

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا

الخلوية و الجزيئية.

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Science Biologique

Spécialité : *Biochimie Appliqué*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Evaluation de l'activité hépatoprotectrice de l'espèce *Rhamnus alaternus* sur les rats traités au CCL4

Présenté par : KHENGUI Khair-Eddine

Le 28/06/2022

KIMFOKO NKOMBO Constant Welcome

Jury d'évaluation :

Encadreur : MADI Aicha (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : MAAMERI Zineb (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : ZEGHED Sofia (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire
2021 - 2022**

Remerciements

*Tout d'abord nous tenons surtout à adresser nos plus vifs remerciements à notre encadrante Mm. **MADI Aicha**, Maître de conférences B, à l'université des Frères Mentouri Constantine 1, qui nous a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, pour sa grande patience, sa disponibilité et ses conseils judicieux.*

*Nous remercions également Mm **MAAMERI Zineb** et Mm **ZEGHAD Nadia**, Maîtres de conférence A, à l'université des Frères Mentouri Constantine 1, pour leurs précieux conseils qui nous ont été très utiles, et pour avoir accepté de présider le jury.*

*Nos remerciements vont droit à **Mr. BOUDARSSA Nabil**, Docteur à l'université des Frères Mentouri Constantine 1, pour l'orientation et l'encouragement.*

*Nous tenons également à remercier Mm **TORCHE Saliha**, maitre assistante A, à l'institut des sciences vétérinaires El Khroub, pour sa bienveillance et notamment de nous avoir enseigné la méthode de dissection.*

*Merci à Mlle **SIARI Romaiissa** et Mlle **KEROUR Nesrine Sana**, Doctorantes à l'institut des sciences vétérinaires El Khroub ; pour leur assistance. Nous en sommes très reconnaissants.*

*En fin, grand merci à tous **nos enseignant.e.s** et à toutes **les personnes** qui ont contribué de manière directe ou indirecte, à la réalisation de ce projet de recherche.*

Dédicaces

Dédicaces

Je dédie ce mémoire :

*À mes très chers parents, **KIMFOKO MFIKOU** et **MANTSOUNGA Louise**.
Veuillez trouver en ces mots l'expression de ma plus grande gratitude pour tout ce
que vous avez fait pour moi !*

*À mes très chers oncles, plus particulièrement à **BOUNGOU Albert** et **BIMBENI Benjamin**, qui m'ont toujours enseigné le sens de responsabilité.*

*À mes très chers Pères , **MFIKOU Donatien** et **MAMBOUKOU Gaski**, vos
conseils ont toujours été une source de motivation pour moi.*

*À tous mes frères et sœurs, notamment à mes grands freres **Jean Maz, Gloria, MPASSI, Martial, Wilfrid, Silver, Bonal, Mfikou et Souviens**; à mes soeurs **Ornela, Pauline, MBOYO et Loriane**; qui ont toujours cru en moi. Merci pour vos conseils, vos encouragements et votre soutien indéfectible. Je vous aime !*

*À tous mes chers amis, plus particulièrement à **KISSAMA** : Trouve ici la preuve de notre sincère amitié! À **Olive, Jean-Marc et Radjabu**, trois amis devenus des frères que l'algérie m'a donnés. Je vous dis merci !*

À toute ma famille.

*Au Créateur (**Nzambi ya mpungu tulendo**), à tous les **ancêtres** paternels et maternels **méritants**, soyez honorés et la paix sur vous !*

Welcome NKOMBO

Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à mes chers parents, à mon père **KHENGUI mohammed** pour le soutien qu'il m'a toujours apporté ; à ma très aimable mère **MKHALFA aziza** pour son encouragement, qui est un nouveau souffle à chaque fois que je la vois.*

Soit honorée maman

*A ma tante **MKHALFA fatima** pour tout son amour et son soutien*

*A mes chers frères **Borhane** et **Sadjed***

*A ma sœur **Dhikra***

*A mon cousins **Mohammed***

*A mon binôme **Welcome** mes mes collègues **Djoughaina** et **Mouna***

Merci pour le magnifique environnement que vous avez créé au travail

*A mes amis **Ramzi, Djad, Karim, Amdjed** et **Mouatacem**.*

A tous les amis

Je dis Merci !

Khrou

Table des matières

Remerciements	1
<i>Dédicaces</i>	2
<i>Introduction</i>	14
Partie I : Synthèse bibliographique	16
Chapitre I : <i>Rhamnus alaternus</i>	17
1 Description générale	18
2 Morphologie de l'espèce <i>Rhamnus alaternus</i>	18
3 Répartition géographique	19
3.1 <i>Rhamnus alaternus</i> dans le Bassin méditerranéen	19
3.2 <i>Rhamnus alaternus</i> en Algérie	20
4 Taxonomie et Nomenclature	20
4.1 Classification du <i>Rhamnus alaternus</i> :	20
4.2 Nomenclature : Noms vernaculaires	21
5 Composition chimique et Biochimique	22
5.1 Composition chimique	22
5.2 Composition Biochimique	23
6 Usages et Propriétés Thérapeutiques	23
6.1 Remède contre plusieurs pathologies	23
6.2 Propriétés :	23
7 Toxicité	23
8 Etudes antérieures	24
Chapitre II : Foie	25
1 Généralité	26
2 Anatomie du foie	26
2.1 Anatomie externe	26
2.2 Anatomie interne	27
3 Fonctions hépatiques	28
3.1 Fonction métabolique et stockage :	29
3.2 Fonction de détoxification et d'épuration	29
3.3 Fonction excréto-biliaire	29
4 Les marqueurs hépatiques	30
4.1 La Bilirubine	30

4.2	L'alanine amino-transférase et l'aspartate amino-transférase	30
4.3	Phosphatase Alcaline	31
4.4	Gamma-glutamyl transférase.....	31
4.5	Albumine	31
4.6	Facteur V (5).....	31
4.7	Lactate déshydrogénase	31
5	Pathologies hépatiques	32
5.1	Ictères.....	32
5.2	Syndrome de cytolyse.....	32
5.3	Hépatites	32
5.4	Cholestase	32
5.5	Cirrhose hépatique	32
	Chapitre III : Activité Hépatoprotectrice	34
1	Introduction.....	35
2	Activité antioxydante	35
2.1	Stress oxydatif	35
2.2	Pathologies liées au stress oxydatif	35
2.3	Radicaux libres et espèces oxygénés	36
2.4	Quelques espèces réactives oxygénées et radicaux libres	36
2.4.1	Oxygène singulet (O ₂)	36
2.4.2	Anion superoxyde (O ₂ •-)	36
2.4.3	Peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂)	37
2.4.4	Radical hydroxyle (HO•).....	37
2.4.5	Radicaux peroxydes (ROO•).....	37
2.4.6	Acide hypochloreux (HOCl)	37
2.4.7	Tétrachloréthane (tétrachlorure de carbone CCL ₄).....	38
2.5	Effets des radicaux libres.....	38
2.6	Cibles des radicaux libres	38
2.6.1	Lipides	38
2.6.2	Protéines	39
2.6.3	Acides nucléiques.....	39
2.7	Antioxydants.....	40
2.7.1	Mécanismes de protection Enzymatiques	40

2.7.2	Mécanismes de protection non Enzymatiques	41
Partie II	Partie expérimentale	42
Chapitre I	Matériel et Méthodes	43
1	Matériel	44
1.1	Matériel végétal	44
1.2	Matériel animal	44
1.3	Matériels de laboratoire	44
2	Méthodes	44
2.1	Préparation de la matière végétale : Récolte, séchage et broyage.	44
2.2	Préparation de l'extrait brut	45
2.2.1	Macération hydro-alcoolique et filtration	45
2.2.2	Evaporation	46
2.2.3	Décantation.....	46
2.2.4	Séchage de l'extrait brut.....	47
2.3	Rendement d'extraction.....	49
2.4	Préparation des animaux.....	49
2.5	Protocole expérimental.....	50
2.6	Sacrifice des animaux	51
2.7	Analyse sérique.....	52
2.8	Coupe histologique	52
Chapitre II	Résultats et discussion	53
1	Rendement d'extraction	54
2	Evolution du poids moyen des lots	55
3	Quelques marqueurs hépatiques.....	57
3.1	Aspartate aminotransférase (ASAT ou TGO)	57
3.2	Alanine aminotransférase (ALAT ou GPT)	59
3.3	Phosphatase alcaline (PAL).....	60
4	Autres paramètres étudiés	62
4.1	Albumine	62
4.2	Urée	63
4.3	Triglycéride	64
4.4	Glycémie.....	65
5	Poids d'organes (Foie et Reins) au jour du sacrifice	66

6 Coupe histologique	68
<i>Conclusion générale</i>	69
<i>Références bibliographiques</i>	72
Résumé	79
Abstract	80
ملخص.....	81

Liste des Tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Classification de la plante de famille Rhamnacées	21
2	Noms vernaculaires de <i>Rhamnus Alaternus</i>	21
3	Matériel de laboratoire	44
4	Données de l'évolution du poids moyen (g)	55
5	Résultats du dosage de l'ASAT	57
6	Résultats du dosage de l'ALAT	59
7	Résultats du dosage de la PAL	60
8	Résultats du dosage de l'albumine	62
9	Résultats du dosage de l'Urée	64
10	Résultats du dosage des Triglycérides sériques	65
11	Résultats de la glycémie	66
12	Résultats des Poids moyens d'organes	67

Liste des Figures

Figure	Titre	Page
1	Morphologie de <i>Rhamnus Alaternus</i> (Anonyme 1)	19
2	Répartition de <i>Rhamnus alaternus</i> dans le bassin méditerranéen (Judd <i>et al.</i> , 1999)	19
3	Répartition par secteur, en Algérie selon Quézel et Santa (1963)	20
4	Structures chimiques de quelques flavonoïdes de <i>Rhamnus Alaternus</i> (Ben Ammar <i>et al.</i> 2005)	22
5	Anatomie externe du foie (Anonyme 2)	27
6	Structure du lobule hépatique (Anonyme 3)	28
7	Réactions d'ALAT et ASAT (Anonyme 4)	30
8	Déséquilibre de la balance entre pro-oxydant et antioxydant (Nkhili, 2009)	35
9	peroxydation des acides gras polyinsaturés (Bahi, 2020)	39
10	Feuilles fraîches, sèches et poudre de <i>Rhamnus Alaternus</i> (Chalal <i>et al.</i> , 2012)	45
11	Pesée, Macération hydrométhanolique et Filtration	46
12	Evaporation à l'aide d'un Evaporateur rotatif BUCHI	46
13	Décantation à l'éther de pétrole	47
14	Schéma des différentes étapes d'extraction	48
15	Extrait brut de <i>Rhamnus alaternus</i>	49
16	Pesée de l'extrait sec de <i>Rhamnus alaternus</i>	49
17	Pesage des animaux, Pesage de l'extrait brut sec et Gavage	51
18	Prélèvement sanguin ; dissection et prélèvement d'organes ; conservation	52
19	Rendement de l'extrait méthanolique de <i>Rhamnus alaternus</i>	54
20	Courbes de l'évolution de poids moyens	55
21	Dosage de l'ASAT après induction au CCL4 et traitement à l'extrait des feuilles macérées de <i>Rhamnus alaternus</i> sur différents Lots d'animaux.	58

22	Dosage de l'ALAT après induction au CCL4 et traitement à l'extrait des feuilles macérées de <i>Rhamnus alaternus</i> sur différents Lots d'animaux.	59
23	Dosage de la PAL après induction au CCL4 et traitement à l'extrait des feuilles macérées de <i>Rhamnus alaternus</i> sur différents Lots d'animaux.	61
24	Dosage de l'albumine sérique	63
25	Dosage sérique de l'Urée	64
26	Dosage des triglycérides sériques	65
27	Dosage de la glycémie	66
28	Poids moyens d'organes de chaque Lots	67

Liste des abréviations

Sigles et Symboles	Significations
GPT	Glutamyl-pyruvate-transaminase
GOT	Glutamyl oxaloacétate-transferase
O1	Sahels littoraux Oranais
O2	Plaines littorales oranaises
O3	Atlas tellien oranais
A1	Littorale Algérois
A2	Atlas tellien Algérois
K1	La grande Kabylie
K2	La petite Kabylie
K3	La Numidie
C	Tell constantinois
H1	Haut-plateaux algérois et oranais
H2	Haut-plateaux constantinois
Hd	Hodna
AS1	Atlas saharien oranais
AS2	Atlas saharien Algérois
AS3	Atlas saharien Constantinois
SS1	Sahara septentrional occidental
SS2	Sahara septentrional oriental
SO	Sahara occidental
SC	Sahara central
SM	Sahara méridional
Fe	fer
Zn	Zinc
Mn	Manganèse
K	Potassium
Na	Sodium
Ca	Calcium
Mg	Magnésium
P	Phosphore
Cu	Cuivre
CO₂	Dioxyde de carbone
%	Pourcentage
VLDL	Very low density lipoproteins
AcAc	Acéto-acétate
BHB	Bêta-hydroxybutyrate
B1	Vitamine B1 (thiamine)
B2	Vitamine B2 (riboflavine)
B12	Vitamine B12 (cobalamine)
A	Vitamine A (Rétinol)
D	Vitamine D (Ergocalciférol)
E	Vitamine E (tocophérol)
K	Vitamine K
UDPG	Uridine di phosphate Glucose

ALAT	Alanine Amino transférase
ASAT	Aspartate amino transférase
PAL	Phosphatase Alcaline
γGT	Gamma glutamyl transférase
ALB	Albumine
LDH	Lactate Déshydrogénase
CCl4	Tétrachlorure de carbone
ERO	Espèces réactives d'oxygène
O₂	Dioxygène
NADPH	Nicotinamide Adénine di nucléotide phosphate
COX	cyclo-oxygénases
NOS	oxyde nitrique synthases
P450	cytochrome P450
Fe²⁺	Ion ferreux
Cu⁺	Ion cuivrique
CCL3	trichlorométhyle
ADN	Acide désoxyribonucléique
MDA	malondialdéhyde
HNE	hydroxynonéal
OHdG	hydroxy-2-déoxyguanosine
SOD	Superoxyde dismutase
ROOH	peroxydes organiques
H₂O₂	peroxyde d'hydrogène
LDL	Low density lipoproteins
g	gramme
°C	Degré Celsius
V	Volume
ml	millilitre
mg	milligramme
h	heure
Kg	Kilogramme
J	Jour
CRBT	centre de recherche biotechnologique
GLU	Glucose
TG	Triglycéride
T (-)	Témoin négatif
T(+)	Témoin positif
N	Nombre
U/L	Unité par litre
l	litre
dl	décilitre
PMR	Poids Moyen Relatif

Introduction

Introduction

Depuis la nuit des temps, les plantes médicinales sont considérées comme une source majeure des produits utilisés en thérapeutique. De nos jours, le traitement par les plantes est reconnu pour sa facilité d'utilisation et son efficacité, toutefois, cette utilisation demeure informelle pour deux raisons. La première a trait à l'absence d'un cadre juridico-réglementaire encadrant utilisation des plantes médicinales traditionnelle et la phytothérapie. La seconde raison est l'absence d'éléments scientifiques validant l'utilisation thérapeutique des plantes médicinales traditionnelles (Madi, 2018). Les métabolites secondaires (composés phénolique, alcaloïdes et terpenoïdes) que constituent ces plantes sont responsables de leurs effets. Ces composés possèdent une capacité antioxydante très importante et peuvent contribuer à une diminution du stress oxydatif (Kanai *et al.*, 1999). *Rhamnus alaternus* est une espèce végétale appartenant à la famille des Rhamnacées, elle est l'une des plantes médicinales les plus utilisées en phytothérapie notamment dans le bassin méditerranéen et le nord-africain d'où elle est utilisée comme purgatif, laxatif, diurétique, antianémique et comme puissant antioxydant (Boussahel *et al.*, 2013).

Ce travail a pour objet d'étudier l'activité Hépatoprotectrice de *Rhamnus alaternus*. Le potentiel hépatoprotecteur des extraits de ces feuilles (extrait méthanolique brut) a été étudié contre l'hépatotoxicité induite par le tétrachlorure de carbone (CCl₄) chez les rats (Wistar albinos) par la détermination des Biomarqueurs sériques. Le but ultime de cette étude est d'approfondir les connaissances pharmacologiques sur cette plante importante et aussi la valorisation de la phytothérapie qui constitue une véritable alternative surtout dans les pays en voie de développement.

Cette étude est structurée de la manière suivante:

Dans la première partie intitulée synthèse bibliographique, le premier chapitre présente une vue générale de l'espèce *Rhamnus alaternus*, tandis que le deuxième chapitre est un aperçu du Foie, des fonctions, pathologies et marqueurs hépatiques. Le troisième chapitre de cette première partie traite de l'activité Hépatoprotectrice, notamment l'activité antioxydante.

La deuxième partie, intitulée partie expérimentale, est constituée de deux chapitre dont : Matériel et méthodes qui est le chapitre 4 et vient en dernier, le chapitre 5 qui traite sur les résultats et discussion. En fin, ce manuscrit s'achève par une conclusion générale et les références bibliographiques.

Partie I :
Synthèse bibliographique

Chapitre I :
Rhamnus alaternus

1 Description générale

Selon **Spichiger (2004)**, la famille des Rhamnacées fait partie des plantes dicotylédones comprenant environ 900 espèces réparties en 55 genres dont les plus importants sont : *Rhamnus* (150 espèces), *phylica* (150 espèces), *Zizyphus* (100 espèces), *Goiânia* (60 espèces) et *Ceanothus/s* (50 espèces).

Rhamnus alaternus est une espèce végétale très utilisée en médecine traditionnelle et en gastronomie algériennes. Elle fait partie d'une famille cosmopolite d'arbres, d'arbustes et d'herbacées, souvent épineux, géographiquement diversifiée dans les régions tropicales du bassin méditerranéen. Sa fonction chlorophyllienne est souvent assurée par ses tiges (**Judd et al., 1999**).

