



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie Animale

قسم : بيولوجيا الحيوان

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques / Biotechnologies / Écologie et Environnement

Spécialité : Toxicologie et santé

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**L'effet thérapeutique d'extraits Aqueux des plantes
médicinales algériennes *Marrubium sp* et *Ruta sp* contre la
toxicité hépatique induite par le Tétrachlorure de Carbone**

Présenté par : Soualmia Mannar

Le : 12/06/2024

Taleb Maissa

Jury d'évaluation :

Président : MENAD Ahmed (Pr - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : IHOUAL Safia (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Examineur(s) : DEHILI Nedjoua (MAA - U Constantine 1 Frères Mentouri).

ATTALLAH Saleh (Pr - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Année universitaire
2023 - 2024

Remerciement

Nous tenons avant tout à exprimer notre profonde gratitude à Dieu, tout puissant et miséricordieux, pour la force et la patience qui nous ont permis de mener à bien ce travail.

Nos remerciements chaleureux vont à notre encadreuse, Mme Ihouel pour son accompagnement bienveillant, sa rigueur et sa générosité scientifique.

Nous remercions également les membres du jury, Pr Menad Ahmed, Pr Attallah Saleh et Mme Dehili Nedjoua, pour leur intérêt et leurs acceptation de superviser notre travail.

Nos sincères remerciements s'adressent aussi à l'ensemble du personnel du département de Biologie Animale de l'Université Frères Mentouri Constantine, notamment M. Medassi, chef de département, et M. Boulkandoul.

Enfin, nous exprimons notre gratitude à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicace 1

Du fond de mon cœur, je dédie ce travail :

À ma mère Nadjat, et mon père Ali bien-aimé, pour votre amour inconditionnel et votre soutien indéfectible, vous êtes ma source d'inspiration et de force.

À mon grand frère Ziad, merci pour ta présence constante et tes encouragements. À mes sœurs adorées Manel, Maïssa, et à ma petite sœur chérie Hala, votre affection et votre complicité illuminent ma vie.

À la lumière de notre famille, la petite Mayar, et à sa mère Maroua, votre joie et votre énergie apportent une chaleur sans pareille.

À ma tante, Docteur Hanen, pour ton aide précieuse et ton soutien inestimable dans la réalisation de ce mémoire, je te suis profondément reconnaissant.

À mes grands-parents et à toute ma famille, votre amour et vos prières m'ont porté jusqu'ici.

À mes chers amis Djihen, Ikram, et Nabila, Afnen, Selma, Maïssa, Darin et Abir votre amitié est un trésor inestimable. À tous mes collègues de la promotion 2019.

Vous avez tous contribué à faire de cette expérience une aventure mémorable et enrichissante.

Avec toute ma gratitude et mon affection.

Manar

Dédicace 2

Du fond de mon cœur, je dédie ce travail :

À ma mère, Benlahrech Fatima Zohra, la plus belle créature que Dieu ait créée sur terre, source de tendresse, de patience et de générosité. Je t'aime profondément.

À mon cher père, Taleb Farouk, ma fierté. Je suis la personne que je suis aujourd'hui grâce à toi. La vie m'a offert le meilleur père qui soit.

À mes sœurs, Sara, Ines, Chourouk, Bassema et Nadjah, dont la présence à mes côtés et le soutien me seront toujours indispensables.

*À mes nièces, Dania, Balssem, Lilia et Julia, qui apportent amour et vivacité à notre famille.
À mon amie proche Zouzou, malgré la distance qui nous sépare, en témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments partagés.*

À mes amies, Selma, Afnan, Manar, Chaima, Hiba, Romaisa, Abir, Darine et Sirine, pour vos encouragements, votre affection, et les moments inoubliables que nous avons vécus ensemble au fil des années. Je vous souhaite également bonne chance.

À tous ceux qui m'aiment, à tous ceux que j'aime.

Maissa

Sommaire

Remerciement

Dédicace 1

Dédicace 2

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Partie I : Revue Bibliographique

I. Le foie 3

I.1. Structure anatomique du foie 3

I.2. Histologie hépatique 3

I.3. Vascularisation hépatique 4

I.4. Anatomie segmentaire du foie 4

I.5. Les Fonctions du Foie 6

I.6. Pathologie hépatique : 8

I.6.1. Stéatose 8

I.6.2. Nécrose 9

I.6.3. Fibrose 9

I.6.4. Cirrhose : 10

II. Le tétrachlorure de carbone : 11

II.1. Structure 11

II.2. Utilisations 11

II.3. Principale source d'exposition 12

II.4. Toxicocinétique 12

II.4.1. Absorption 12

II.4.2. Distribution 13

II.4.3. Métabolisme : 13

II.4.4. Excrétion 15

III. L'hepatotoxicité 16

III.1.1. La toxicité aigüe : 16

III.1.2. La toxicité chronique : 16

III.2.	Aspects biochimiques de l'hépatotoxicité du CCl4	16
III.2.1.	Stress oxydatif	16
III.2.2.	Peroxydation lipidique	17
III.2.3.	Activation de cytokines pro-inflammatoires	18
III.2.4.	Processus d'apoptose hépatique induit par le CCl4.....	18
III.3.	Aspects histologiques des lésions hépatiques induites par le CCl4	19
III.4.	Les biomarqueurs hépatique :	20
III.4.1.	Aminotransaminases :.....	20
III.4.2.	Phosphatase alcaline (PAL) :.....	20
III.4.3.	Bilirubine (BRB) :.....	20
III.4.4.	La gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) :.....	21
III.4.5.	Albumine :	21
IV.	<i>Marrubium SP</i>	22
IV.1.	Définition.....	22
IV.2.	Répartition géographique.....	22
IV.3.	Description morphologique	23
IV.4.	Classification taxonomique.....	24
IV.5.	Composition phytochimique.....	24
IV.6.	Utilisation traditionnelle	25
V.	<i>Ruta SP</i>	26
V.1.	Définition.....	26
IV.2.	Description morphologique	26
V.2.	Répartition géographique	27
V.3.	Classification taxonomique	28
V.4.	Les principaux constituants.....	29
IV.6.	Utilisation traditionnelle	29
V.5.	Toxicité	30
VI.	Le stress oxydatif.....	31
VI.1.	Les radicaux libres	31
VI.2.	Les antioxydants.....	32
VI.3.	Mécanismes d'action des antioxydants.....	32
VI.3.1.	Antioxydants enzymatiques.....	32
VI.3.2.	Antioxydants non enzymatiques.....	32

- Tocophérols (dont la vitamine E).....32
- Acide ascorbique (vitamine C).....33
- Les polyphénols :33
- Les flavonoïdes :33
- Les tanins.....34
- Les alcaloïdes34
- Les saponosides.....35
- Le butylhydroxytoluène (BHT) :.....35

Partie II : Matériels et méthodes

- I. Matériel..... 35
 - I.1. Matériel biologique (Echantillonnage)..... 35
 - I.1.1. Matériel végétal 35
 - I.1.2. Le tétrachlorure de carbone 35
 - I.2. Réactifs chimiques et instrumentations 35
 - I.3. Les appareils utilisés..... 36
 - I.4. Matériel animal 36
 - I.4.1. Etude expérimentale 36
- II. Méthodes 37
 - II.1. Préparation et étude du matériel végétal :..... 37
 - II.1.1. Préparation de l'extrait aqueux des plantes *Marrubium sp* et *Ruta sp* : 37
 - II.1.2. Etude phytochimique : 37
 - Mise en évidence des tanins37
 - Mise en évidence des saponosides37
 - Mise en évidence des composés réducteurs38
 - Mise en évidence des alcaloïdes.....38
 - II.1.3. Peroxydation des lipides 38
 - II.1.4. Activité anti-oxydante 39
 - DPPH (effet scavenger) :.....39
 - II.2. Traitement des animaux 40

II.2.1.	Les groupes des animaux	41
II.3.	Sacrifice des animaux et prélèvement d'échantillons biologiques.....	41
II.4.	Préparation de la fraction cytosolique de tissus 10%	41
II.4.1.	Évaluation du MDA, GST et du GSH hépatique	42
II.4.2.	Dosage du glutathion réduit hépatique	42
II.4.3.	Dosage de l'activité de la catalase cytosolique	44
II.4.4.	Dosage du Glutathion- S-transférase (GST)	44
II.5.	Dosage des paramètres biochimiques	46
II.6.	Préparation des échantillons des coupes histologiques	46
II.6.1.	L'analyse histologique	46
II.7.	Evaluation statistique.....	47
<i>Partie III: Résultats et discussion</i>		
I.	Résultats.....	48
I.1.	Préparation et étude du matériel végétal :.....	48
I.1.1.	Préparation de l'extrait aqueux de <i>Marrubium sp</i> et <i>Ruta sp</i> :	48
I.1.2.	Etude phytochimique	48
I.1.3.	Peroxydation lipidique :	49
I.1.4.	L'activité antioxydant :	51
•	DPPH :	51
I.2.	Les paramètres biochimique.....	52
I.2.1.	ASAT/ALAT.....	52
I.2.2.	P. Alcaline	53
I.2.3.	GGT.....	54
I.3.	Evaluation du MDA, CAT, GSH et GST :	55
I.3.1.	MDA.....	55
I.3.2.	Catalase	56
I.3.3.	GSH.....	57
I.3.4.	GST	58
I.4.	Analyse des coupes histologique :	59
II.	Discussion.....	65
Conclusion		72

Références bibliographiques

Résumé

Liste des abréviations

AGPI : Acides Gras Polyinsaturés

ALAT ou TGP : Alanine aminotransférase ou transaminase glutamo-pyruvique

APOP : Apoptose

ASAT ou TGO : Aspartate aminotransférase ou transaminase glutamo-oxaloacétique

BHA : Butylhydroxyanisole

BHT : Butylhydroxytoluène

BRB : Bilirubine

CAT : Catalase

CCl₄ : Tétrachlorure de carbone

CDG syndrome : Syndrome des congénitaux de glycosylation

CDNB : 1-Chloro-2,4-dinitrobenzène

CFC : Chlorofluorocarbures

CH₃COOH : Acide acétique

CH₃OH : Méthanol

CHCl₃ : Chloroforme

CHUC : Centre Hospitalo-Universitaire Ben Badis de Constantine

Cl₃CCCl₃ : Hexachloroéthane

DPPH: 1, 1-Diphényl-2-picrylhydrazyl

DTNB : Acide 5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoïque)

EAM : Extrait Aqueux de Marrubium sp.

EAR : Extrait Aqueux de Ruta sp.

GLDH : Glutamate déshydrogénase

GGT : Gamma-glutamyl transpeptidase

GR : Glutathion Réductase

GPx : Glutathion peroxydase

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Glutathion Disulfure (glutathion oxydé)

GST : Glutathion S-Transférase

H&E : Hématoxyline et Éosine (méthode de coloration)
H₂SO₄ : Acide sulfurique
HCl : Acide chlorhydrique
HOCl : Acide hypochloreux
IC₅₀ : Concentration Inhibitrice à 50%
IL-1 β : Interleukine 1 bêta
IL-6 : Interleukine 6
I₂ : Diode
MDA : Malondialdéhyde
MPO : Myéloperoxydase
OMS : Organisation mondiale de la santé
PAL : Phosphatase alcaline
SDH : Succinate déshydrogénase
SDS : Dodécylsulfate de Sodium
SOD : Superoxyde dismutase
TAC : Capacité antioxydante totale
TBA : Acide thiobarbiturique
TBARS : Substances Réactives à l'Acide Thiobarbiturique
TCA : Acide trichloroacétique
TNB : Acide 5-Thio-2-nitrobenzoïque
TNF- α : Facteur de nécrose tumorale alpha
TOS : Statut oxydatif total
UGT1A1 : UDP-glycuronyltransférase 1A1

Liste des figures

Figure 1 : Anatomie du foie.....	3
Figure 2 : Coupe transversale d'un lobule hépatique.	4
Figure 3 : Segmentation du foie d'après Couinaud	6
Figure 4 : <i>Le stéatose</i>	8
Figure 5 : Structure chimique de tétrachlorure de carbone	11
Figure 6 : Principales voies métaboliques du tétrachlorométhane	14
Figure 7 : Schéma de la pathogenèse des lésions hépatiques induites par le CCl ₄	17
Figure 8 : Mécanisme cellulaire des lésions hépatiques dues à une intoxication aiguë au CCl ₄ . L'effet du métabolite toxique CCl ₄ (●CCl ₃) sur les hépatocytes et les cellules de Kupffer.....	18
Figure 9 : Effet du CCl ₄ sur le tissu hépatique. La coloration à l'hématoxyline-éosine montre la morphologie cellulaire dans le contrôle (A), CCl ₄ (B) de rats Les flèches indiquent les cellules infiltrantes.....	19
Figure 10 : Répartition géographique du genre <i>Marrubium</i> dans le monde.....	22
Figure 11 : <i>Marrubium</i> SP "white horehound", "Meriouat" in Arabic. Whole plant (a), flowers (b), fruit capsules (achene) (c), seeds (d).....	23
Figure 12 : <i>Ruta sp</i> (a) whole plante, (b) les feuille de <i>Ruta sp</i> , (c) la fleur de <i>Ruta sp</i>	27
Figure 13 : Distribution of <i>Ruta sp</i> and selected areas	28
Figure 14 : Réactions de formation de radicaux libres	31
Figure 15 : Les cycles réactionnels de régénération des antioxydants	33
Figure 16 : Piégeage des ROS (R•) par les flavonoïdes	34
Figure 17 : Structure du BHT	35
Figure 18 : Forme réduite du radical DPPH.....	40
Figure 19 : La formule chimique de la glutathion réduit Source spécifiée non valide.	43
Figure 20 : le pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique de l'extrait aqueux de <i>Marrubium sp</i> et <i>Ruta sp</i>	50
Figure 21 : le pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique de l'extrait aqueux de <i>Marrubium sp</i> et <i>Ruta sp</i>	51
Figure 22 : la concentration inhibitrice 50% de l'extrait aqueux de <i>Marrubium sp</i> et <i>Ruta sp</i> et de BHT qui inhibent 50% du radical DPPH.....	52

Figure 23 : Effet de CCl4 et EAM, EAR sur la fonction du Foie et sa libération des transaminases ALAT et ASAT.....	53
Figure 24 : Effet de CCL4 et EAM, EAR sur le niveau de PAL dans le foie	54
Figure 25 : Effet de CCl4 et des extraits aqueux de Marrubium vulgare et Ruta graveolens sur la fonction hépatique et la libération de la gamma-glutamyl transférase (GGT)	55
Figure 26 : Variation des taux de MDA cytosolique chez les rats intoxiqués par le CCl4 seuls et traités avec es extraits aqueux (EAM) et (EAR).	56
Figure 27 : Effet de l'extrait d'EAM et EAR sur le niveau de CAT dans le foie.....	57
Figure 28 : Effet de l'extrait aqueux de Marrubium sp et Ruta sp sur le niveau de GSH dans le foie	58
Figure 29 : Effet de l'extrait aqueux des plantes Marrubium sp et Ruta sp sur le niveau de GST dans le foie.....	59
Figure 30 : Coupes histologiques du foie du groupe Témoin Coloration hématoxyline-éosine A (G×100) et B (G×400)	60
Figure 31 : Coupes histologiques du foie du groupe intoxiqué par CCl4 Coloration hématoxyline-éosine A (G×100) et B (G×400).....	61
Figure 32 : Coupes histologiques du foie du groupe CCL4+EAM Coloration hématoxyline-éosine A (G×100) et B (G×400)	62
Figure 33 : Coupes histologiques du foie du groupe CCL4+EAR Coloration hématoxyline-éosine A (G×100) et B (G×400).....	63
Figure 34 : Coupes histologiques du foie du groupe EAM Coloration hématoxyline-éosine A (G×100) et B (G×400).....	63
Figure 35 : Coupes histologiques du foie du groupe EAR Coloration hématoxyline-éosine A (G×100) et B (G×400).....	64

Liste des tableaux

Tableau 1 La systématique du marrube.....	24
Tableau 2 Position systématique de la plante Ruta Sp.....	28
Tableau 3 Réactifs chimiques et instrumentation.....	35
Tableau 4 Le rendement d'extrait aqueux de Marrubium sp et Ruta sp	48
Tableau 5 Analyse Phytochimiques préliminaire d'extrait aqueux de Marrubium sp et Ruta sp	48

Introduction

Introduction

Le foie est un organe crucial pour le maintien de l'homéostasie gastro-intestinale et des fonctions corporelles en général. En plus de son rôle dans le processus digestif, il sert également de source de nutriments et de détoxifiant des substances indésirables. Son bon fonctionnement est donc essentiel pour la santé et la prévention des maladies. Un déséquilibre entre les forces agressives et protectrices entraîne des dommages hépatiques, impliquant des mécanismes complexes dans l'hépatotoxicité causée par divers agents environnementaux et chimiques [1].

Chaque année, environ 2 millions de personnes à travers le monde meurent de maladies hépatiques. La pathogenèse des maladies du foie a été associée au stress oxydatif dans plusieurs études [2].

Le tétrachlorure de carbone (CCl₄) est couramment utilisé pour induire une hépatotoxicité chez les animaux de laboratoire. Cette toxicité se manifeste par une nécrose hépatocellulaire et un dépôt de graisse [3].

Les antioxydants suscitent actuellement un grand intérêt chez les biologistes et les cliniciens, car ils jouent un rôle crucial dans la protection de l'organisme humain contre les dommages induits par les espèces réactives de l'oxygène [4].

Le règne végétal offre une richesse de solutions thérapeutiques pour diverses maladies. Actuellement, de nombreux chercheurs se consacrent à la création de produits médicinaux naturels et d'extraits de plantes pour prévenir et traiter un large éventail de pathologies. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), environ 80 % des populations dans de nombreux pays recourent à la médecine traditionnelle pour leurs soins de santé [5].

Nous avons sélectionné deux plantes aromatiques, réputées pour leurs propriétés antioxydantes et leur utilisation en médecine traditionnelle pour le traitement de diverses maladies.

Le *Marrubium sp*, connues sous le nom "Marriout". Le *Ruta sp*, appelée figel. Nous avons choisi ces deux espèces végétales pour 'évaluer l'efficacité thérapeutique sp dans la régénération hépatique après une hépatotoxicité induite par le CCl₄, en réduisant le stress oxydatif et les dommages cellulaires pour favoriser une récupération plus efficace du foie.

Afin de répondre à ces objectifs, ce mémoire est structuré en trois parties principales :

- Revue bibliographique : Présente les connaissances actuelles sur les hépatotoxicités induites par le CCl₄ et les propriétés antioxydants de *Marrubium sp* et *Ruta sp*.
- Matériels et méthodes : Décrit les protocoles expérimentaux, incluant la préparation des extraits, l'induction de la toxicité, et les méthodes d'évaluation biochimique et histologique.
- Résultats et discussion : Analyse les effets des extraits sur la réduction du stress oxydatif et la protection hépatique, en interprétant les données obtenues.

Partie I :
Revue bibliographique

I. Le foie

I.1. Structure anatomique du foie

Le foie est l'un des plus gros organes du corps humain, pesant généralement entre 1,6 et 2 kilogrammes, et joue un rôle essentiel dans le maintien de la santé. [6].

En tant que plus grande glande du corps, elle maintient l'homéostasie avec les autres organes. Il se trouve sous le diaphragme droit et, anatomiquement, il se compose de deux lobes distincts séparés par le ligament falciforme, qui le relie également à la paroi abdominale antérieure (figure 1). La région connue sous le nom de hile se trouve sur la surface inférieure du foie. C'est à cet endroit que les vaisseaux de la veine porte et de l'artère hépatique ainsi que les canaux biliaires traversent l'organe [7].

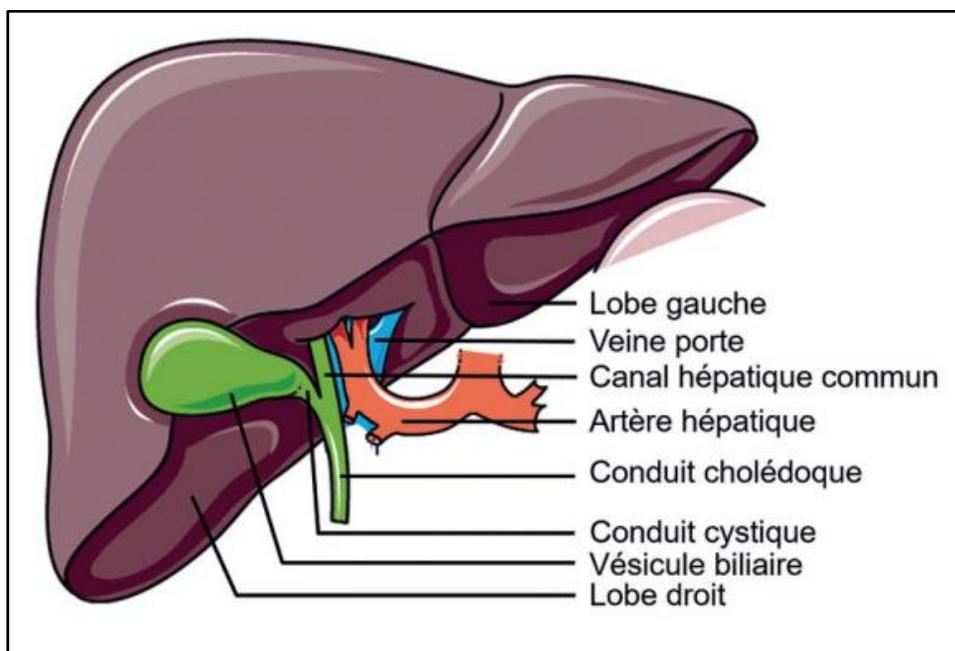


Figure 1 : Anatomie du foie [6]

I.2. Histologie hépatique

Les lobules hépatiques, qui adoptent une forme hexagonale, sont centrés autour de la veine Centro-lobulaire. Ils sont circonscrits par des ramifications issues de l'artère hépatique, de la voie biliaire et de la veine porte. Ces lobules sont principalement composés d'hépatocytes, qui représentent 60% de leur constitution et 80% du poids du foie (figure 2). Ces cellules

polyédriques sont très spécialisées et leur forme peut varier selon leur emplacement dans le lobule. Outre les hépatocytes, la structure des lobules inclut également les cholangiocytes formant les canaux biliaires, les cellules endothéliales des sinusoides, les cellules stellaires impliquées dans le stockage et la réparation, les cellules de Kupffer qui sont des macrophages, et les cellules à granulation, principalement des lymphocytes [8].

Ensemble, ces éléments constituent la triade portale, essentielle pour la fonction hépatique [6].

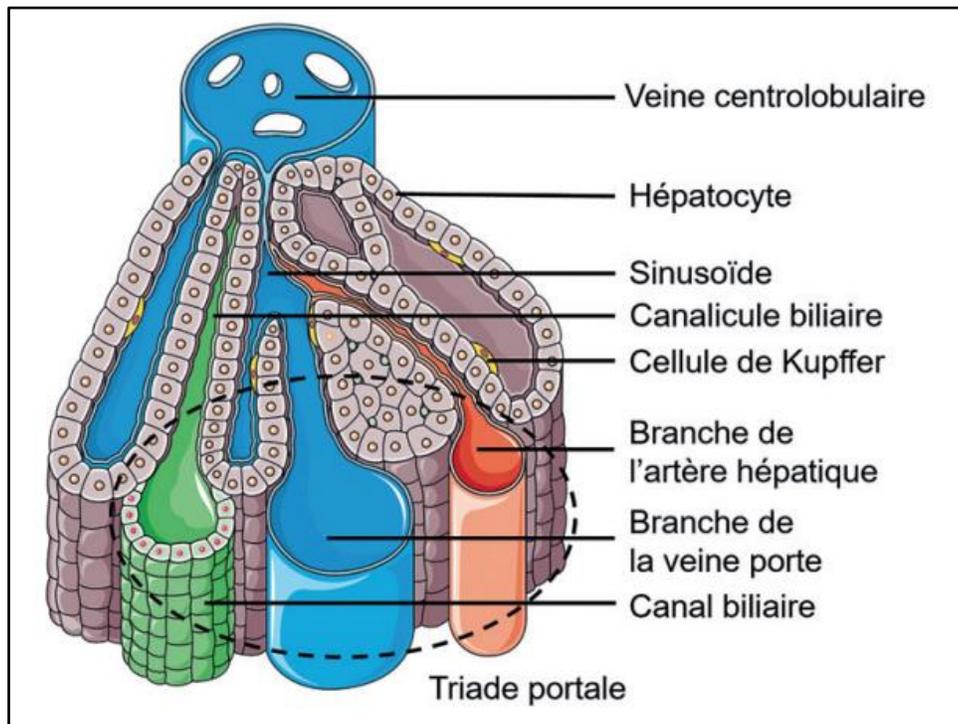


Figure 2 : Coupe transversale d'un lobule hépatique. [6]

I.3. Vascularisation hépatique

La vascularisation unique du foie est caractérisée par deux réseaux veineux distincts : la veine porte et la veine hépatique. Représentant environ 25 à 30 % du débit cardiaque total, le foie joue un rôle crucial dans la circulation. Hautement vascularisé, il reçoit la majorité de son apport sanguin à la fois de la veine porte et de l'artère hépatique. Ces vaisseaux convergent au sein des sinus hépatiques, des capillaires interagissant étroitement avec les hépatocytes pour faciliter les échanges vitaux. Par la suite, le sang circule dans les veines centrolobulaires pour former finalement les veines hépatiques, qui se jettent dans la veine cave inférieure [9].

I.4. Anatomie segmentaire du foie

Le système de segmentation du foie, décrit par Couinaud, repose sur l'identification des trois veines hépatiques et du plan passant par la bifurcation de la veine porte. Cette classification est aujourd'hui la plus utilisée en chirurgie, car elle permet une localisation précise et un suivi efficace des lésions intra-parenchymateuses [10].

Couinaud a divisé le foie en huit unités fonctionnelles indépendantes [11], chacune contenant une artère centrale, une veine porte, une ou plusieurs voies biliaires, ainsi qu'un drainage veineux périphérique par une veine hépatique ou une de ses branches. Les segments sont numérotés de I à VIII : les segments II, III et IV appartiennent au foie gauche, tandis que les segments V, VI, VII et VIII appartiennent au foie droit. Le segment I, distinct par sa vascularisation, se draine directement dans la veine cave inférieure. Récemment, un segment IX a été ajouté, correspondant à la partie droite du segment I [12].

➤ **Segments II et III**

Le lobe gauche du foie est irrigué par les branches des segments II et III, qui proviennent de la branche porte gauche. Les segments II et III sont vascularisés par l'artère hépatique moyenne ou gauche, et drainés par la veine hépatique gauche. La distinction entre ces segments n'est pas cliniquement significative [13].

