalonnage de quercétine pour le dosage des flavonoïdes

Annexes 3 :



Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour mesure la capacité antioxydant

HAMDI Abdelhadi SAHKI Ines ZOUIOUCHE Kaouther	Date de soutenance : 04/09/ 2019
<p align="center">Thème : Evaluation des activités antioxydantes et l'effet hépato-protecteur de l'extrait <i>n</i>-butanol d'une plante endémique : les tests <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i>.</p>	
<p>Nature du diplôme : Master. Domaine : Science de la nature et de la vie. Mention : Toxicologie.</p>	
<p>L'hépatotoxicité est un effet indésirable causé par plusieurs xénobiotiques, dont l'éthanol. Dans cette contribution, nous nous intéressons à l'évaluation de l'activité hépatoprotectrice et antioxydante de l'extrait <i>n</i>-butanol d'une plante endémique vis-à-vis de la toxicité induite par l'éthanol.</p> <p>Le travail a été effectué sur six groupes comprenant chacun six rats : le premier est considéré comme témoin, gavé quotidiennement par l'eau distillée et après une heure d'eau physiologique. Le second a été traité avec l'éthanol à une dose de 3 g / kg de poids corporel. Un troisième groupe a reçu l'éthanol à la même dose et au bout d'une heure, l'extrait <i>n</i>-butanol de la plante (200 mg / kg). Un quatrième groupe a reçu l'eau distillée et une heure après, une dose d'extrait de plante (200 mg / kg) a été administrée. L'avant-dernier groupe a reçu l'éthanol (3 g / kg) et au bout d'une heure, l'extrait de <i>n</i>-butanol (100 mg / kg). Le dernier groupe a reçu de l'eau distillée et au bout d'une heure l'extrait (100 mg / kg).</p> <p>Le traitement par l'éthanol pendant 15 jours a provoqué une hépatotoxicité en augmentant le cholestérol total sérique et le MDA hépatique, et en supprimant le système de défense hépatique des antioxydants, notamment (SOD, CAT, GPx, GSH et GST).</p> <p>D'autre part, l'extrait <i>n</i>-butanol de la plante a également entraîné une nette amélioration du statut antioxydant dans le foie. En effet, la diminution du cholestérol, MDA, de (7,93%), (9,52%) et l'augmentation du GSH de (40%) également l'augmentation significative de l'activité enzymatique de SOD, CAT, GST et GPx de (51,38%), (34,08%), (79,16%), (14,67%) respectivement.</p> <p>En conclusion, la consommation d'éthanol semble confirmer la génération de stress oxydatif dans le foie de rat. Les résultats suggèrent que l'extrait <i>n</i>-butanol de la plante contenait une grande quantité de composés flavonoïdes et de polyphénols totaux. Cela justifie son effet hépato protecteurs en modulant les processus d'oxydoréduction, en activant les enzymes antioxydantes et en diminuant la peroxydation des lipides. Cela en fait un candidat thérapeutique pour les troubles et lésions du foie et pour d'autres pathologies liées au stress oxydatif.</p>	
<p>Mots clés : éthanol, stress oxydant, extrait de <i>n</i>-butanol, hépatotoxicité, activité antioxydante, polyphénols.</p>	
<p>Lieu de travail : Laboratoire de Biologie UFM Constantine.</p> <p>Jury d'évaluation :</p> <p>Présidente : DALICHAOUCHE Souheila Maitre de conférences B ; Université Salah boubnider Constantine.</p> <p>Encadreur : ZAMA Djamilia Professeure ; Université Frères Mentouri Constantine.</p> <p>Co- Encadreur: BOULDJADJ Redouane Maitre-Assistant A; U Frères Mentouri Constantine.</p> <p>Examinatrice: LATRECHE Aicha Maitre de conférences B; Université Salah boubnider Constantine .</p>	