2 Morphologie de l'espèce *Rhamnus alaternus*

L'espèce *Rhamnus alaternus* est un arbuste méditerranéen pouvant atteindre une hauteur de 5 m et toujours verte. Elle croît lentement et peut vivre jusqu'à un centenaire (100 ans), elle possède des feuilles ovales ou lancéolées et qui ont les bords peu dentés et persistants. Les rameaux sont alternes, glabres et non épineux (**Hamiani, 2018**).

D'après **Spichiger (2004)** cette espèce présente des **Feuilles** alternées, distiques parfois opposées, limbe parfois palmatinervuré à la base ou sur toute la longueur, stipules parfois modifiées en épines.

Quant aux **Fleurs**, elles sont petites, cycliques, hétérochlamydes, dialypétales, pentamères, actinomorphes, discifères, isotémones, bisexuées.

Concernant du **Fruit**, il est caractérisé par des graines avec un grand embryon et peu d'albumen, mesurant 5 à 6 mm de diamètre à 4 noyaux.

Sa **Tige** est dressée et rameuse, les rameaux sont alternes, non épineuse.



Figure 1 : Morphologie de *Rhamnus alaternus* (Anonyme 1).

3 Répartition géographique

3.1 *Rhamnus alaternus* dans le Bassin méditerranéen

Le Bassin méditerranéen est très diversifié en espèces végétales et représente un intérêt important. Sa grande richesse floristique est relative à l'hétérogénéité des aspects paléogéographiques, géologiques et écologiques (BENCHIHA *et al.*, 2014)

Le sol calcaire des régions tropicales constitue un milieu idéal pour l'espèce comme *Rhamnus alaternus*. Cette dernière est donc largement répandue dans le littoral méditerranéen, notamment au nord d'Algérie, de la Tunisie ou encore au sud de la France (Ben Ammar *et al.*, 2008 ; Chancerel, 1920).



Figure 2 : Répartition de *Rhamnus alaternus* dans le bassin méditerranéen (Judd *et al.*, 1999).

3.2 *Rhamnus alaternus* en Algérie

L'Algérie possède une des flores les plus diversifiées et les plus originales du bassin méditerranéen où elle compte 3139 espèces réparties dans près de 150 familles parmi lesquelles 653 espèces sont endémiques, soit un taux de 12,6 %. D'après une étude ethnobotanique réalisée dans les régions de Dellys, Bordj Menaiel et Boudouaou, les plantes médicinales les plus utilisées en phytothérapie locale appartiennent à la famille des myrtacées et des rhamnacées représentées respectivement par *Myrtus communis* et *Rhamnus alaternus* (Bouchenak *et al.*, 2020).

Quézel et Santa (1963) ont établi un découpage phytogéographique du territoire Algérien dont, le Nord algérien découpé en 15 secteurs (O1, O2, O3, A1, A2, K1, K2, K3, C, H1, H2, Hd, AS1, AS2, AS3) et sud Algérien découpé en 5 secteurs (SS1, SS2, SO, SC, SM). Cette étude a montré que l'espèce *Rhamnus alaternus* est omniprésente et largement répandue dans tous les 15 secteurs du nord algérien alors qu'elle n'existe quasiment pas dans les 5 secteurs du sud algérien.

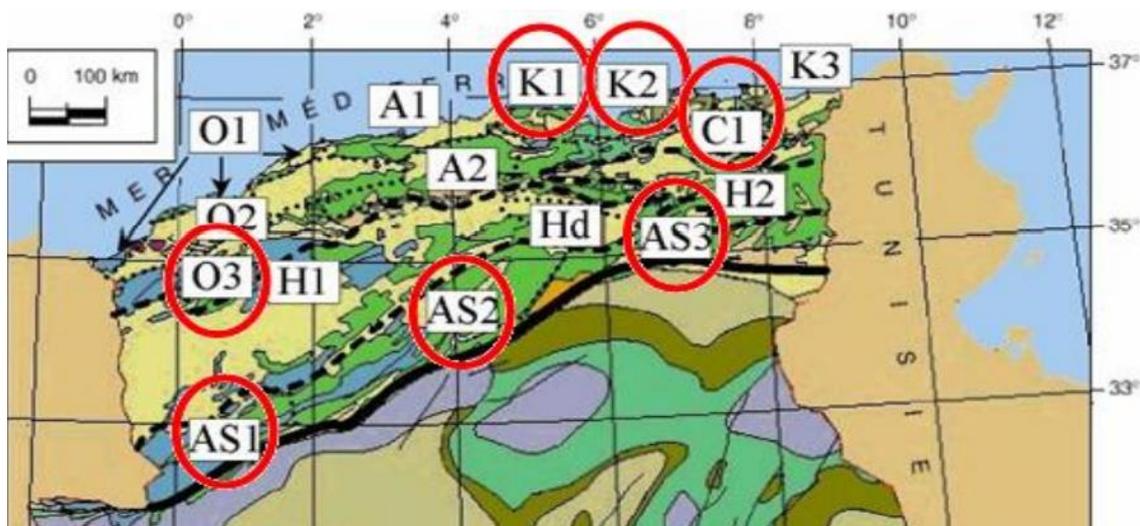


Figure 3 : Répartition par secteur, en Algérie selon Quézel et Santa (1963).

4 Taxonomie et Nomenclature

4.1 Classification du *Rhamnus alaternus* :

Dans le tableau ci-dessous, la classification des plantes de la famille des Rhamnacées.

Tableau 1 : classification de la plante de la famille Rhamnacées.

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Rhamnales
Famille	Rhamnaceae
Genre	Rhamnus
Espèce	<i>Rhamnus alaternus</i>
Sous-Espèce	Myrtifolia /eu-Alaternus

4.2 Nomenclature : Noms vernaculaires

Depuis toujours, chaque peuple selon sa situation géographique, a toujours su nommer les espèces, aussi bien animales que végétales, qui l’entourent et qui lui servent de nourriture ou de remède. Cette nomination varie d’une région à l’autre selon différentes langues. Quelques appellations vernaculaires en différentes langues sont mentionnées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2 : Noms vernaculaires de *Rhamnus alaternus*

Langues	Noms vernaculaires
Arabe	Am’lile’ce, M’lila, Soitfaïr, Oud El-khir ou bien Safir
Espagnole	Aladierna, Cosco Unia, Sanguino d’Andalucia
Kabyle	Mélilés (Bhourri et al. 2012; Debeaux, 1984)
Français	Nerprun
Allemand	Kreülzdorn
Anglais	Buckthorn
Italien	Alaterno, Legno Puzzo (Gubb, 1913).

5 Composition chimique et Biochimique

5.1 Composition chimique

Rhamnus alaternus est caractérisé d'un point de vue phytochimique par l'abondance des substances phénoliques, particulièrement les tannins, anthraquinones comme l'émodine, chrysophanol, alaternine et physcion qui sont les quatre anthraquinones aglycones isolés à partir des parties aériennes de *Rhamnus Alaternus* (Izhaki *et al.*, 2002 ; Ben Ammar *et al.*, 2007).

Elle contient aussi des flavonoïdes glycosylés tel que kaempferol 3-O-Bisorhamminoside, rhamnocitrin 3-O-B-isorhamminoside et rhamnetin-3-O-B-isorhamminoside (Ben Ammar *et al.*, 2009), et des flavonoïdes aglycones comme le kaempferol, quercétine et l'apigénine (Ben Ammar *et al.*, 2008 ; Ben Ammar *et al.*, 2009). Elle est aussi riche en flavones, hétérosides, alcaloïdes. (Stocker *et al.*, 2004) et coumarines (Ben Ammar *et al.*, 2005).

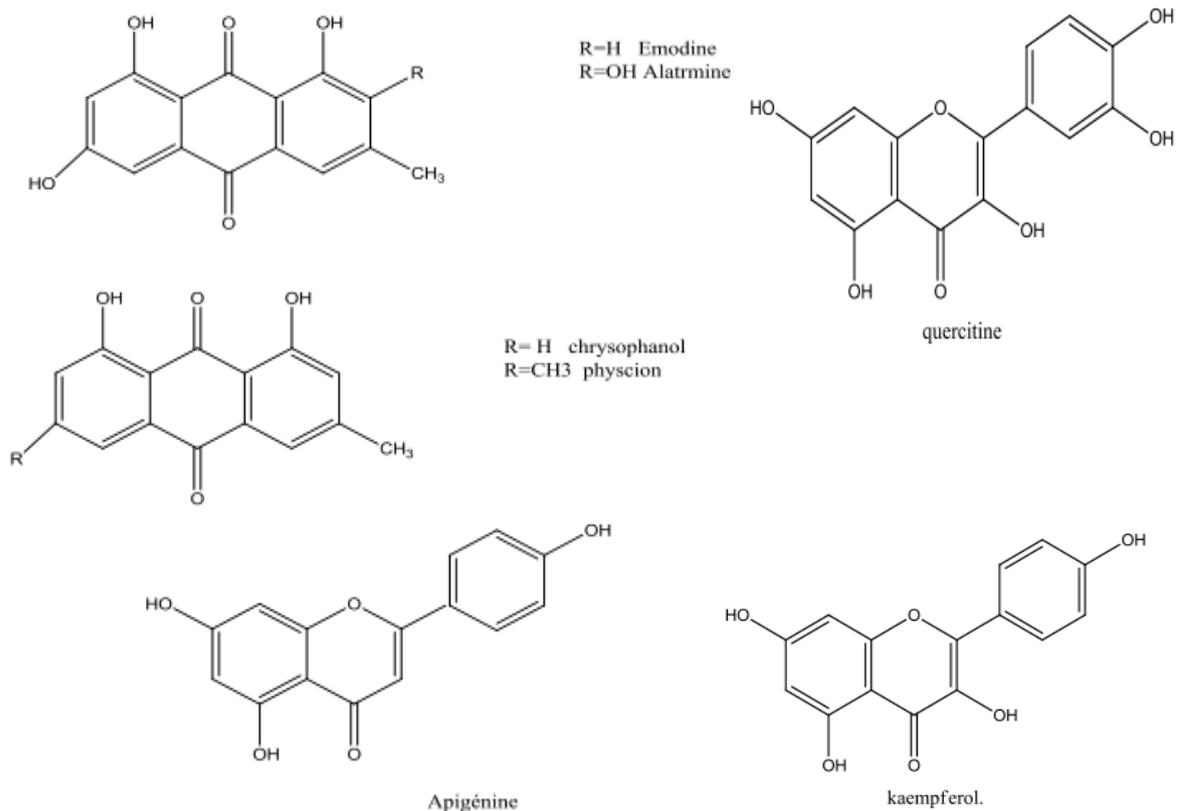


Figure 4 : Structures chimiques de quelques flavonoïdes de *Rhamnus alaternus* (Ben Ammar *et al.*, 2005).

5.2 Composition Biochimique

La pulpe de *Rhamnus alaternus* est composée principalement d'eau (68%), de minéraux (**Fe, Zn, Mn, K, Na, Ca, Mg, P, Cu**) dont le plus abondant est le K (12.90%), de **lipides, protéines et de fibres (cellulose, hémicellulose et lignine)**.

Les fruits relativement volumineux de *Rhamnus alaternus* contiennent plus d'eau et de Phosphore, les fruits de taille intermédiaire contiennent plus de lipides, Magnésium et de Calcium et les fruits plus petits contiennent plus de protéines, Potassium et zinc. Des données prouvent que la pulpe de fruit contient toujours moins d'**émodyne** que les feuilles (**Izhaki et al., 2002**).

6 Usages et Propriétés Thérapeutiques

6.1 Remède contre plusieurs pathologies

En médecine traditionnelle, l'espèce *Rhamnus alaternus* est utilisée comme remède pour un bon nombre de maladies comme les Troubles Hépatiques (dont l'Ictère), maladies Cardiaques, maladies dermatologique, l'Athérosclérose, l'Anémie, maladies des voies respiratoire, Inflammation de la bouche et l'aphte, Apaise les douleurs dentaires et toniques, Traitement des pathologies du côlon et des intestins, soulage la constipation et les maux de gorge...etc.

6.2 Propriétés :

Elle possède plusieurs propriétés parmi lesquelles : Hypotensive, Diurétique, Laxative, Digestive, Purificatrice du sang,...

La production d'émodyne sur la surface de ses feuilles lui confère plusieurs activités biologiques dont autoprotection contre les effets nocifs de la lumière UV, comprenant aussi des effets purgatifs chez l'homme, et effets allopathie, antibactériens et antifongiques (**Izhaki et al., 2002**).

L'un des principes actifs de *Rhamnus alaternus* (Rh-amine) contenu dans son fruit, fait d'elle un purgatif très énergique. Ses feuilles en infusion sont très astringentes (**Chancerel, 1920**). Selon **Ben Ammar et al (2008) et Bhourri et al., (2011)** ; l'extrait brut de *Rhamnus alaternus*, est un puissant antioxydant, antimutagène, anti-génotoxique et Antimicrobien (**Kosalec et al., 2013**).

7 Toxicité

Les fruits murs et l'écorce sont les parties les plus toxiques de la plante à forte dose. Ces parties contiennent des glycosides qui se transforment par hydrolyse en anthraquinones telles

que l'émodyne (un tri hydroxy-méthyl-anthraquinone). L'ingestion des fruits provoque des vomissements, des spasmes, des mydriases et des convulsions.

8 Etudes antérieures

Selon *Wei et al.*, (1992) ; *Izhaki et al.*, (2002) ; *Ben Ammar et al.*, (2007), les extraits de la partie aérienne ainsi que les racines de la plante *Rhamnus alaternus* ont révélé la présence des flavonoïdes, d'antraquinones, de coumarines et de tanins. Les anthraquinones sont des divers composés telles que l'émodyne ou chrysophanol.

Flavonoïdes Isolés à partir des feuilles de *Rhamnus alaternus* sont (*Wei et al.*, 1992) :

- ❖ **Le Kaempferol 3-O- β -isorhamninoside.**
- ❖ **Le rhamnocitrin 3-O- β -isorhamninoside**
- ❖ **Le rhamnetin-3-O- β -isorhamninoside.**

Flavonoïdes aglycones (*Wei et al.*, 1992)

Trois molécules ont été identifiées:

- **Le kaempferol,**
- **La quercétine,**
- **L'apigénine.**

Anthraquinones aglycones (*Wei et al.*, 1992)

Quatre molécules ont été isolées :

- **Émodyne** : plus abondant dans la partie aérienne de la plante, c'est la seule aglycone détectée dans les graines et dans le péricarpe mûr,
- **Chrysophanol** : très abondamment dans les parties les plus jeunes de la plante mais totalement absent dans les feuilles.
- **Alaternine** : atteint sa concentration maximale dans l'écorce,
- **Physcion** a été trouvé dans toutes les parties de la plante à l'exception des graines et du péricarpe mûr.

Chapitre II : *Foie*

1 Généralité

Le foie est l'un des principaux organes vitaux du corps humain appartenant au système digestif et pesant entre 1 300 et 1 600 g. Il occupe la loge sous phrénique droite et la région épigastrique, c'est-à-dire localisé dans la partie supérieure droite de l'abdomen partiellement protégé par les côtes, à droite de l'estomac et au-dessus du duodénum. C'est un organe intrapéritonéal. L'importance physiologique et métabolique du foie, la fréquence des atteintes hépatiques expliquent le caractère fondamental et l'intérêt de l'exploration biologique de cet organe (Martin *et al.*, 2017)

2 Anatomie du foie

2.1 Anatomie externe

La connaissance de l'anatomie et de la vascularisation hépatiques sont indispensables à la compréhension des fonctions hépatiques. Du lobe droit sont individualisés deux lobes plus petits, les lobes carrés et caudé séparés par le hile du foie. La segmentation hépatique se fait en 8 segments selon la systématisation portale et des veines sus-hépatiques.

Le foie est un organe abdominal, impair, et asymétrique, doté d'une riche vascularisation. La veine porte draine le sang veineux provenant du tube digestif, de la rate et du pancréas ; elle pénètre dans le foie par le hile et se ramifie pour former les branches de la veine porte. L'artère hépatique propre apporte au foie du sang artériel, sang enrichi en CO₂. Elle pénètre également par le hile et se divise pour donner naissance à des branches de l'artère hépatique qui circulent parallèlement aux vaisseaux portes. Il renvoie le sang au cœur par les veines sus-hépatiques s'abouchant dans la veine cave inférieure. Le foie est aussi parcouru par des voies biliaires permettant d'évacuer la bile qu'il sécrète dans le conduit hépatique commun vers le tube digestif, une partie de cette bile se trouve stockée dans la vésicule biliaire.

La vésicule biliaire est un organe en forme de poche, rattaché à la face inférieure du foie. Elle stocke et concentre la bile. La bile, produite dans le foie, s'écoule dans le duodénum par l'ampoule hépato-pancréatique (formée par les canaux cholédoque et pancréatique). Lorsque l'intestin grêle est vide, la bile reflue par le canal cystique vers la vésicule biliaire, pour y être stockée (Martin *et al.*, 2017)

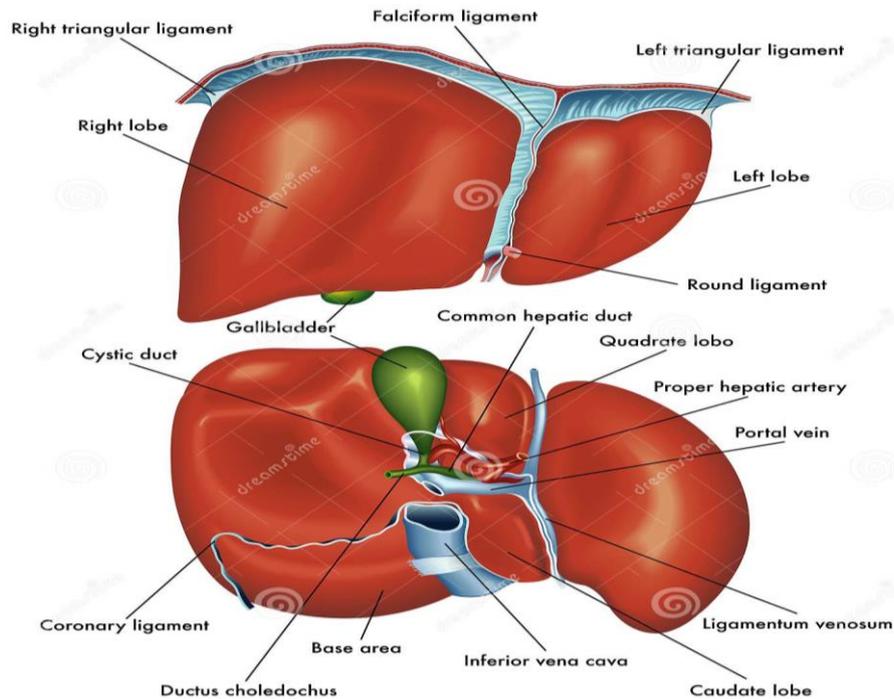


Figure 5 : Anatomie externe du foie (Anonyme 2)

2.2 Anatomie interne

L'unité fonctionnelle du foie est le lobule hépatique (**Figure 16**). Il se présente comme un livre dont les « pages » seraient formées par des lames d'hépatocytes orientées de façon radiaire et dont le « dos » correspondrait à la veine hépatique centrolobulaire. Sa structure complexe est en rapport direct avec la vascularisation et avec les nombreuses fonctions métaboliques et glandulaires endocrines et exocrines du foie.