➤ **Segment IV**

Le lobe carré, ou segment IV, se trouve entre le lobe gauche et le lobe droit du foie. Il reçoit du sang des branches portes provenant de la branche porte gauche, depuis son origine jusqu'à sa terminaison. Le drainage veineux s'effectue par des branches de la veine hépatique médiane, qui draine également les segments V et une partie des segments VIII. Lors de la volumétrie, les limites du segment IV sont définies à gauche comme celles du lobe gauche, et à droite selon le plan du lit vésiculaire et la veine hépatique médiane [14] , [15].

➤ **Secteur antérieur droit (segments V et VIII)**

La portion droite du foie est irriguée par des branches portes sectorielles antérieures, avec des branches ascendantes pour le segment VIII et descendantes pour le segment V [14]. Le segment V est délimité par la veine hépatique médiane et la veine hépatique droite, qui présente souvent des variations. Les frontières entre les segments V et VI sont difficiles à distinguer en TDM [16].

➤ **Secteur postérieur (segment VI et VII)**

Le secteur postérieur droit du foie comprend le segment VI en bas et le segment VII en haut. La branche porte sectorielle postérieure, issue de la branche porte droite, se divise pour alimenter ces segments. Le drainage veineux est assuré par la veine hépatique droite, avec une veine accessoire qui se déverse dans la veine cave inférieure près de la bifurcation portale [16].

➤ Segment I

Ce segment, entre la bifurcation portale et le sillon veineux d'Arantius en avant, et la capsule postérieure du foie en arrière, a une forme variable. Il reçoit des branches du tronc porte et de la bifurcation portale, drainant par plusieurs veines hépatiques vers la veine cave inférieure.

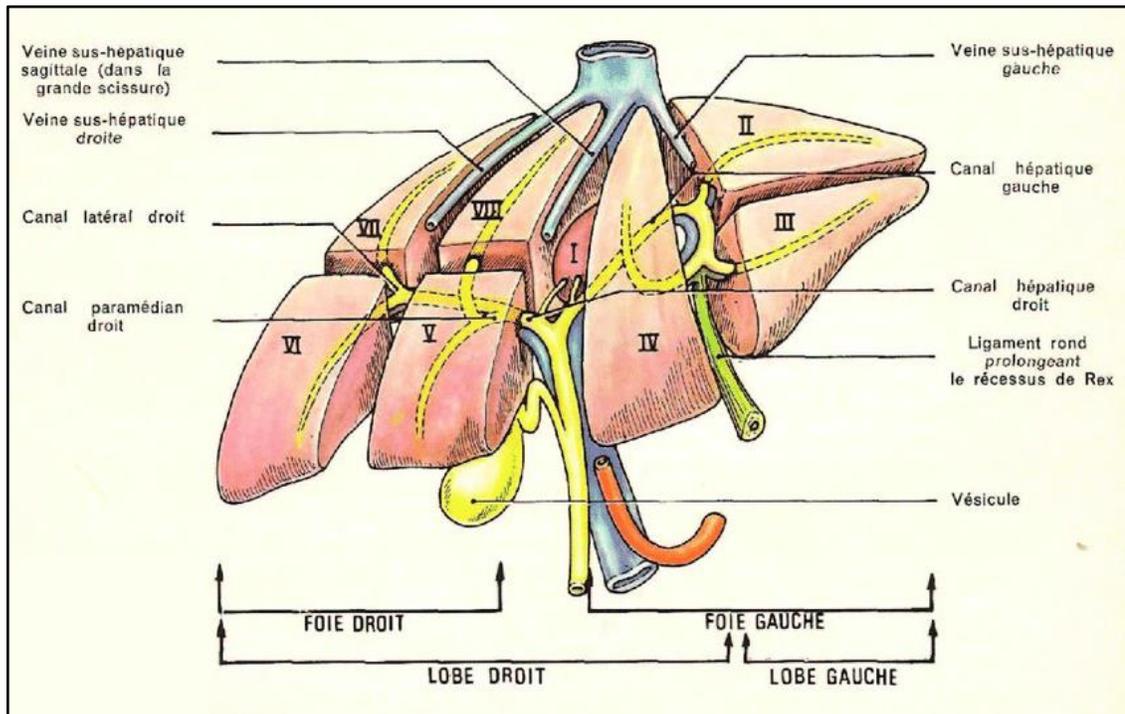


Figure 3 : Segmentation du foie d'après Couinaud [11]

I.5. Les Fonctions du Foie

Le sang de la veine porte atteint le foie, qui est rempli de grandes quantités de substances produites par la digestion ou l'activité des organes du système digestif. Ces molécules sont captées et transformées chimiquement par les cellules hépatiques équipées d'enzymes spécifiques. Ces modifications effectuées par le foie sont vitales pour l'organisme. Leurs principaux objectifs sont : [17]

- **Stockage et distribution des nutriments pendant la :**

Le foie maintient l'équilibre de la glycémie en libérant du glucose en cas de besoin ou en le stockant sous forme de glycogène en cas d'excès. Ce processus permet de réguler efficacement le niveau de sucre dans le sang [18].

Les lipides qui parviennent au foie sont transformés en triglycérides et stockés dans les cellules hépatiques. En réponse aux besoins énergétiques du corps, ces triglycérides peuvent être décomposés en acides gras et utilisés comme source d'énergie [17].

- **Synthèse de la plupart des protéines sanguines :**

La plupart des protéines sanguines, à l'exception des immunoglobulines, sont produites par les hépatocytes dans le foie. L'albumine, notamment, est synthétisée en grande quantité chaque jour, jouant un rôle crucial dans le transport de diverses substances. En plus de l'albumine, le foie produit également plusieurs enzymes et protéines impliquées dans la coagulation sanguine [19].

En cas de dysfonctionnement hépatique, la production de ces protéines peut être altérée, ce qui peut entraîner des complications telles que l'ascite due à un manque d'albumine et des problèmes de coagulation susceptibles de provoquer des saignements [17].

- **Dégradation des substances toxiques :**

Le foie joue un rôle essentiel dans la détoxification du corps en transformant les substances toxiques en produits non-toxiques. Ces produits sont ensuite éliminés soit par la bile dans les selles (pour les substances liposolubles), soit par le sang vers les reins pour être excrétés dans les urines (pour les substances hydrosolubles) [17].

Les enzymes hépatiques, divisées en deux phases, sont cruciales dans ce processus. Les enzymes de la phase I, principalement les cytochromes P450, ajoutent des groupes hydrophiles aux toxines pour les rendre plus hydrosolubles. Les enzymes de la phase II, comme la glutathion S-transférase et l'uridine 5'-diphospho-glucuronyltransférase, conjuguent des éléments hydrophiles aux groupes ajoutés lors de la phase I. Cette augmentation de l'hydrophilie favorise l'élimination finale des molécules toxiques dans les urines [18].

- **Production de la bile :**

La sécrétion biliaire est une fonction continue des cellules hépatiques. Cette substance jaunâtre, la bile, renferme divers constituants tels que la bilirubine, les acides biliaires, le

cholestérol, la lécithine, et bien d'autres encore. Les acides biliaires et ces composants participent activement à la digestion des graisses dans l'intestin grêle. De plus, la bile assure le transport des produits liposolubles à éliminer vers l'intestin après leur traitement dans le foie [17].

I.6. Pathologie hépatique :

I.6.1. Stéatose

La stéatose hépatique se caractérise par l'accumulation d'acides gras et de triglycérides dans le foie, observable sous microscope par la présence de vacuoles contenant des triglycérides. Deux types de stéatose sont distingués en fonction de la taille des vacuoles : macro-vacuolaire (plus grandes) et micro-vacuolaire (plus petites) comme le montre (la figure 4). Initialement localisée dans les zones péri-centrolobulaires, sa gravité est évaluée selon le pourcentage d'hépatocytes touchés, noté de 0 à 3 [20].

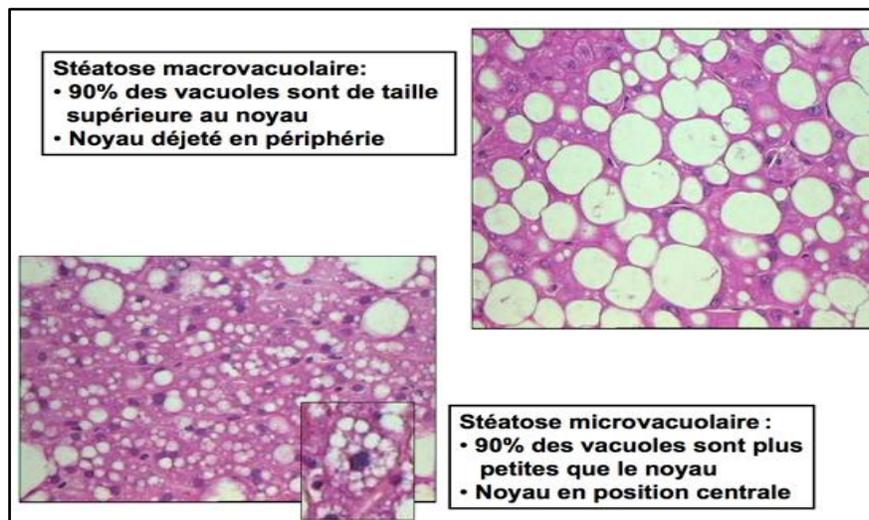


Figure 4 Le stéatose [21]

Dans la population générale, la stéatose hépatique touche environ 20 à 25% des individus, mais cette estimation est probablement sous-évaluée en raison des limites de l'échographie. Bien que souvent asymptomatique et réversible, elle peut évoluer vers des stades plus avancés tels que la fibrose et la cirrhose, et augmenter le risque de développer des cancers hépatiques, notamment le carcinome hépatocellulaire. [21]

I.6.2. Nécrose

La nécrose est la mort prématurée des cellules et des tissus dans un organisme vivant, souvent causée par une blessure, une infection ou un manque d'apport sanguin.

Le tétrachlorure de carbone (CCl₄) provoque une nécrose hépatocytaire, un ictère et une nécrose tubulaire rénale par un mécanisme de toxicité indirecte. Cela est souvent précédé de symptômes neurologiques (vertiges, troubles visuels, confusion) et digestifs (douleurs abdominales, vomissements, diarrhée). Les expositions chroniques peuvent entraîner une cirrhose. Après les troubles digestifs initiaux, on peut observer une hépatite stéatosique, une nécrose tubulaire rénale et une psychose toxique, menant finalement à la cirrhose en cas d'exposition prolongée. [22].

I.6.3. Fibrose

La fibrose hépatique est une réaction de guérison du foie en réponse aux dommages causés par son exposition à des médicaments ou à des substances toxiques [23]. La caractéristique pathologique principale de [24]. Cette fibrose peut évoluer vers des conditions plus sévères telles que la cirrhose, l'hypertension portale, voire des cancers hépatocellulaires, entraînant ainsi un taux plus élevé de maladies et de décès [25].

Le tétrachlorure de carbone (CCl₄), un réactif toxique bien connu qui provoque la fibrose hépatique et des lésions hépatiques, a été largement utilisé dans les études sur le foie [26]. Les dommages au foie sont causés par le développement de radicaux libres réactifs à l'oxygène (ROS) et de radicaux libres de trichlorométhyle déclenchés par le cytochrome P450 2E1 hépatique (CYP2E1) [27].

La fibrose hépatique est le résultat d'un processus où des hépatocytes endommagés libèrent des enzymes lysosomales, déclenchant la libération de cytokines dans la matrice extracellulaire. Ces cytokines activent les cellules de Kupffer et attirent les cellules inflammatoires, déclenchant une cascade inflammatoire. En réponse, les cellules stellaires hépatiques se transforment en myofibroblastes et les monocytes en macrophages, entraînant une prolifération des fibroblastes et une synthèse excessive de la matrice extracellulaire, conduisant à un dépôt accru dans l'espace de Dix. Malgré la tentative de régénération hépatocytaire, la fibrose altère la structure normale du foie, formant des nodules de régénération [22].

I.6.4. Cirrhose :

La cirrhose, un stade avancé de la fibrose hépatique, se caractérise par une altération diffuse de la structure du foie, avec formation de fibrose autour des nodules hépatocytaires de régénération. Cette condition est associée à des complications graves telles que l'hypertension portale, l'encéphalopathie hépatique, les infections du liquide d'ascite, le syndrome hépatorénal et un risque accru de carcinome hépatocellulaire. La cirrhose résulte de l'inflammation chronique et de l'obstruction vasculaire et biliaire, progressant souvent de manière asymptomatique sur de nombreuses années avant de compromettre la fonction hépatique, pouvant conduire à l'insuffisance hépatique et au développement de tumeurs hépatiques primaires [29] [22].

II. Le tétrachlorure de carbone

Le tétrachlorure de carbone, un composé halogéné volatil, est largement répandu dans l'environnement en raison de son utilisation industrielle. C'est un liquide dense, clair, incolore, ininflammable et possédant une odeur caractéristique [30].

Sa durée de vie est de 6 à 12 mois dans l'eau ou le sol et de 30 à 100 ans dans l'atmosphère. Il est également désigné par divers autres noms courants tels que "tétra", "Freon 10", "perchlorométhane" ou "tétrachlorométhane" [30].

En tant qu'hépatotoxique classique, le tétrachlorure de carbone est connu pour causer une fibrose hépatique et des lésions du foie, ce qui en fait un agent expérimental pour développer des modèles de toxicité hépatique [32].

II.1. Structure

Les molécules de tétrachlorure de carbone présentent une géométrie moléculaire tétraédrique, où l'atome de carbone central est lié à quatre atomes de chlore. La structure des molécules de CCl_4 peut être représentée de la manière suivante (figure 5) :

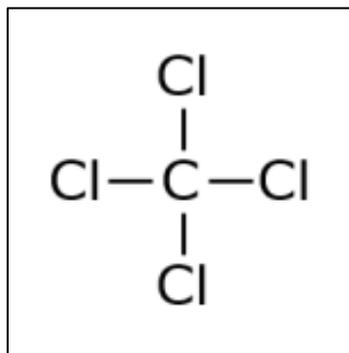


Figure 5 : Structure chimique de tétrachlorure de carbone [30]

II.2. Utilisations

Le tétrachlorure de carbone, un composé largement utilisé dans l'industrie, joue un rôle clé dans la production de chlorofluorocarbures (CFC). Ces derniers sont essentiels comme réfrigérants, propulseurs dans les aérosols, et pour la fabrication d'autres composés chlorés. [34] Il est également utilisé dans la synthèse du nylon et comme solvant organique, additif de carburant, et dégraissant métallique. [35]. En outre, il trouve son application dans le nettoyage des machines et des équipements électriques. Historiquement, le tétrachlorure de carbone a été

employé dans de nombreux secteurs, tels que l'agriculture comme insecticide pour la fumigation des grains, et en médecine comme vermifuge et anesthésique. Cependant, en raison de sa toxicité, son utilisation a été grandement réduite depuis l'adoption du Protocole de Montréal en 1987, qui régule les substances dégradant la couche d'ozone [34].

Aujourd'hui, ses applications sont principalement limitées à des fins spécifiques telles que réactif de laboratoire, intermédiaire de synthèse, ou agent de fabrication [36].

II.3. Principale source d'exposition

Le tétrachlorure de carbone, en raison de sa haute pression de vapeur à température ambiante, se retrouve essentiellement dans l'air. On estime que moins de 1 % de cette substance se trouve dans l'eau, environ 2 % dans les sols, tandis que près de 97 % sont présents dans l'atmosphère [34], [37].

II.4. Toxicocinétique

Le tétrachlorométhane, une fois absorbé par toutes les voies d'exposition, est rapidement distribué dans tout le corps, principalement dans les tissus riches en graisses. Au niveau hépatique, il produit des métabolites toxiques et est excrété sous forme de métabolites ou sous forme inchangée, principalement par l'expiration et les selles [38].

II.4.1. Absorption

Le tétrachlorure de carbone est principalement absorbé par l'inhalation et l'ingestion. Bien que l'absorption par la peau soit possible, [34]

Lorsqu'il est ingéré, l'absorption se fait rapidement au niveau de l'intestin, et sa rapidité peut être accentuée par la présence d'alcool ou de graisses dans l'alimentation. [39] Même la consommation de petites quantités peut entraîner de graves hépatites, potentiellement mortelles. L'absorption par les poumons est également rapide, Environ 60% du tétrachlorure de carbone inhalé est absorbé, selon les estimations réalisées sur des volontaires. [36]

II.4.2. Distribution

Dû à ses caractéristiques lipophiles, le CCl₄ s'accumule dans les tissus adipeux tels que le foie, la moelle osseuse et d'autres tissus riches en graisses. Il se répartit également dans tous les organes vitaux, avec des concentrations particulièrement élevées notées dans les zones graisseuses, les reins, le cerveau, les poumons, et les glandes surrénales [39].

II.4.3. Métabolisme :

Le tétrachlorométhane subit principalement un processus de métabolisme dans le foie. La première étape de ce métabolisme implique une réaction de déshalogénéation de phase I, transformant le CCl₄ en radical trichlorométhyle (CCl₃). Cette réaction est principalement régulée par l'isoforme cytochrome P450 CYP2E1, bien que d'autres isoformes telles que CYP3A4 puissent également intervenir lorsque le CCl₄ est présent à des concentrations élevées. La localisation centrolobulaire du CYP2E1 dans le foie explique les résultats histopathologiques des lésions hépatiques induites par le CCl₄ [30].

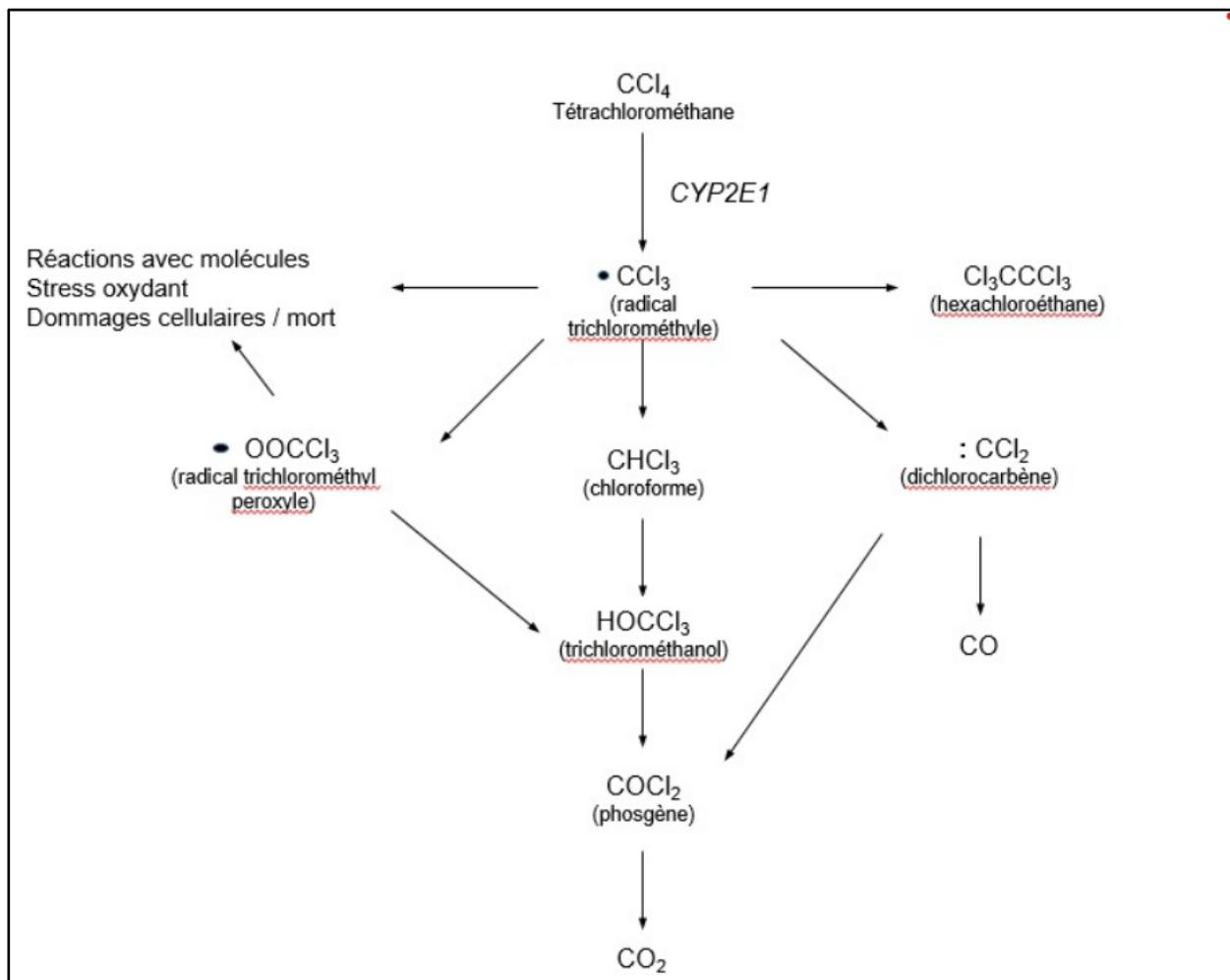


Figure 6: Principales voies métaboliques du tétrachlorométhane [36]

Le radical CCl_3 peut connaître diverses destinées : il peut réagir avec des molécules intracellulaires, entraînant une peroxydation lipidique et d'autres dommages oxydatifs, se convertir en radical trichlorométhyle peroxy (OCCl_3), acquérir un atome d'hydrogène pour former du chloroforme (CHCl_3), se combiner avec d'autres radicaux CCl_3 pour former de l'hexachloroéthane (Cl_3CCCl_3), ou encore être métabolisé ultérieurement en dioxyde de carbone (CO_2) par des réactions d'oxydation successives [33].

II.4.4. Excrétion

Le tétrachlorométhane est principalement éliminé par l'organisme via l'air expiré et les fèces, et dans une moindre mesure par l'urine. L'élimination de cette substance et de ses métabolites dépend de l'espèce, de la dose reçue et du mode d'exposition. En 48 heures, entre 65 et 83 % du tétrachlorométhane est rejeté dans l'air expiré, dont 22 à 35 % sous forme de dioxyde de carbone (CO₂) [40].

III. L'hépatotoxicité

Lorsque l'équilibre délicat entre les mécanismes de protection du foie et les facteurs nuisibles est perturbé, cela entraîne des dommages au foie. [1]Chaque année, près de deux millions de personnes dans le monde succombent à des maladies du foie [41] , [42].

III.1.1. La toxicité aigüe :

Le processus commence par une période asymptomatique de 1 à 4 jours, suivie d'une atteinte hépatique avec cytolysse dans les 12 à 24 heures après l'exposition, et une nécrose centrée sur les lobules hépatiques. Ensuite, une atteinte rénale se développe, souvent oligoanurique, apparaissant quelques jours à semaines plus tard, pouvant évoluer vers une insuffisance hépatorenale fatale [36].

III.1.2. La toxicité chronique :

L'hépatotoxicité chronique du tétrachlorométhane (CCl₄) cause des dommages progressifs au foie, incluant stéatose, élévation des transaminases, fibrose, cirrhose, et hyperbilirubinémie pouvant mener à un ictère. Ces effets sont liés à une exposition continue et répétée dans des environnements professionnels ou industriels [36].

III.2. Aspects biochimiques de l'hépatotoxicité du CCl₄

III.2.1. Stress oxydatif

Le CCl₄ est reconnu pour causer des lésions hépatiques en raison d'un stress oxydatif sévère [43].

La présence de CCl₄ déclenche la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) comme indiqué dans la figure 7, dont la surproduction entraîne des dommages médiés par le stress oxydatif. Ces dommages se traduisent par une perte de viabilité et de fonction des cellules, conduisant finalement à des lésions du greffon [44]. Cet état est marqué par des niveaux élevés de marqueurs de stress oxydatif tels que le malondialdéhyde (MDA), l'oxyde nitrique (NO) et des indicateurs d'apoptose (APOP). Ces marqueurs révèlent des dommages aux membranes cellulaires et une diminution des niveaux d'antioxydants, notamment le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et le glutathion (GSH), dans les tissus affectés [45].

Le cytochrome P450 métabolise le tétrachlorure de carbone, générant des radicaux libres trichlorométhyle et trichloroperoxy-méthyle. Ces radicaux interagissent ensuite avec d'autres composants vitaux, notamment les protéines, les acides gras, les acides nucléiques, les lipides et les acides aminés. Les radicaux libres produisent également d'autres espèces réactives de l'oxygène (ROS) et des radicaux lipidiques, qui inactivent les enzymes antioxydants naturelles et provoquent des dommages hépatiques médiés par le stress oxydatif [46].

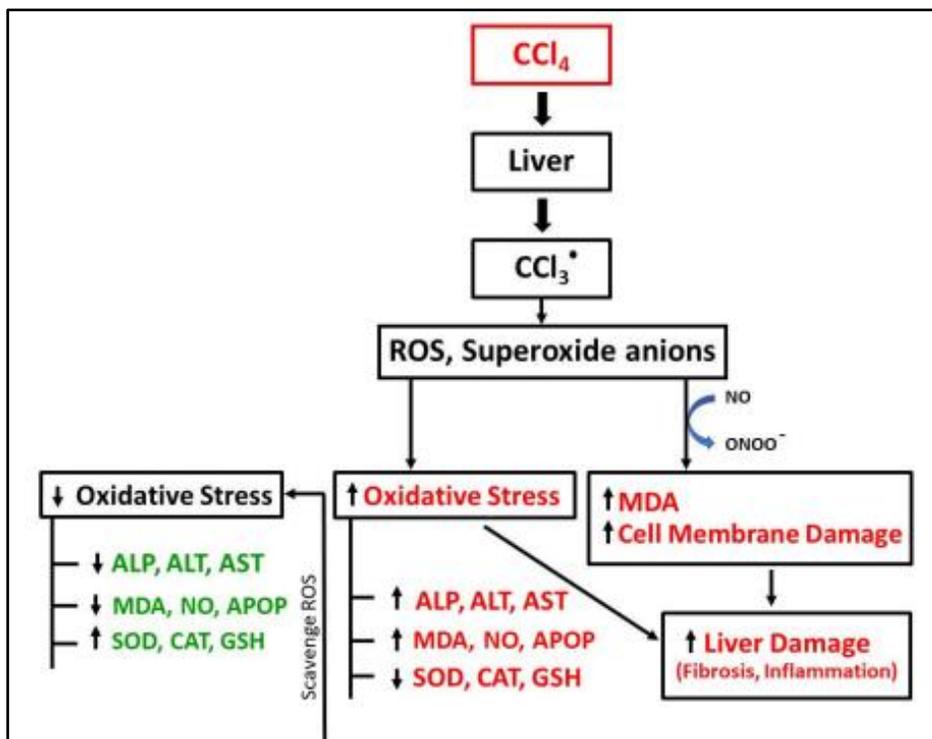


Figure 7: Schéma de la pathogenèse des lésions hépatiques induites par le CCl4 [3]

III.2.2. Peroxydation lipidique

Au cours du processus de peroxydation lipidique, les radicaux CCl_4 toxiques qui n'ont pas été neutralisés forment des liaisons covalentes avec des protéines et des lipides présents dans les membranes des hépatocytes, des mitochondries et du réticulum endoplasmique. Ensuite, les radicaux réactifs $\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$ extraient les atomes d'hydrogène des acides gras insaturés présents dans les membranes cellulaires du foie, déclenchant ainsi le processus de peroxydation lipidique. Cet événement déclenche des altérations à la fois structurelles et fonctionnelles au sein des hépatocytes, entraînant finalement des dommages cellulaires. Parallèlement, l'épuisement des enzymes antioxydantes provoqué par cette cascade de peroxydation réduit

considérablement la capacité globale en antioxydants (TAC), conduisant à une élévation du statut oxydant total (TOS). Par conséquent, cela indique la présence d'un stress oxydatif. [47].

III.2.3. Activation de cytokines pro-inflammatoires

Durant la phase inflammatoire le CCl_4 entraîne la production de composants nocifs et pro-inflammatoires tels que le facteur de nécrose tumorale-alpha ($\text{TNF-}\alpha$), l'interleukine 6 (IL-6) et interleukine-1 bêta (IL-1 β), qui aggravent les lésions des cellules hépatiques. Cela se traduit par une augmentation des enzymes telles qu'AST, ALT, SDH et GLDH dans les hépatocytes et une nécrose cellulaire. L'activation des monocytes et des neutrophiles entraîne la sécrétion de chimiokines, amplifiant l'inflammation et la réponse immunitaire. Les neutrophiles contribuent à l'augmentation de l'enzyme myéloperoxydase MPO, intensifiant la production de ROS et d'autres radicaux réactifs, aggravant le stress oxydatif et les lésions tissulaires du foie (figure 8) [47].

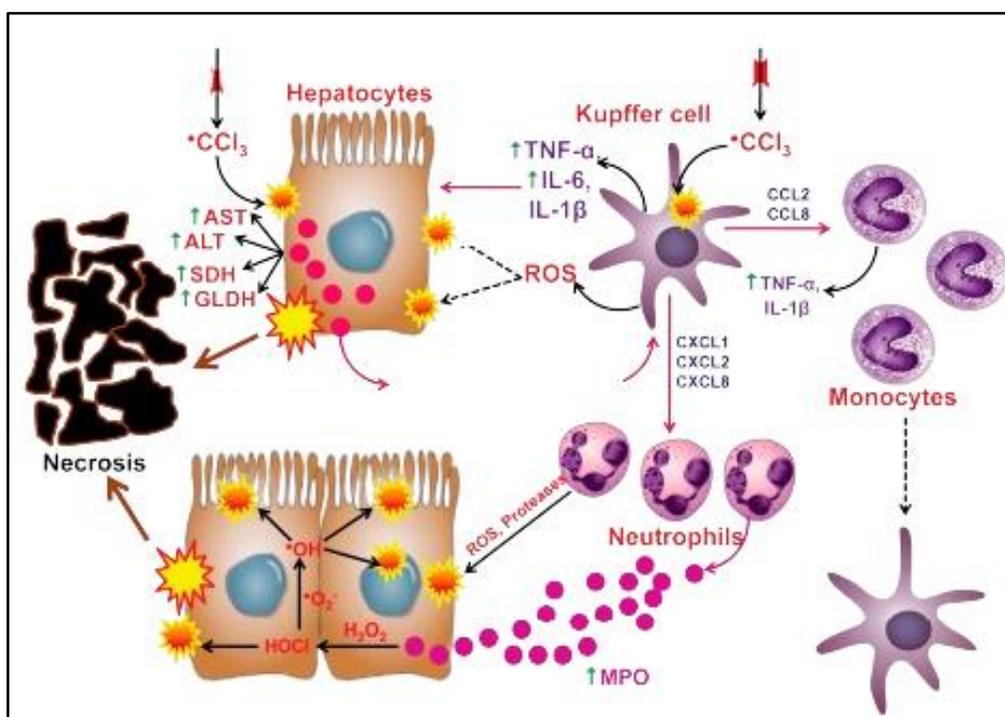


Figure 8: Mécanisme cellulaire des lésions hépatiques dues à une intoxication aiguë au CCl_4 . L'effet du métabolite toxique CCl_4 ($\bullet\text{CCl}_3$) sur les hépatocytes et les cellules de Kupffer [47]

III.2.4. Processus d'apoptose hépatique induit par le CCl_4

La mort cellulaire des hépatocytes peut survenir par le déclenchement des voies apoptotiques activées par le $\text{TNF-}\alpha$. Ce dernier peut initier la série de réactions des caspases

intracellulaires dans les hépatocytes. En présence de CCl_4 , les dommages liés à l'apoptose sont exacerbés, le tétrachlorure de carbone renforçant l'effet du $\text{TNF-}\alpha$ et accélérant la dégradation des cellules hépatiques [47].

III.3. Aspects histologiques des lésions hépatiques induites par le CCl_4

L'administration de CCl_4 s'est avérée avoir des répercussions néfastes sur le foie, provoquant des lésions graves telles que des nécroses hémorragiques étendues qui s'observent principalement dans les zones centrales et péri-veineuses des lobules hépatiques. Ces dommages se caractérisent par une dégénérescence marquée et une inflammation significative, impliquant à la fois des infiltrats inflammatoires mononucléaires et des infiltrats de leucocytes granulocytaires dans ces régions. De plus, une hyperplasie notable des cellules de Kupffer a été constatée, reflétant une réponse réactive du foie à l'agression chimique. Les changements histopathologiques induits par cette substance comprennent également des signes de stéatose et une disparition des bourgeons cellulaires, témoignant d'un état de nécro-inflammation confirmé. Ces observations soulignent l'impact délétère du CCl_4 sur l'architecture hépatique, comme le montre la figure 9, entraînant une dégradation significative des hépatocytes, en particulier dans la région centrolobulaire [3].

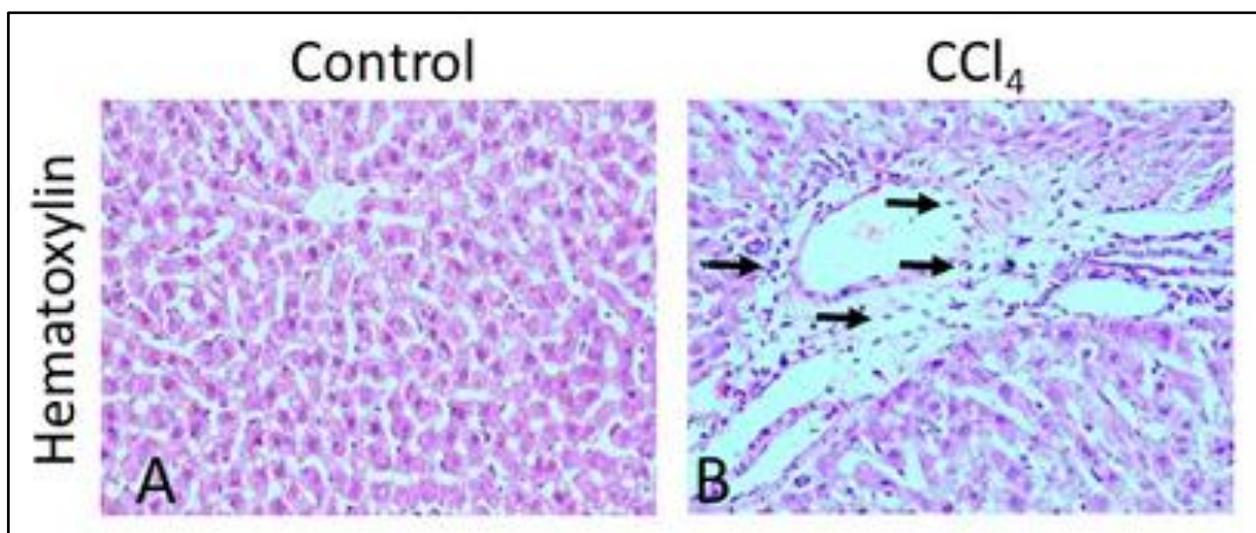


Figure 9 : Effet du CCl_4 sur le tissu hépatique. La coloration à l'hématoxyline-éosine montre la morphologie cellulaire dans le contrôle (A), CCl_4 (B) de rats. Les flèches indiquent les cellules infiltrantes [3]

III.4. Les biomarqueurs hépatique :

III.4.1. Aminotransaminases :

Lorsque des cellules sont endommagées, l'organisme libère des enzymes telles que l'alanine aminotransférase (ALAT ou TGP) et l'aspartate aminotransférase (ASAT ou TGO) dans la circulation, offrant ainsi des indices sur la santé du foie. Ces enzymes sont abondantes à la fois dans le foie et les muscles.

L'ALAT est principalement présente dans le foie. Son augmentation dans le sang est un signe spécifique de dommages aux cellules hépatiques, ce qui en fait un indicateur particulièrement utile pour détecter les lésions hépatiques, souvent surveillé lors de dons de sang.

L'ASAT est présente non seulement dans le foie, mais aussi dans divers autres tissus tels que le muscle cardiaque, les muscles squelettiques, les reins, le cerveau, le pancréas, les poumons, ainsi que dans les globules blancs et les globules rouges [48].

III.4.2. Phosphatase alcaline (PAL) :

La phosphatase alcaline (PAL) est une enzyme membranaire présente dans divers tissus, notamment les ostéoblastes, les entérocytes, les hépatocytes, les cellules épithéliales biliaires, les reins et le placenta. Son taux sérique est associé à l'activité hépatique et osseuse, ce qui entraîne des niveaux élevés chez les enfants.

Une augmentation significative de la PAL, sans cholestase ou avec une cholestase légère, peut être causée par une carence en vitamine D ou par une hyperphosphatasie aiguë transitoire bénigne [49].

III.4.3. Bilirubine (BRB) :

La bilirubine, issue de la dégradation de l'hémoglobine, est métabolisée dans les hépatocytes par l'enzyme UDP-glycuronyltransférase (UGT1A1) avant d'être éliminée dans la bile [49].

III.4.4. La gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) :

La gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) est une glycoprotéine membranaire ubiquitaire (trouvées dans le rein, le foie, le pancréas et les voies biliaires).

- Elle joue un rôle crucial dans le métabolisme des acides aminés et du glutathion. Les niveaux de GGT augmentent dans un large éventail d'affections hépatiques et biliaires, en particulier dans les cas de cholestases intra et post-hépatiques [49].

Une augmentation des GGT :

- Niveaux légèrement élevés : associés à toutes les maladies hépatiques.
- Niveaux très élevés : peuvent indiquer une cholécystite, un blocage de la voie biliaire principale ou une cholangite [50].

III.4.5. Albumine :

Les valeurs normales de l'albumine se situent entre 35 et 50 g/l.

- Une diminution de l'albumine peut être observée dans diverses conditions telles que l'insuffisance hépatique, l'hémorragie, la dénutrition, les maladies inflammatoires chroniques, le syndrome néphrotique, les brûlures étendues, l'eczéma, l'inflammation ou le CDG syndrome. [49]

IV. *Marrubium sp*

IV.1. Définition

Les feuilles de *Marrubium sp* proviennent d'une plante aromatique médicinale communément appelée marrube blanc en Europe et localement nommée "Marriout" dans la région méditerranéenne, y compris en Afrique du Nord [51], Cette plante appartient à la famille des Lamiacées et compte plus de 30 espèces de fleurs différentes [52].

IV.2. Répartition géographique

La zone d'origine de *Marrubium sp* s'étend sur l'Europe, l'Asie occidentale et centrale ainsi que l'Afrique du Nord. Dans la région méditerranéenne en Europe du sud (figure 10), cette plante est devenue une mauvaise herbe dans le sud des États-Unis, notamment en Californie et au Texas, ainsi qu'en Amérique du Sud (Argentine, Chili, Pérou, Uruguay), en New-Zélande et en Australie. On trouve généralement *Marrubium* sur des terrains vagues avec des sols calcaires bien drainés. [53]



Figure 10 : Répartition géographique du genre *Marrubium* dans le monde [54]

IV.3. Description morphologique

Marrubium sp est une plante herbacée vivace, caractérisée par une racine principale robuste et ramifiée, ainsi que par de multiples tiges très duveteuses, de 20 à 100 cm de hauteur. Ses feuilles, arrondies avec généralement des dents sur le bord. Les inflorescences se forment dans les aisselles des feuilles supérieures, avec des fleurs blanches regroupées en verticilles axillaires. Les grains de pollen sont oblat-sphériques, les fleurs de *Marrubium* apparaissent généralement au début du printemps. Les graines se trouvent au fond du calice comme observé dans la figure 11 [55].

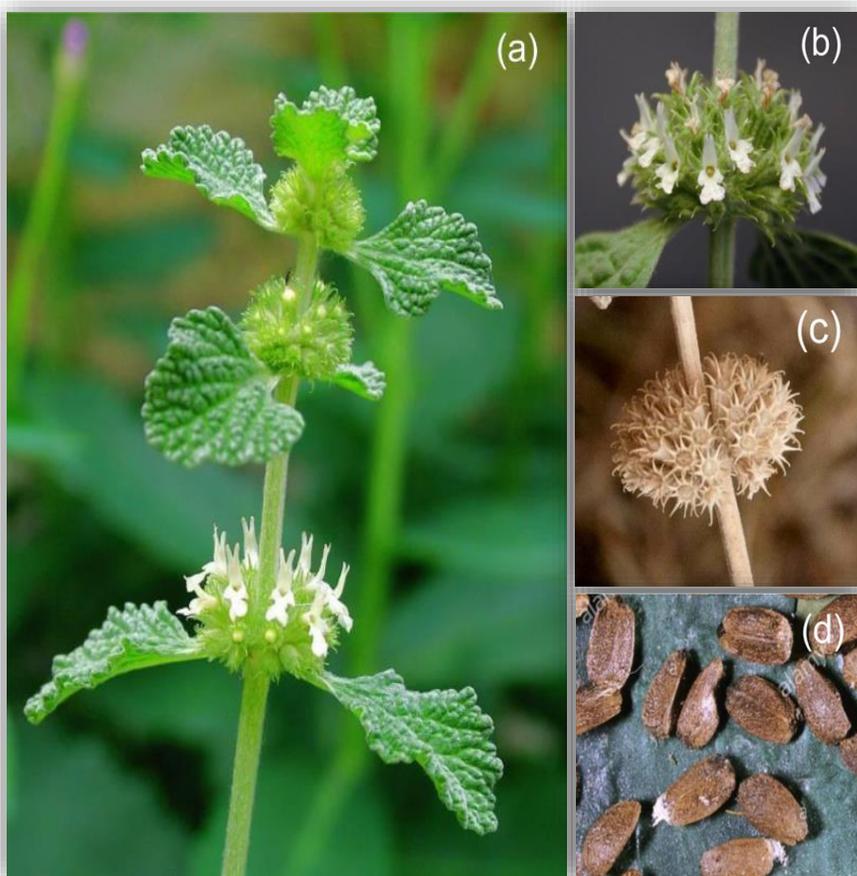


Figure 11: *Marrubium sp* "white horehound", "Meriouat" in Arabic. Whole plant (a), flowers (b), fruit capsules (achene) (c), seeds (d) [56]

IV.4. Classification taxonomique

Tableau 1 : La systématique du marrube [57]

Règne :	Plantae
Embranchement :	Spermaphytes
S.embranchement :	Angiospermes
Classe :	Magnoliopsida
Sous-classe :	Asteridae
Ordre :	Lamiales
Famille :	Lamiacées
Genre :	Marrubium
Espèce :	<i>Marrubium SP</i>
Nom anglais	horehound

IV.5. Composition phytochimique

Marrubium sp est une source précieuse de molécules bioactives naturelles, notamment des huiles essentielles, connues pour leur efficacité préventive et thérapeutique élevée. [58] Sur le plan chimique, *Marrubium* est riche en [59]

- Marrubin
- flavonoïdes
- diterpènes alcools
- phénylpropanoïdes glycosides
- tanins
- stérols
- alcaloïdes
- lactones
- vitamines

IV.6. Utilisation traditionnelle

La plante *Marrubium sp*, vénérée par le célèbre guérisseur grec Hippocrate et d'autres guérisseurs anciens comme une panacée, est utilisée depuis longtemps en médecine traditionnelle pour traiter toute une série de maladies liées aux infections des voies respiratoires supérieures. Ses applications thérapeutiques englobent le soulagement des problèmes digestifs, l'apaisement des gorges enflammées et la promotion du bien-être général.

En phytothérapie contemporaine, cette plante est largement utilisée pour traiter les affections hépatiques, les troubles des voies biliaires, l'asthme bronchique et la toux improductive. Ses propriétés aux multiples facettes incluent son action tonique, expectorante, antispasmodique et diurétique, tout en aidant également à stimuler l'appétit et à renforcer la fonction gastrique. [60] Les propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle et de l'extrait de *Marrubium sp* ont été observées contre une gamme de bactéries, Cet extrait alcoolique s'est révélé potentiel comme nouvelle option thérapeutique pour le traitement de l'hypertension, une maladie cardiovasculaire, en raison de ses effets vasorelaxants et antihypertenseurs. De plus, il a été démontré qu'il améliore la résistance à l'insuline, ce qui en fait une option thérapeutique potentielle pour les personnes atteintes de diabète de type 2 [61]

V. *Ruta sp*

V.1. Définition

Ruta sp est une plante à feuilles persistantes fortement odorantes ou un petit arbuste, faisant partie de la famille des Rutacées. Elle est la source de la Rue ou de l'huile de Rue, appelée Sadab ou Satab en hindi. En arabe, elle est également connue sous le nom de Figel ou Rhue moulue. Originaires de la région méditerranéenne, elle est largement répandue dans le monde entier. Selon les descriptions actuelles de la littérature, le genre *Ruta* comprend 14 espèces acceptées, parmi lesquelles *Ruta sp*. [62]

IV.2. Description morphologique

Ruta sp est un petit sous-arbrisseau à feuilles persistantes ou une plante vivace semi-ligneuse de 0,6 à 0,9 m de hauteur et presque aussi large. Les tiges deviennent ligneuses près de la base, mais restent herbacées près des extrémités (Figure 12). [63]



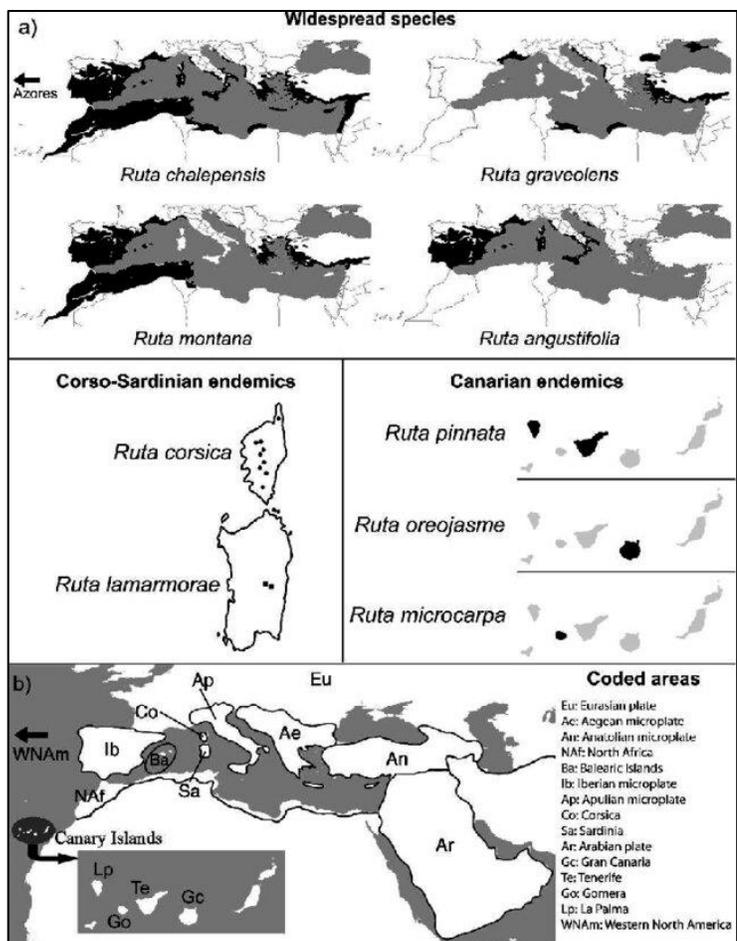
Figure 12 : *Ruta sp* (a) whole plante, (b) les feuille de *Ruta sp*, (c) la fleur de *Ruta sp* [63]

Les feuilles, longues de 7,6 à 12,7 cm, sont divisées de manière pennée en segments oblongs ou en forme de cuillère. Elles sont quelque peu charnue et généralement couvertes d'une floraison poudreuse (Figure 12 b). Le feuillage vert marin dégage une odeur forte, piquante et plutôt désagréable lorsqu'il est froissé. Les grappes paniculées de petites fleurs jaunes apparaissent au mi- été, bien au-dessus du feuillage et recouvrant souvent la majeure partie de la plante. Chaque fleur mesure environ 1,3 cm de diamètre avec quatre pétales concaves et échancrés (Figure 12 c) [63].

V.2. Répartition géographique

La *Ruta sp*, présente en Méditerranée, est cultivée en Europe et dans divers pays asiatiques comme la Chine, l'Inde et le Japon. Appartenant de l'ordre des Sapindales, qui comprend plus de 160 genres et 1600 espèces. En raison de sa valeur culturelle et médicinale, elle a été introduite dans plusieurs régions, notamment en Amérique du Nord, centrale et du Sud, ainsi qu'au Moyen-Orient et en Afrique du Sud [64] ; [63].

Actuellement, le genre *Ruta* comprend neuf espèces de plantes vivaces : *R. angustifolia*, *R. chalepensis*, *R. montana* et *R. graveolens* sont distribuées autour de la Méditerranée ; *R. corsica* est endémique de la Corse et *R. lamarmorae* de la Sardaigne ; *R. pinnata*, *R. oreojasme* et *R. microcarpa* sont endémiques des îles Canaries (Fig). Les limites de la distribution géographique de *Ruta* correspondent largement à celles de la région méditerranéenne, et ce genre se trouve souvent en association avec des éléments caractéristiques de la végétation méditerranéenne [65].


 Figure 13 : Distribution of *Ruta sp* and selected areas [65]

V.3. Classification taxonomique

 Tableau 2 Position systématique de la plante *Ruta Sp* [66]

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Super division.	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Sous division	Angiospermae
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Super-ordre	Rutanae
Ordre	Sapindales

Famille	Rutaceae
Genre	Ruta
Espèce	<i>Ruta SP</i>

V.4. Les principaux constituants

Les études chimiques précédentes sur *Ruta sp* ont signalé la présence de [67], [68] :

- coumarines
- alcaloïdes
- huiles volatiles
- flavonoïdes
- acides phénoliques
- cétones
- terpénoïdes

IV.6. Utilisation traditionnelle

La rue est une plante médicinale traditionnellement utilisée dans les médecines traditionnelles indiennes (Ayurveda, Unani et Siddha) ainsi que dans la médecine à base de plantes de nombreux autres pays, bien que son utilisation dans les pays développés soit aujourd'hui minimale. Khare (2007) fournit la liste suivante de ses propriétés médicinales et de ses utilisations, principalement dans la médecine traditionnelle indienne :

- Herbe : Stimulante, antispasmodique, stomachique, irritante, abortive ; utilisée comme emménagogue et pour le traitement de la toux, des coliques et des flatulences.
- Feuille : Utilisée dans l'aménorrhée, la ménorrhée et les coliques ; utilisée en externe pour la sciatique, les maux de tête, les douleurs musculaires thoraciques, la bronchite, l'arthrite.
- Huile : Antispasmodique, antiépileptique, emménagogue, rubéfiante.

La rue est utilisée dans la médecine traditionnelle d'Amérique latine pour stimuler les menstruations et traiter les problèmes oculaires. Elle est également utilisée pour les troubles du système nerveux et les maux gastro-intestinaux. La surconsommation peut être toxique et

provoquer des vomissements. En externe, elle soulage la douleur et est efficace contre la bronchite. Les feuilles peuvent être mâchées pour éliminer les bactéries des gencives [69].

V.5. Toxicité

Rue est un poison acro-narcotique. Lorsqu'il est frais, son action tropicale est âcre et s'il est beaucoup manipulé, il provoque des rougeurs, un gonflement et même des vésications.

C'est un irritant actif, qu'il soit appliqué localement ou pris par voie interne ; parfois, il provoque des vomissements douloureux, toujours une grande prostration, une confusion mentale, une vision trouble, une faiblesse et une lenteur du pouls, un refroidissement des extrémités et des secousses des membres.

Des réactions allergiques ont été rapportées avec la rue commune (dermatite de contact) et la photodermatite [70].

VI. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif peut être décrit comme un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans l'organisme, perturbant sa capacité à détoxifier les intermédiaires réactifs ou à réparer les dommages causés aux organes et aux systèmes cellulaires par ces ROS [71]

VI.1. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont un groupe de molécules extrêmement instables et hautement toxiques au niveau cellulaire, car ils réagissent en "attaquant" d'autres molécules en leur arrachant un électron, ce qui perturbe leur stabilité. Parmi les radicaux libres les plus connus, on trouve l'anion superoxyde (O_2^-), le radical hydroxyle ($HO\cdot$) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). [72] Un radical libre cherche à se stabiliser en perturbant les structures environnantes, soit en perdant un électron (ce qui le rend réducteur), soit en gagnant un (ce qui le rend oxydant) (figure 14). Cette capacité à agir en tant que réducteur ou oxydant dépend du composé qui lui permet de se stabiliser. En biologie, les radicaux libres sont principalement considérés comme des agents oxydants, ce qui les rend potentiellement toxiques. [73]

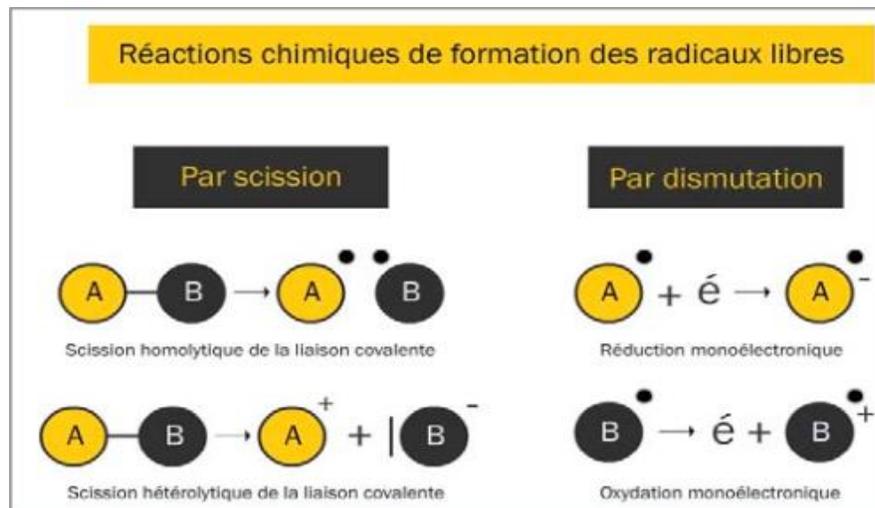


Figure 14 : Réactions de formation de radicaux libres [74]

VI.2. Les antioxydants

Le corps humain est équipé d'un réseau étendu de mécanismes de défense antioxydants qui vont bien au-delà des simples vitamines C et E. En effet, une variété d'antioxydants est produite par l'organisme lui-même ou plus couramment apportée par l'alimentation. [75]

Les antioxydants sont des composés chimiques qui ralentissent le processus d'oxydation des lipides dans les systèmes alimentaires. Par définition, un antioxydant est une substance qui s'oppose à l'oxydation ou inhibe les réactions favorisées par l'oxygène ou les peroxydes ; beaucoup de ces substances sont utilisées comme conservateurs dans divers produits. [76]

VI.3. Mécanismes d'action des antioxydants

Les cellules ont développé des systèmes complexes pour se protéger contre le stress oxydatif. [77]. Les antioxydants agissent de différentes manières : en capturant l'oxygène singulet, en désactivant les radicaux par addition covalente, en réduisant les radicaux ou peroxydes, et en chélatant les métaux de transition [78].