La section transversale du lobule hépatique est classiquement représentée sous la forme d'un hexagone. À chaque angle, à l'extérieur de l'hexagone, se trouve la section d'une branche de l'artère hépatique, d'une veine du système porte et d'un canal biliaire (triade portale). Ces vaisseaux et les canaux biliaires circulent dans l'espace séparant les différents lobules hépatiques appelé espace porte.

De ces vaisseaux naissent des capillaires sinusoides qui pénètrent dans le lobule. Les réseaux capillaires veineux porte et artériel s'anastomosent et se drainent dans une veine centrolobulaire située au centre du lobule. Les veines centro-lobulaires convergent pour

former les trois veines sus-hépatiques supérieure, moyenne et inférieure drainant le sang hépatique vers la veine cave inférieure (**Martin et al., 2017**)

Deux principaux types de cellules constituent le foie: Hépatocytes, qui représentent 80% des cellules hépatiques, Cellule polygonale, riche en infrastructure, siège de de la majeure partie des métabolismes et les Cellules des sinusoides, qui ils représentent 20% des cellules du foie. On en compte, des cellules de kupffer qui ont pour rôle de défense ; Cellule endothéliales barrière entre les hépatocytes et flux sanguin et les Cellules de Ito qui assurent le stockage de vit A et la synthèse du collagène.

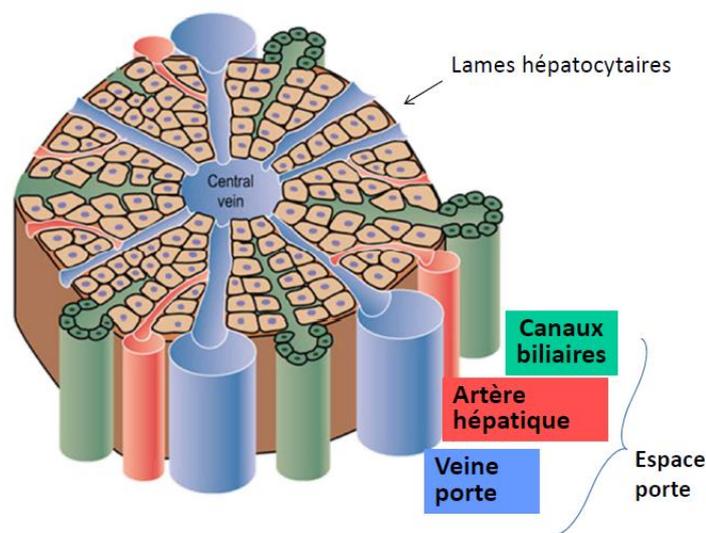


Figure 6 : Structure du lobule hépatique (**Anonyme 3**)

3 Fonctions hépatiques

Le foie possède de nombreuses fonctions qui peuvent être regroupées en trois grandes fonctions principales (**Guella, 2020**) :

- ✓ Fonction métabolique: maintien de la glycémie grâce à la néoglucogénèse, synthèse de nombreuses protéines, métabolisme des acides gras et cétogénèse.
- ✓ Fonction de détoxification et d'épuration.
- ✓ Fonction excréto-biliaire : transformation des composés insolubles dans l'eau en composés hydrosolubles pour leur excrétion dans la bile, excrétion de substances toxiques...

3.1 Fonction métabolique et stockage :

D'après plusieurs études scientifiques, le foie est un organe majeur dans la production et le stockage du glucose. Les hépatocytes retirent la plupart du glucose alimentaire du sang portal et le stockent sous forme de glycogène pour les besoins d'urgence. La principale source de glucose dans le sang des animaux non-ruminants à jeun et des ruminants est issue de la néoglucogenèse hépatique.

Les lipoprotéines comme les VLDL (very low density lipoproteins), sont synthétisées par le foie. Ce dernier assure aussi le stockage des triglycérides dans les hépatocytes sous forme de gouttelettes lipidiques cytoplasmiques. L'acéto-acétate (AcAc) et le bêta-hydroxybutyrate (BHB) proviennent majoritairement de l'oxydation partielle des acides gras dans les mitochondries des hépatocytes (**Guella, 2020**).

Les hépatocytes synthétisent la plupart des protéines plasmatiques (plus de 1000 protéines), en particulier l'albumine et la plupart des globulines (sauf les immunoglobulines), ainsi que la majorité des facteurs de coagulation et certains marqueurs de l'inflammation. La plupart de ces synthèses sont « de novo », soit à partir d'acides aminés essentiels apportés par l'alimentation, soit à partir d'acides aminés non essentiels fabriqués par les hépatocytes.

Le foie est le lieu d'activation et/ou de stockage des vitamines B1 (thiamine), B2 (riboflavine), B12 (cobalamine) et des vitamines liposolubles (A, D, E et K). Les hépatocytes stockent également des oligo-éléments tels que le fer, le cuivre, le sélénium et le manganèse (**Chikhi, 2021**).

3.2 Fonction de détoxification et d'épuration

La détoxification de l'organisme est assurée par les hépatocytes qui modifient ou dégradent certains composés endogènes (ammoniac, hormones stéroïdes, hormones polypeptidiques et hémoglobine) et exogènes comme les xénobiotiques, polluants alimentaires ou industriels ; via une large gamme de réactions chimiques (conjugaisons, oxydations impliquant le Système des cytochromes P450, réductions et hydrolyses). Le but étant souvent l'obtention de molécules plus polaires pour faciliter l'élimination. L'épuration du sang est quant à elle assurée par le système des phagocytes mononucléés (**Chikhi, 2021**).

3.3 Fonction excréto-biliaire

Après avoir été transformées par les hépatocytes, les substances citées précédemment sont éliminées de l'organisme via la bile : c'est un liquide jaune, brunâtre ou vert olive, riche en

acides biliaires, bilirubine, cholestérol, lécithine et quelques protéines telles que la mucine, l'albumine, l'Immunoglobuline, emmagasinée dans la vésicule biliaire. La bile permet l'excrétion de nombreux composés : déchets métaboliques comme la bilirubine, substances endogènes en excès comme le cholestérol, substances exogènes comme les médicaments (Guella, 2020).

4 Les marqueurs hépatiques

Selon Martin *et al*, (2017), plusieurs molécules peuvent être dosées dans le plasma, chacune reflétant une partie de l'activité hépatique.

4.1 La Bilirubine

L'augmentation de la bilirubine (provient de la dégradation de l'hémoglobine des globules rouges par sénescence au niveau de la rate) sérique est assez peu spécifique. La différenciation entre bilirubine non conjuguée ou conjuguée permet de distinguer une obstruction des voies biliaire d'une insuffisance hépatique. Les taux sériques de bilirubine ne sont pas corrélés avec la gravité de la maladie. L'élévation peu importante de la bilirubine non conjuguée se retrouve dans la maladie de Gilbert, maladie à transmission autosomique dominante à l'origine d'une faible activité de l'UDPG transférase (Guella, 2020).

4.2 L'alanine amino-transférase et l'aspartate amino-transférase

L'alanine amino-transférase (ALAT) et l'aspartate amino-transférase (ASAT) sont deux autres enzymes (transaminases dont le coenzyme est la vitamine b6 / phosphate de pyridoxal) présentes dans le cytosol de l'hépatocyte. L'ALAT est spécifique du tissu hépatique, alors que l'ASAT se retrouve également dans le muscle strié et dans le myocarde. Leur élévation est un signe sensible et précoce de la cytolysse hépatique avec, normalement, un rapport ASAT/ALAT inférieur à 1. L'inversion de ce rapport oriente vers une hépatopathie alcoolique (Chikhi, 2021).

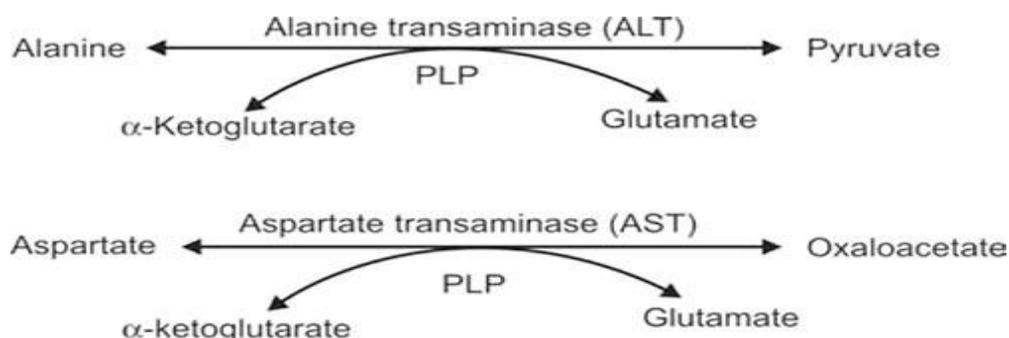


Figure 7 : Les réactions d'ALAT et ASAT (Anonyme 4)

4.3 Phosphatase Alcaline

La synthèse de phosphatase alcaline (PAL) augmente dans les canalicules biliaires lorsque la bile n'est pas suffisamment excrétée. Cette augmentation de la production se fait progressivement et les taux sériques varient lentement. Les lésions infiltrantes du tissu hépatique sont également à l'origine d'une augmentation de la phosphatase alcaline. D'autres atteintes, en particulier l'atteinte osseuse, en élèvent les taux sanguins (Chikhi, 2021).

4.4 Gamma-glutamyl transférase

La gamma-glutamyl transférase (γ GT) s'élève dans le sang au cours de nombreuses maladies hépatiques et, en particulier, lorsqu'il existe une cholestase. Sa spécificité est faible. L'alcoolisme chronique est responsable d'une induction enzymatique élevant le taux des γ GT. La synthèse protéique peut également être altérée.

4.5 Albumine

Le taux d'albumine diminue au cours des atteintes hépatiques diffuses très avancées, en particulier au cours des cirrhoses. Les complications œdémateuses et ascitiques sont souvent associées. La synthèse des facteurs de la coagulation peut être altérée soit par carence vitaminique (trouble de l'absorption de la vitamine K au cours d'une cholestase chronique), soit par l'insuffisance hépatocellulaire responsable d'une diminution de la synthèse protéique globale (Chikhi, 2021).

4.6 Facteur V (5)

Le facteur V (pro accélélerine), non vitamine K dépendant, est le plus spécifique de l'insuffisance hépatocellulaire.

4.7 Lactate déshydrogénase

Une élévation de la LDH dans les hépatites aiguës et les cancers hépatique est fortement observée.



5 Pathologies hépatiques

Connaissant les rôles multiples que joue le foie dans l'organisme et de la complexité de son fonctionnement, toute atteinte hépatique pourra avoir des conséquences très diverses et parfois extrêmement graves. En voici quelques hépatopathologies :

5.1 Ictères

Syndrome caractérisé par une coloration jaune de la peau et des muqueuses occasionnées par une accumulation de la bilirubine (bilirubine conjuguée ou non conjuguée) et causés par une production excessive de la bilirubine. Ils sont classés en deux types : l'ictère à bilirubine conjuguée et l'ictère à bilirubine non conjuguée (**Guella, 2020**).

5.2 Syndrome de cytolyse

Atteinte de la membrane hépatocytaire par nécrose cellulaire ou par augmentation de la perméabilité membranaire. Il est caractérisé par une élévation des transaminases et de bilirubine. Souvent causé par les Hépatites virales, l'alcool, certains médicaments (paracétamol), 50% des hépatites cytolitiques sont d'origine médicamenteuse (**Guella, 2020**).

5.3 Hépatites

Inflammation aigüe ou chronique du tissu hépatique L'agent inflammatoire peut être Un microorganisme (virus), Une substance toxique, Un médicament ou les Auto-anticorps.

5.4 Cholestase

Défaut d'excrétion biliaire du soit par obstacle sur les voies biliaires macroscopiques (cholestase obstructive). Soit par atteinte des cellules épithéliales des voies biliaires interlobulaires ou le pôle biliaire des hépatocyte (cholestase non obstructive). On observe une augmentation de la Bilirubine conjuguée, la phosphatase alcaline, la gamma-glutamyl transférase et l'hypercholestérolémie (**Guella, 2020**).

5.5 Cirrhose hépatique

C'est une maladie irréversible du foie. Elle se caractérise par une inflammation chronique qui entraîne la destruction des cellules hépatiques et leur régénération anarchique, sous forme de nodules. La maladie conduit à la perte des fonctions de l'organe et s'accompagne de multiples complications. Elle est causée par l'alcool, l'hépatite B et C, l'obésité, la maladie de surcharge en fer (Hémochromatose) ; en cuivre (maladie de WILSON), la maladie auto-immune (Hépatite auto-immune). On observe alors une diminution du taux de prothrombine

et du facteur V, une augmentation de PAL, une élévation du taux de gamma GT, une augmentation des transaminases et une hypo albuminémie (**Chikhi, 2021**).

Chapitre III :

Activité Hépatoprotectrice

1 Introduction

Certaines substances dites hépatotoxiques sont capables d'induire la destruction des hépatocytes ou des hépatopathies, Parmi lesquelles : l'éthanol, certains médicaments comme le paracétamol, des substances chimiques comme le CCl₄ (tétrachlorure de carbone). Les activités antioxydant, antimutagène, anti-génotoxique, anti-inflammatoire ou antimicrobien ; sont parmi les activités que sont dotés certaines molécules hépatoprotectrices (les hépatoprotecteurs) visant à protéger le foie contre les substances hépatotoxiques. Dans le cadre de cette étude, nous allons nous focaliser sur l'activité antioxydante, compte tenu du CCL₄ qui est un potentiel radical libre

2 Activité antioxydante

2.1 Stress oxydatif

Dans les circonstances normales, les cellules des êtres aérobies produisent en permanence et en faible quantités des espèces réactives d'oxygène (ERO) à l'issue de nombreux processus cellulaires. Le contrôle rigoureux des systèmes de défense préserve les cellules de leurs effets néfastes, dans ces circonstances on dit que la balance (antioxydant/pro-oxydant) est en équilibre. Quand cet équilibre est rompu par déficit en antioxydant ou une surproduction incontrôlée d'espèces radicalaires et leurs dérivées secondaires il survient un stress oxydant (Bahi, 2020).



Figure 8 : Déséquilibre de la balance entre pro-oxydant et antioxydant (Nkhili, 2009)

2.2 Pathologies liées au stress oxydatif

Le stress oxydant est potentiellement impliqué dans de nombreuses maladies comme facteur déclenchant, ou associé à des complications lors de leur évolution. C'est le cas des maladies comme : le cancer, les maladies neurodégénératives et le vieillissement accéléré. Il est un

facteur potentialisant l'apparition de maladies multifactorielles comme les maladies cardiovasculaires, le diabète, et la maladie d'Alzheimer, il est donc logique de penser que la prise d'antioxydants peut retarder, prévenir l'apparition de telles maladies. De même, des études ont montré que le vieillissement s'accompagne d'une diminution des défenses antioxydantes, d'une augmentation de la production des EROs, et d'une diminution des systèmes de réparation et de dégradation des constituants oxydés (**Bahi, 2020**).

2.3 Radicaux libres et espèces oxygénés

Les espèces réactives de la molécule d'oxygène (O₂) et les radicaux libres ont comme particularité une activité très élevée (en corrélation avec la vitesse de leur formation). Elles apparaissent dans toute forme de vie lors des processus physiopathologiques. Les radicaux libres sont des espèces chimiques possédant un électron libre non-apparié, qui occupe seul une orbitale moléculaire. C'est pourquoi les radicaux sont paramagnétiques, c'est-à-dire que placés dans un champ magnétique, ils prennent une orientation donnée (**Reichl et al., 2010**).

Les radicaux libres peuvent se former par Addition d'un électron libre à un non radical (NR + e⁻ → R[·]), par Perte d'un électron d'un non radical (NR - e⁻ → R[·]), ou encore dans un mécanisme mettant en jeu la rupture d'une liaison covalente (A:B → A[·]+B[·]) (**Bahi, 2020**).

2.4 Quelques espèces réactives oxygénées et radicaux libres

2.4.1 Oxygène singulet (O₂)

C'est une forme excitée de l'oxygène moléculaire, il est souvent assimilé à un radical libre en raison de sa forte réactivité (**Hadi, 2004**).

2.4.2 Anion superoxyde (O₂^{·-})

C'est l'une des premières ERO à être formées, l'espèce la plus couramment générée par la cellule ; l'anion superoxyde (O₂^{·-}) peut provenir de plusieurs sources cellulaires. Formé après réduction d'une molécule d'O₂ par un électron et en présence d'un cofacteur NADPH. Les différentes enzymes permettant cette réaction sont : la NADPH oxydase, la xanthine oxydase, les cyclo-oxygénases ou COX, les lipo-oxygénases, les oxyde nitrique synthases NOS (Nitric Oxyde Synthases), les enzymes du réticulum endoplasmique lisse (cytochrome P450) et celles de la chaîne de transport des électrons dans la mitochondrie (**Bahi, 2020**).