VI.3.1. Antioxydants enzymatiques

- **Superoxyde Dismutase (SOD)** : facilite la conversion du radical superoxyde en peroxyde d'hydrogène [79].
- **La catalase** : intervient ensuite en décomposant le peroxyde d'hydrogène en eau, permettant son élimination [80].
- **La glutathion peroxydase (GPX)** : utilisant le glutathion comme donneur d'hydrogène, décompose également le peroxyde d'hydrogène [81].

VI.3.2. Antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques sont des substances que l'organisme obtient principalement par le biais de l'alimentation. [77]

- **Tocophérols (dont la vitamine E)**

La vitamine E, notamment sous sa forme active alpha-tocophérol, est le principal antioxydant liposoluble capable de neutraliser les radicaux peroxylys. Grâce à sa solubilité dans les lipides, elle s'intègre dans les membranes cellulaires et empêche la propagation de la peroxydation lipidique. [82]

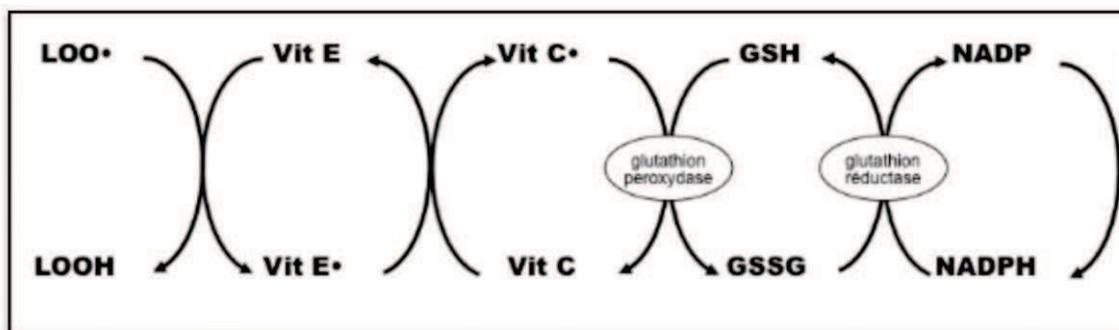


Figure 15 : Les cycles réactionnels de régénération des antioxydants [83]

- **Acide ascorbique (vitamine C)**

La vitamine C est le principal antioxydant hydrosoluble dans le plasma. Elle peut aisément transférer des électrons à presque tous les radicaux libres et contribue également à la régénération de la vitamine E, ce qui aide à empêcher la peroxydation des lipides dans les membranes biologiques [84].

- **Les polyphénols :**

Les polyphénols sont des antioxydants importants présents dans les végétaux, apportant environ 1g par jour à travers l'alimentation, principalement via les fruits, et aussi les légumes et les céréales. On les trouve sous diverses formes : anthocyanines dans les fruits rouges et le vin rouge, flavonoïdes dans les agrumes et l'huile de lin, et épicatechine dans le vin, le thé, le chocolat, les pommes, les oignons et les algues brunes. Ils sont très efficaces pour neutraliser les radicaux libres et chélater les métaux de transition comme le fer et le cuivre [85].

- **Les flavonoïdes :**

Les flavonoïdes, présents dans diverses parties des plantes comme les feuilles, fleurs, graines, tiges et écorces, se classent en flavonols, flavones, isoflavones et anthocyanes. Accumulés principalement dans la vacuole, leur concentration dépasse souvent 1 mM. Ils jouent un rôle crucial dans la pigmentation, la protection contre les UV, la défense contre les pathogènes, et la fertilité des plantes. Leur synthèse augmente en réponse au stress, et ils agissent comme piègeurs de radicaux libres (figure 17), protégeant les cellules végétales dans des conditions environnementales défavorables [86].

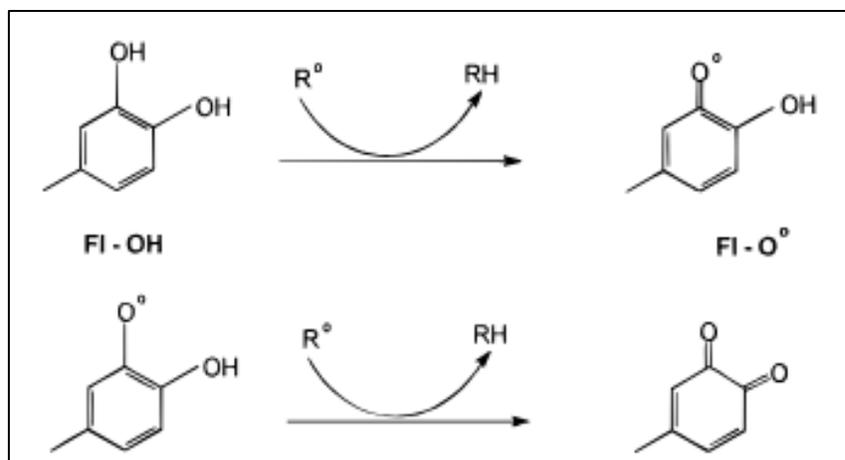


Figure 16 : Piégeage des ROS ($R\bullet$) par les flavonoïdes [86]

- **Les tanins**

Les tanins sont des composés polyphénoliques solubles dans l'eau, réputés pour leur capacité à se lier à diverses molécules, y compris les protéines, grâce à leur structure chimique unique. [87], [88] En plus de ces propriétés, ils agissent comme de puissants antioxydants en neutralisant les radicaux libres et en inhibant la peroxydation lipidique, ce qui protège les cellules des dommages oxydatifs causés par les ROS. [89].

- **Les alcaloïdes**

Le terme "alcaloïde" a été introduit par W. Meisner au début du XIXe siècle. En 1910, ce sont des composés organiques naturels, généralement d'origine végétale, caractérisés par leur nature alcaline. Leur structure moléculaire est complexe et hétérocyclique, avec l'azote comme principal hétéroatome. Bien que souvent basiques, ces substances présentent des propriétés physiologiques remarquables, même à faibles doses [90]. Les alcaloïdes sont les principes actifs de nombreuses plantes médicinales et constituent l'un des groupes de métabolites secondaires les plus importants, avec plus de 10 000 à 12 000 structures différentes. Bien que beaucoup d'entre eux soient toxiques, certains sont utilisés en médecine pour leurs propriétés antioxydants, analgésiques, sédatives, ou comme agents anticancéreux. [91]

- **Les saponosides**

Les saponosides, également appelés saponines, sont des composés végétaux composés de sapogénine et de groupes osidiques. Leur nom vient du latin "sapo" signifiant "savon", car ils forment des solutions moussantes dans l'eau. [92] Ces molécules amphiphiles ont des parties polaires et non polaires, agissant comme des tensioactifs et formant des solutions colloïdales moussantes [93]. Les saponosides ont diverses propriétés pharmacologiques telles que des effets analgésiques, antidépresseurs, hémolytiques, ainsi que des activités antimicrobiennes [94].

- **Le butylhydroxytoluène (BHT) :**

Le BHT (figure 17), un composé aromatique largement connu, est un antioxydant prometteur utilisé dans diverses industries, notamment l'alimentation, l'emballage, et les produits de la mer. Il est souvent associé à d'autres antioxydants comme le BHA et le gallate de propylée pour stabiliser les huiles et les aliments riches en matières grasses. De plus, le BHT et le BHA peuvent régénérer l'alpha-tocophérol, un autre antioxydant. En raison de ces nombreuses applications, le BHT et ses dérivés sont devenus des choix attractifs en tant qu'antioxydants ou co-antioxydants [95].

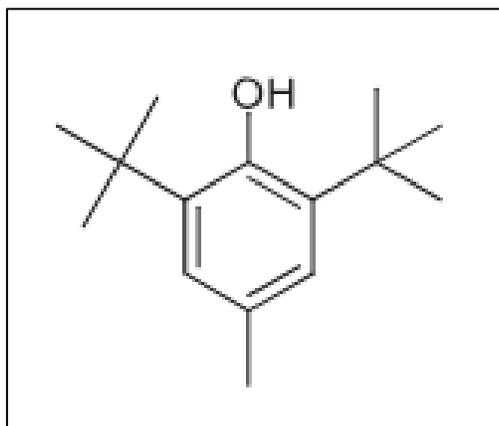


Figure 17 : Structure du BHT [95]

Partie II :
Matériels et méthodes

I. Matériel

I.1. Matériel biologique (Echantillonnage)

I.1.1. Matériel végétal

La plante médicinale *Marubium sp* a été récoltée dans son habitat naturel près de la région de Kahalcha Kebar, dans la circonscription d'Ain Abid. De même, *Ruta sp* a été collectée dans la région de Bounouara, à la fin du mois de février, toutes deux provenant de la wilaya de Constantine. Les parties aériennes, en particulier les feuilles, ont été sélectionnées comme essentielles pour le processus de préparation. Après un lavage minutieux, les feuilles ont été séchées à l'abri de la lumière directe du soleil pendant une semaine. Une fois complètement sèches, elles ont été réduites en fine poudre, prête à être utilisée pour les analyses ultérieures.

I.1.2. Le tétrachlorure de carbone

Pour induire l'hépatotoxicité chez les rats, nous avons utilisé le tétrachlorure de carbone (CCL₄), un composé chimique chloré. Ce produit nous a été fourni par la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université les Frères Mentouri Constantine 1.

I.2. Réactifs chimiques et instrumentations

Dans le cadre de nos expériences, nous avons utilisé divers réactifs chimiques et solvants, classés en deux catégories (liquides et poudres/solides), comme le montre le tableau suivant :

Tableau 3 Réactifs chimiques et instrumentation

Liquides	Poudres / Solides
<ul style="list-style-type: none"> • Acide sulfurique (H₂SO₄) • Acide chlorhydrique (HCl) • Acide acétique (CH₃COOH) • Hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) • Méthanol (CH₃OH) • Eau distillée (H₂O) • Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) 	<ul style="list-style-type: none"> • Iodure de potassium (KI) • Diode (I₂) • Chlorure de sodium (NaCl) • Chlorure d'aluminium (AlCl₃) • Hydroxyde de sodium (NaOH) • Phosphate de potassium dibasique (K₂HPO₄)

<ul style="list-style-type: none"> • Paraffine • Xylène • Éthanol (C₂H₅OH) • Éosine (solution) • Hématoxyline (solution) • n-Butanol (C₄H₉OH) 	<ul style="list-style-type: none"> • Phosphate de potassium monobasique (KH₂PO₄) • Hexacyanoferrate de potassium (K₃Fe(Cn)₆) • Chlorure de fer(III) (FeCl₃) • Acide trichloroacétique (TCA) • Acide thiobarbiturique (TBA) • Chlorure de potassium (KCl) • 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH)
---	---

I.3. Les appareils utilisés

Nous avons utilisé divers équipements de laboratoire pour mener à bien nos expériences, notamment :

Un spectrophotomètre UV-Visible double faisceau (modèle JENWAY 6315 UV/VIS), une chambre d'observation UV (à 264/3645 nm, modèle VILBERCOURMAT), Un bain-marie (modèle MEMMERT), un microtome (modèle LEICA RM 2235), une plaque chauffante, une étuve universelle avec ventilation (de 5 à 220°C, modèle MEMMERT), un agitateur magnétique (marque SCIOGEX), un vortex (marque VELP), une balance (marque OHAUS), un microscope optique (modèle LEICA DM 750), un pH-mètre, une micropipette, et un homogénéisateur (modèle ULTRA-TURRAX T 25 basic).

I.4. Modèle animal

I.4.1. Etude expérimentale

Dans cette étude expérimentale, nous avons utilisé 36 rats mâles adultes de souche Wistar albinos, pesant entre 200 et 250 g au début de l'expérimentation. Ces rats ont été élevés dans l'animalerie de l'Université des Frères Mentouri de Constantine 1. Ils ont été logés dans 6 cages métalliques, chacune regroupant 6 rats, et ont eu un accès libre à l'eau et à la nourriture. Les conditions environnementales comprenaient une température ambiante maintenue à 30°C et une photopériode de 8h à 16h. Les rats ont été traités conformément aux principes énoncés dans le manuel sur les soins et l'utilisation des animaux d'expérimentation.

II. Méthodes

II.1. Préparation et étude du matériel végétal :

II.1.1. Préparation de l'extrait aqueux des plantes *Marrubium sp* et *Ruta sp* :

Pour préparer l'extrait aqueux, un litre d'eau est chauffé jusqu'à ébullition, puis 100 grammes de poudre végétale sont ajoutés et maintenus en agitation pendant 30 minutes. Le mélange est ensuite laissé à refroidir à température ambiante avant d'être filtré plusieurs fois à l'aide de coton et de papier filtre pour éliminer les impuretés. La matière filtrée est ensuite séchée dans une étuve à une température de 40°C jusqu'à élimination complète de l'eau, obtenant ainsi un extrait sec.

L'extrait final est conservé dans une boîte de Pétri et stocké au réfrigérateur, puis pesé pour déterminer le rendement de l'extraction.

II.1.2. Etude phytochimique :

Les tests phytochimiques ont été effectués sur les extraits aqueux des plantes *Marrubium sp* (*EAM*) et *Ruta sp* (*EAR*).

- **Mise en évidence des tanins**

On ajoute deux ou trois gouttes d'une solution diluée de FeCl₃ à 2 % à 2 ml de chaque extrait de plante. Après quelques minutes d'incubation à température ambiante, une coloration bleu noirâtre se développe, indiquant la présence de tanins. [96]

- **Mise en évidence des saponosides**

- **Test 1** : Déposer 2 ml de chaque extrait dans un tube à essai et compléter jusqu'à 5 ml avec de l'eau distillée. Effectuer une agitation vigoureuse des tubes pendant 2 minutes dans le sens vertical, puis laisser en repos. La présence de saponosides est confirmée par un résultat positif, caractérisé par une hauteur de mousse dépassant 1 cm. [96]

- **Test 2** : À 2 ml de chaque extrait, on ajoute 1 ml de chloroforme et 1,5 ml d'acide sulfurique concentré. L'apparition d'une couleur rouge-marron à la couche d'interface indique la présence de triterpènes hétérosidiques [97].

- **Mise en évidence des composés réducteurs**

Ce test est basé sur la réaction de Keller-Kiliani. Nous avons mélangé 5 ml d'acide acétique contenant des traces de FeCl₃ et 5 ml d'acide sulfurique contenant des traces de FeCl₃ avec 1 ml de l'extrait. L'observation de deux phases distinctes, la première colorée en brun-rouge (acide acétique) et la seconde en bleu-vert (acide sulfurique), témoigne de la présence de composés réducteurs. [97]

- **Mise en évidence des alcaloïdes**

Ce test est conçu pour détecter la présence ou l'absence de sels d'alcaloïdes. Nous avons ajouté 5 ml d'acide chlorhydrique au résidu de l'extrait sec et chauffé le mélange dans un bain-marie. Après filtration, nous avons effectué des tests en utilisant le réactif de Wagner, préparé avec 2 g de KI et 1,27 g d'I₂ solubilisés dans 100 ml d'eau distillée. La présence d'alcaloïdes se manifeste par l'apparition d'un trouble ou d'un précipité dans le tube. [97]

II.1.3. Peroxydation des lipides

- **Le Test 1** : a évalué l'inhibition de la peroxydation lipidique en utilisant les substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS), avec un homogénat de foie de rats comme source lipidique. En résumé, 0,5 ml d'échantillon à différentes concentrations ont été mélangés avec 0,5 ml d'homogénat de foie. Pour initier la peroxydation lipidique, 0,1 ml de FeSO₄ (9 mmol/L), 1,25 ml d'eau distillée et 50 µL de H₂O₂ (60 mmol/L) ont été ajoutés. Le mélange a été incubé à 37 °C pendant 30 minutes. La réaction a été arrêtée en ajoutant 0,5 ml de TCA (20%, p/v) et 0,5 ml de solution de TBA (0,7%, p/v). Ensuite, le mélange a été chauffé à 95 °C pendant 15 minutes, puis centrifugé à 5000 tr/min pendant 10 minutes. Enfin, l'absorbance du surnageant a été mesurée à 532 nm. L'effet inhibiteur de la peroxydation lipidique a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux d'inhibition \%} = (\text{OD contrôle} - \text{OD échantillon} / \text{OD contrôle}) \times 100 \%$$

OD contrôle correspond à l'absorbance du contrôle, où de l'eau est utilisée à la place de l'échantillon.

OD échantillon représente l'absorbance spécifique de l'échantillon testé. [98]

-Le Test 2 : basé sur la méthode de Wong, Hashimoto et Shibamoto (1995) avec quelques ajustements, a été utilisé pour évaluer le potentiel antioxydant de l'EAM et de l'EAR. Dans ce protocole, l'homogénat de jaune d'œuf a servi de source lipidique. Un mélange de 10 ml de jaune d'œuf et de 100 ml de KCl (1,15%) contenant différentes concentrations d'extrait solubilisé dans du méthanol a été préparé. À cette solution, 1 ml d'eau distillée, 1,5 ml d'acide acétique à 20% (pH 3,5), 1,5 ml de TBA à 0,8% et 1,1% de SDS ont été ajoutés dans un tube à essai. L'ensemble a été chauffé à 95°C pendant une heure, puis refroidi à température ambiante avant l'addition de 5 ml de butanol. Après agitation, le mélange a été centrifugé à 3000 tr/min pendant 10 minutes. L'absorbance du surnageant a été mesurée à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, avec de l'eau distillée comme témoin [99].

. L'effet d'inhibition sur la peroxydation lipidique a été calculé selon la formule suivante [100] :

$$\text{Indice antioxydant \%} = [(A0 - A1) / A0] \times 100$$

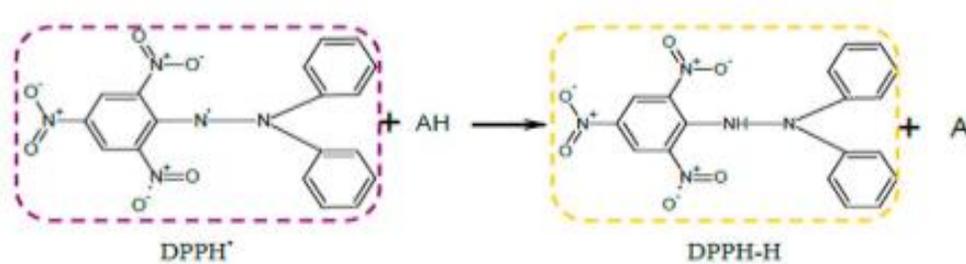
A0 représente la valeur d'absorbance du contrôle totalement oxydé.

A1 correspond à l'absorbance de l'échantillon à tester.

II.1.4. Activité anti-oxydante

- **DPPH (effet scavenger) :**

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est couramment utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydant en raison de sa stabilité en tant que radical libre et de la simplicité de l'analyse. La méthode DPPH présente plusieurs avantages : elle est indépendante, simple et rapide. Ce test consiste à exposer le radical DPPH (de couleur violette) à des molécules antioxydants pour mesurer leur capacité à le réduire (voir Fig. 18.). La forme réduite (de couleur jaune) n'absorbe plus, ce qui entraîne une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde. [96]



Ou AH est un composé antioxydant capable de céder un H^+ au radical DPPH.

Figure 18 : Forme réduite du radical DPPH [96]

La réaction est suivie par la mesure de la décoloration du radical à 517 nm. Pour cela, différentes concentrations de l'extrait ont été incubées avec une solution méthanolique de DPPH à 0,004 %. Après une incubation de 30 minutes, les absorbances à 517 nm ont été enregistrées. Les résultats obtenus pour l'extrait ont été comparés à ceux du BHT, utilisé comme antioxydant de référence. Le pourcentage d'inhibition (I %) du radical DPPH par l'EAM et EAR a été calculé selon la formule suivante :

$$I \% = [(AC - AE) / AC] \times 100.$$

AC : Absorbance moyenne du radical seul.

AE : Absorbance du radical libre en présence d'antioxydant après 30 minutes de contact.

I%: pourcentage d'inhibition.

II.2. Traitement des animaux

Les rats ont été répartis en 6 groupes de 6 rats chacun et maintenus dans des conditions identiques. Pour induire une toxicité aiguë, une injection intrapéritonéale unique de CCl_4 (3 ml/kg) mélangé à une quantité égale d'huile d'olive a été administrée. Ensuite, les rats ont reçu un traitement thérapeutique consistant en des extraits d'EAM et d'EAR, chacun à une dose de 200 mg/kg, administrés par voie orale (gavage) pendant dix jours. Les groupes témoins ont également reçu du chlorure de sodium (NaCl) par gavage pendant la même période de dix jours.

II.2.1. Les groupes des animaux

Groupe 1 : Contrôle ou Témoin (recevant quotidiennement par gavage gastrique 10 ml/kg du NaCl pendant une période de 10 jours).

Groupe 2 : Traitement par EAM par gavage gastrique (ces rats ont reçu chacun une dose de [200 mg/kg/jour] d'extrait aqueux de *Marrubium SP* pendant 10 jours)

Groupe 3 : Traitement par EAR par gavage gastrique (ces rats ont reçu chacun une dose de [200 mg/kg/jour] d'extrait aqueux de *Ruta SP* pendant 10 jours)

Groupe 4 : a été soumis à un traitement toxique par CCl₄ (Ces rats ont reçu une injection intrapéritonéale unique de CCl₄ (3 ml/kg) mélangé à une quantité égale d'huile d'olive afin d'induire une toxicité aiguë).

Groupe 5 : a reçu une injection de CCl₄ et un traitement par EAM (Ces rats ont été injectés par voie intrapéritonéale avec du CCl₄ à une dose de 3 ml/kg, puis traités quotidiennement avec de EAM à une dose de 200 mg/kg pendant 10jours).

Groupe 6 : reçu une injection de CCl₄ et un traitement par EAR (Ces rats ont été injectés par voie intrapéritonéale avec du CCl₄ à une dose de 3 ml/kg, puis traités quotidiennement avec de EAR à une dose de 200 mg/kg pendant 10jours).

II.3. Sacrifice des animaux et prélèvement d'échantillons biologiques

Le sang a été prélevé au niveau de la veine porte à l'aide d'une seringue de 10 ml et placé dans des tubes héparinés pour éviter la coagulation. Ensuite, Ces tubes héparinés et centrifugés à 6000 tours/minute pendant 15 minutes puis le sérum est récupéré et utilisé pour les dosages biochimiques et enzymatiques, incluant le dosage de la PAL, GGT, ASAT et ALAT.

Par la suite, les animaux ont été sacrifiés et des échantillons biologiques du foie ont été prélevés après la fin du traitement.

II.4. Préparation de la fraction cytosolique de tissus 10%

Les fractions cytosoliques ont été préparées selon la méthode décrite par Sanmugapriya et Venkataraman (2006) [101]. Après le sacrifice des animaux, le foie a été récupéré, rincé à l'eau saline physiologique à 0,9 %, puis pesé et découpé en petits morceaux. Ensuite, 1 gramme de foi a été ajouté à 9 ml (1 volume sur 10) de solution tampon phosphate 0,1 M pH 7,4 contenant

1,15 % de KCl. Le mélange a été homogénéisé et centrifugé à 4000 tours par minute pendant 10 minutes à 4°C [101]. La fraction cytosolique ainsi obtenue a été utilisée pour les dosages du taux de malondialdéhyde (MDA), de la concentration de glutathion réduit (GSH), de l'activité de la glutathione S-transferase (GST) et de l'enzyme catalase (CAT).

II.4.1. Évaluation du MDA, GST et du GSH hépatique

Dosage de malondialdéhyde (MDA) dans une fraction cytosolique représentant 10 % du foie

***Principe**

Le malondialdéhyde (MDA) est l'un des produits finaux générés lors de la dégradation des acides gras polyinsaturés (AGPI) par des radicaux libres.

Dans notre recherche, nous avons évalué le taux de MDA hépatique en utilisant la méthode décrite par Ohkawa et al. en 1979. Ce dosage se base sur la réaction entre le MDA et deux molécules de thiobarbiturique (TBA) pour former un pigment coloré, mesurable à 500 nm, dans un milieu acide et chaud (100°C). Ce pigment est ensuite extrait par des solvants organiques tels que le butanol [102].

***Méthode de dosage**

Pour évaluer la quantité de MDA dans l'échantillon hépatique, nous avons mélangé 0,5 ml de la fraction cytosolique 10 % (contenant KCl 1,15 M) avec 0,5 ml d'acide trichloroacétique (TCA 20 %) et 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA). Ce mélange a été chauffé à 100°C pendant 18 minutes, puis refroidi et complété par l'ajout de 4 ml de n-butanol. Après une centrifugation de 15 minutes à 3000 tours/minute, la densité optique a été mesurée sur le surnageant à 500 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La quantité de MDA dans l'échantillon a été exprimée en nm/g de tissu hépatique. Elle est obtenue grâce à une courbe standard réalisée avec de 1, 1, 3,3-tétraéthoxy propane dans des conditions similaires.

II.4.2. Dosage du glutathion réduit hépatique

Le foie est le site principal de stockage du glutathion, un thiol intracellulaire qui est l'un des composants les plus abondants dans les cellules animales. Sa concentration varie généralement de 0,5 à 10 mM, tandis qu'elle est d'environ 4 mM dans le plasma. Le glutathion

est composé de trois acides aminés (Figure : 19) : l'acide glutamique, la cystéine (acide aminé essentiel pour sa synthèse), et la glycine.

Le glutathion se présente sous deux formes principales dans la cellule hépatique : une forme oxydée, notée GSSG, et une forme réduite, notée GSH, cette dernière représentant plus de 99 % de la quantité totale de glutathion.

*Principe

Le dosage du glutathion se fait généralement par une méthode colorimétrique utilisant le réactif d'Ellman (DTNB), qui est largement utilisée [103]. Cette méthode repose sur l'oxydation du GSH par l'acide 5,5-dithiodis-2-nitrobenzoïque (TNB), lequel, à un pH alcalin compris entre 8 et 9, présente une absorbance mesurable à 412 nm.

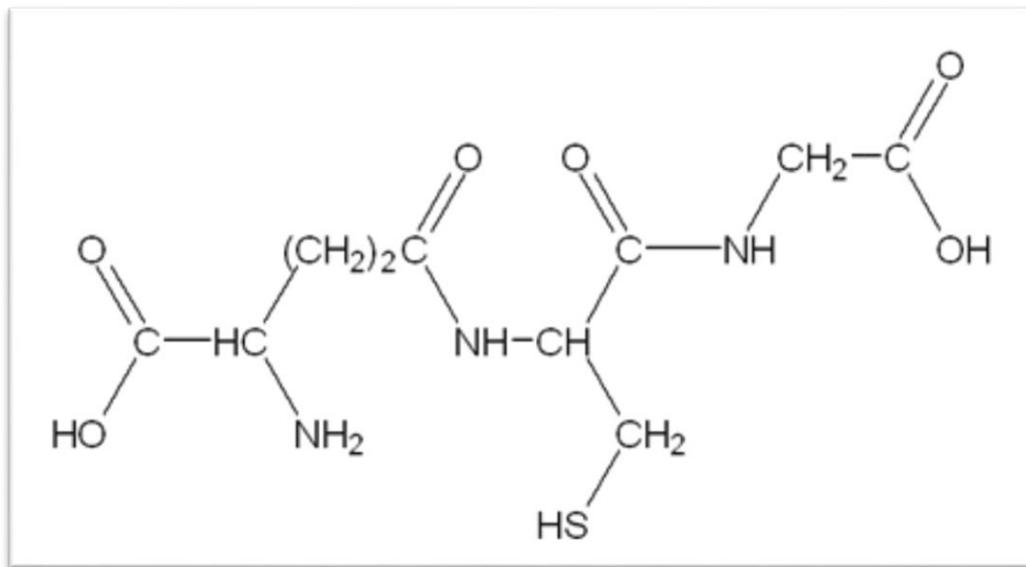


Figure 19 : La formule chimique de la glutathion réduit Source spécifiée non valide.

*Méthode de dosage

Pour le dosage du glutathione, nous avons mélangé 0,5 ml d'acide trichloroacétique (TCA 10 %) avec 0,5 ml de la fraction cytosolique 10 % (contenant KCl 1,15 M) du foie, puis centrifugé à 2000 tours/minute pendant 5 minutes. Ensuite, nous avons ajouté 1,7 ml de tampon phosphate 0,1 M, pH 8, à 0,2 ml du surnageant et 0,1 ml du réactif d'Ellman 0,1 M. La densité optique a été mesurée après 5 minutes à 412 nm par rapport à un blanc préparé dans les mêmes conditions avec de la TCA 10 %. Les concentrations de GSH dans l'échantillon sont exprimées

en $\mu\text{m/g}$ de tissu hépatique, en se référant à une courbe standard établie avec du GSH dans des conditions similaires.

II.4.3. Dosage de l'activité de la catalase cytosolique

L'activité de la catalase cytosolique, une enzyme antioxydant, a été mesurée en utilisant la méthode décrite par Clairborne en 1985. [104]

*Principe

L'enzyme catalase catalyse la dismutation de l'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) en eau et dioxygène à 25°C , en utilisant la source enzymatique présente dans la fraction cytosolique.

*Méthode de dosage

Le dosage a été effectué dans un volume final compris entre 2,95 ml et 3 ml d'une solution de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) à 19 mM, préparée dans un tampon phosphate KH_2PO_4 0,1 M, pH 7,4. À cette solution, nous avons ajouté 50 μl de la fraction cytosolique de l'échantillon. La réaction a été suivie en mesurant en continu le changement d'absorbance à 240 nm, avec une lecture effectuée chaque minute sur un intervalle de temps de 2 minutes.

*Calcul :

L'activité de l'enzyme est exprimée en unité /mg d'homogénat.

$$K = \frac{2.303}{T} \times \log \frac{A1}{A2}$$

K : constant de vitesse de la réaction

T : intervalle de temps

A1 : absorbance dans le temps zéro

A2 : absorbance après une minute

L'activité de l'enzyme est calculée selon l'équation suivante : $U/\text{mg} = K/n$

n : mg de protéines en mg présentent dans le volume de l'échantillon utilise

U/mg de protéine : $\mu\text{mole d}'\text{H}_2\text{O}_2$ consommé/min/mg de protéine.

II.4.4. Dosage de l'activité du Glutathion- S-transférase (GST)

La GST (glutathion S-transférase) est une enzyme clé dans le processus de détoxification des composés naturels souvent cytotoxiques et électrophiles. Elle fonctionne en conjuguant ces

composés avec le glutathion, un mécanisme crucial pour neutraliser et éliminer les substances nocives du corps. En plus de cette fonction primaire, la GST joue également un rôle important dans la protection des cellules contre le stress oxydatif et les dommages induits par les radicaux libres, contribuant ainsi à maintenir l'intégrité cellulaire et la santé globale de l'organisme. [105]

***Principe du dosage**

La mesure de l'activité de la glutathion S-transférase (GST) est réalisée selon la méthode de Habig et Jakoby [106], comme précisé dans le kit SIGMA. Cette méthode repose sur la détection de l'absorbance à 340 nm du complexe formé entre le glutathion (GSH) et le 2,4-dinitrochlorobenzène (CDNB) sous l'action de la GST. En pratique, cette technique permet de quantifier la formation du complexe Glutathion-2,4-Dinitrobenzene, offrant ainsi une mesure précise de l'activité enzymatique de la GST dans divers échantillons biologiques.

***Réalisation du dosage**

Le mélange réactionnel se compose de 2,7 ml de tampon phosphate 0,1 M à pH 6,5 (2,8 ml pour le blanc), de 0,1 ml de glutathion à une concentration de 50 mM (préparé dans le tampon phosphate à pH 6,5) et de 0,1 ml de CDNB à 40 mM (dissous dans de l'éthanol à 95%). Ensuite, 0,1 ml de l'homogénat est ajouté au mélange placé dans une cuve, puis l'ensemble est bien mélangé par inversion. L'absorbance est mesurée à des intervalles d'une minute pendant une durée totale de 5 minutes.

La concentration de la GST est obtenue par la formule suivante :

$$\text{Unités/ml enzyme} = (\text{A}_{340/\text{mn Test}} - \text{A}_{340/\text{mn Blanc}}) (3) / (9,6) * (0,1)$$

3 : volume total (ml)

9,6 : coefficients d'extinction du CDNB conjugué.

0,1 volume de l'extrait enzymatique (ml).

Une unité correspond à la conjugaison de 1 μ mole de 1- chloro-2,4-dinitrobenzene avec le glutathion réduit par minute.

II.5. Dosage des paramètres biochimiques

Les activités enzymatiques de l'ASAT et de l'ALAT, ainsi que les biomarqueurs de la fonction hépatique PAL et GGT, ont été mesurées par colorimétrie en utilisant des kits commerciaux de la marque SPINREACT. Ces analyses ont été réalisées sur un Analyseur chimique discret automatisé, spécifiquement le Siemens ADVIA 1800, au laboratoire de biochimie du CHUC.

II.6. Préparation des échantillons des coupes histologiques

Pour l'étude histologique, les échantillons de foie sont prélevés de tous les lots. Ces prélèvements doivent être effectués rapidement après la mort de l'animal. Les échantillons sont ensuite rincés avec de l'eau physiologique froide et immédiatement fixés dans une solution de formol à 10 %.

II.6.1. L'analyse histologique

Les techniques histologiques impliquent une série d'opérations successives. Dans notre méthode d'inclusion à la paraffine, nous avons suivi sept étapes principales pour préparer les échantillons en vue d'une observation microscopique détaillée.

- Prélèvement des échantillons :** Les tissus sont prélevés selon les conditions spécifiées.
- Fixation :** Les échantillons sont fixés dans une solution de formol à 10 %, ce qui polymérise les polypeptides et rend les tissus insolubles.
- Lavage, déshydratation et éclaircissement :** Les échantillons sont d'abord lavés à l'eau courante, puis déshydratés progressivement en passant par des bains d'alcool jusqu'à l'alcool absolu. Ensuite, ils sont éclaircis en étant immergés dans du xylène suivi de la paraffine.
- Inclusion :** Les échantillons sont immergés dans de la paraffine fondue pendant deux heures, permettant à la paraffine de pénétrer les tissus et de remplacer le solvant.
- Construction des blocs :** Après saturation des échantillons par la paraffine, ils sont inclus dans de petits moules pour former des blocs. Ces blocs peuvent être conservés pendant des années sans dommage.

-Préparation des coupes et montage sur lame : Les blocs de paraffine sont coupés en tranches minces à l'aide d'un microtome et les coupes sont montées sur des lames de verre. Ensuite, les lames sont séchées à 37°C dans une étuve.

-Coloration : Les coupes sont colorées selon la méthode H&E (hématoxyline et éosine) pour permettre une observation détaillée.

-Observation : Les coupes sont examinées au microscope optique à différents grossissements.

II.7. Evaluation statistique

Les résultats des expériences sont présentés sous forme de moyennes et d'écart-types. Pour évaluer les différences entre les populations, nous utilisons le test TUKEY.

La valeur obtenue par le calcul du coefficient p permet de déterminer le niveau de significativité, avec un seuil de risque p tel que :

p < 0,05 indique une différence significative*,

p < 0,01 indique une différence hautement significative**,

p < 0,001 indique une différence très hautement significative***.

Lorsque **p > 0,05**, cela signifie que la différence n'est pas significative par rapport au groupe témoin (désigné par ns).

Ces calculs statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel SPSS version 29.0.2.0 (20)

Partie III :
Résultats et discussion

I. Résultats

I.1. Préparation et étude du matériel végétal :

I.1.1. Préparation de l'extrait aqueux de *Marrubium sp* et *Ruta sp* :

Lors de l'extraction des matériaux végétaux, des résidus bruts ont été obtenus avec des rendements variables (voir tableau 4).

Tableau 4 Le rendement d'extrait aqueux de *Marrubium sp* et *Ruta sp*

Extrait	Matière brute	Rendement
EAM	21,92 g	8,43%
EAR	20,56 g	12,92%

Le calcul des rendements par rapport au poids sec de la poudre végétale a révélé que l'EAR présente le rendement le plus élevé (12,92%), comparativement à l'EAM (8,43%). Cela suggère une extraction plus efficace ou une concentration plus élevée de composés extraits dans les feuilles de *Ruta sp*.

I.1.2. Etude phytochimique

Les tests phytochimiques sur EAM et EAR révèlent la présence de diverses familles de substances, dont les résultats sont détaillés dans le (Tableau 5).

Tableau 5 Analyse Phytochimiques préliminaire d'extrait aqueux de *Marrubium sp* et *Ruta sp*

Composés	EAM	EAR
Tanins	+++ Une coloration bleu noirâtre apparaît.	+++ Une coloration bleu noirâtre apparaît.
Saponosides (tests 1 et 2)	+++	+++

Composé réducteurs	+++ L'observation montre deux phases distinctes : une brun-rouge et une autre bleu-vert.	+++ L'observation montre deux phases distinctes : une brun-rouge et une autre bleu-vert.
Alcaloïdes sels	+++ Le test de Wagner est positif avec turbidité.	+++ Le test de Wagner est positif avec turbidité.

(-) : Absence, (+) : Présence en faible quantité, (++) : Présence en quantité moyenne, (+++) : Présence en quantité importante

Les résultats positifs de chaque test, comme le montre le tableau, révèlent la richesse des feuilles de *Marrubium sp* et de *Ruta sp* en divers composés, notamment des tanins, des saponines, des composés réducteurs et des alcaloïdes. Cette diversité chimique justifie leur utilisation phytothérapie en tant que plantes aux propriétés antioxydants, soulignant ainsi leur potentiel thérapeutique remarquable.

I.1.3. Peroxydation lipidique :

Pour l'évaluation de pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique, nous avons réalisé deux tests « homogénat de foie / jaune d'œuf » Dans chaque test, nous avons utilisé deux concentrations différentes « 60 mg_ 100 mg » d'EAM et d'EAR, comme indiqué dans les tableaux ci-dessus.

Test 1

Dans ce test, nous avons utilisé l'homogénat de foie comme source riche en lipides (Figure 20). Nous avons observé une augmentation très hautement significative du pourcentage d'inhibition de l'EAM à la concentration de 100 mg ($0,516 \pm 0,060$) par rapport à la concentration de 60 mg ($0,228 \pm 0,035$), qui présentait des valeurs inférieures très hautement significatives. De même, le pourcentage d'inhibition de l'EAR à la concentration de 100 mg ($0,497 \pm 0,071$) a montré des valeurs supérieures très hautement significatives comparativement à la concentration de 60 mg ($0,1 \pm 0,023$). Par ailleurs, aucune variation significative n'a été

observée entre le pourcentage d'inhibition de l'EAM et de l'EAR aux concentrations de 100 mg et de 60 mg.

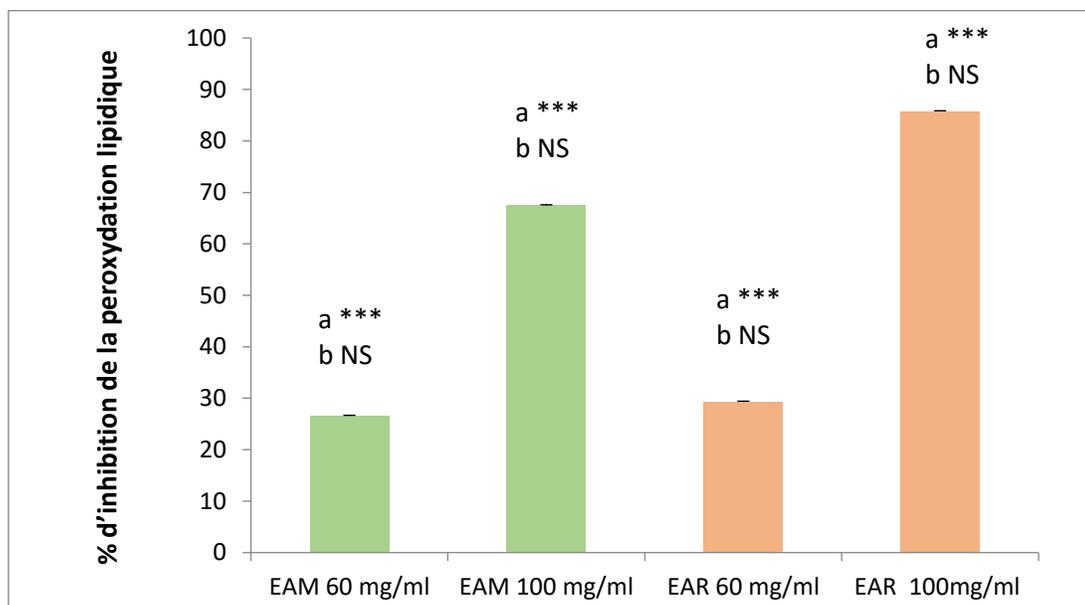


Figure 20 : le pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique de l'extrait aqueux de *Marrubium sp* et *Ruta sp*

Test 2

Nous avons utilisé le jaune d'œuf comme source lipidique pour nos tests (Figure 21). Les résultats ont révélé une augmentation hautement significative du pourcentage d'inhibition par l'EAM à une concentration de 100 mg ($0,228 \pm 0,006$) par rapport à 60 mg ($0,095 \pm 0,061$), cette dernière représentant presque la moitié de l'inhibition observée à 100 mg.

Pour l'EAR, une augmentation significative du pourcentage d'inhibition a également été observée à une concentration de 100 mg/ml avec une valeur de ($0,132 \pm 0,013$) par rapport à 60 mg ($0,046 \pm 0,006$).

En comparant les deux extraits, l'EAM a montré une inhibition plus élevée à 100 mg par rapport à l'EAR. Cependant, à une concentration de 60 mg, l'EAR a surpassé l'EAM en termes de pourcentage d'inhibition, suggérant que l'EAR possède un effet inhibiteur de la peroxydation lipidique plus puissant à cette concentration.

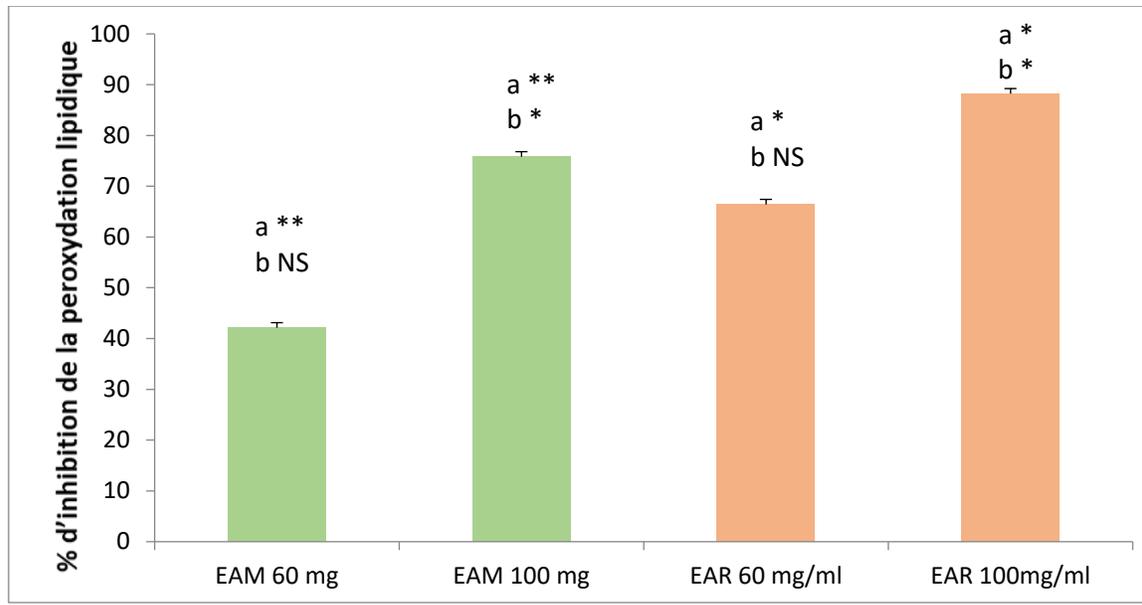


Figure 21 : le pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique de l'extrait aqueux de *Marrubium sp* et *Ruta sp*

I.1.4. L'activité antioxydant :

- **DPPH :**

Pour évaluer la concentration inhibitrice 50% (IC50) de l'EAM et l'EAR, ainsi que du BHT, les valeurs correspondantes sont indiquées dans la figure 22.

Nous avons observé une augmentation hautement significative de l'IC50 pour l'EAM par rapport à celui du BHT. De plus, une augmentation très hautement significative de l'IC50 pour l'EAR comparativement au BHT a été relevée. Ces résultats mettent en évidence une meilleure efficacité antioxydant des composés de l'EAM par rapport à l'EAR.

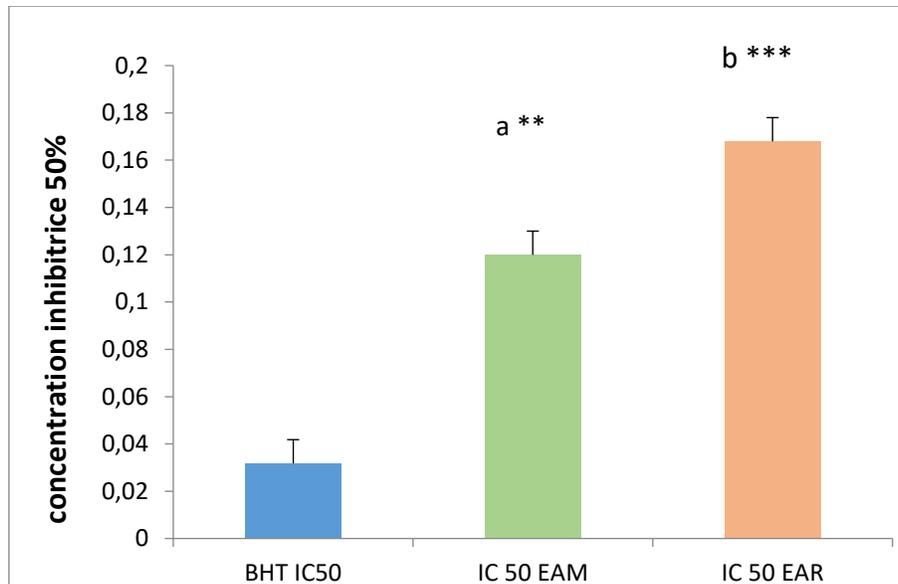


Figure 22 : la concentration inhibitrice 50% de l'extrait aqueux de *Marrubium sp* et *Ruta sp* et de BHT qui inhibent 50% du radical DPPH

I.2. Les paramètres biochimique

I.2.1. ASAT/ALAT

La figure 23 présente les résultats des niveaux de transaminases AST et ALT de notre étude. Nous avons observé qu'une injection de CCl₄ provoque une augmentation très significative des niveaux d'AST et d'ALT chez les rats du groupe CCl₄ par rapport aux rats du groupe témoin. En revanche, chez les groupes CCl₄+EAM et CCl₄+EAR, une diminution significative a été observée : hautement significative chez le groupe CCl₄+EAM et très hautement significative chez le groupe CCl₄+EAR, par rapport aux rats du groupe intoxiqué par CCl₄. Ces résultats sont presque identiques à ceux du groupe témoin, indiquant que le traitement thérapeutique avec ces deux extraits a efficacement réduit les concentrations d'AST et d'ALT.

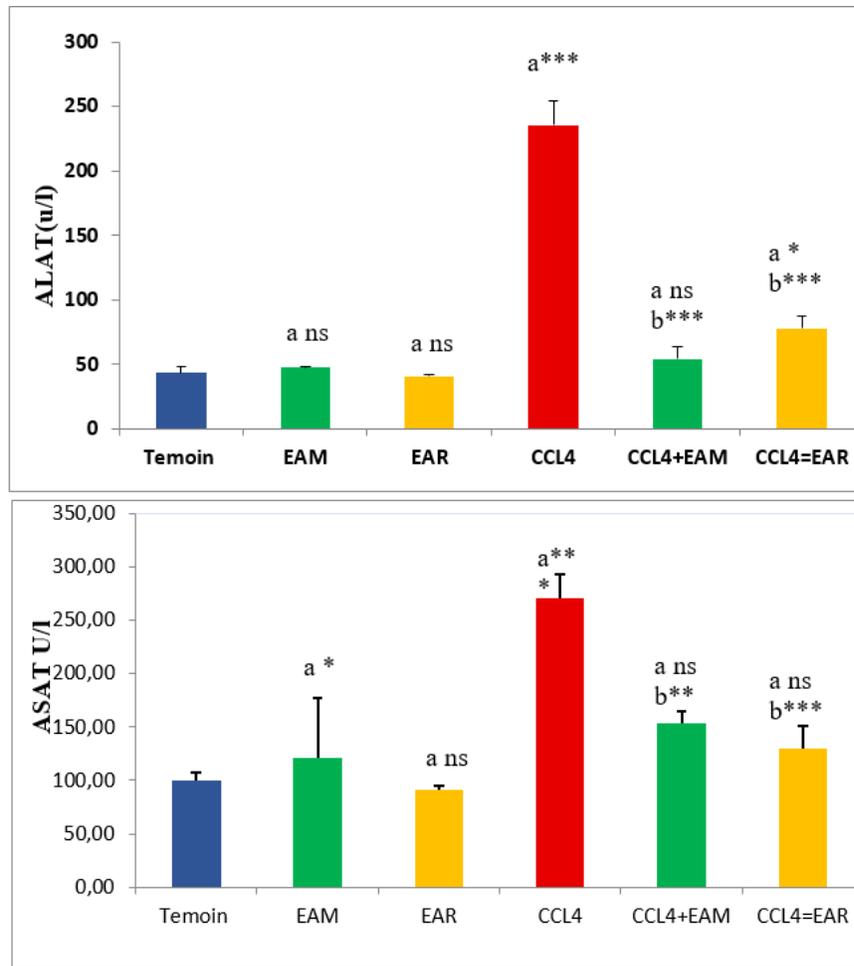


Figure 23 : Effet de CCl4 et EAM, EAR sur la fonction du Foie et sa libération des transaminases ALAT et ASAT

Les résultats sont exprimés en moyenne± ecartype. Test TUKEY :

(a) Comparer avec le lot témoin ; (b) comparer avec le lot CCl4.

(*) Désigne un effet significatif ($p < 0.05$), (**) désigne un effet hautement significatif, (***) désigne un effet très hautement significatif, (ns) non significatif.

I.2.2.P. Alcaline

D'après nos résultats (Figure24), nous avons observé une élévation très significative du taux de PAL chez les rats intoxiqués par le CCl4, par rapport au groupe témoin. En revanche, les groupes CCl4+EAM et CCl4+EAR ont montré une diminution notable du taux de PAL : hautement significative chez le groupe CCl4+EAM et significative chez le groupe CCl4+EAR, comparé aux rats du groupe intoxiqué par le CCl4. Ces résultats sont presque identiques à ceux

du groupe témoin, indiquant que le traitement thérapeutique avec ces deux extraits a efficacement réduit les niveaux de PAL.

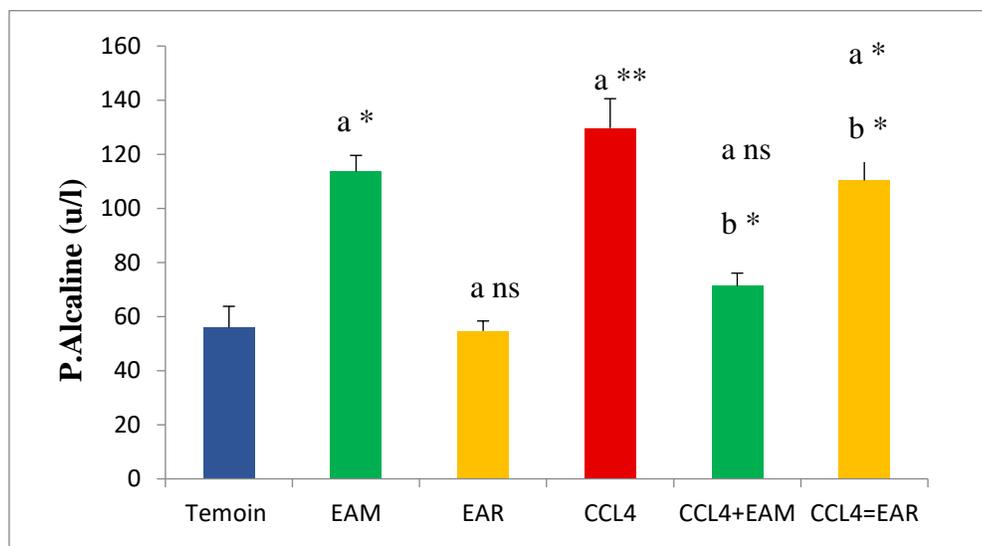


Figure 24 : Effet de CCL4 et EAM, EAR sur le niveau de PAL dans le foie

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écartype. Test TUKEY :

(a) Comparer avec le lot témoin ; (b) comparer avec le lot CCl4.