2.4.3 Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

Le peroxyde d'hydrogène est une molécule dérivée de l'oxygène, généralement considéré comme une ERO relativement faible mais hautement réactive, en particulier dans sa capacité à réagir avec les ions partiellement réduits (Fe²⁺ et Cu⁺) formant le radical hydroxyle dans la réaction de Fenton (**Wardman, 1996**)



2.4.4 Radical hydroxyle (HO•)

C'est le radical le plus dangereux dans l'organisme, il est formé de la réaction de l'anion peroxyde avec l'hydrogène peroxyde.



Cependant, une solution de peroxyde d'hydrogène avec des ions ferreux suffit à fournir des radicaux hydroxyles (**Halliwell et al, 1984**).



2.4.5 Radicaux peroxydes (ROO•)

Ils font plutôt partie de la « deuxième vague » d'ERO, dans la mesure où leur formation fait suite à une réaction d'oxydation d'acides gras polyinsaturés par d'autres ERO formées préalablement. La partie « R » correspond à un acide gras polyinsaturé. Leur formation comprend 2 étapes principales : la première correspond à la perte d'un atome d'hydrogène causée notamment par un radical hydroxyle, et la seconde à la liaison avec une molécule d'oxygène (**Bahi, 2020**):



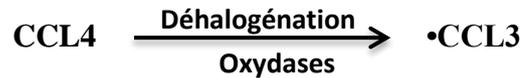
2.4.6 Acide hypochloreux (HOCl)

L'acide hypochloreux est considéré comme 100 à 1000 fois plus toxique que le radical superoxyde ou le peroxyde d'hydrogène et a des cibles bien marquées : inactivation enzymatique, oxydation des groupements thiols de la membrane plasmique, diminution des propriétés d'adhésion de certains composés de la matrice extracellulaire (**Lubec, 1996**).



2.4.7 Tétrachloréthane (tétrachlorure de carbone CCL4)

Sous l'action des oxydases à fonctions multiples, le **CCL4** se transforme dans le foie en trichlorométhyle (**•CCL3**), un radical libre hautement réactif qui peut se lier aux macromolécules et notamment aux lipides membranaires (**Bahi, 2020**).



2.5 Effets des radicaux libres

Les radicaux libres et les espèces oxygénées réactives peuvent causer les dommages suivants : oxydation des acides gras non saturés, dépolymérisation du collagène, dénaturation des enzymes, lyse des érythrocytes, inactivation des neurotransmetteurs, destruction des mucopolysaccharides de la synovie et destruction des structures protéiques (**Reichl et al., 2010**).

2.6 Cibles des radicaux libres

Les radicaux libres interagissent avec les lipides, les protéines, l'ADN, les glucides et provoquer des pathologies.

2.6.1 Lipides

Les premières cibles des radicaux libres sont les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés, très sensibles à l'oxydation. La peroxydation lipidique débute par une phase d'initiation qui implique l'attaque des espèces réactives surtout le radical hydroxyle ($^{\circ}\text{OH}$), entraînant l'arrachement d'un hydrogène de l'acide gras (LH), ceci aboutit à la formation d'un radical diène conjugué, qui après addition avec l'oxygène moléculaire donne le radical peroxyde (LOO°). Ensuite, ce radical peut réagir avec un autre acide gras polyinsaturé et former un hydroperoxyde (LOOH), c'est la phase « Propagation » de la peroxydation lipidique. Parmi les aldéhydes formés lors de la peroxydation lipidique : l'isoprostane, le malondialdéhyde (MDA), et le 4-hydroxynonénal (4-HNE), qui sont très étudiés comme marqueurs de la peroxydation lipidique. MDA et 4-HNE réagissent avec les protéines et l'ADN, ils sont mutagènes et toxiques pour la cellule (**Bahi, 2020**).

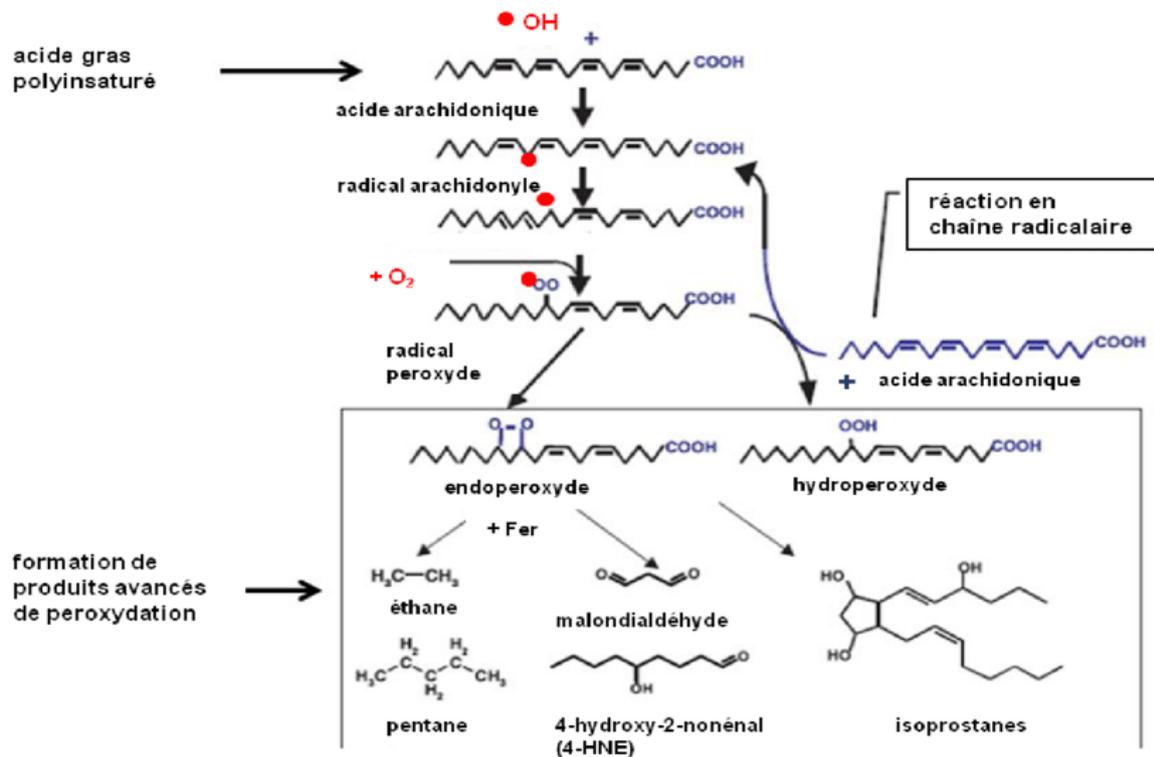


Figure 9 : peroxydation des acides gras polyinsaturés (Bahi, 2020).

2.6.2 Protéines

Les dommages oxydatifs induits sur les protéines par les radicaux libres peuvent conduire à des modifications structurales (dimérisation, fragmentation, modification des acides aminés) et ou fonctionnelles (perte de l'activité enzymatique, altération du processus de protéolyse). Les acides aminés les plus sensibles à leur action sont le tryptophane, la tyrosine, la phénylalanine, la méthionine et la cystéine. Ainsi le stress oxydant peut avoir un effet sur la fonction propre d'une protéine mais peut également avoir des répercussions sur l'ensemble de la régulation cellulaire (Kruidenier *et al.*, 2002).

2.6.3 Acides nucléiques

Les réactions d'oxydation de l'ADN créent un grand nombre de dommages de l'ADN tels que les coupures simples et doubles brins, les bases modifiées comme la 8-OHdG (marqueur des dommages oxydatifs de l'ADN), les pontages ADN-ADN et ADN-protéines. Les bases puriques sont plus sensibles aux ERO en particulier la guanine qui est facilement transformée en **8-hydroxy-2-déoxyguanosine** (8-OHdG) qui est normalement éliminée par des enzymes de réparation de l'ADN. Si ces systèmes sont défectueux, La 8- OHdG s'accumulera au sein

de l'ADN. Les aldéhydes réactifs issus de la peroxydation lipidique dont le MDA et le 4-HNE peuvent s'ajouter au groupe amine des bases de l'ADN et constituer ainsi une autre classe de dégâts oxydatifs de l'ADN (**Bahi, 2020**).

2.7 Antioxydants

Ce sont les molécules, développées par l'organisme, contrôlant la production des EROs, ils désignent toute substance qui présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat. Pour se protéger des effets toxiques de l'oxygène, l'organisme a développé des systèmes de défense antioxydants. (**Bahi, 2020**).

Ces protections sont assurées à la fois par des composés naturels endogènes ou apportés par l'alimentation, et par des enzymes spécifiques se comportant comme des piègeurs de radicaux (scavengers). Les systèmes de protection sont composés d'enzymes, de molécules antioxydantes de petite taille et des oligoéléments.

2.7.1 Mécanismes de protection Enzymatiques

2.7.1.1 Superoxyde dismutase

Elle convertit l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, Il existe plusieurs isoenzymes de SOD ; SOD ferreux (Fe-SOD), SOD à cuivre (Cu-SOD) et SOD à manganèse (Mn-SOD) qui diffèrent selon la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire. C'est une métalloenzyme (**Reichl et al., 2010**).

2.7.1.2 Catalase

Présente en particulier dans les hématies et les peroxysomes hépatiques. Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (**Bahi, 2020**).

2.7.1.3 Glutathion peroxydase (GPx)

Une enzyme à cofacteur de sélénium se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité la dégradation des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (**Valko et al., 2006**).

2.7.2 Mécanismes de protection non Enzymatiques

2.7.2.1 Oligo-éléments

Ils interviennent comme cofacteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres. Parmi eux on cite: le zinc, le sélénium et le manganèse (**Pastre, 2005**).

2.7.2.2 Vitamine E

L' α -tocophérol (forme la plus active de vitamine E) est connu comme inhibiteur de la propagation de la peroxydation lipidique, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical RO₂ (**Reichl et al., 2010**).

2.7.2.3 Vitamine C

Elle empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'oxygène. Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, elle prend une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl) qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée (**Bahi, 2020**).

2.7.2.4 Flavonoïdes

Ils peuvent agir par capture directe des EROs, par chélation de métaux de transition comme le fer le cuivre ou par inhibition de l'activité de certaines enzymes responsables de la production des EROs comme la xanthine oxydase (**Lahouel et al., 2006**).

2.7.2.5 Tanins

Ce sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides (**Diallo, 2005**).

2.7.2.6 Coumarines

Ils sont capables de piéger les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes, importants dans la prévention de la peroxydation des lipides membranaires et ils ont une activité antiperoxydante (**Diallo, 2005**).

Partie II : *Partie expérimentale*

Chapitre I :

Matériel et Méthodes

1 Matériel

1.1 Matériel végétal

Dans le cadre de cette étude, le travail était effectué sur la partie aérienne (les feuilles) de l'espèce *Rhamnus alaternus*, récoltée au mois de Mars 2022, dans la région de Bougaa située au nord de la wilaya de Sétif.

1.2 Matériel animal

Les expériences ont été menées sur des rates appartenant à l'espèce *Rattus norvegicus*, souche : Wistar albinos, pesant entre 150 et 250 g, provenant de l'animalerie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université des Frères Mentouri Constantine 1.

1.3 Matériels de laboratoire

Le tableau ci-dessous regroupe l'ensemble des produits chimiques et matériel de laboratoire utilisés au cours de l'expérience :

Tableau 3 : Matériels de laboratoire

Réactifs et matériels	Verreries et appareils
<ul style="list-style-type: none">❖ Eau Distillée, CCL4, Chloroforme, formol, Ethanol, Ether de pétrole, héparine, Méthanol, paraffine, xylène.❖ Papiers filtre, papiers film, boites de pétri, Tubes à essai, tubes héparinés, lames, cassettes d'inclusion, seringues, sonde de gavage, bistouris, ciseau.	<ul style="list-style-type: none">❖ Béchers, entonnoirs, éprouvettes, pipettes, burette, ampoule à décanter, flocons.❖ Broyeur à couteaux (Resch), balance de précision (Radwarg), Sonificateur (Raypa), Evaporateur rotatif (BUCHI), Etuve (Memmert), Centrifugeuse (SIGMA), Réfrigérateur.

2 Méthodes

2.1 Préparation de la matière végétale : Récolte, séchage et broyage.

Une fois récoltée les parties aériennes de *Rhamnus alaternus* (feuilles), ont été nettoyées pour éliminer toutes traces de poussières et d'impuretés et ont été ensuite séchées à température ambiante et à l'ombre pendant trois semaines.

Le broyage a été effectué à l'aide d'un Broyeur à couteaux (Resch) afin d'obtenir une poudre très fine qui est stockées dans des récipients fermés et placés dans un endroit clos, à l'abri de la lumière et de la chaleur jusqu'à son utilisation (**voir Figure 26**).



Figure 10 : Feuilles fraîches, sèches et poudre de *Rhamnus alaternus* (Chalal *et al.*, 2012)

2.2 Préparation de l'extrait brut

2.2.1 Macération hydro-alcoolique et filtration

Parmi différentes méthodes d'extraction, la macération est l'une des méthodes les plus efficaces et les plus utilisées dans l'extraction des biomolécules, et donc largement utilisée dans le domaine de recherche sur les plantes médicinales. Dans le cadre de ce travail, la méthode utilisée a été la macération hydro-alcoolique, préconisée par **Markham (1982)**, avec des quelques modifications.

Après la pesée de 200 gr de poudre sec effectuée à l'aide d'une balance (Radwarg), dans un bécher la poudre a été mélangée dans une solution hydro alcoolique (70% méthanol / 30% eau distillée). Le mélange a été agité manuellement pendant 5 minutes et laissé en macération pendant 24h dans un endroit clos (à l'abri de la lumière). Le lendemain le macérât a été plongé dans le bain ultrason (Raypa) pendant 2 heures, cette sonification permet de briser les membranes cellulaires et permettre la libération du contenu intracellulaire. Le macérât obtenu est alors formé de deux phases : un culot de poudre au-dessous du bécher et un surnageant hydro-alcoolique. Le surnageant a été par la suite récupéré par filtration, à l'aide d'un entonnoir et d'un papier filtre, ce filtrat nommé **filtrat 1** a été conservés à 4°C dans un réfrigérateur. Cette opération a été réalisée trois fois pour ainsi obtenir le **filtrat 1**, **filtrat 2** et **filtrat 3** ; le tout mélange et conservé dans un récipient à 4°C et est prêt pour l'évaporation.



Figure 11 : Pesée, Macération hydrométhanolique et Filtration

2.2.2 Evaporation

Les filtrats obtenus sont évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif "BÜCHI" à une température de 40 - 50 °C pendant un temps relatif au volume de l'extrait (filtrat) contenu dans le ballon de l'évaporateur rotatif.



Figure 12 : Evaporation à l'aide d'un Evaporateur rotatif BUCHI

2.2.3 Décantation

Après l'évaporation, Les deux phases (phase aqueuse, en dessous, contenant des métabolites secondaires, et la phase organique, au-dessus, contenant la matière grasse et la chlorophylle) ont été séparées par décantation à l'éther de pétrole (V / V), à l'aide d'une ampoule à décanter.

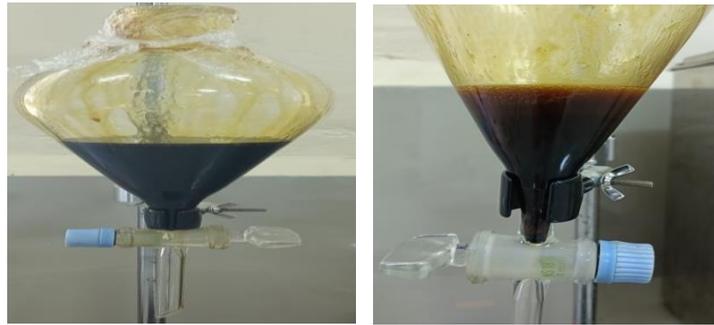


Figure 13 : Décantation à l'éther de pétrole

2.2.4 Séchage de l'extrait brut

La phase aqueuse ou **l'extrait brut** obtenue a été recueillie dans les boîtes de pétri, qui ont été conservées à 35°C dans l'étuve (Memmert) pour le séchage. Une fois l'extrait séché, les boîtes de pétri ont été conservées dans le réfrigérateur à 4 °C jusqu'à utilisation.

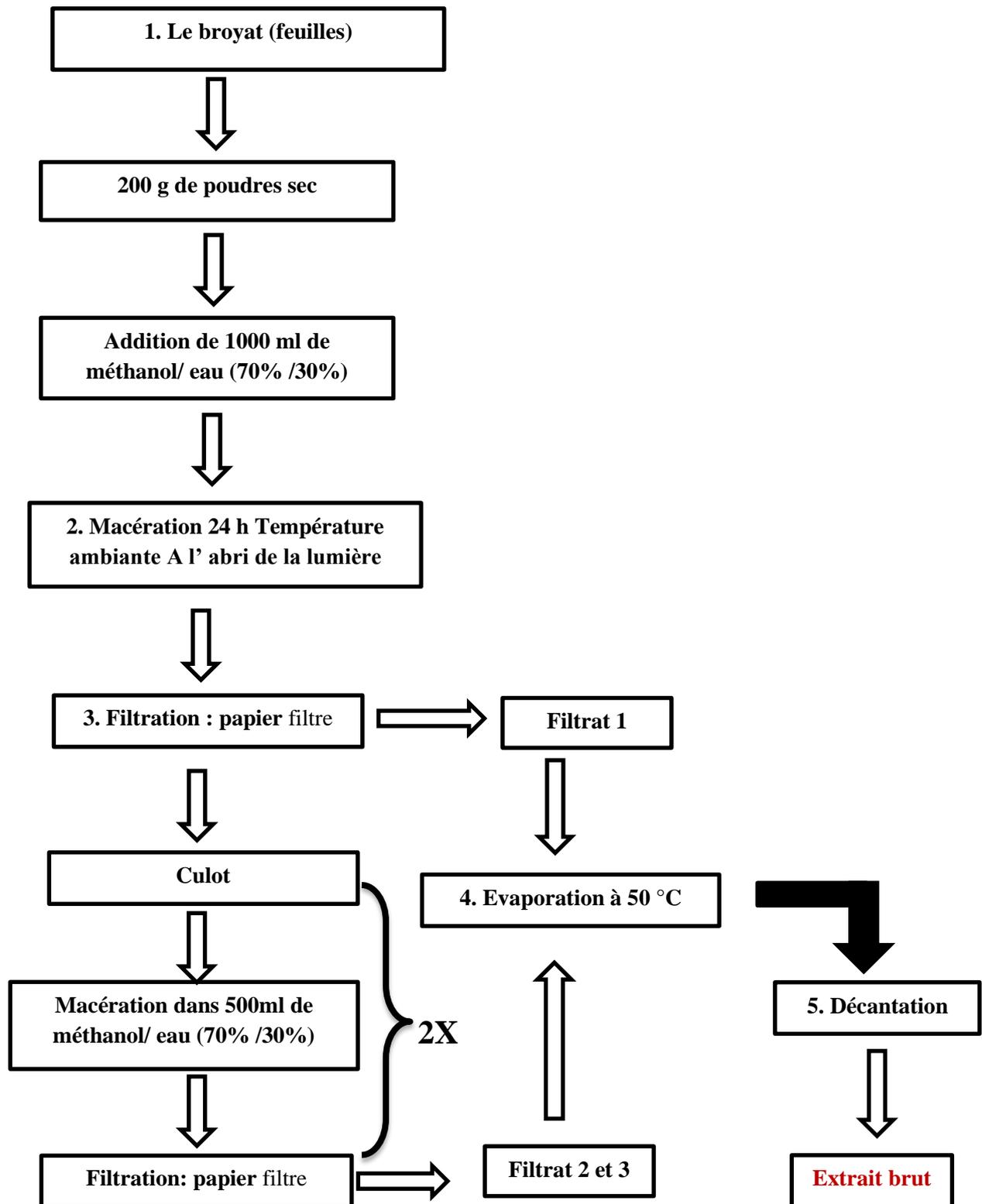


Figure 14 : Schéma des différentes étapes d'extraction.



Figure 15 : Extrait brut de *Rhamnus alaternus*.

2.3 Rendement d'extraction

Le pourcentage en extrait brut sec méthanolique des parties aériennes de la plante *Rhamnus alaternus* a été calculé selon la formule suivante:

$$R\% = M/MO \times 100$$

R %: Rendement exprimé en %

M: Masse en gramme de l'extrait sec résultant

M0 : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.



Figure 16 : Pesée de l'extrait sec de *Rhamnus alaternus*

2.4 Préparation des animaux

Dès la réception des animaux au niveau de l'animalerie du laboratoire, ces Rattes ont été placés dans des cages en plastique, avec accès libre à la nourriture (Granulé : aliment pour rongeurs et pain), à l'eau et à un cycle de lumière / obscurité de 12h /12h à température ambiante. Les animaux ont été pesés puis repartis en 5 lots de 6 selon leurs poids corporel, avant le début des essais pharmacologiques.

2.5 Protocol expérimental

Etant donné que les protocoles expérimentaux sont divers, celui utilisé par **Rao et Mishra (1997)** a été privilégié dans le cadre de cette étude ; après adaptation aux conditions de travail du laboratoire.

Les essais consistent à administrer aux animaux, par voie orale (Gavage à l'aide d'une seringue munie d'une sonde de gavage à son extrémité) du tétrachlorure de carbone (CCL₄) pour provoquer l'hépatotoxicité et par la suite l'administration des différentes doses thérapeutiques de l'extrait méthanolique de *Rhamnus alaternus* pendant un intervalle de 15 jours et noter ensuite l'ensemble des signes toxiques qui pourront survenir pendant ou après le traitement expérimental.

Pour ce faire, les animaux ont été répartis en 5 groupes (lots) de 6 chacun comme suit :

- ❖ **Lot T-** (témoin Négatif) reçoit une administration quotidienne, par gavage, d'eau distillée à la dose 1ml/Kg pendant 15 jours.
- ❖ **Lot T+** (témoin Positif) reçoit une administration tous les 3 jours (chaque 3 jour après), par gavage, une solution de tétrachlorure de carbone (CCL₄), à une dose de 1ml/Kg selon le poids corporel de l'animal.
- ❖ **Lot I** reçoit, tous les jours, par gavage 250mg/kg de l'extrait méthanolique brut de la plante étudiée et ensuite il est traité au tétrachlorure de carbone (CCL₄) à la dose de 1ml/Kg, tous les 3 jours.

Pendant les jours où l'animal doit recevoir les deux solutions, L'extrait de plante et le CCL₄, ce dernier est administré une heure après administration de l'extrait de la plante étudiée.

- ❖ **Lot II** a été traité tous les jours, à la dose de 500mg/Kg de l'extrait brut de la plante étudiée, par voie orale, et traité tous les 3 jours, toujours par voie orale, au tétrachlorure de carbone (CCL₄) à la dose de 1ml/Kg.
- ❖ **Lot III**, en fin recevait quotidiennement la dose de 750ml/Kg de l'extrait de plante par gavage et aussi 1ml/Kg de tétrachlorure de carbone (CCL₄) chaque 3 jour.

La pesée des animaux est effectuée tous les 3 jours, à partir du premier jour du traitement, ce qui signifie donc qu'en fonction du poids moyen de chaque Lot, la dose d'administration de l'extrait de plante (et même du CCL₄) varie tous les 3 jours. La préparation de la dose

consistait d'abord à peser l'extrait brut sec avant de le diluer dans un certain volume d'eau distillée dépendamment du nombre de rats dans chacun des cages.

Cette dernière (dose de chaque lot correspondant à son poids moyen) était déterminée selon l'équation suivante :

$$\text{DCPM} = \frac{\text{DTS (mg)} \times \text{PM (g)}}{1000 \text{ (g)}}$$

Avec,

DCPM : Dose Correspondant **au Poids Moyen** (pour chaque Lot) en mg.

DTS : Dose de **Traitement Standard** (spécifique à chacun de lot : **250mg/Kg** pour le Lot 1 ; **500mg/Kg** pour le Lot 2 et **750mg/Kg** pour le Lot 3).

PM : **Poids Moyen** (pour chaque Lot) en g.



Figure 17 : Pesage des animaux, Pesage de l'extrait brut sec et Gavage.

2.6 Sacrifice des animaux

Au lendemain du dernier jour des traitements expérimentaux (16ième jour), tous les rattes ont été sacrifiés après anesthésie au chloroforme et le prélèvement sanguin a été effectué par égorgement (avec un ciseau et une lame) et par voix oculaire (avec un muni capillaire).

Le sang est recueilli dans les tubes héparinés et est ensuite acheminé vers la centrifugeuse (Sigma) afin d'être centrifugé à 3000 tours pendant 20 minutes. Une fois la centrifugation terminée, le sérum (le surnageant) a été récupéré à l'aide d'un micro seringue et conservé dans les tubes secs à 4 °C dans un réfrigérateur.

Les prélèvements d'organes concernant cette étude, à savoir le Foie mais aussi les Reins, ont été effectués. Chaque organe a été d'abord pesé et conservé dans un petit flacon, immergé dans une solution fait d'un mélange de formaldéhyde ou formol (10%) et d'eau distillée (90%), pour un volume allant de 25 à 30 ml. Les flacons sont conservés à température ambiante.



Figure 18 : Prélèvement sanguin ; dissection et prélèvement d'organes ; conservation

2.7 Analyse sérique

Après le sacrifice et le prélèvement sanguin, des échantillons de sérum obtenus ont été analysés dans un laboratoire de biochimie. Alanine aminotransférase (ALT), aspartate aminotransférase (AST), phosphatase alcaline (ALP), albumine (ALB), triglycérides (TG), Urée et Glucose (GLU) ; sont différents paramètres analysés dans le cadre de cette recherche.

2.8 Coupe histologique

Après dissection des animaux et prélèvement du Foie et des Reins, conservés dans les petits flacons dans une solution de formaldéhyde; ces organes ont été apportés au centre de recherche biotechnologique (CRBT) de l'Université Abdelhamid Mehri Constantine 2 pour effectuer des coupes histologiques.

Chapitre II :

Résultats et discussion

1 Rendement d'extraction

Nous avons réalisé une macération sur la poudre des parties aériennes de *Rhamnus alaternus* avec le méthanol, après extraction et évaporation de l'échantillon, on a obtenu un rendement de 13.02 % tel qu'illustré dans la Figure 18. Le rendement a été déterminé par rapport au poids total de la matière végétale réduite en poudre et par rapport à l'extrait méthanolique brut.

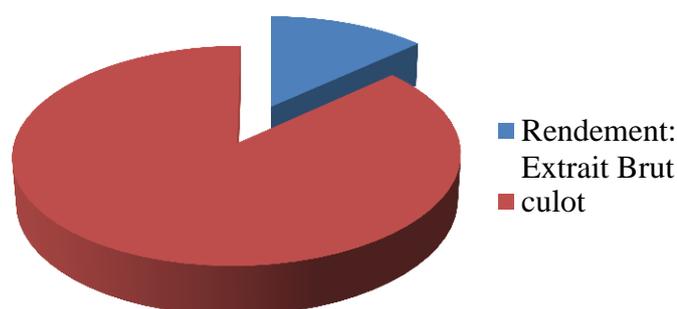


Figure 19 : Rendement de l'extrait méthanolique de *Rhamnus alaternus*

Les résultats sur le rendement méthanolique de l'espèce *Rhamnus alaternus* de plusieurs études s'avèrent parfois supérieurs ou inférieurs aux nôtres, c'est le cas de l'étude réalisée par **Ben Ammar et al (2008)** sur la même espèce (*Rhamnus alaternus*) originaire de Tunisie, qui a donné un rendement de 9 % après macération des feuilles dans le méthanol. Quant à **Ljubuncic et ses collaborateurs (2005)**, le rendement est de 8% avec comme solvant d'extraction, l'eau distillée. **Boussahel, (2013)** a signalé un rendement de 10% pour les racines de *Rhamnus alaternus* obtenus par soxhlet en utilisant le méthanol comme solvant, Alors que Harrar et al (2012) obtiennent 14,48% pour une macération méthanolique et 14,20% pour une macération aqueuse. Ces résultats sont nettement supérieurs par rapport aux nôtres.

La période de récolte de la plante, la procédure de séchage, la granulométrie des Particules, le temps de macération, le volume ainsi que la nature du solvant, sont parmi les paramètres susceptibles d'influencer le taux d'extraction (**Hayouni et al., 2007**).

2 Evolution du poids moyen des lots

Nous avons effectué le pesage des animaux de chaque lot et calculer ensuite la moyenne du poids pour chaque lot afin de déterminer la dose correspondante. Le tableau ci-dessous regroupe tous les poids moyens de chaque lot ainsi que leur écart type respectif, obtenus pendant toute la durée de l'expérimentation.

Tableau 4 : Données de l'évolution du poids moyen (g)

	J1	J3	J6	J9	J12	Jf
DOSE 1	189,67 ± 4,18	172,00 ± 16,89	176,89 ± 22,49	200,11 ± 17,63	188,2 ± 9,64	198,11 ± 8,04
DOSE 2	203,67 ± 1,30	218,78 ± 14,96	202,56 ± 17,33	221,56 ± 19,86	209,44 ± 19,58	219,22 ± 14
DOSE 3	210,67 ± 3,27	239,78 ± 8,38	226,33 ± 13,10	221,78 ± 15,34	216,33 ± 13,11	213,11 ± 13
T+	221,00 ± 18,69	218,11 ± 19,61	197,67 ± 21,80	176,83 ± 14,03	166,29 ± 17,76	167,43 ± 20,3
T-	223,40 ± 18,34	135,67 ± 35,60	152,00 ± 34,19	167,17 ± 30,69	164,83 ± 31,82	171,33 ± 32,5

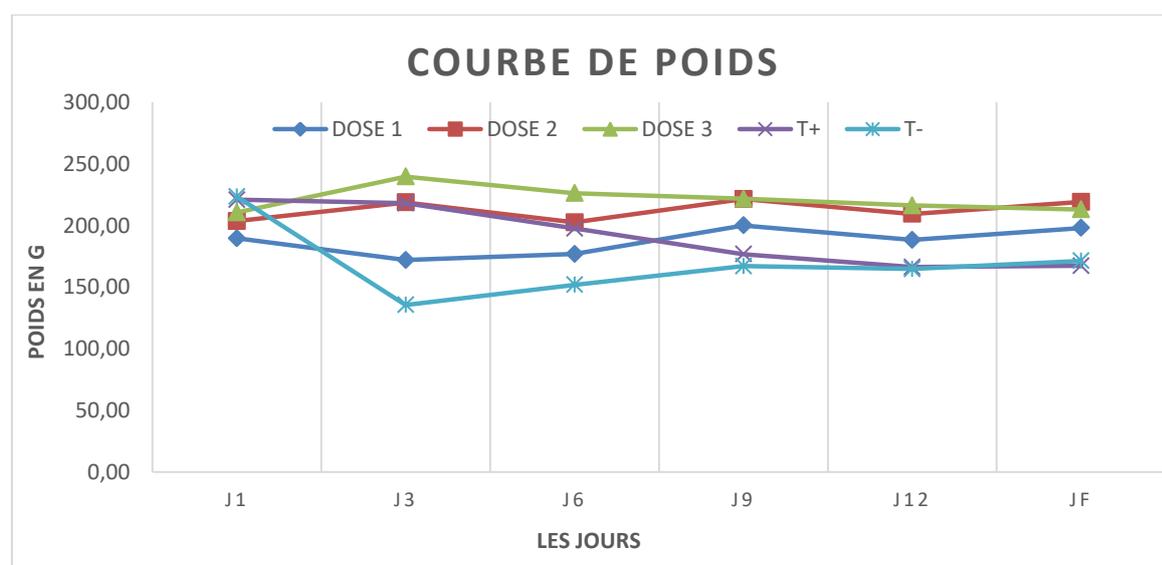


Figure 20 : Courbes de l'évolution de poids moyens

Après le traçage de ces courbes de poids moyens des animaux en fonction de jour, nous avons pu faire des constatations suivantes :

- Entre le J1 (jour 1) et J3 (jour 3), nous constatons une légère diminution du poids moyen du Lot 1 (Dose 1), une légère augmentation Lot 2 (Dose 2) ; quant au Lot 3 (Dose 3) nous notons une augmentation importante, tandis que dans le Lot (T-) on enregistre une diminution brusque du poids moyen et enfin une situation presque stable pour le Lot (T+).
- Au J6 (jour 6), nous observons que la situation quasi-stable pour le Lot 1, nous constatons une légère diminution pour le Lot 2. S'agissant du Lot 3, nous pouvons remarquer une baisse peu importante du poids moyen, alors que nous notons plutôt une diminution flagrante pour le Lot (T+) et une petite augmentation pour le Lot (T-).
- Dans l'intervalle de J6 et J9, les poids moyens du Lot 1, Lot 2 et Lot (T-) poursuivent leur augmentation progressive pendant que nous notons une décroissance du poids moyen au niveau du Lot 3 et Lot (T+). Une décroissance très remarquable pour le Lot (T+), alors que bien moins prononcée pour le Lot 3.
- Au jour 12, nous observons une quasi-stabilité du poids moyen pour le Lot (T-) et Lot 3, pendant ce temps, nous notons une très légère pente décroissante pour le Lot 1, le Lot 2 et le Lot (T+). Les poids moyens des tous les Lots, l'exception des Lot (T+) et Lot (T-), ont quasiment les mêmes valeurs que les poids moyens obtenus pendant de pesage au 6ieme jour.
- Enfin le pesage effectué le lendemain du dernier jour, jour du sacrifice ; montre un chevauchement des courbes du Lot (T+) et du Lot (T-), avec une croissance négligeable pour le Lot (T+) et une légère augmentation pour le Lot (T-). Quant au Lot 1 et Lot 2, nous remarquons une certaine augmentation des deux courbes, donc de leurs poids moyens le jour du sacrifice, alors que le Lot 3 demeure stable.

Globalement dans le Lot (T+), le poids corporel des animaux traités au CCL4 n'a fait que décroître de jour en jour, il a chuté de 221g au premier jour à 167.43g au jour du sacrifice. L'administration du CCL4 après tous les trois jours provoque des lésions hépatiques, ce qui affecte leur appareil digestif conduisant ainsi à une perte de poids. Cette constatation est aussi faite par **Abdelkrim et ses collaborateurs (2015)**.

Quant au Lot (T-), bien qu'ayant significativement chuté au troisième jour, nous observons une croissance progressive à partir du troisième jour jusqu'au jour du sacrifice, alors que **Abdelkrim et al (2015)** marque une stabilité du poids moyens au cours de leur étude.

En analysant la courbe de variation du poids moyen de chacun des lots, il ne fait aucun doute que l'augmentation ou la régression du poids de chaque animal est relatif aux conditions de garde et à la nutrition. Les animaux n'ont présenté aucun signe de pathologie pendant tout le long de l'expérimentation, malgré la variation de leur poids à chaque pesée. Cette instabilité du poids pourrait aussi s'expliquer par le trafic quotidien, et donc il est possible qu'un stress plus ou moins important, causé par une nuisance sonore et lors de l'opération de gavage gastrique, ait été présent chez les animaux.

3 Quelques marqueurs hépatiques

Les Biomarqueurs hépatiques comme l'aspartate aminotransférase (ASAT ou TGO), l'alanine aminotransférase (ALAT ou GPT) et la phosphatase alcaline (PAL), ont été dosées pour évaluer l'effet du tétrachlorure de carbone et de l'extrait de plante au niveau hépatique. Les résultats de notre étude ont révélé une augmentation significative des activités sériques de GOT, GPT et ALP sur l'exposition à CCL4, indiquant des dommages considérables hépatocellulaires.