(*) Désigne un effet significatif ($p < 0.05$), (**) désigne un effet hautement significatif, (***) désigne un effet très hautement significatif, (ns) non significatif.

I.2.3. GGT

Les résultats de notre étude (figure 25) montrent une diminution hautement significative des niveaux de GGT chez les rats traités avec CCl4 ($4,33 \pm 1,24$) par rapport au groupe témoin ($8,66 \pm 1,88$). De plus, une augmentation hautement significative des niveaux de GGT a été observée dans les groupes CCl4+EAM ($9,33 \pm 2,86$) et CCl4+EAR ($7,02 \pm 2,13$) par rapport au groupe traité uniquement avec CCl4 ($4,33 \pm 1,24$), ces résultats étant presque identiques à ceux du groupe témoin ($8,66 \pm 1,88$). Cela indique que les traitements avec EAM et EAR ont efficacement rétabli les niveaux de GGT chez les rats intoxiqués par CCl4.

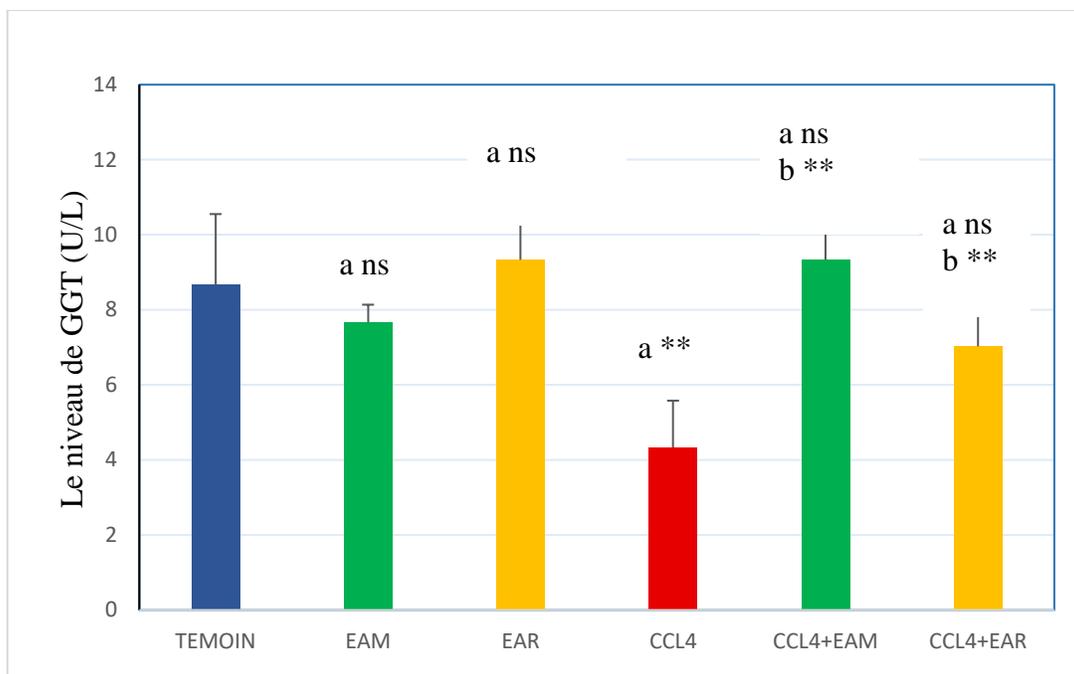


Figure 25 : Effet de CCl₄ et des extraits aqueux de *Marrubium Sp* et *Ruta Sp* sur la fonction hépatique et la libération de la gamma-glutamyl transférase (GGT)

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écartype. Test TUKEY :

(a) Comparer avec le lot témoin ; (b) comparer avec le lot CCl₄.

(*) Désigne un effet significatif ($p < 0.05$), (**) désigne un effet hautement significatif, (***) désigne un effet très hautement significatif, (ns) non significatif.

I.3. Evaluation du MDA, CAT, GSH et GST :

I.3.1. MDA

Nous avons constaté une élévation très hautement significative du MDA chez les rats traités avec le CCl₄ ($72,70 \pm 4,66$ nmol/g de tissu) par rapport au groupe témoin ($33,72 \pm 0,34$ nmol/g de tissu). Par ailleurs, aucune variation significative du MDA n'a été observée chez les rats traités avec EAM ($32,94 \pm 0,91$ nmol/g de tissu) et EAR ($31,94 \pm 1,18$ nmol/g de tissu). En revanche, chez les groupes CCl₄ + EAM ($38,50 \pm 6,19$ nmol/g de tissu) et CCl₄ + EAR ($34,75 \pm 7,03$ nmol/g de tissu), une diminution très hautement significative du MDA a été observée par rapport aux rats du groupe intoxiqué par CCl₄ ($72,70 \pm 4,66$ nmol/g de tissu), comme le montre la figure 26.

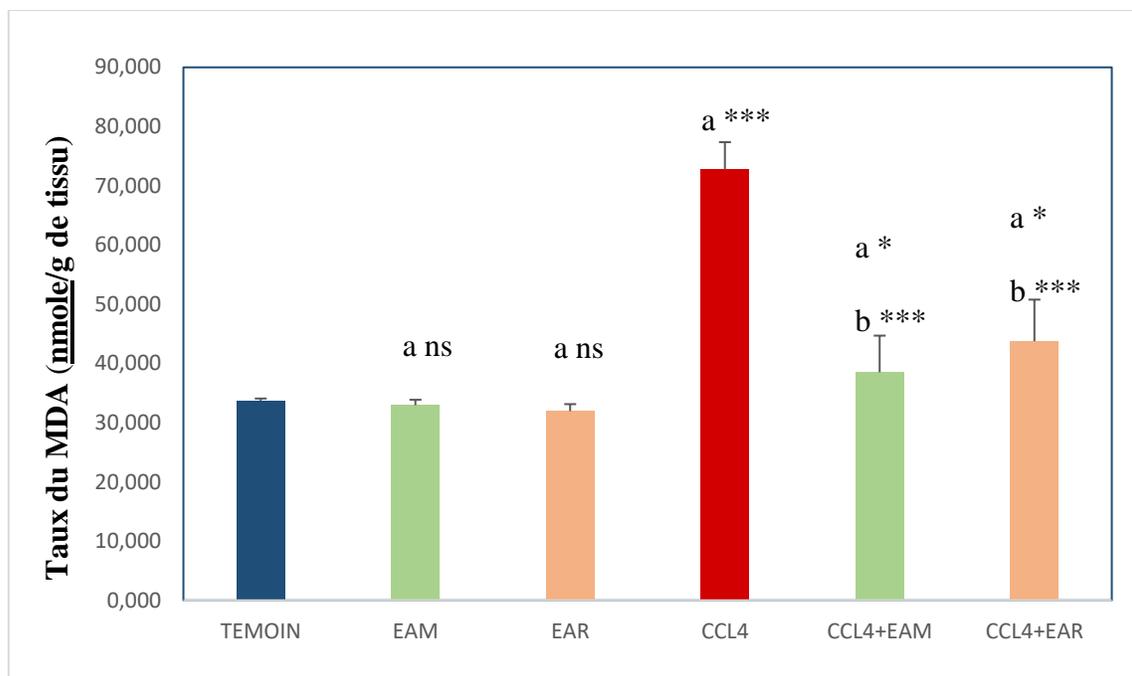


Figure 26 : Variation des taux de MDA cytosolique chez les rats intoxiqués par le CCl₄ seuls et traités avec es extraits aqueux (EAM) et (EAR).

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type. Test TUKEY :

(a) Comparer avec le lot témoin ; (b) comparer avec le lot CCl₄.

(*) Désigne un effet significatif ($p < 0.05$), (**) désigne un effet hautement significatif, (***) désigne un effet très hautement significatif, (ns) non significatif.

I.3.2. Catalase

Dans notre recherche, selon la figure 27 nous avons observé une réduction très hautement significative de l'activité de la catalase chez les rats traités avec du CCl₄ ($0,3 \pm 0,02$) comparativement au groupe témoin normal ($0,85 \pm 0,19$). En revanche, une augmentation très hautement significative de l'activité de la catalase a été notée dans les groupes CCL4+EAM ($1,42 \pm 0,06$) et CCL4+EAR ($1,25 \pm 0,03$) par rapport au groupe traité au CCl₄ ($0,3 \pm 0,02$). Cette augmentation était également très significative par rapport au groupe témoin ($0,85 \pm 0,19$).

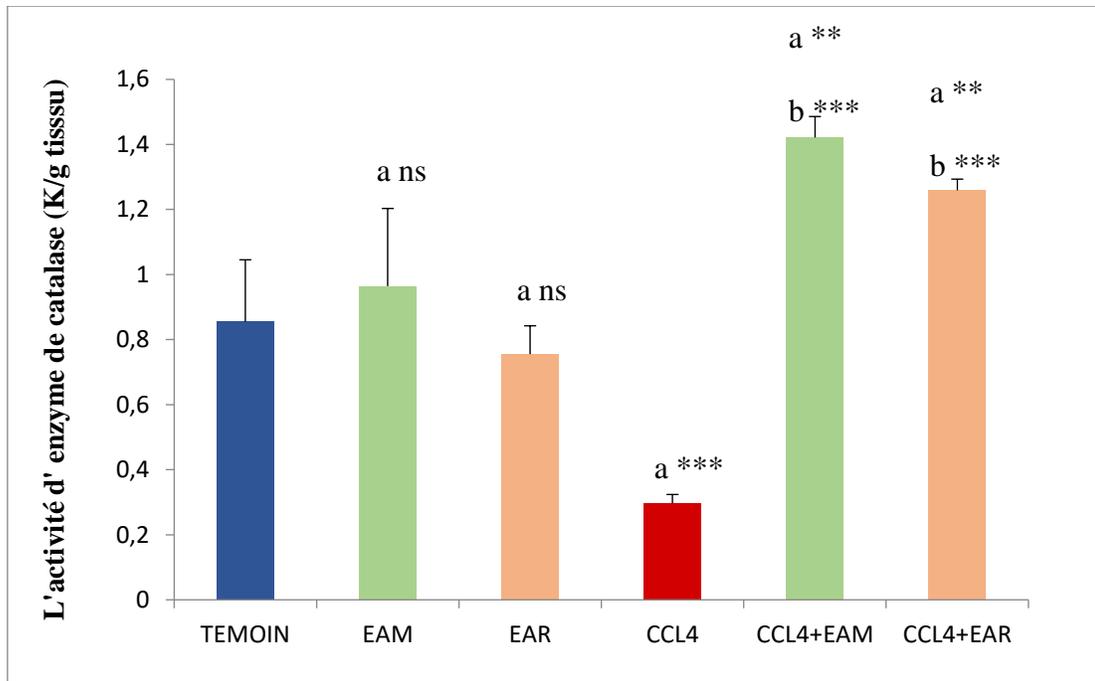


Figure 27 : Effet de l'extrait d'EAM et EAR sur le niveau de CAT dans le foie

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type. Test TUKEY :

(a) Comparer avec le lot témoin ; (b) comparer avec le lot CCl₄.

(*) Désigne un effet significatif ($p < 0.05$), (**) désigne un effet hautement significatif, (***) désigne un effet très hautement significatif, (ns) non significatif.

I.3.3. GSH

Les résultats (figure 28) montrent une diminution du taux de GSH dans le foie des rats traités au CCl₄ ($3,266 \pm 0,97$) par rapport au groupe témoin normal ($5,497 \pm 0,26$). En outre, les niveaux de GSH étaient significativement plus élevés chez les rats traités avec EAM+CCL₄ ($6,068 \pm 0,28$) par rapport aux rats ayant reçu uniquement du CCl₄. Nous avons également observé une augmentation significative du taux de GSH chez les rats traités avec EAR+CCL₄ ($6,029 \pm 0,716$) par rapport aux rats du groupe CCl₄.

Toutefois, aucune variation significative du taux de GSH n'a été constatée chez les rats des groupes EAM+CCL₄ et EAR+CCL₄ par rapport aux groupe témoin, ce qui suggère que les deux extraits ont un effet thérapeutique.

L'administration de l'EAM ($8,504 \pm 1,723$) ou de l'EAR ($7,192 \pm 0,42$) a entraîné une augmentation très hautement significative du taux de GSH par rapport au groupe témoin ($5,497 \pm 0,26$).

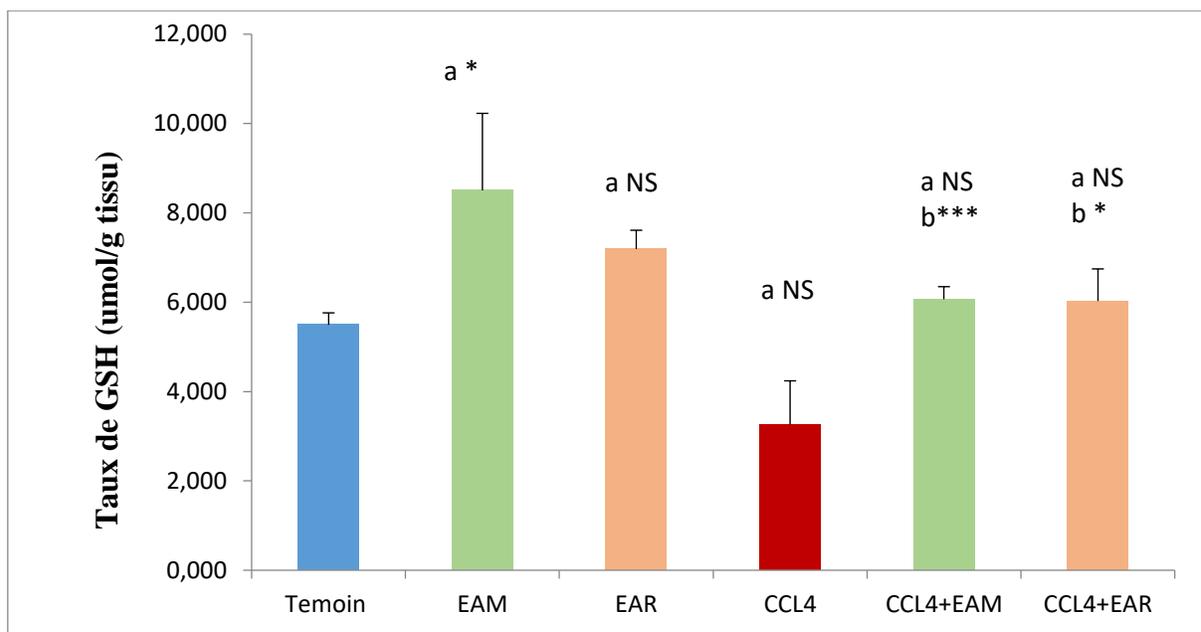


Figure 28 : Effet de l'extrait aqueux de *Marrubium sp* et *Ruta sp* sur le niveau de GSH dans le foie

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type. Test TUKEY :

(a) Comparer avec le lot témoin ; (b) comparer avec le lot CCl₄.

(*) Désigne un effet significatif ($p < 0.05$), (**) désigne un effet hautement significatif, (***) désigne un effet très hautement significatif, (NS) non significatif.

I.3.4. GST

Nous avons constaté d'après la figure 29 une diminution très hautement significative des niveaux de GST chez les rats du groupe CCl₄ ($8,73 \pm 0,042$) par rapport aux rats témoins ($12,54 \pm 0,067$). De plus, chez les rats traités avec EAM+CCl₄ ($14,631 \pm 0,043$) et EAR+CCl₄ ($14,630 \pm 0,047$), les niveaux de GST étaient également très hautement significatifs comparativement aux rats du groupe CCl₄ et au groupe témoin.

L'administration de l'EAM ($17,116 \pm 0,350$) ou de l'EAR ($14,844 \pm 0,047$) a entraîné une augmentation très hautement significative du taux de GST par rapport au groupe témoin ($12,54 \pm 0,067$).

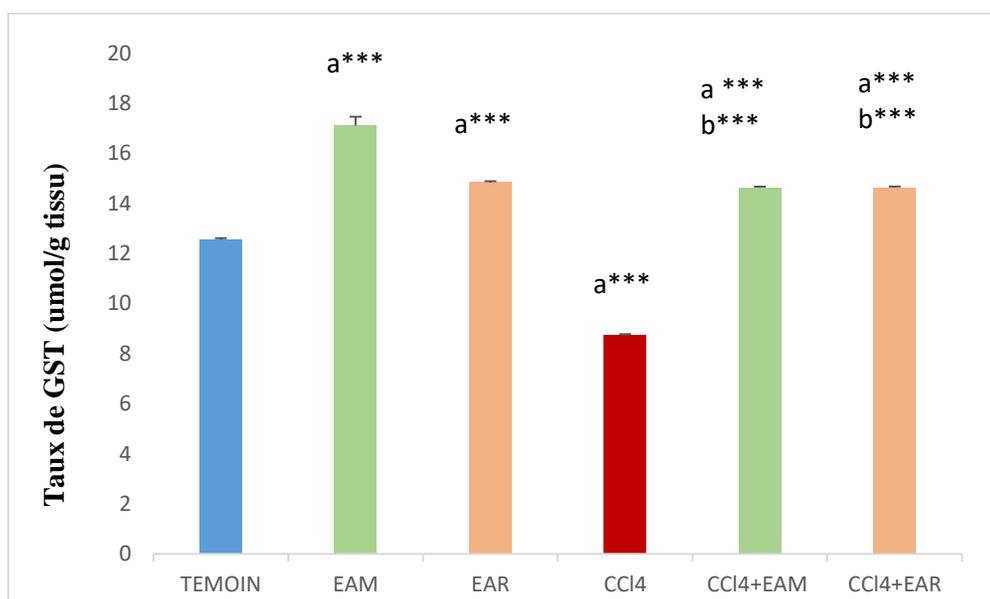


Figure 29 : Effet de l'extrait aqueux des plantes *Marrubium sp et Ruta sp* sur le niveau de GST dans le foie

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type. Test TUKEY :

(a) Comparer avec le lot témoin ; (b) comparer avec le lot CCl₄.

(*) Désigne un effet significatif ($p < 0.05$), (**) désigne un effet hautement significatif, (***) désigne un effet très hautement significatif, (ns) non significatif.

I.4. Analyse des coupes histologique :

L'étude histologique du tissu hépatique a montré

Figure 30 : La coloration à l'hématoxyline-éosine du tissu hépatique des rats témoins a révélé une structure cellulaire normale sans anomalies hépatocytes normaux avec des espaces sinusoidaux (Sn) et veines centrales (CV). Aucune infiltration de cellules immunitaires, telles que des cellules mononuclées, ni de nécrose tissulaire n'a été observée. La distribution des fibres de collagène dans les tissus hépatiques du groupe témoin était également normale.

Figure 31 : présente les photomicrographies du profil histopathologique du foie des rats traités avec du CCl₄ (3 ml/kg). Les images montrent des altérations significatives de

l'histoarchitecture, notamment une dégénérescence cellulaire et une perte de la configuration normale du foie. On y observe également une dilatation des vaisseaux sanguins et une infiltration de cellules inflammatoires. La présence de nécrose centro-lobulaire (n) et de gouttelettes lipidiques (S) indique une stéatose marquée.

Figure (32-33) : En revanche, les lésions observées chez les rats intoxiqués par le CCl₄ et traités avec des extraits d'EAM et EAR à une dose de 200 mg/kg étaient moins sévères, et l'architecture hépatique est restée en grande partie conservée.

Figure (34-35) : Dans les figures E et F, les rats traités avec les extraits aqueux de *Marrubium* (EAM) et de *Ruta* (EAR) montrent une architecture tissulaire régulière. Ces images sont similaires à celles du groupe témoin, indiquant une préservation de l'intégrité histologique du foie.

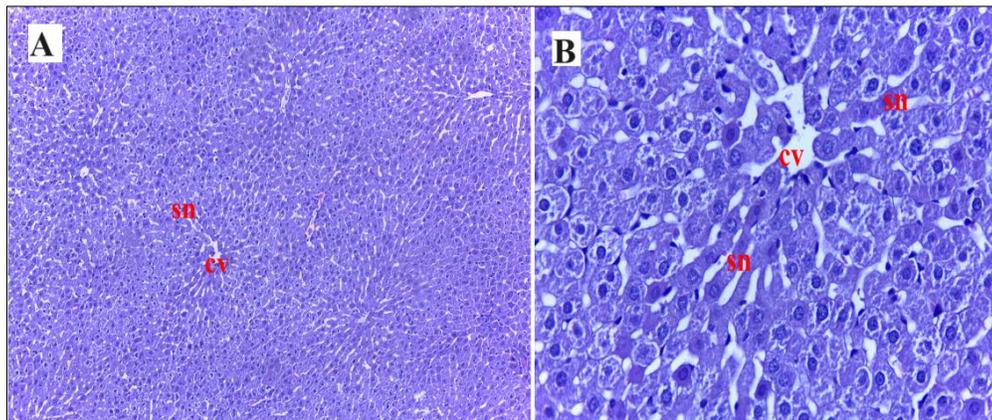


Figure 30 : Coupes histologiques du foie du groupe Témoin Coloration hématoxyline-éosine A (G×100) et B (G×400)

hépatocytes normaux avec des espaces sinusoidaux (Sn) veines centrales (CV)

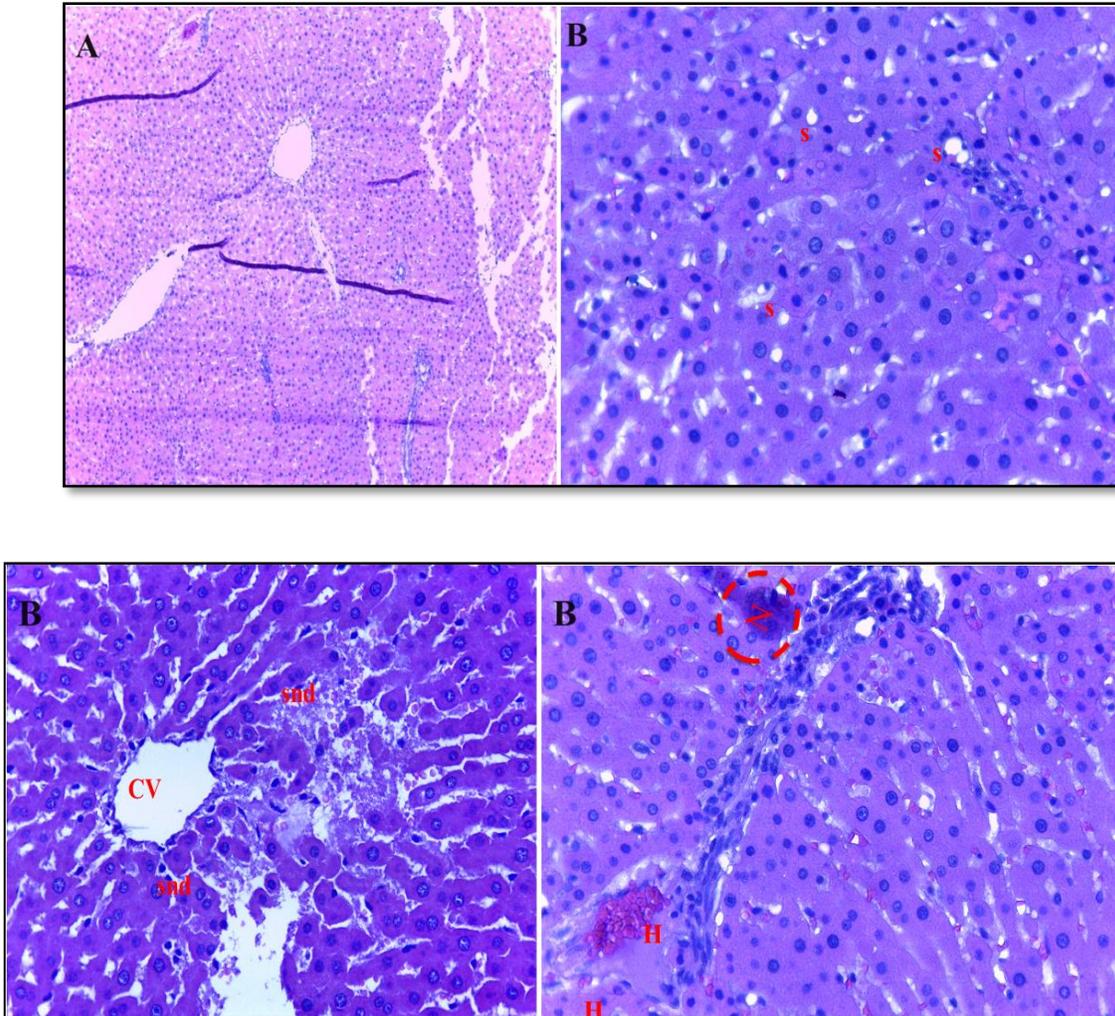


Figure 31 : Coupes histologiques du foie du groupe intoxiqué par CCl4 Coloration hématoxyline-éosine A (G×100) et B (G×400)

Aaltération de l'architecture hépatique, perte de cordons hépatiques, d'agencement radial et dilatations sinusoïdales marqués (Snd), degré sévère d'hémorragies (HR), la nécrose centrolobulaire (n) et présence des gouttelettes lipidiques (S) au niveau du parenchyme.