3.1 Aspartate aminotransférase (ASAT ou TGO)

Nous rapportons dans le **Tableau 5** et la **Figure 19** ci-dessous, l'illustration les résultats du dosage de l'ASAT pour chaque Lots, Chaque valeur est une moyenne et son écart-type (N=6) :

Tableau 5 : Résultats du dosage de l'ASAT

ASAT (U/L)	DOSE 1	DOSE2	DOSE3	TEMOIN+	TEMOIN-
	241,02 ±21,76	227,93 ±21,16	210,96 ±25,01	237,17 ±10,66	95,08 ± 6,15

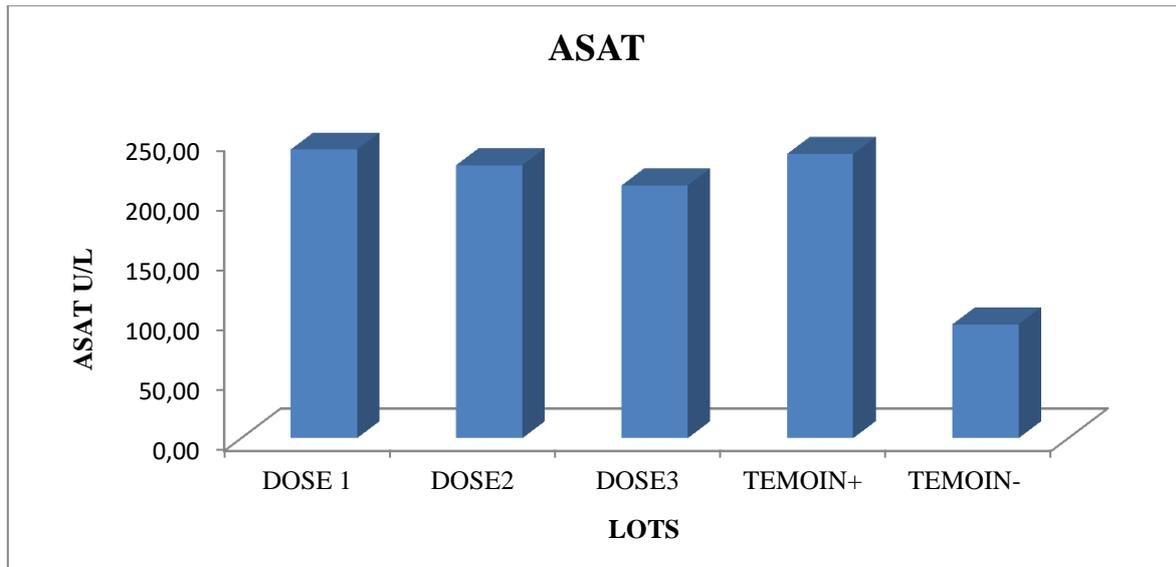


Figure 21 : Dosage de l'ASAT après induction au CCL4 et traitement à l'extrait des feuilles macérées de *Rhamnus alaternus* sur différents Lots d'animaux.

L'histogramme ci-dessus montre un taux d'enzymes transaminases (ASAT) considérablement élevé ($237,17 \pm 10,66$ U/L) du Lot (T+), traité au CCL4 ; par rapport au Lot (T-) ($95,08 \pm 6,15$ U/L), qui n'a été traité qu'à l'eau distillée. Cette énorme différence montre l'effet du CCL4 sur les groupes d'animaux ayant été traités par ce dernier. Le Lot 1 a été traité à la dose 250mg/Kg de l'extrait et au CCL4, nous pouvons vite constater que le taux en ASAT ($241,02 \pm 21,76$ U/L) étant presque identique à celui du Lot (T+). Les valeurs du Lot 2 traité à 500mg/Kg et au CCL4 ; et du Lot 3 traité à 750mg/Kg et au CCL4 ($227,93 \pm 21,16$ U/L et $210,96 \pm 25,01$ U/L respectivement) sont légèrement bas par rapport au Lot (T+) et plus élevés par rapport au Lot (T-), exprimant une cohérence de nos résultats.

Plusieurs études antérieures ont été en accord avec nos résultats, avec des protocoles plus ou moins identiques au nôtre : c'est le cas de celle menée par **Benchiha et al (2015)** sur la même espèce. Leur protocole d'expérimentation est quasiment identique au nôtre. Les résultats obtenus sont presque les mêmes, c'est-à-dire qu'on note un taux en ASAT très bas du groupe (T-) traité à 1% de gomme arabique, un taux plus élevé dans le groupe (T+) traité au CCL4, alors que la valeur en ASAT du groupe traité à la 250 mg/Kg de l'extrait macéré et au CCL4, se situe juste entre les deux valeurs des Lots (T+) et (T-), ce qui montre clairement l'effet hépatoprotecteurs de l'extrait de la plante.

Abdelkrim et ses collaborateurs (2015) ont aussi travaillé sur l'espèce *Rhamnus alaternus*, sur une durée de 7 jours pendant laquelle les animaux ont été traités au CCL4 et à l'extrait de plante, leurs résultats vont dans le même sens que les nôtres, pour un protocole légèrement différent par rapport à celui que nous avons adopté.

Une autre étude a été menée, sur une période de 14 jours, sur extrait éthanolique des feuilles de l'espèce *Zizyphus xylopyrus*, faisant partie de la même famille que l'espèce *Rhamnus alaternus* (Rhamnacées). Dans cette étude, **Modi (2017)**, a récemment confirmé cet effet hépatoprotecteur qu'ont plusieurs espèces de la famille des Rhamnacées.

Une autre espèce (*Zizyphus spina-christi*) de la même famille (Rhamnacées), étudiée par **Al-Ghamdi (2019)** montrent les résultats relativement proches des nôtres.

3.2 Alanine aminotransférase (ALAT ou GPT)

Nous rapportons dans le tableau 6 et la Figure 20 ci-dessous, les résultats du dosage de la transaminase (ALAT) en valeurs moyennes des Chaque Lots :

Tableau 6 : Résultats du dosage de l'ALAT

ALAT (U/L)	DOSE 1	DOSE2	DOSE3	TEMOIN+	TEMOIN-
	192,50 ± 7,06	162,98 ± 7,20	155,37 ± 7,14	294,69 ± 4,06	125,46 ± 8,81

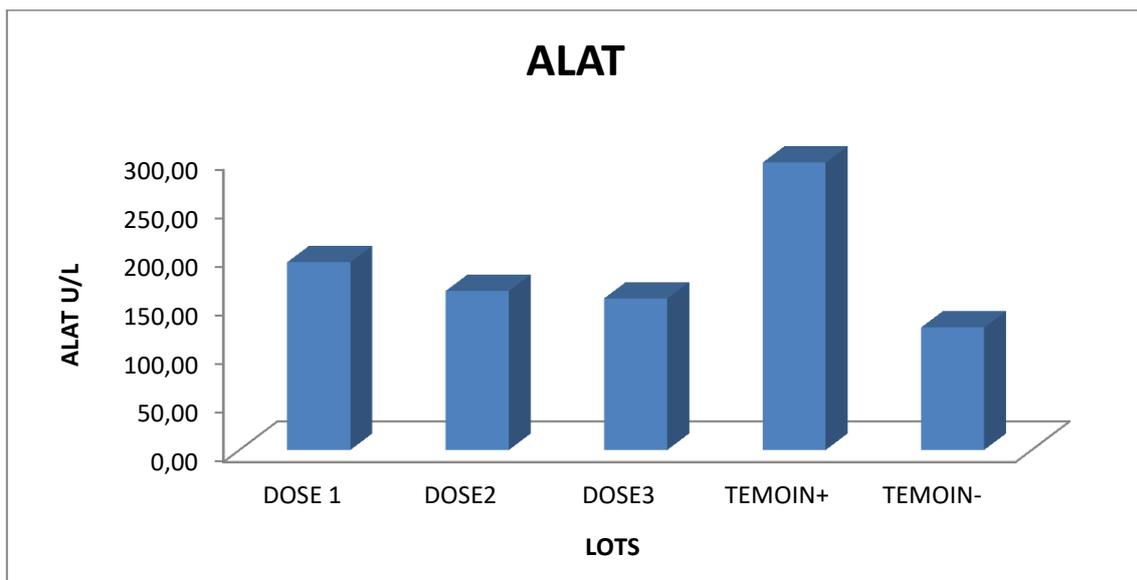


Figure 22 : Dosage de l'ALAT après induction au CCL4 et traitement à l'extrait des feuilles macérées de *Rhamnus alaternus* sur différents Lots d'animaux.

Pour ce paramètre, nous notons une très forte sécrétion de la transaminase ALAT dans le groupe (T+), soit 294.69 ± 4.06 U/L, le groupe (T-) quant à lui est à 125.46 ± 8.81 U/L, elle est la plus petite valeur car elle n'a pas reçu le CCL4. Le Lot 3 traité à la dose de 750mg/Kg se révèle plus efficace dans la réduction du taux de transaminase par rapport aux Lot 2 traité à 500mg/Kg et au Lot 1 traité à 250mg (Soit $155,37 \pm 7,14$ U/L, $162,98 \pm 7,20$ U/L et $192,50 \pm 7,06$ U/L, respectivement).

L'étude menée par **Benchiha et ses collaborateurs (2015)** sur la même espèce ; les travaux réalisés par **Dahiru et al (2010)** sur les fruits de l'espèce *Ziziphus mauritiana* faisant partie de la même famille que l'espèce *Rhamnus alaternus* (Rhamnacées) ; Appuient nos résultats et confirment l'efficacité de la plante étudiée sur les dommages hépatique causés par le CCL4.

Le *Ziziphus oxyphylla* est une espèce de la famille des Rhamnacées dont l'extrait méthanolique des racines a été étudié par **khan (2020)**. Avec un protocole plus ou moins identique au nôtre, les résultats du dosage de l'ALAT qui en découlent sont légèrement différents des nôtres au niveau des valeurs, cependant ils restent similaires car comme dans notre cas, on note une très forte sécrétion en ALAT, pour le Lot T(+) et un taux bas pour le Lot (T-). Les Lot traité à 200mg/Kg et 400mg/Kg ont révélés les valeurs en ALAT inversement proportionnelles à leur doses et comprises entre celles de (T+) et (T-).

3.3 Phosphatase alcaline (PAL)

Une autre enzyme à quantifier quand il s'agit d'étudier les pathologies qui concernent le foie c'est la phosphatase alcaline (PAL). Dans notre travail, nous avons dosé cette enzyme dans différents sérums d'animaux d'expérimentation. Les résultats sont illustrés dans le tableau 7 et **Figure 21** ci-dessous.

Tableau 7 : Résultats du dosage de la PAL

PAL (U/L)	DOSE 1	DOSE2	DOSE3	TEMOIN+	TEMOIN-
	$447,57 \pm 10,28$	$292,16 \pm 10,13$	$238,92 \pm 9,10$	$544,44 \pm 8,02$	$174,385 \pm 8,31$

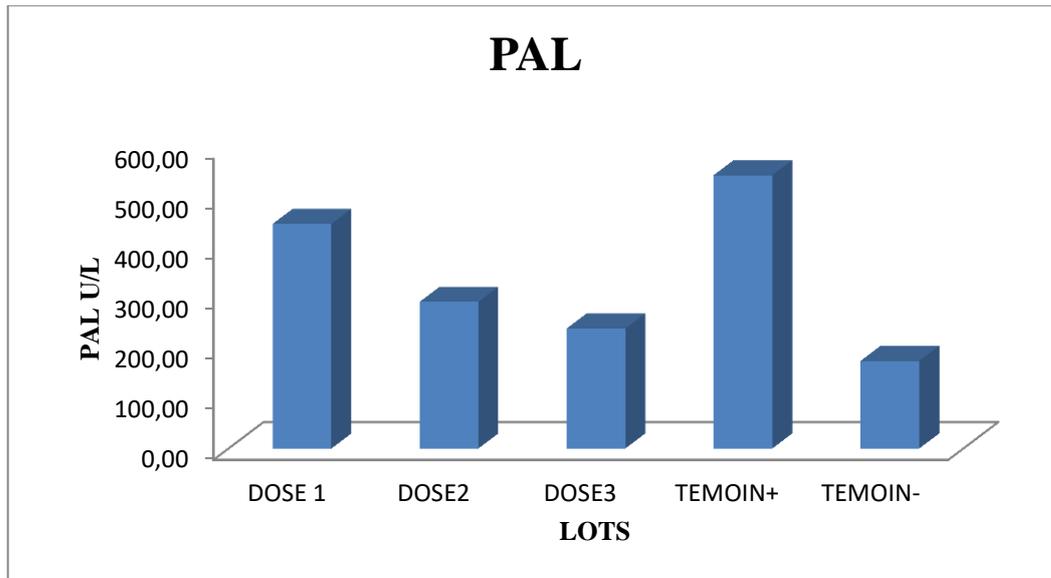


Figure 23 : Dosage de la PAL après induction au CCL4 et traitement à l'extrait des feuilles macérées de *Rhamnus alaternus* sur différents Lots d'animaux.

Comme dans les paramètres précédents, le groupe traité au CCL4 est celui qui révèle le taux le plus élevé en PAL : soit $544,44 \pm 8,02$ U/L, alors que le groupe témoin négatif montre un taux de $174,385 \pm 8,31$ U/L. s'agissant des Lots traités aux doses de 250mg/Kg, 500mg/Kg et 750mg/Kg (la dose effective), les résultats sont inversement proportionnels à chacune des doses, c'est-à-dire $447,57 \pm 10,28$ U/L, $292,16 \pm 10,13$ U/L et $238,92 \pm 9,10$ U/L respectivement. Comme dans le cas de l'ASAT et l'ALAT, les valeurs des lots traités avec l'extrait de plante sont toujours comprises entre celle du Lot (T+), plus élevée et celle du Lot (T-) plus basse. Ceci montre que notre l'extrait est doté des propriétés hépatoprotectrices.

Plusieurs études vont dans le même sens que nos résultats, parmi lesquelles : Celle menée par **Benchiha et al (2015)** et **Abdelkrim et ses collaborateurs (2015)** sur la même espèce (*Rhamnus alaternus*) ; celle menée par **khan (2020)** sur l'espèce *Zizyphus oxyphylla* (famille des Rhamnacées) et celle menée par **Modi (2017)** sur l'espèce *Zizyphus xylopyrus* (famille des Rhamnacées). Ces études démontrent le pouvoir hépatoprotecteur des plantes de la famille des Rhamnacées.

Les dommages hépatiques provoqués expérimentalement chez les rats dans le cas de la présente étude est une conséquence de la toxicité du tétrachlorure de carbone (CCL4), un toxique organochloré à tropisme essentiellement hépatique et agent potentiel cité par plusieurs

chercheurs comme **Shah *et al* (2010)** et **Sanmugapriya *et al* (2006)**. Son mécanisme d'action physiopathologique permet de mieux appréhender les dommages hépatiques dont il est responsable.

En effet, la métabolisation hépatique du CCL4 commence par sa transformation en ses métabolites primaires (Trichlorométhyl et Trichlorométhylperoxyde) grâce à cytochrome P450 oxydase hépatique. Le trichlorométhylperoxyde est un radical libre hautement réactif qui va initier une lipoperoxydation des phosphomembranes des hépatocytes causant la désagrégation des membranes des hépatocytes. Les enzymes intra-cytoplasmiques entre autres, les transaminases (ASAT/ GOT et ALT/GPT) et la phosphatase alcaline (PAL), vont se déverser dans le milieu extracellulaire (plasma sanguin) en cas de cellules endommagées indiquant le développement de l'hépatotoxicité.)

Dans le cadre de notre étude, l'augmentation des niveaux des marqueurs sériques GOT, GPT, ALP est un signe qui montre des lésions hépatiques importantes dans le Lot (T+), comme indiqué dans les tableaux précédents. L'administration de l'extrait de plante aux rats des Lots 1, 2 et3 à des doses de 250 mg/Km, 500 mg/Km et 750 mg/Km respectivement, provoque un processus de restauration des marqueurs hépatiques vers une évolution à la normale, la dose 3 étant la dose effective (**Ozturk *et al.*, 2009**).

4 Autres paramètres étudiés

Les Paramètres comme l'albumine (ALB), l'Urée, le Triglycéride (TG) et La Glycémie (GLU), ont aussi été mesurés et étudiés pour évaluer l'effet de la plante au niveau rénal et sanguin.

4.1 Albumine

Les résultats de ce paramètre sont mentionnés dans le **Tableau 8** et la **Figure 24** :

Tableau 8 : Résultats du dosage de l'albumine

ALB (g/dl)	DOSE 1	DOSE2	DOSE3	TEMOIN+	TEMOIN-
	4,21 ±0,47	4,39 ±0,64	4,41 ±0,26	3,68 ±0,13	4,46 ±0,66

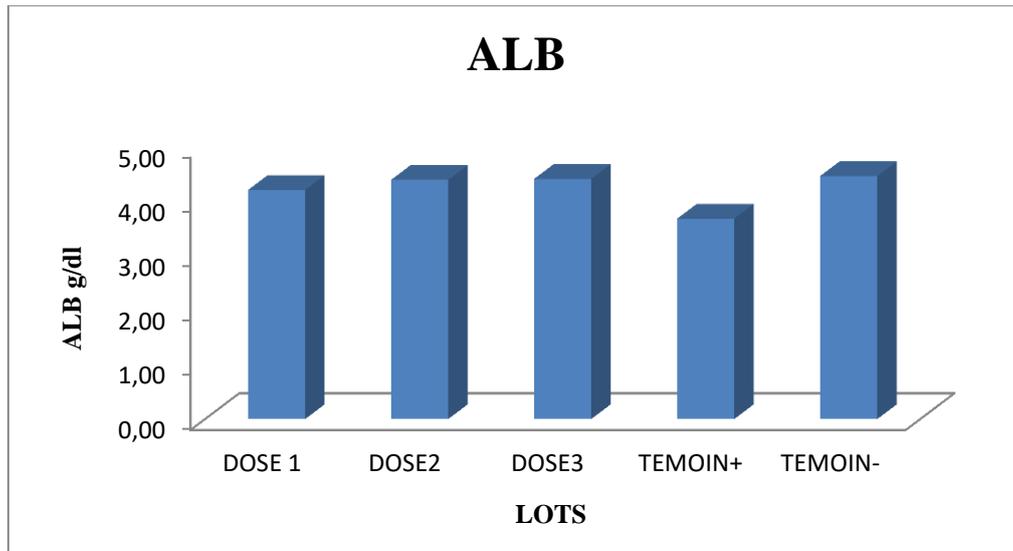


Figure 24 : Dosage de l'albumine sérique

Les résultats indiquent un taux d'albumine plus élevé dans le groupe de témoin négatif qui n'a été traité qu'à l'eau distillée, soit une valeur de 4.46 ± 0.66 g/dl. Le groupe (T+) traité au CCL4 indique une valeur plus basse, 3.68 ± 0.13 g/dl. Quant aux trois doses, Dose 1, 2 et 3, le taux en albumine est respectivement de 4.21 ± 0.47 g/dl, 4.39 ± 0.64 g/dl et 4.41 ± 0.26 g/dl. Ce paramètre s'oppose aux résultats obtenus dans les paramètres hépatiques où le Lot (T+) avait la plus grande valeur et le Lot (T-) la plus petite.