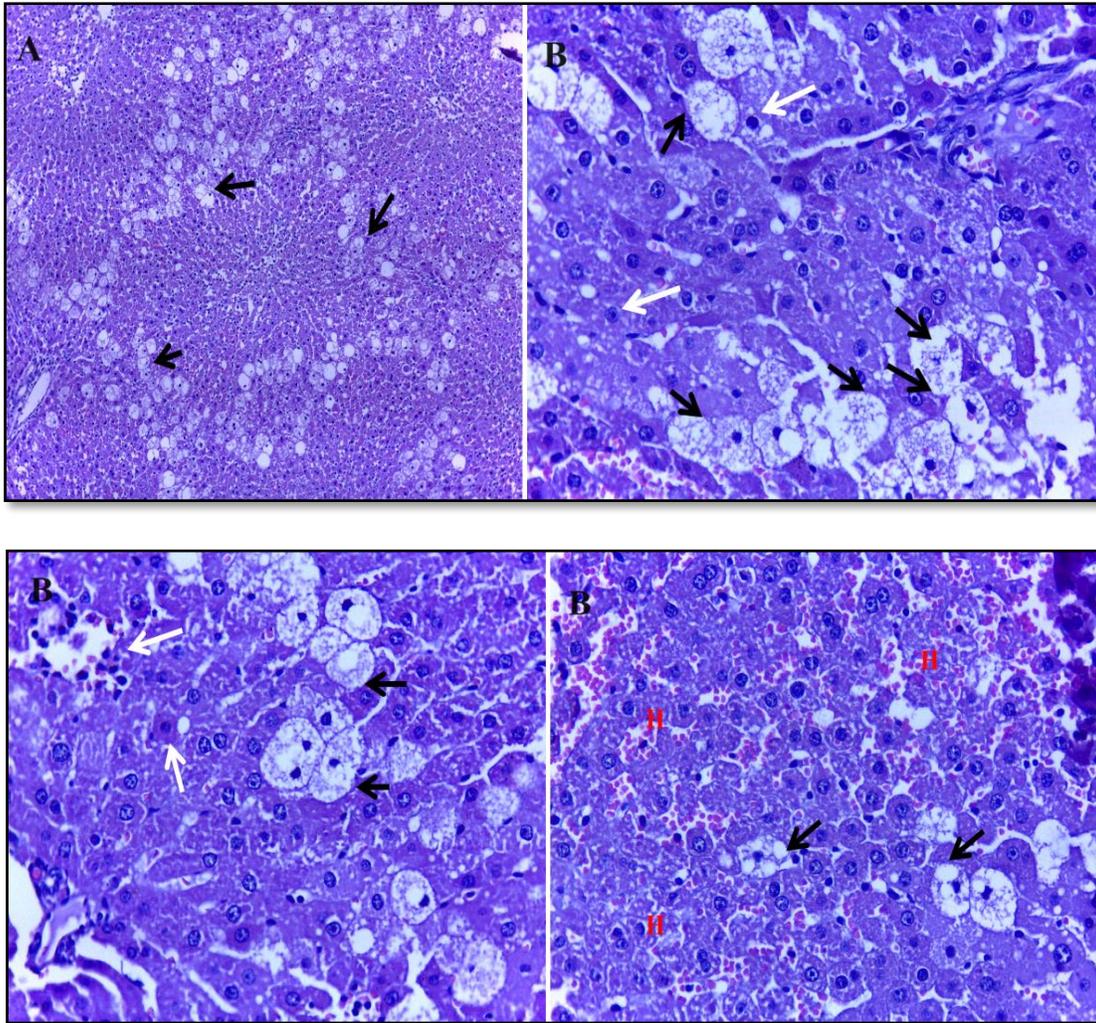


Figure 32 : Coupes histologiques du foie du groupe CCL4+EAM Coloration hématoxyline-éosine A (G×100) et B (G×400)

L'architecture hépatique a montré une légère dégénérescence avec un degré modéré d'altération histopathologique illustrée. Un Degré réduit des dilatations des veines sinusoidales et centrales, dégénérescence ballonnante (flèche noire) ; infiltration de cellules inflammatoires (flèche blanche) une légère nécrose des hépatocytes a été observée.

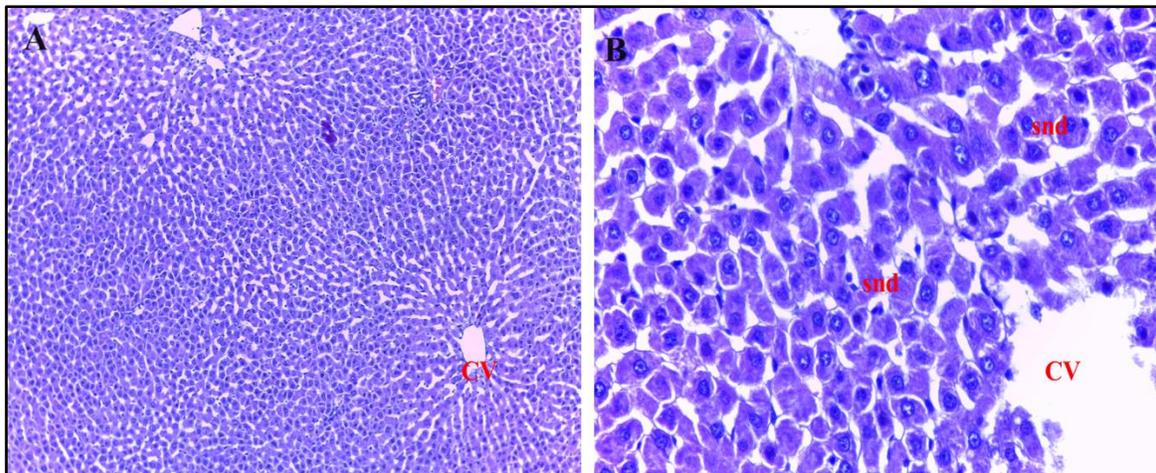


Figure 33 : Coupes histologiques du foie du groupe CCL4+EAR Coloration hématoxyline-éosine A (G×100) et B (G×400)

La figure montre que l'EAR a réparé une partie des dommages causés par le CCl₄ le groupe traité par *Ruta .sp* montre moins d'inflammation et moins de ballonnements.

Ruta .sp également protégé le tissu hépatique provenant de dommages causés par CCl₄ ; il est évident que le gonflement, la congestion et l'inflammation ont été réduits.

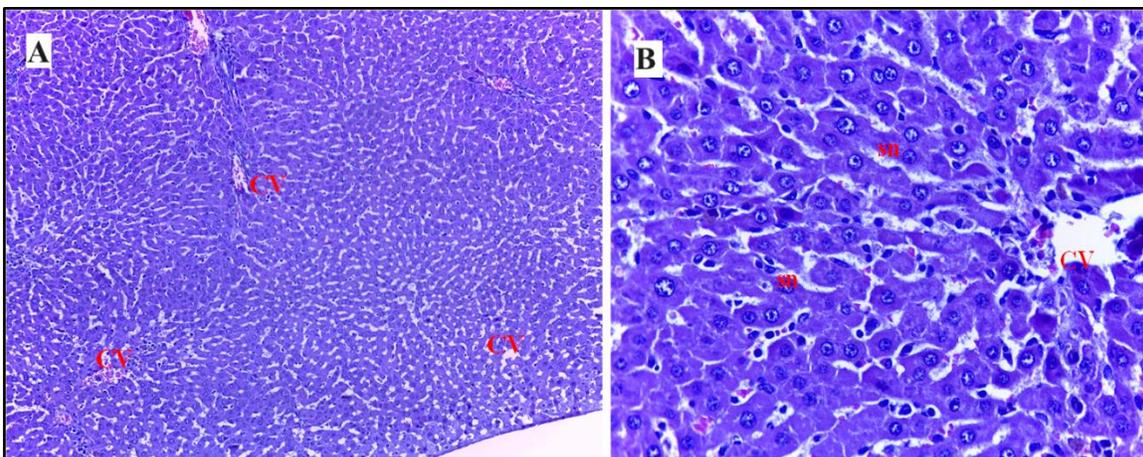


Figure 34 : Coupes histologiques du foie du groupe EAM Coloration hématoxyline-éosine A (G×100) et B (G×400).

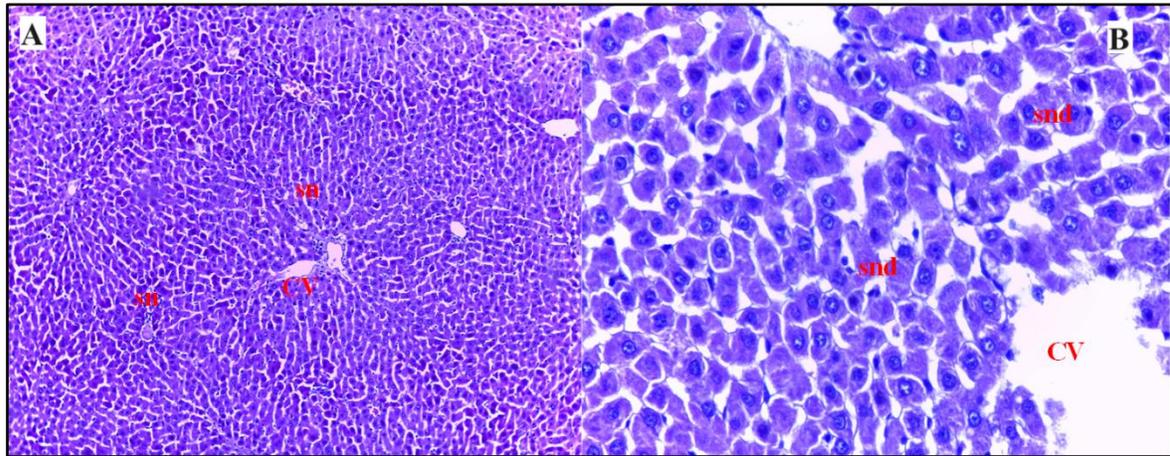


Figure 35 : Coupes histologiques du foie du groupe EAR Coloration hématoxyline-éosine A (G×100) et B (G×400).

Les rats traités par *Marrubium sp* et *Ruta sp* respectivement en remarque des tissus hépatique normaux avec des espaces sinusoidaux (Sn), veines centrales (CV).

II. Discussion

Le foie est un organe essentiel du corps humain, jouant un rôle crucial dans le métabolisme et la sécrétion d'enzymes. Une meilleure compréhension de cet organe vital est d'un grand intérêt pour les chercheurs, car elle permet d'améliorer les soins qui lui sont apportés. Le tétrachlorure de carbone (CCl₄) est l'un des toxines hépatiques les plus connues. Ce composé est couramment utilisé dans les études scientifiques comme modèle pour évaluer les effets hépatoprotecteurs de divers composés. [107] Dans cette expérience, nous rapportons les effets des extraits aqueux de feuilles de *Marrubium sp* et *Ruta sp* après l'induction de dommages hépatiques par le CCl₄ chez des rats Albino Wistar.

Nous avons d'abord réalisé une analyse phytochimique de l'extrait aqueux des plantes *Marrubium sp*, et *Ruta sp*. Les résultats ont révélé que les feuilles contiennent de nombreux composés, notamment des tanins, des saponines, des composés réducteurs et des alcaloïdes. Ces résultats sont en accord avec ceux de Salem Mohamed Edrah et al, 2021, qui ont identifié des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins et des saponines dans les feuilles de *Marrubium vulgare L.* Ces composés permettent de réduire et prévenir les dommages causés par les radicaux libres et sont utilisés comme antipyrétique, antispasmodique et traitement contre la diarrhée.

Les tanins, qui agissent comme catalyseurs du système immunitaire, inhibent la prolifération bactérienne, et leur concentration élevée renforce l'effet antibactérien. De plus, les saponines triterpénoïdes possèdent des propriétés antiallergiques, antivirales et antifongiques. [108]

Nos résultats sont également conformes aux études de Ketema Alemayehu et al, 2019, sur le dépistage phytochimique et les propriétés antioxydants de *Ruta chalepensis*. Les saponines présentes dans cette plante sont utilisées comme compléments alimentaires et nutraceutiques en raison de leurs propriétés hypocholestérolémiantes

Certains tanins, tels que les ellagitanins de *Lagerstroemia speciosa*, stimulent l'absorption du glucose et agissent de manière similaire à l'insuline en activant le transport du glucose dans les cellules adipeuses. [109]

L'activité antioxydant de l'extrait de la plante a été d'abord évaluée à l'aide de plusieurs tests *in vitro*, avant d'être étudiée *in vivo* [110]. Deux tests de peroxydation lipidique ont été réalisés pour déterminer le pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique, utilisant les méthodes du « foie » et du « jaune d'œuf ».

Les résultats ont montré que l'EAM et l'EAR, à une concentration de 100 mg, ont un effet inhibiteur plus fort comparé à une concentration de 60 mg. En outre, l'EAR a démontré une inhibition de la peroxydation lipidique supérieure à celle de l'EAM.

Ces résultats sont cohérents avec les travaux de Bounatirou et al. (2007) qui ont examiné la composition chimique, les activités antioxydantes et antibactériennes des huiles essentielles extraites par hydrodistillation des parties aériennes de *Thymus capitatus* Hof de Tunisie. Ils ont démontré que l'effet inhibiteur de la peroxydation lipidique varie en fonction de la plante médicinale et de la concentration utilisée [100].

Les radicaux libres sont impliqués dans la cause de plusieurs maladies telles que la cirrhose du foie, l'athérosclérose, l'inflammation. Les résultats obtenus montrent que le pouvoir antioxydant de l'EAM et de l'EAR vis-à-vis du radical DPPH est inférieur à celui du butylhydroxytoluène (BHT).

Les études menées par I. Namoune et al, 2018, ont révélé des résultats similaires, montrant que l'activité la plus faible était observée avec l'extrait aqueux de *Marrubium vulgare* (AqE). Ces études ont également indiqué une corrélation fortement positive entre les polyphénols, les flavonoïdes et les activités de piégeage des radicaux dans de nombreuses espèces végétales. Cela est principalement dû à leurs propriétés redox, leur permettant d'agir comme agents réducteurs, donneurs d'hydrogène et quenchers d'oxygène singulet. Il est bien connu que les polyphénols sont des donneurs d'électrons pouvant réagir avec les radicaux libres pour les convertir en produits plus stables et ainsi interrompre la réaction en chaîne des radicaux. [111]

D'autres études, telles que celle de S. Mohammadi Motamed et al, 2014, ont montré que la présence de trois anneaux aromatiques dans la structure du DPPH rend cette molécule très stable. Ce radical présente une absorbance maximale à 517 nm. Toute substance capable d'inhiber le DPPH diminue l'absorbance à cette longueur d'onde, ce qui fait de l'essai DPPH une

méthode appropriée pour évaluer l'inhibition des radicaux libres par les échantillons. La comparaison des résultats de la rue (IC₅₀ 200,5 µg/ml) avec ceux du BHT (IC₅₀ 41,8 µg/ml) a démontré l'effet acceptable de la plante sur l'activité inhibitrice des radicaux libres, ce qui confirme nos résultats. [112]

Les tests phytochimiques sur les extraits de plantes permettent d'identifier les composants végétaux pouvant être utilisés en médecine traditionnelle. Pour confirmer leur efficacité en tant que phytothérapie, nous avons ensuite réalisé des tests *in vivo* sur des rats.

Un indicateur de la toxicité hépatique induite par le CCl₄ est la perturbation des paramètres biochimiques (ASAT, ALAT et PAL), qui sont des marqueurs de dommages hépatiques. [113]

Dans la présente étude, nous avons observé que les niveaux de ces biomarqueurs étaient significativement élevés 24 heures après l'injection d'une dose unique de 3 ml/kg de CCl₄, par rapport aux niveaux des rats témoins. En revanche, chez les groupes CCl₄+EAM et CCl₄+EAR, une diminution hautement significative a été observée par rapport aux rats du groupe intoxiqué par CCl₄.

Les dommages aux hépatocytes sont associés à l'augmentation des activités de l'ASAT, de l'ALAT, et de la PAL dans le sérum. Cette augmentation indique une fuite cellulaire et une perte d'intégrité fonctionnelle de la membrane cellulaire dans le foie. Les dommages causés aux cellules hépatiques entraînent la libération d'enzymes dans le sérum [114], ce qui concorde avec les résultats d'Ahmed A. et al. 2010

Cette étude MONTRE l'effet anti-hépatotoxique de l'extrait aqueux de *Marrubium vulgare* contre l'injection de CCl₄ dissous dans de la paraffine liquide à une dose de 1 ml/kg. D'après les résultats, l'extrait de *M. vulgare* s'est avéré bénéfique pour réduire les perturbations pathologiques de tous les paramètres biochimiques étudiés. [115]

En outre, l'étude de Khulud Mohammad Alshehri, qui a étudié l'effet préventif de l'extrait aqueux de la plante *Ruta graveolens* contre l'hépatotoxicité induite par le CCl₄, a montré que le traitement à l'extrait de *R. graveolens* a permis d'éviter ces effets néfastes et d'améliorer de manière très significative les niveaux des enzymes sériques AST, ALT et PAL. [114]

La réduction de ces paramètres peut être attribuée à la présence de flavonoïdes, un groupe de composés phénoliques naturels qui sont des composants chimiques majeurs de *M. vulgare* et de *R. graveolens*. Les composés phénoliques ont un fort impact hépatoprotecteur et peuvent

prévenir les dommages oxydatifs mitochondriaux des hépatocytes. Par conséquent, les composés phytochimiques bioactifs ayant un potentiel antioxydant élevé, une capacité supérieure de piégeage des radicaux libres et une inhibition de l'oxydation contribuent aux caractéristiques hépatoprotectrices. [114]

Donc, nos résultats et ceux de la littérature scientifique confirment l'efficacité des extraits aqueux de *Marrubium vulgare* et de *Ruta graveolens* dans le traitement des dommages hépatiques induits par le CCl₄, grâce à leurs propriétés antioxydants et hépatoprotectrices.

Le malondialdéhyde (MDA) est l'un des produits finaux de la peroxydation des acides gras polyinsaturés dans les cellules. Une augmentation des radicaux libres entraîne une surproduction de MDA. Le niveau de malondialdéhyde est couramment utilisé comme marqueur du stress oxydatif et du statut antioxydant dans les pathologies hépatiques. [116]

Selon nos résultats, l'augmentation du taux de MDA est très significative chez les rats traités avec une seule dose de CCl₄, ce qui entraîne une élévation de la peroxydation lipidique. Cependant, dans les groupes traités avec CCl₄ + EAM et CCl₄ + EAR, nous avons observé une diminution très significative du taux de MDA. Ces résultats démontrent l'effet thérapeutique des extraits EAM et EAR sur la peroxydation lipidique, attribuable à leurs propriétés antiradicalaires et leur capacité à neutraliser les radicaux libres. Ces conclusions sont corroborées par d'autres études. [117], [118]

La catalase (CAT) est une enzyme antioxydant présente dans tous les tissus animaux, notamment dans les globules rouges et le foie, où elle décompose le peroxyde d'hydrogène pour protéger les tissus des radicaux hydroxyles. [119]

Dans cette étude, nous avons observé une réduction très hautement significative de l'activité de la CAT chez les rats traités par le CCl₄ par rapport au groupe témoin. En revanche, une augmentation très hautement significative de l'activité de la CAT a été notée dans les groupes CCL₄+EAM et CCL₄+EAR.

Nos résultats sont en accord avec ceux de Faten M. et al. 2014, qui ont démontré les effets hépatoprotecteurs et thérapeutiques des extraits de *Marrubium vulgare* contre la toxicité hépatique induite par le CCl₄. Les propriétés antioxydants du *Marrubium*, capables de neutraliser les radicaux libres et de réduire les dommages oxydatifs, ainsi que la capacité des

composés bioactifs à induire l'expression des gènes antioxydants et à réparer les cellules endommagées, expliquent l'augmentation de l'activité de la CAT observée. [120]

Il est bien connu que le GSH est un antioxydant majeur non enzymatique et joue un rôle crucial dans la défense cellulaire, déterminant ainsi la susceptibilité des tissus aux dommages oxydatifs. [121]

Notre étude sur l'EAM et l'EAR a montré que l'épuisement du GSH se produit suite à la toxicité induite par le CCl₄, de plus une augmentation significative du contenu en GSH dans les tissus des groupes traités avec *Marrubium sp* et *Ruta sp*. En complément de nos résultats, des études antérieures ont rapporté que ces deux extraits peuvent avoir des activités antioxydantes.

Selon Ahmed A. Elberry et al, 2010, dans le cadre de l'étude sur l'effet anti-hépatotoxique des extraits de *Marrubium vulgare* et *Withania somnifera* sur la toxicité hépatique induite par le tétrachlorure de carbone chez les rats, les résultats ont montré que l'injection sous-cutanée de CCl₄ induisait une réduction significative des activités enzymatiques de la GPx, de la GR et de la GST, accompagnée d'une diminution du contenu en GSH. Ainsi, le CCl₄ a provoqué des lésions hépatiques sévères, comme en témoigne le stress oxydatif marqué par une diminution du contenu en GSH dans le tissu hépatique. Pendant le stress oxydatif, le GSH est oxydé par la GPx en glutathion oxydé, qui peut ensuite être réduit en GSH par la GR. Le glutathion réduit est également un cofacteur pour la GST, principalement est une enzyme de Phase 2 essentielle dans la détoxification des xénobiotiques électrophiles en catalysant la formation de conjugués GSH-électrophiles [121].

Donc nous avons observé à partir de nos résultats que le niveau de GST hépatique diminuait après un traitement au tétrachlorure de carbone (CCl₄). Cependant, le traitement avec l'EAM et l'EAR à régénérer cette diminution, rétablissant les niveaux de GST à la normale. Ceci confirme les observations d'Awad A. E. 2017, qui a démontré que *Nigella sativa* maintenait les niveaux de GST proches de la normale malgré une injection de tétrachlorure de carbone. [122]

Le mécanisme possible de l'effet anti-hépatotoxique des deux extraits pourrait être, en partie, attribué à leurs activités antioxydantes. Selon Ahmed A. Elberry et al. 2010, ainsi que nos propres résultats, les effets observés sont identiques. Il a été rapporté que les feuilles de *M.*

vulgare sont riches en composés phénoliques. Martin-Nizard et al. Ont isolé et caractérisé quatre glycosides phénylpropanoïdes (verbascoside, forsythoside, arénarioside et ballotetroside), et il a été démontré que ces composés agissent comme des piègeurs de radicaux libres. [121]

En outre, les travaux d'Ali Esmail Al-Snafi et al. 2021, Ont montré que ces extraits possédaient des effets antioxydants significatifs en augmentant les activités de GSH et GST et en atténuant les modifications histopathologiques dans le foie de rats traités au CCl₄. Ces résultats suggèrent que les extraits de *Marrubium sp* et *Ruta sp* peuvent jouer un rôle protecteur contre les dommages hépatiques induits par des agents toxiques comme le tétrachlorure de carbone, probablement en raison de leur capacité à augmenter l'activité de GST et GSH et à réduire le stress oxydatif. [123]

Dans notre étude, l'évaluation histopathologie des foies de rats exposés au CCl₄ a révélé un infiltrat inflammatoire dans le port et le parenchyme, une dégénérescence plumeuse et ballonnante, des changements graisseux et une fibrose. Ces observations sont en accord avec les travaux de Rajeswary et al, 2011. [124], qui ont rapporté une dilatation des sinusoides, des changements graisseux, un désarrangement des hépatocytes normaux et une nécrose centrolobulaire. De plus, A. S. Bernacchi et al. 1983 [125], ont également signalé que le CCl₄ induit une nécrose hépatique et une accumulation de graisse.

Notre étude a montré que le traitement concomitant des rats avec *Marrubium sp*. (EAM) et *Ruta Sp* (EAR) pendant 10 jours, en présence de CCl₄, a significativement amélioré l'architecture histopathologique hépatique. Les résultats ont montré une réduction de l'inflammation, une régénération des hépatocytes, une absence de stéatose ou seulement une stéatose vésiculaire isolée, aucune congestion veineuse chronique ou simplement une congestion discrète, et aucune fibrose. Ces observations corroborent l'effet thérapeutique de ces plantes.

Ces résultats sont en accord avec les études d' Afef et al. (2008), et de Wadhwa et al. (2012), qui ont observé une amélioration de la structure histologique chez les rats traités avec un extrait méthanolique de *Lepidium sativum* (400 mg/kg). Leurs résultats histopathologiques

ont montré une diminution de l'inflammation, une restauration des hépatocytes et une réduction de la surface de nécrose par rapport aux groupes traités au CCl₄, confirmant ainsi les effets hépatoprotecteurs du *Lepidium sativum*. Ils suggèrent également la présence de composés anti-inflammatoires dans EAM et EAR. [126], [127].

Dans notre étude, l'effet réducteur d'EAM et EAR sur les changements graisseux induits par l'intoxication au CCl₄ indique leur rôle protecteur et curatif contre la stéatose hépatique. Ces résultats sont appuyés par les travaux de S. Wadhwa et al. (2012) [127], qui ont rapporté que le *Lepidium sativum* réduisait significativement la stéatose. Leurs observations histopathologiques ont confirmé l'efficacité curative du *Lepidium sativum* sur les lésions hépatiques, corrigeant les modifications graisseuses microvésiculaires, le gonflement des hépatocytes et la stéatose.

En conclusion, notre étude démontre que *Marrubium sp.* Et *Ruta sp* ont un effet réparateur significatif contre les lésions hépatiques induites par le CCl₄, soutenu par une amélioration notable de l'architecture histopathologique et une réduction des signes d'inflammation et de stéatose, en ligne avec les résultats rapportés dans la littérature.

Conclusion

Conclusion

Cette étude a mis en lumière les effets thérapeutiques prometteurs de deux plantes, *Marrubium sp* et *Ruta sp*, contre l'hépatotoxicité induite par le tétrachlorure de carbone (CCl₄). Les résultats montrent clairement que le CCl₄ provoque une hépatotoxicité aiguë chez les rats mâles après une injection intrapéritonéale à une dose de 3 ml/kg.

Nos tests in vitro sur l'EAM et l'EAR ont révélé une diversité chimique significative à travers les analyses phytochimiques, ce qui justifie leur utilisation traditionnelle en tant qu'agents antioxydants. Ces extraits montrent une activité antioxydant notable, comme le démontre le test au DPPH, où une augmentation de l'activité a été observée dans les deux extraits. De plus, ils montrent une capacité à inhiber la peroxydation lipidique lorsqu'ils sont testés sur des homogénats de foie et de jaune d'œuf. Ces deux tests ont démontré une augmentation du pourcentage d'inhibition, confirmant ainsi l'effet inhibiteur de l'EAM et de l'EAR.

Ces résultats sont confirmés par nos analyses in vivo, Les analyses biochimiques ont révélé une diminution notable des niveaux des enzymes hépatiques (ALT, AST, ALP) et GGT, indiquant une amélioration de la fonction hépatique. Et la diminution du taux de (MDA) et une augmentation des niveaux d'enzymes antioxydants telles que le (GSH), la catalase (CAT), et la glutathion-S-transférase (GST). Ces observations indiquent le potentiel thérapeutique des extraits en réduisant les effets du stress oxydant au niveau biochimique.

En outre, les analyses histopathologiques ont montré une réduction des lésions tissulaires et une régénération des cellules hépatiques chez les rats traités avec les extraits de *Marubium sp* et *Ruta sp*.

En conclusion, les résultats de cette recherche suggèrent que *Marrubium sp*, et *Ruta sp*. À une dose de 200 mg/kg, pourraient être utilisés comme agents thérapeutiques potentiels pour prévenir et traiter l'hépatotoxicité en raison de leur capacité à neutraliser les espèces réactives de l'oxygène et à contrer les effets néfastes du CCl₄. Ces propriétés sont attribuées à la composition spécifique des composés présents dans ces plantes, ouvrant la voie à de futures recherches sur leurs applications dans le traitement des maladies hépatiques et des conditions liées au stress oxydatif.