Le taux d'albumine du Lot (T-) indique un état normal et sain, des animaux, qui eux, n'ont pas été traités au CCL4. Dans le Lot (T+) nous constatons très clairement l'effet néfaste du CCL4 sur la protéine de transport, ce qui altère la protéine et par conséquent abaisse fortement sa quantité sanguine. S'agissant des Lots traités à l'extrait et au CCL4, on note un effet de réparation du taux d'albumine dans ces groupes. Ce taux est proportionnel à chaque dose et la dose effective reste la dose 3. Nos résultats sont en adéquation avec ceux obtenus par *Li et al (2015)* qui ont mené leur étude sur l'espèce *Berchemia lineate*, une des espèces de la famille des rhamnacées.

4.2 Urée

Les résultats de ce paramètre sont mentionnés dans le **Tableau 9** et la **Figure 25** :

Tableau 9 : Résultats du dosage de l'Urée

Urée (g/l)	DOSE 1	DOSE2	DOSE3	TEMOIN+	TEMOIN-
	0,58 ± 0,20	0,58 ± 0,23	0,52 ± 0,18	0,59 ± 0,22	0,31 ± 0,11

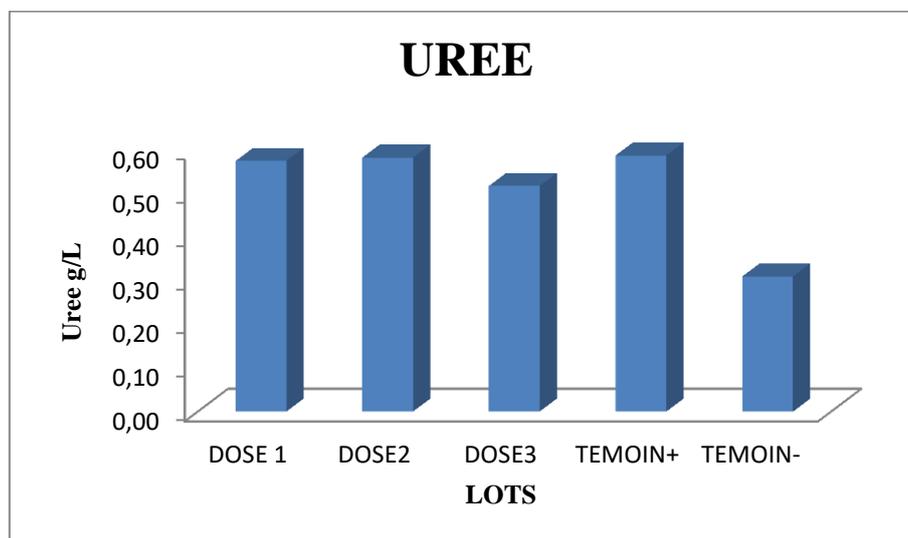


Figure 25 : Dosage sérique de l'Urée.

L'Urée est l'un des paramètres qui nous permettent de savoir l'état de fonctionnement des reins. Après traitement au CC4 et à l'extrait méthanolique, nous observons un taux élevé dans le Lot (T+), soit 0.59 ± 0.22 g/l. Le Lot (T-) pour sa part à un taux significativement bas, soit 0.31 ± 0.11 g/l. Les trois groupes traités à l'extrait de plante et au CCL4, ont des valeurs inversement proportionnelles à leurs doses, soient 0.58 ± 0.20 g/l, 0.58 ± 0.23 g/l et 0.59 ± 0.22 g/l, respectivement.

Les dommages hépatique causés par le CCL4 dans le Lot (T+), provoque une forte sécrétion d'urée, pendant que la situation reste normale pour le groupe (T-). Concernant les Lots traités à l'extrait et au CCL4, les trois doses montrent une légère activité thérapeutique, la dose la plus efficace étant 750mg/Kg. C'est aussi le même constat fait par **Al-Ghamdi (2015)** lors de leur étude sur l'espèce *Ziziphus spina-christi*, appartenant à la même famille que *Rhamnus alaternus* (rhamnacées).

4.3 Triglycéride

Les résultats de ce paramètre sont mentionnés dans le **Tableau 10** et la **Figure 26** :

Tableau 10 : Résultats du dosage des Triglycérides sériques

TG (g/l)	DOSE 1	DOSE2	DOSE3	TEMOIN+	TEMOIN-
	1,08 ±0,45	0,72 ±0,26	0,70 ±0,24	1,20 ±0,55	0,56 ±0,04

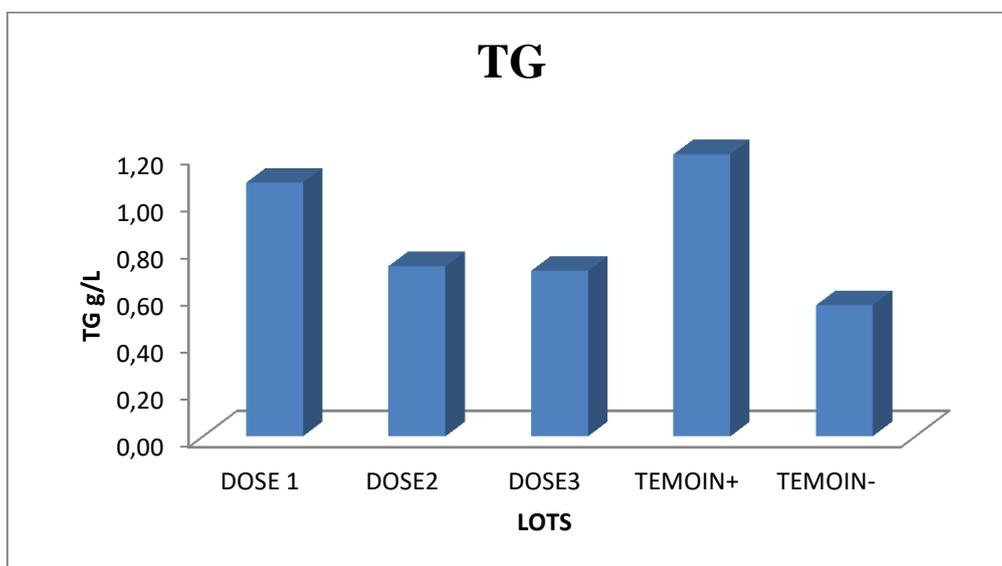


Figure 26 : Dosage des triglycérides sériques

Nous notons une augmentation des triglycérides pour le Lot (T+), soit $1.2 \pm 0.55\text{g/l}$, une valeur très basse pour le Lot (T-), soit $0.56 \pm 0.04\text{g/l}$. Les trois Lots traités à différentes doses ont des valeurs inversement proportionnelles à leurs doses, soient $1.08 \pm 0.45\text{g/l}$ pour le premier, $0.72 \pm 0.26\text{g/l}$ pour le deuxième et 0.70 ± 0.24 pour le troisième.

En s'appuyant sur les travaux de **Ajul et ses amis (2017)** sur l'espèce *Zizyphus xylopyrus* appartenant dans la famille des rhamnacées ; l'oxydation des phospholipides membranaires causée par le CCL4 libère une forte quantité en triglycéride pour le groupe (T+) et pour les trois groupes traités à l'extrait de plante, on remarque dans les résultats de ces derniers, une activité antioxydante des membranes des hépatocytes avec une dose efficace de 750mg/Kg . Le groupe (T-) quant à lui reste normal.

4.4 Glycémie

Les résultats de ce paramètre sont mentionnés dans le **Tableau 11** et la **Figure 27** :

Tableau 11 : Résultats de la glycémie

GLU (g/l)	DOSE 1	DOSE2	DOSE3	TEMOIN+	TEMOIN-
	0,72 ±0,27	0,67 ±0,22	0,58 ±0,11	0,77 ±0,13	1,08 ±0,27

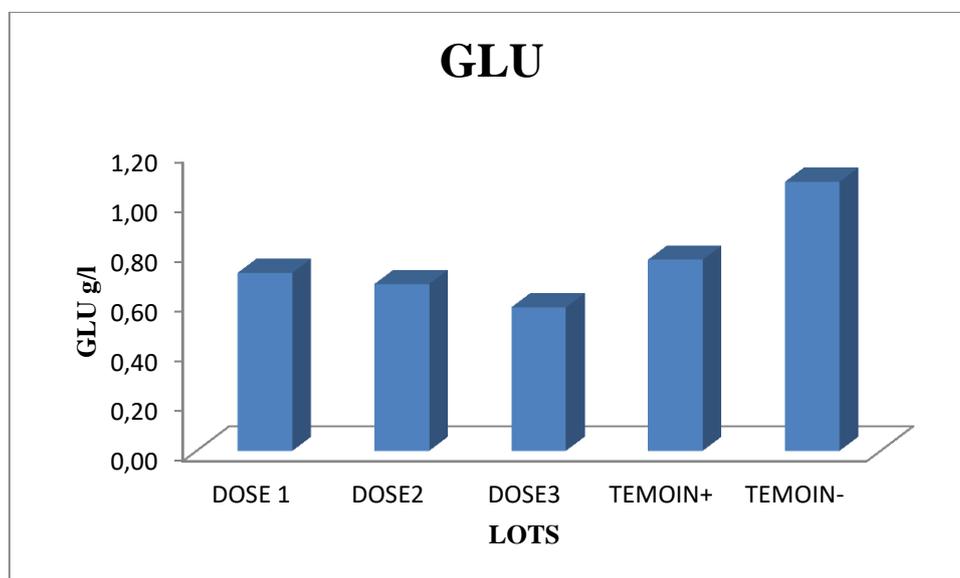


Figure 27 : Dosage de la glycémie.

Nous remarquons un taux de sucre important pour le groupe (T-), soit 1.08 ± 0.27 , alors que le Lot (T+) présente une valeur de 0.77 ± 0.13 . Les groupes traités à l'extrait présentent des valeurs inférieures à celle du Lot (T+), soit 0.72 ± 0.27 g/l pour le Lot 1, 0.67 ± 0.22 g/l pour le Lot 2 et 0.58 ± 0.11 g/l pour le Lot 3.

La glycémie du Lot (T-) a une valeur normale du fait qu'il n'a pas été traité par le CCL4. Nous constatons une hypoglycémie pour le Lot (T+) et les trois groupes des Lots traités à différentes doses. Cette hypoglycémie pourrait s'expliquer par l'administration du CCL4 aux animaux et leur traitement à l'extrait méthanolique de la plante étudiée. L'espèce *Rhamnus alaternus* serait donc dotée d'une activité antidiabétique, mais cette conclusion reste à élucider.

5 Poids d'organes (Foie et Reins) au jour du sacrifice

Au jour du sacrifice, nous avons effectué le pesage d'organes (Foie et Reins) pour chaque animal. Le **Tableau 12** et la **Figure 28** ci-dessous représentent les résultats du poids moyen de chaque Lots :

Tableau 12 : Résultats des Poids moyens d'organes.

		Lot 1	Lot2	Lot3	Lot T+	Lot T-
Poids (g)	Foie	4,65 ± 1.16	4,40 ± 1.32	4,35 ± 0.72	4,95 ± 1.28	3,40 ± 1.18
	Reins	0,62 ± 0.12	0,65 ± 0.17	0,70 ± 0.15	0,83 ± 0.29	0,58 ± 0.14

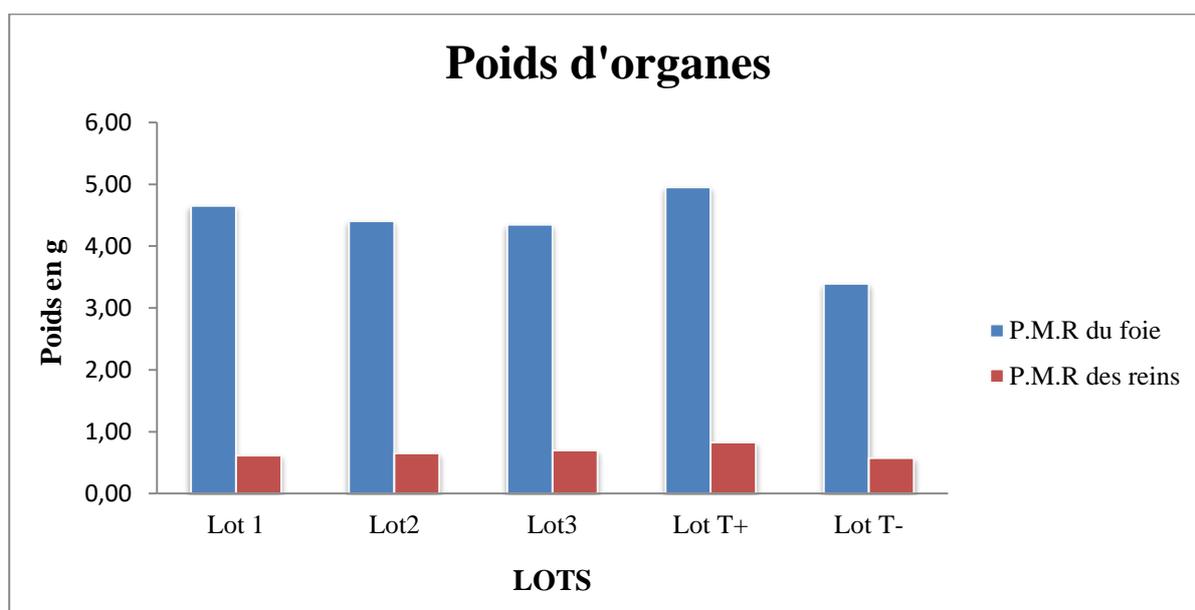


Figure 28 : Poids moyens d'organes de chaque Lots.

Concernant le Foie, nous constatons dans la **Figure 28** ci-dessous que le groupe (T+), traité au CCL4, a un poids moyen relatif plus élevé que pour d'autres Lots, le Lot (T-) en revanche a la valeur la plus basse de tous les lots. Les groupes d'animaux traités à l'extrait de plante et au CCL4, montrent des valeurs qui sont inversement proportionnelles à leurs doses.

L'administration du CCL 4 favorise un gonflement hépatique, nous pouvons le constater dans tous les Lots à l'exception du Lot (T-) qui n'a pas été traité au CCL4. La différence au niveau des Lots traités à des doses de 250mg/Kg, 500mg/Kg et 750mg/Kg dont les valeurs du poids moyen relatif est inversement proportionnel à leur dose, démontre la capacité de l'extrait de la plante étudiée à réparer les dommages hépatiques. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par **khan (2020)** lors de leur étude menée sur l'espèce *Ziziphus oxyphylla*, une espèce de la famille des Rhamnacées.

Quant au poids relatif des reins de chaque lot, nous notons une augmentation par rapport au Lot (T-). Le lot (T+) a la valeur la plus importante de tous alors que les Lots 1, 2 et 3 ont des valeurs proportionnelles à leurs doses. Le CCL4 pourrait donc avoir un impact négatif au niveau rénal mais cette conclusion reste à élucidé.

6 Coupe histologique

En Raison du manque de temps, nous n'avons pas pu récupérer les résultats des coupes histologiques au Centre de recherche Biotechnologique (CRBT) de l'université Abdelhamid Mehri Constantine 2.

Conclusion générale

Conclusion générale

Rhamnus alaternus est une espèce de plante appartenant à la famille des rhamnacées, très répandue dans le bassin méditerranéen, connue pour ses multiples vertus médicinales et très intéressante du point de vue pharmacologique.

Cette étude rentre dans le cadre de l'évaluation de l'activité Hépatoprotectrice (activité antioxydante) de l'extrait méthanolique macéré des feuilles de *Rhamnus alaternus*, menée sur des rats (*Wistar albinos*) exposés au tétrachlorure de carbone (CCL4).

Notre travail a été divisé en deux volets :

Dans le premier volet, nous avons procédé à la préparation de l'extrait brut par la méthode de macération hydrométhanolique à 70%, à partir des feuilles récoltées dans la région de Sétif après avoir été nettoyées, séchées et broyées.

Dans le deuxième volet, des expériences sur les rats (femelles) ont été menées pour évaluer l'effet de l'extrait brut de l'espèce *Rhamnus alaternus* au niveau hépatique. Pour cela les animaux, repartis en différents Lots, ont été traités au tétrachlorure de carbone pour induire des dommages hépatiques, ainsi qu'à l'extrait brut de la plante. L'étude a été réalisée sur une période de 15 jours. Au dernier jour, tous les animaux ont été sacrifiés et les prélèvements sanguins et d'organes ont été effectués et ont été analysés au laboratoire d'analyse biochimique.

L'évaluation de l'effet thérapeutique de l'extrait de plante sur l'hépatotoxicité induite par le CCL4, a été réalisée par dosage de marqueurs sériques hépatiques dont l'ASAT, l'ALAT, la PAL et l'ALB ; et d'autres paramètres comme Urée, Triglycéride et Glycémie, ont aussi été mesurés. Les résultats des analyses ont révélé un taux élevé des marqueurs hépatiques dans le groupe d'animaux témoin positif, Alors que dans les lots traités à différentes doses, soient 250, 500 et 750mg/Kg, les résultats obtenus sont inversement proportionnels à chacune des doses administrées. L'étude des résultats obtenus nous permet de déduire la dose efficace (750mg/Kg).

Les résultats observés durant le présent travail apportent une confirmation de l'existence d'une activité hépatoprotectrice de l'espèce *Rhamnus alaternus* en raison de sa diversité en métabolites secondaires qui sont pourvus des propriétés antioxydantes.

Comme perspectives, nous envisageons :

Conclusion Générale

- ✓ D'approfondir les recherches afin de découvrir les composés responsables de cette activité.
- ✓ Elargir le champ de recherche et d'étudier d'autres activités: Activité antimicrobienne, antivirale, antienzymatiques antidiabétique et cytotoxique.
- ✓ Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de santé et d'être une alternative des médicaments synthétiques.
- ✓ Développer des médicaments antiradicalaires à base de plantes, doués d'une activité antioxydante.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- ❖ **Abdelkrim, B., Khaled, K., Miloud, S., Imane, D., & Kheira, A. (2015).** Hepatoprotective effects of the decoction and macerated leaves of *Rhamnus alaternus* L. on rats exposed to carbon tetrachloride. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 7(10), 253-262.
- ❖ **Al-Ghamdi, A. A. M., El-Zohri, M., & Shahat, A. A. (2019).** Hepatoprotective, nephroprotective, anti-amylase, and antiglucosidase effects of *Ziziphus spina-christi* (L.) against carbon tetrachloride-induced toxicity in rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 18(4), 781-790.
- ❖ **Ammar, R. B., Bouhlel, I., Valenti, K., Sghaier, M. B., Kilani, S., Mariotte, A. M., ... & Chekir-Ghedira, L. (2007).** Transcriptional response of genes involved in cell defense system in human cells stressed by H₂O₂ and pre-treated with (Tunisian) *Rhamnus alaternus* extracts: Combination with polyphenolic compounds and classic in vitro assays. *Chemico-Biological Interactions*, 168(3), 171-183.
- ❖ **Ammar, R. B., Sghaier, M. B., Boubaker, J., Bhourri, W., Naffeti, A., Skandrani, I., ... & Chekir-Ghedira, L. (2008).** Antioxidant activity and inhibition of aflatoxin B₁-, nifuroxazide-, and sodium azide-induced mutagenicity by extracts from *Rhamnus alaternus* L. *Chemico-Biological Interactions*, 174(1), 1-10.
- ❖ **Ammar, R. B., Bhourri, W., Sghaier, M. B., Boubaker, J., Skandrani, I., Neffati, A. ... & Ghedira, K. (2009).** Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae): A structure-activity relationship study. *Food Chemistry*, 116(1), 258-264.
- ❖ **Aou-Ouad, E., Florez-Sarasa, I., Ribas-Carbó, M., Flexas, J., Medrano, H., & Gulías, J. (2015).** Trade-offs between seedling growth, plant respiration and water-use efficiency in two Mediterranean shrubs *Rhamnus alaternus* and *Rhamnus ludovicisalvatoris*. *Photosynthetica*, 53(4), 537-546.
- ❖ **Bhourri, W., Sghaier, M. B., Kilani, S., Bouhlel, I., Dijoux-Franca, M. G., Ghedira, K., & Ghedira, L. C. (2011).** Evaluation of antioxidant and antigenotoxic activity of two flavonoids from *Rhamnus alaternus* L.(Rhamnaceae): Kaempferol 3-O- β -isorhamninoside and rhamnocitrin 3-O- β -isorhamninoside. *Food and Chemical Toxicology*, 49(5), 1167-1173.

- ❖ **Ben Ammar, R., Kilani, S., Abdelwahed, A., Hayder, N., Mahmoud, A., Chibani, J., ... & Ghedira, K. (2005).** In vitro mutagenicity, antimutagenicity and free radical scavenging activities of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae) extracts. *Pak J Biol Sci*, 8(3), 439-445.
- ❖ **Benchiha, W., Mahroug, S., Aoued, L., & Bouterfas, K. (2017).** Activité antihépatotoxique des extraits des feuilles de *Rhamnus alaternus* L.(Rhamnaceae). *Phytothérapie*, 15(1), 10-15.
- ❖ **Boussahel, S., Dahamna, S., Ruberto, G., Siracusa, L., & Harzallah, D. (2013).** Phytochemical Study and Antioxidant Activities of Leaves Extracts from *Rhamnus alaternus* L. *Pharmacognosy Communications*, 3(1), 46.
- ❖ **Bahi, A. (2020).** Cours de Toxicologie Cellulaire et Moléculaire. Constantine. Université des frères Mentouri Constantine 1.
- ❖ **Ben Ammar, R., Kilani, S., Abdelwahed, A., Hayder, N., Mahmoud, A., Chibani, J. ... & Ghedira, K. (2005).** In vitro mutagenicity, antimutagenicity and free radical scavenging activities of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae) extracts. *Pak J Biol Sci*, 8(3), 439-445.
- ❖ **Benchiha, W. (2016).** Phyto-écologie et étude biochimique des composants phénoliques (traitement in vivo contre hépatite) de *Rhamnus alaternus* L. des monts de Tessala wilaya de Sidi Bel Abbes (Doctoral dissertation).
- ❖ **Bouchenak, o., yahiaoui, k., benhabyles, n., laoufi, r., toubal, s., el haddad, d., ... & arab, k. (2020).** Criblage phytochimique et évaluation du pouvoir antioxydant des feuilles de *myrtus communis* l. Et *rhamnus alaternus* l. *Revue agrobiologia*, 10, 1749-1761.
- ❖ **Chancerel, L. (1920).** *Flore forestière du globe*. Gauthier-Villars.
- ❖ **Chikhi, A. (2021)** Les marqueurs et enzymes en hépatologie. Constantine. *Université des frères Mentouri Constantine 1*.
- ❖ **Debeaux, J. O. (1894).** *Flore de la Kabylie du Djurdjura ou Catalogue méthodique et raisonné de toutes les plantes vasculaires et spontanées observées jusqu'à ce jour dans cette contrée*. P. Klincksieck.
- ❖ **Diallo, A. (2005).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (Myrtaceae). *PhD. Of the University Bamako, Mali*, 38-47.

- ❖ **Dahiru, D., Mamman, D. N., & Wakawa, H. Y. (2010).** Ziziphus mauritiana fruit extract inhibits carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in male rats. *Pakistan Journal of Nutrition*, 9(10), 990-993.
- ❖ **Gubb, A. S. (1913).** *La flore algérienne, naturelle et acquise*. Paul Geuthner.
- ❖ **Guella, S. (2020).** Exploration de la fonction hépatique. Sidi-Bel-Abbès. Université de Djilali liabès.
- ❖ **Hadi, M. (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. *Histol. la peau*, 98-101.
- ❖ **Halliwell, B., & Gutteridge, J. (1984).** Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical journal*, 219(1), 1.
- ❖ **Harrar, A. (2012).** Activités antioxydant et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* Sétif(Algérie). Université de Ferhat Abbas-Sétif.
- ❖ **Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., & Hamdi, M. (2007).** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian Quercus coccifera L. and Juniperus phoenicea L. fruit extracts. *Food chemistry*, 105(3), 1126-1134.
- ❖ **Hamiani, A. (2018).** L'Etude chimique et pharmacologique de quelques familles de plantes médicinales Algériennes. Oran(Algérie).université de Oran 1.
- ❖ **Hase, K., Ohsugi, M., Xiong, Q., Basnet, P., Kadota, S., & Namba, T. (1997).** Hepatoprotective effect of Hovenia dulcis Thunb. on experimental liver injuries induced by carbon tetrachloride or D-galactosamine: Lipopolysaccharide. *Biological and pharmaceutical Bulletin*, 20(4), 381-385.
- ❖ **Izhaki, I., Tsahar, E., Paluy, I., & Friedman, J. (2002).** Within population variation and interrelationships between morphology, nutritional content, and secondary compounds of Rhamnus alaternus fruits. *New Phytologist*, 156(2), 217-223.
- ❖ **Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., Stevens, P. F., & Donoghue, M. J. (1999).** Plant systematics: a phylogenetic approach. *Ecología mediterránea*, 25(2), 215.
- ❖ **Kosalec, I., Kremer, D., Locatelli, M., Epifano, F., Genovese, S., Carlucci, G. ... & Končić, M. Z. (2013).** Anthraquinone profile, antioxidant and antimicrobial activity of bark extracts of Rhamnus alaternus, R. fallax, R. intermedia and R. pumila. *Food chemistry*, 136(2), 335-341.

- ❖ **Kruidenier, L. A., & Verspaget, H. W. (2002).** Oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease—radicals or ridiculous?. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, *16*(12), 1997-2015.
- ❖ **Khan, M. A., Ahmad, W., Adhikari, A., Ibrar, M., Khan, M., & Kamil, A. (2020).** Exploration of Hepatoprotective Potential and Phytochemicals of *Ziziphus oxyphylla* Edgew. *Pakistan Veterinary Journal*, *40*(4).
- ❖ **Lin, J. K., & Weng, M. S. (2006).** Flavonoids as nutraceuticals. In *The science of flavonoids* (pp. 213-238). Springer, New York, NY.
- ❖ **Lahouel, M., Amedah, S., Zellagui, A., Touil, A., Rhouati, S., Benyache, F. ... & Bousseboua, H. (2006).** The interaction of new plant flavonoids with rat liver mitochondria: relation between the anti-and pro-oxydant effect and flavonoids concentration. *Therapies*, *61*(4), 347-355.
- ❖ **Ljubuncic, P., Azaizeh, H., Portnaya, I., Cogan, U., Said, O., Saleh, K. A., & Bomzon, A. (2005).** Antioxidant activity and cytotoxicity of eight plants used in traditional Arab medicine in Israel. *Journal of ethnopharmacology*, *99*(1), 43-47.
- ❖ **Li, C., Yi, L. T., Geng, D., Han, Y. Y., & Weng, L. J. (2015).** Hepatoprotective effect of ethanol extract from *Berchemia lineate* against CCl₄-induced acute hepatotoxicity in mice. *Pharmaceutical biology*, *53*(5), 767-772.
- ❖ **Lubec, B., Fang-Kircher, S., Lubec, T., Blom, H. J., & Boers, G. H. J. (1996).** Evidence for McKusick's hypothesis of deficient collagen cross-linking in patients with homocystinuria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, *1315*(3), 159-162.
- ❖ **Martin, C., Vallet, B., & Riou, B. (2017).** *Physiologie humaine appliquée (2e édition)*. Arnette-John Libbey Eurotext.
- ❖ **Modi, A. (2017).** Phytochemical analysis, antioxidant activity, and hepatoprotective effects of *Zizyphus xylopyrus* (Retz.) Willd leaves extracts against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in in vitro and in vivo models. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, *11*(01).
- ❖ **Nkhili, E. Z. (2009).** Polyphénols de l'alimentation: extraction, interactions avec les ions du fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant. Avignon.
- ❖ **Nekkaa, A., Benaissa, A., Mutelet, F., & Canabady-Rochelle, L. (2021).** Rhamnus alaternus Plant: Extraction of Bioactive Fractions and Evaluation of Their Pharmacological and Phytochemical Properties. *Antioxidants*, *10*(02), 300.

- ❖ **Pastre, J. (2005).** *Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques* (Doctoral dissertation).
- ❖ **Quézel, P., Barbero, M., Benabid, A., Loisel, R., & Rivas-Martinez, S. (1988).** Contribution à l'étude des groupements pré-forestiers et des matorrals rifains. *Ecologia mediterranea*, 14(1), 77-122.
- ❖ **Quézel, P; Santa , S. (1963)** .Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Volume 2. Paris(France) : CNRS.
- ❖ **Rao, C. V., Rawat, A. K. S., Singh, A. P., Singh, A., & Verma, N. (2012).** Hepatoprotective potential of ethanolic extract of *Ziziphus oenoplia* (L.) Mill roots against antitubercular drugs induced hepatotoxicity in experimental models. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 5(4), 283-288.
- ❖ **Rao, K. S., & Mishra, S. H. (1997).** Hepatoprotective activity of the whole plants of *Fumaria indica*. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 59(4), 165.
- ❖ **Reichl, F. X., Perraud,R., Hammelehle,R. (2010).** Guide pratique de toxicologie.Allemagne. De boeck
- ❖ **Stocker, P., Yousfi, M., Djerridane, O., Perrier, J., Amziani, R., El Boustani, S., & Moulin, A. (2004).** Effect of flavonoids from various Mediterranean plants on enzymatic activity of intestinal carboxylesterase. *Biochimie*, 86(12), 919-925.
- ❖ **Spichiger, R., Calenge, C., & Bise, B. (2004).** Geographical zonation in the Neotropics of tree species characteristic of the Paraguay-Paraná Basin. *Journal of Biogeography*, 31(9), 1489-1501.
- ❖ **Valko, M., Rhodes, C. J. B., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.
- ❖ **Wardman, P., & Candeias, L. P. (1996).** Fenton chemistry: an introduction. *Radiation research*, 145(5), 523-531.
- ❖ **Walid, B., Samira, M., Zineb, B., & Karim, B. (2014).** Characterization of Habitat of *Rhamnus alaternus* L. at the Jebel Tessala (North-Western Algeria). *J. Chem*, 8, 1036-1048.
- ❖ **Wei, B. L., Lin, C. N., & Won, S. J. (1992).** Nakahalene and cytotoxic principles of formosan *Rhamnus* species. *Journal of Natural Products*, 55(7), 967-969.

Liste des sites

Anonyme 1 : [Rhamnus alaternus – PlantRight](#), 14/06/2022

Anonyme 2 : <https://fr.dreamstime.com/anatomie-du-foie-illustration-montrant-l-des-descriptions-image142137620> , 22/04/2022

Anonyme 3 : <https://b.21-bal.com/pravo/297/index.html> , 22/04/2022 , 22/04/2022

Anonyme 4 : <https://www.jaypeedigital.com/book/9788180615634/chapter/ch14>; 14/06/2022

Source: <https://www.dictionnaire-medical.net/term/39036,1,xhtml#ixzz7WStUQqEq>,
Hépatoprotecteur 14/06/2022

Résumé

Rhamnus alaternus est une espèce de plante médicinale de la famille des Rhamnacées qui a fait l'objet de nombreuses indications thérapeutiques en médecine traditionnelle dans la région méditerranéenne. Cette étude a pour objet, l'évaluation de l'activité hépatoprotectrice (activité antioxydante) de l'extrait hydrométhanolique macéré des feuilles de *Rhamnus alaternus*, menée sur des rats (Wistar albinos) femelles exposés au tétrachlorure de carbone (CCL4).

Ainsi, les animaux, repartis en 5 lots de 6 selon leur poids corporel, ont été traités à l'extrait à différentes doses, soient 250, 500 et 750mg/Kg, et au CCL4 à la dose de 1ml/Kg ; pendant une durée de 15 jours. Après l'analyse des résultats, l'extrait méthanolique macéré des trois doses, ont montré une activité hépatoprotectrice très significative (notamment pour la dose 3 : dose effective) exprimée par une diminution significative des marqueurs biochimiques enzymatiques tels que la, phosphatase alcaline (ALP) et transaminases (GOT et GPT).

Au terme de cette étude, nous retenons que ces résultats illustrent la dominance de l'activité pharmacologique hépatoprotectrice des feuilles macérées de *Rhamnus alaternus*. Cette étude mérite d'être approfondie dans les perspectives à venir.

Mots clés :

***Rhamnus alaternus*, Activité hépatoprotectrice, CCl4, Rats Wistar albinos, marqueurs biochimiques.**

Abstract

Rhamnus alaternus is a medicinal plant species from the Rhamnaceae family that has been the subject of numerous therapeutic indications in the traditional medicine in the Mediterranean region. The objective of this study is to evaluate the hepatoprotective activity (antioxidant activity) of the macerated hydromethane extract obtained from the leaves of *Rhamnus alaternus*, carried out on female rats (albino Wistar) that were exposed to carbon tetrachloride (CCL4).

Therefore, the animals were divided into 5 lots of 6 rats each according to their body weight, and were treated with the extract at different doses, being 250, 500 and 750mg / Kg, and with CCL4 at the dose of 1ml / Kg; over a period of 15 days. After results analysis, the macerated methanolic extract of the three doses, has shown a very significant hepatoprotective activity (especially for the dose 3: effective dose) expressed by a significant decrease of biochemical enzymatic markers such as alkaline phosphatase (ALP) and transaminases (GOT and GPT).

Following this study, we note that these results illustrate the predominance of the hepatoprotective pharmacological activity of macerated leaves of *Rhamnus alaternus*. This study deserves to be further investigated in future perspectives.

Keywords:

***Rhamnus alaternus*, Hepatoprotective activity, CCL4, Albinos Wistar rats, biochemical marker.**

ملخص

رامنوس الاتيرنوس (بالإنجليزية *Rhamnus alaternus*) هو نوع من النباتات الطبية من فصيلة الرامناسية التي كانت موضوع العديد من المؤشرات العلاجية في الطب التقليدي في منطقة البحر الأبيض المتوسط. الغرض من هذه الدراسة هو تقييم النشاط الوقائي للكبد (النشاط المضاد للأكسدة) لمستخلص منقوع اوراق *Rhamnus alaternus* في الهيدروميثانول لدى اناث الجرذان (Wistar albinos) التي عرضت لرابع كلوريد الكربون (CCL4).

بالتالي قسمت الحيوانات الى 6 مجموعات 6 جرذان في كل مجموعة حسب وزن جسمها و عولجت بالمستخلص بجرعات مختلفة : 250 و 500 و 750 ملغ/كغ، وب : CCL4 بجرعة 1 مل/كغ ؛ لمدة 15 يوماً.

وبعد تحليل النتائج، أظهر مستخلص الميثانول المنقوع من الجرعات الثلاث نشاطاً وقائياً هاماً للكبد (خاصة بالنسبة للجرعة 3: الجرعة الفعالة) عبّر عنه انخفاض كبير في المؤشرات البيو كيميائية الأنزيمية مثل الفوسفاتاز القلوي (ALP) وترانساميناز (GPT و GEO).

في نهاية هذه الدراسة، نعتبر أن هذه النتائج توضح هيمنة النشاط الدوائي الوقائي للكبد لأوراق *Rhamnus alaternus*. تستحق هذه الدراسة المزيد من الاستكشاف في المستقبل.

الكلمات المفتاحية:

Rhamnus alaternus، النشاط الوقائي للكبد ، CCL4 ، جرذان Wistar albinos ، المؤشرات البيو كيميائية الأنزيمية.