*Références
bibliographiques*

- [1] **Kavita Gulati, Mohd Rafi Reshi .(2008).** Hepatotoxicity: Its Mechanisms, Experimental Evaluation and Protective Strategies. *American Journal of Pharmacology* 1,1-9.
- [2] **Tarun Kumar Dua a, Gouhar Jahan Ashraf, Sangita Palai, Tania Baishya, Gouranga Nandi, Ranabir Sahu, Paramita Paul .(2023),** The protective role of probiotics in the mitigation of carbon tetrachloride (CCl₄) induced hepatotoxicity, *Food Chemistry Advances* 2, 2-6.
- [3] **Samanta Sifat Lamia, Tushar Emran, Jubaida Khatun Rikta. (2021).** Coenzyme Q10 and Silymarin Reduce CCl₄-Induced Oxidative Stress and Liver and Kidney Injury in Ovariectomized Rats—Implications for Protective Therapy in Chronic Liver and Kidney Diseases. *Pathophysiology* ,57-60.
- [4] **B. Halliwell, R. Aeschbach , J. Löliger , O.I. Aruoma .(1995).** The Characterization of Antioxidants. *Food and Chemical Toxicology* 33,601-617.
- [5] **Ehab El-Hallous, Walaa Alsanie,Eldessoky S. (2018).** Utilization of Marrubium Vulgare Extract as a Therapeutic to Hepatic Damage Induced by Carbon Tetrachloride in Rats. *International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences* 7,168-178.
- [6] **Flavien BESSAGUET, Alexis DESMOULIÈRE .(2021).** Le foie. *Actualités Pharmaceutiques* 60, 57-61.
- [7] **Lacour B, Belon JP (2015).** Physiologie du système digestif. Elsevier Masson,58-225.
- [8] **Eric, LECLERC (2015).** Développement d'un dispositif microfluidique ayant pour objectif l'étude des effets de premiers passages intestinaux et hépatiques. *HAL*.
- [9] **A.Desmoulière(2007).** Hepatic Stellate Cells: The Only Cells Involved in Liver Fibrogenesis?A Dogma Challenged. *Gastroenterology* 132, 2059–2062.
- [10] **T. Germaina, S. Favelier,J.-P. Cercueil,A. Denys ,D. Krausé, B. Guiu (2007).** Liver segmentation: Practical tips. *Diagnostic and Interventional Imaging* 95(11), 1003–1016.

- [11] **C. Couinaud (1957)**. Le foie etudes anatomiques et chirurgicales." *Paris:Masso*.
- [12] **Van Minh T, Galizia G, Lieto E (1992)**. Anatomy of the caudate lobe of the liver. *New aspects and surgical applications* 46, 309-17.
- [13] **Michel Lafortune, Francois Madore, Heidi Patriquin, Guy Breton (1991)**. Segmental anatomy of the liver: a sonographic approach to the Couinaud nomenclature. *Radiology* 181,443–448.
- [14] **Shruthy K, Rathi Sudhakaran. (2023)**. Vascular Anatomy of Segment IV of the Liver in Live Liver Donors. *Cureus* 15.
- [15] **Lafortune M, Matricardi L, Denys A, Favret M, Déry R, Pomier-Layrargues (1998)**. Segment 4 (the quadrate lobe): a barometer of cirrhotic liver disease at US. *Radiolog*, 206, 157-160.
- [16] **Cho A, Okazumi S, Takayama W, K Iwasaki, S Sasagawa, T Natsume, T Kono, S Kondo, T Ochiai, M Ryu (2000)**. Anatomy of the right anterosuperior area (segment 8) of the liver: evaluation with helical CT. *Radiology* 214, 491-495.
- [17] **Claire Mony, Jean Charles (2014)**. [Online]. Available: <https://www.centre-hepatobiliaire.org/maladies-foie/fonctions-h%C3%A9patiques.html>.
- [18] **Flavien BESSAGUET, Alexis DESMOULIÈRE (2021)**. Le foie. *Actualités Pharmaceutiques* 60, 57-61.
- [19] **Read.Alan (1972)**. CLINICAL PHYSIOLOGY OF THE LIVER. *British Journal of Anaesthesia* 44.
- [20] **Stéphanie, Patouraux (2016)**. Rôle de l'ostéopontine dans les complications hépatiques. *HAL open science*, 234 .
- [21] **Antonini, Teresa Maria (2014)**. La stéatose. [Online]. Available: <https://www.centre-hepatobiliaire.org/maladies-foie/steatose.html>.
- [22] **R. Lakis (2024)**. Modifications de l'albumine comme biomarqueurs précoces des hépatopathies chroniques. *HAL open science*, 194.
- [23] **Florent Duval, Jorge E Moreno-Cuevas , María Teresa González-Garza , Carmen Maldonado-Bernal , Delia Elva Cruz-Vega (2015)**. Liver fibrosis and mechanisms of

the protective action of medicinal plants targeting inflammation and the immune response. *International Journal Of Inflammation*,14.

- [24] **Christian Trautwein, Frank Tacke (2015)**. Mechanisms of liver fibrosis resolution *Journal of Hepatology*, 63,1038 –1039.
- [25] **Federica Branchi, Clara Benedetta Conti, Alessandra Baccarin, Pietro Lampertico, Dario Conte, and Mirella Fraquelli (2014)**. Non-invasive assessment of liver fibrosis in chronic hepatitis B. *World Journal of Gastroenterology* 20, 14568-14580.
- [26] **Zhi-Gang Huang, Wei-Rong Zhai, Yue-E Zhang, and Xiu-Rong Zhang (1998)**. Study of heteroserum-induced rat liver fibrosis model and its mechanism. *World Journal of Gastroenterology*, 4, 206-209.
- [27] **Adil Farooq Wali , Shafat Ali , Summya Rashid , Rana M. Alsaffar , Azher Arafah , Wajhul Qamar , Ajaz Ahmad , Bilal Ahmad Paray , Sheikh Bilal Ahmad , Bashayr M. Alsuwayni i, Muneeb U. Rehman (2021)**. Attenuation of oxidative damage-associated hepatotoxicity by piperine in CCl₄-induced liver fibrosis. *Journal of King Saud University - Science*, 33,101629.
- [28] **R. LAKIS, 2023**.
- [29] **A. Sawadogo, N. Dib, P. Calès (2007)**. Physiopathologie de la cirrhose et de ses complications Pathophysiology of cirrhosis and its complications. *Réanimation*,16, 557-562.
- [30] "Le tétrachlorure de carbone (1998). [Online]. Available: <https://publications.gc.ca/collections/Collection/H48-10-1-24-1989F.pdf>.
- [31] **Dianyi.Y, "Carbon tetrachloride toxicity (2017)**. *Agency for toxic substances and disease registry case studies in enviromental medicine*, 1-79.
- [32] **bdulmohsen Algefare, Manal Alfwuaires , Ademola . Famurewa , Hany Elsayy , Azza Sedky (2024)**. Geraniol prevents CCl₄-induced hepatotoxicity via suppression of hepatic oxidative stress, pro-inflammation and apoptosis in rats. *Toxicology Reports* 12, 128-134.
- [33] **M. Dianyi Yu. (2017)**.CARBON TETRACHLORIDE TOXICITY," 2017.

- [34] **A. PICHARD (2005)**.Tétrachlorure de carbone. *I N E R I S - Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques*.
- [35] **Chaosheng Yuan, Xin Zhang,Leijun Zhou,Haining Li (2021)**. Phase transitions of carbon tetrachloride under static and dynamic pressures. *Journal of Molecular Liquids* 328, 1_6.
- [36] "**Tétrachlorométhane (2023)**. *Institut national de recherche et de sécurité (inrs)*. pp. 1-1.
- [37] "Fiche descriptive : Tétrachlorure de carbone," 1989. [Online]. Available: <https://gost.tpsgc-pwgsc.gc.ca/Contfs.aspx?ID=9&lang=fra>.
- [38] **Gerberding, Julie Louise (2005)**. TOXICOLOGICAL PROFILE FOR CARBON TETRACHLORIDE. *Agency for Toxic Substances and Disease Registry ATSDR*.
- [39] **Marc BARIL, Sylvain BILLET,Michèle BISSON, Anne CHEVALIER (2017)**. Elaboration de VTR chronique par voie respiratoire. *Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (anses)*, 2-79.
- [40] **Sanzgiri U. Y, Kim H. J, Muralidhara S, Dallas C. E, &Bruckner J. V (1995)**.Effect of route and pattern of exposure on the pharmacokinetics and acute hepatotoxicity of carbon tetrachloride. *Toxicology and applied pharmacology*, 134, 148-154.
- [41] **Sumeet K (2018)**. Asrani, "Burden of liver diseases in the world," *JOURNAL OF HEPATOLOGY*, 2018.
- [42] **Singh R .(2012)**.Different models of hepatotoxicity and related liver diseases : A review," *International Research Journal of Pharmacy (IRJP)*.
- [43] **Milon Mondal, Protyaee Saha,Chandan Sarkar ,Jibanananda Bala (2023)**. The protective effects of nerol to prevent the toxicity of carbon tetrachloride to the liver in Sprague-Dawley rats. *Heliyon*, vol. 9, 2.
- [44] **Thomas Senoner, Sophie Schindler , Stefan Stättner (2019)**. Associations of Oxidative Stress and Postoperative Outcome in Liver Surgery with an Outlook to Future Potential Therapeutic Options. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-18.

- [45] **Bae Jin HA, Sang Hun LEE, Hee Jin KIM (2006).** The Role of Salicornia herbacea in Ovariectomy-Induced Oxidative Stress," *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 29, 1305-1309.
- [46] **J Anupama Sekar, Shiny Velayudhan , M Senthilkumar (2024).** Silymarin enriched gelatin methacrylamide bioink imparts hepatoprotectivity to 3D bioprinted liver construct against carbon tetrachloride induced toxicity," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 98.
- [47] **Dejan Popović (2019).** Anthocyanins Protect Hepatocytes against CCl₄ Induced Acute Liver Injury in Rats by Inhibiting Pro-inflammatory mediators, Polyamine Catabolism, Lipocalin-2, and Excessive Proliferation of Kupffer Cells. *MDPI*, 15-18.
- [48] **Stéphane Berthélémy (2015),** "Le bilan hépatique," *Actualités Pharmaceutiques*, 54, 59-61.
- [49] **V. Bertrand. (2018)** "Tests biologiques hépatiques," *Hépatologie de l'enfant, ELSEVIER Masson SAS*, pp. 8-14.
- [50] **S. A. Florence Lacaille.(2020).** Maladie du foie et des voies biliaires," *La Drépanocytose de L'enfant et L'adolescent*, pp. 151-157.
- [51] **Amel Boudjelal (2012).** "Compositional analysis and in vivo anti-diabetic activity of wild Algerian Marrubium vulgare L. infusion," *ELSEVIER*.
- [52] **Younes Bahammou (2019).** Thin-layer solar drying characteristics of Moroccan horehound leaves (Marrubium vulgare L.) under natural and forced convection solar drying. *Solar Energy*, 188, 958-969.
- [53] **John Weiss, Jean-Louis Sogliocco (2012).** Marrubium vulgare L. – Horehound In Biological control of weeds in Australia 1960 to 2010 Edited by Mic Julien, Rachel McFadyen and Jim Cullen, CSIRO publication," *ResearchGate*, 360-262.
- [54] **Plante Marrube blanc,** [Online]. Available: <https://www.123gelules.com/content/23-marrube-blanc>.
- [55] **Milica Aćimović(2020).** Marrubium vulgare L.: A Phytochemical and Pharmacological Overview," *MDPI*, 25, 2-24.

- [56] **Bouزيد Nedjimia (2020)**. Differential effects of soluble salts on seed germination of *Marrubium vulgare* L.," *Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, p. 2.
- [57] **Ali Esmail al-Snafi, Hussein Ali Al-Saedy , Tayseer Ali Talab , Wajdi Jabbar Majid , Gaber El-Saber Batiha , Jafari-Sales Abolfazl (2021)**. The bioactive ingredients and therapeutic effects of *Marrubium vulgare* - A review," *International Journal of Biological and Pharmaceutical Sciences Archive*, 1, 9-21.
- [58] **A. Mounira Guedri Mkaddem (2022)**.Variation of the Chemical Composition of Essential Oils and Total Phenols Content in Natural Populations of *Marrubium vulgare* L.," *MDPI*,11, 2.
- [59] **Milica Aćimović(2020)**. *Marrubium vulgare* L.: A Phytochemical and Pharmacological Overview," *MDPI*, 25, 2-24.
- [60] **E. W. Weronika Haratym (2017)**. Ultrastructural and histochemical analysis of glandular trichomes of *Marrubium vulgare* L. (Lamiaceae). *Flora*,231,11-20.
- [61] **Anna Ohtera (2013)**. "Identification of 6-octadecynoic acid from a methanol extract of *Marrubium vulgare* L. as a peroxisome proliferator-activated receptor agonist. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 440,204-209.
- [62] **VR. Kannan, V. Babu (2012)**.Identity and pharmacognosy of *Ruta graveolens* Linn. *PubMed*, 32, 16–19.
- [63] **Asgarpanah (2012)**. Phytochemistry and pharmacological properties of *Ruta graveolens*. *Journal of medicinal plants research*, 6, 3942-3949.
- [64] **Yanyang Liu, Jing Peng Ling Huang, Bichen Li , Chengyu Ge , Shao Liu , Yueping Jiang (2023)**. (+)-/(-)-Rutabenzofuran A and (+)-/(-)- Rutabenzofuran B: Two unprecedented pairs of Z/E isomeric benzofuran enantiomers from the aerial part of *Ruta graveolens* L.," *Phytochemistry*, 210.
- [65] **GABRIELE SALVO (2010)**. "Tracing the Temporal and Spatial Origins of Island Endemics in the Mediterranean Region: A Case Study from the Citrus Family (*Ruta* L., Rutaceae).*Behalf of the Society of Systematic Biologists publication*, 59, 705–722.

- [66] **KARA. ALI. Wahiba (2017)**. Effet des extraits de la plante médicinale Ruta montana (الفيجل) sur la cardiotoxicité induite par la doxorubicine et sur la multi-drug résistances (MDR) des cellules cancéreuses ovarien.
- [67] **Zekry Attia (2018)**. Chemical composition and antimicrobial activities of essential oils of Ruta graveolens plants treated with salicylic acid under drought stress conditions. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4, 254-264.
- [68] **Pazilaiti Ainiwaer, Mayire Nueraihemaiti , Zuopeng Li , Deng Zang , Lan Jiang , Ying Li , Haji Akber Aisa (2022)**. Chemical constituents of Ruta graveolens L. and their melanogenic effects and action mechanism. *Fitoterapia*, 156.
- [69] **N. Ravindran, S. Pillai, M. Divakaran (2012)**. Other herbs and spices: mango ginger. *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition*, 2, 557-582, .
- [70] **Shabir, Jalaludin Bhat , Ghufran Ahmad , Najeeb Jahan (2012)**. Ruta graveolens: from Traditional System of Medicine to Modern Pharmacology: an Overview. *American journal of pahrmatech research*, 2, 239-252.
- [71] **K. Jones (2007)**. Aloe Vera in the Management of Oxidative Stress, *Environmental Science, Medicin*, .
- [72] **El-Houcine Sebbar(2023)** "Le stress oxydatif, une agression cellulaireOxidative stress, a cellular aggression," *Actualités Pharmaceutiques*, vol. 62, pp. 36-37 .
- [73] **M.Berger,(2006)**. Manipulation nutritionnelles du stress oxydant : étas des connaissances," *Nutrition Clinique et Métabolisme*, vol. 20, pp. 48-53,.
- [74] **A. Bensakhria (2018)**, "Le Stress Oxydatif," *Toxicologie Générale*, pp. 70-86.
- [75] **DEFRAIGNE.(2008)** "STRESS OXYDANT ET ANTIOXYDANTS : mythes et réalités," *Rev Med Liège*, vol. 63, pp. 10-19.
- [76] **S. Dontha (2016)**. "A review on antioxidant methods," *Asian J Pharm Clin Res*, vol. 9, pp. 14-32.
- [77] **V. Jori(2015)**. Effets potentiels et mécanismes d'action antioxydant et anti-inflammatoire d'un apport nutritionnel de spirulines enrichies en silicium," *HAL*, pp. 26-281.

- [78] **Favier.A (2006)**. Stress oxydant et pathologies humaines," *Ann. Pharm. Fr*, vol. 64, pp. 390- 396.
- [79] **Crapo.J.D (1992)** .zinc superoxide dismutase is primarily a cytosolic protein in human cell," *Proc .Natl. Acad. Sci .USA*, vol. 89, pp. 10405-10409.
- [80] **Catpano.A (1997)** "Antioxidant effects of flavonoids," *Angiology*, vol. 48, pp. 39-44.
- [81] **Bédane.C (2008)**. Photodermatologie : Photobiologie cutanée, photoprotection et photothérapie," éd. *Wolters Kluwer France*, 2008.
- [82] **Frei.B (1992)**. Relative importance of vitamine E in antiperoxydative defenses in human blood plasma and low density lipoprotein LDL. *Vitam.E Heal. Dis*, 131-14.
- [83] **Lacarz.Grégory (2009)**. thèse relation entre stress oxydant et homéostasie glucidique du diabète de type 2. *HAL*, 20-203.
- [84] **Miler D.M (1989)**. Studies of ascorbate-dependent , Iron-catalyzed lipid peroxidation *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 271, 113-119.
- [85] **J. Haleng, J. Pincemail, J.O. Defraigne, C. Charlier, J.P. Chapelle (2007)**. Le stress oxydant. *Rev Med Liege*, 62, 628-638.
- [86] **Mohamed.MAROK (2014)**. Implication des mécanismes antioxydants enzymatiques et non enzymatiques dans la tolérance au stress hydrique chez deux variétés d'orge,1-170 .
- [87] **Aganga. A, Mosase. K (2001)**. Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capussa*, *Ziziphus mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia Acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Animal Feed Science and Technology*, 91, 107-113, .
- [88] **Peronny (2005)**. La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta). *Discipline Eco- Ethologie*, 12-121.
- [89] **Deli Vandi (2016)**. Contribution des populations des villes de Yaoundé et Douala à la connaissance des plantes à tanins et à anthocyanes. *Journal of Animal &Plant Sciences*, 30, 4797-4814.
- [90] **Koné, Donatien (2009)**. Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes : extraction, identification d'alcaloïdes - caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante.*HAL*, P 24.

- [91] **F. Muanda (2010)**. Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques .*Université Paul Verlaine*.
- [92] **S Oleszek, W, Stochmal. A (2002)**. Triterpene saponins and flavonoids in the seeds of Trifolium," *Phytochemistry*, 61, 165–170.
- [93] **A. Lasztity (1998)**. Saponins in food," *Food Rev*, 14, 371–390.
- [94] **K. Oda, H. Matsuda, T. Murakami, S .Katayama, T .Ohgitani, M. Yoshikawa (2000)**. Adjuvant and haemolytic activities of 47 saponins derived from medicinal and food plants. *Biological chemistry*, 381, 67–74.
- [95] **Wageeh Yehye, Noorsaadah Abdul Rahman , Azhar Ariffin , Sharifah Bee Abd Hamid , Abeer A. Alhadi , Farkaad Kadir , Marzieh Yaeghoobi (2015)**. Understanding the chemistry behind the antioxidant activities of butylated hydroxytoluene (BHT): A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 101, 295-312.
- [96] **F.Haddouchi (2016)**. Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie," *ETHNOPHARMACOLOGIE*,1-9.
- [97] **A.Benmahdi (2001)**. Identification des Principes actifs des extraits des plantesmédicinales," *Phytochimie*, 6, 11-27.
- [98] **Subhash. C, Joshi. A, Arti. R, Verma. B, Chandra. S, Mathela A (2010)**. Antioxidant and antibacterial activities of the leaf essential oils of Himalayan Lauraceae species Food and Chemical. *Toxicology*,48, 37–40.
- [99] **Wong. J. W, Hashimoto. K, T.Shibamoto (1995)**. Antioxidant activities of rosemary and sage extracts and vitamin E in a model meat system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 2707–2712.
- [100] **S.Bounatirou (2007)**. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian Thymus capita. *Food Chemistry*, 105, 146-155.
- [101] **Sanmugapriya. E (2006)**. Studies of hepatoprotective and antioxidant actions of Strychnos potatorum Linn .Seeds on CCl4 induced acute hepatic injury in experimental rats," *J Ethnopharmacol*, 105, 154-60.

- [102] **Ohkawa. H (1979)**. Assay of lipid peroxides in animal tissue by hiobarbituric reaction. *Analytical Biochemistry*, 95, 351-358.
- [103] **Ellman.GL (1959)**. Tissue Sulfhydryl Groups, *Archives of Biochemistry & Biophysics*, 82, 70-77.
- [104] Claiborne.A (1985). Catalase activity. *In CRC Handbook of Methods for Oxygen Radical Research*, 283–284.
- [105] **Anjum NA, Ahmad I, Mohmood I, Pacheco M, Duarte AC, Pereira E,Umar S, Ahmad A, Khan NA, Iqbal M, Prasad MNV (2012)**. Modulation of glutathione and its related enzymes in plants' responses to toxic metals and metalloids—A review. *Environmental and Experimental Botany*, 75, 307-324.
- [106] **W H Habig, W B Jakoby (1981)**. Assays for differentiation of glutathione S-transferases. *Detoxification and drug metabolism : conjugation and related systems*, 51, 398-405.
- [107] **Mehdi Valipour (2021)**.A Review of Protective Effects of Iranian Native Medicinal Plants Against CCl4 Induced Liver Toxicity. *J Mazandaran Univ Med Sci* , 31, 192-212.
- [108] **Salem Mohamed Edrah (2021)**. Study of Antibacterial Activity, Phytochemicals and Physico-chemical for Green Corrosion Inhibitors in Different Corrosive Media from Marrubium vulgare L Crude Extract. *Acta Scientific Medical Sciences*, 5, 100-121.
- [109] **Ketema Alemayehu, Destaw Engidaw Seid Mustofa (2019)**. Phytochemical Analysis, Antibacterial and Antioxidant Activity of the Leave Extracts of Ruta Chalepensis *Chemistry and Materials Research*, 11.
- [110] **Cuendet. M (1997)**. Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from Fagraea blumei. *Helvetica Chimica Acta*, 80, 1144-1152.
- [111] I. Namoune, B. Khettal, A.M. Assaf, S. Elhayek ,L. Arrar (2018). Activités antioxydantes et anti-inflammatoires des extraits organiques et aqueuxdu Marrubium vulgare Nord-Est algérien. *Phytothérapie*, 1-11.
- [112] Mohammadi Motamed (2014). Evaluation of antioxidant activity of Ruta graveolens L. extract oninhibition of lipid peroxidation and DPPH radicals and the effects ofsome

- external factors on plant extract's potency. *Research Journal of Pharmacognosy (RJP)*, 45-50.
- [113] **Ettaya Amani (2015)**. Hepatoprotective activity of White Horehound (*Marrubium vulgare*) extract against Cyclophosphamide toxicity in male rats *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 1-27.
- [114] **Khulud.Alshehri (2020)**. Hepatoprotective Effect of *Ruta graveolens* and *Artemisia judaica* Extracts against Intoxication Liver in Rats. *Advances in Biological Research*, vol. 14, pp. 52-59.
- [115] **F Ahmed A, Fathalla M. Harraz, Salah A. Ghareib, Ayman A. Nagy, Salah A. Gabr, Mansour I. Suliaman an, Essam Abdel-Sattar (2010)**. Antihepatotoxic effect of *marrubium vulgare* and *withania somnifera* extracts on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 001, 247-254.
- [116] **Gawel S (2004)**. Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Wiadomosci Lekarskie* ,57, 453-455.
- [117] **Melanie Morales (2019)**. Malondialdehyde: Facts and Artifacts," *Plant Physiology*, 180, 1246–1250.
- [118] **Xiaowei Huo, Xiangbo Meng, Jun Zhang, Yanyan Zhao (2020)**. Hepatoprotective effect of different combinations of 18 α -and 18 β Glycyrrhizic acid against CCl₄-induced liver injury in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 122, 1-9.
- [119] **Dmitry Gil (2017)**. Antioxidant Activity of SOD and Catalase Conjugated with Nanocrystalline Ceria," *Bioengineering* , 4, 2-9.
- [120] **Faten M. Ibrahim (2014)**. Potential Effect of *Marrubium vulgare* L. extracts on CCL₄ model induced hepatotoxicity in albino mice," *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2, 1664-1670.
- [121] **Ahmed A. Elberry (2010)**. Antihepatotoxic effect of *marrubium vulgare* and *withania somnifera* extracts on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 001, 247-254.
- [122] **Firat Üniversitesi (2005)**. Protective effect of *Nigella sativa* seeds on CCl₄-induced hepatotoxicity. *F.Ü. Sağlık Bil*, 19, 175-179.

- [123] **Ali Esmail al-Snafi, Hussein Ali Al-Saedy , Tayseer Ali Talab , Wajdi Jabbar Majid , Gaber El-Saber Batiha , Jafari-Sales Abolfazl (2021)**. The bioactive ingredients and therapeutic effects of Marrubium vulgare - A review. *International Journal of Biological and Pharmaceutical Sciences Archive*, 01, 009-021.
- [124] **H. Rajeswary, R.Vasuki, P. Samudram, and A.Geetha (2011)**. Hepatoprotective action of ethanolic extracts of Melia azedarach Linn. and Piper longum Linn and their combination on CCl₄ induced hepatotoxicity in rats. *Indian Journal of Experimental Biology (IJEB)*, 49, 276–281.
- [125] **A. S. Bernacchi, C. R. de Castro, E. C. de Ferreyra (1983)**. Carbon tetrachloride-induced liver injury in the rabbit. *British journal of experimental pathology*, 64, 261–267.
- [126] **I. Afaf, Abuelgasim, H. S. Nuha, and A. H. Mohammed (2008)**. Hepatoprotective effect of Lepidium sativum against carbon tetrachloride induced damage in rats, 3, 20-23.
- [127] **M Wadhwa, Panwar, Agrawal (2012)**. A review on pharmacognostical study of Lepidium sativum *Advance Research in Pharmaceuticals and Biologicals*, 2, pp. 316-323.

Résumé

L'hépatotoxicité induite par le tétrachlorure de carbone (CCl₄) est une préoccupation majeure en raison du stress oxydatif qu'elle provoque dans le foie. Cette étude vise à évaluer les effets thérapeutiques des extraits aqueux de *Marrubium sp* et de *Ruta sp* contre cette toxicité hépatique chez des rats mâles.

Avant de procéder à des études *in vivo* sur les rats, des tests de peroxydation lipidique, tels que le TBARS, et d'activité antioxydant, comme le DPPH, ont été effectués sur les extraits aqueux de *Marrubium sp* et de *Ruta sp* pour évaluer leur potentiel antioxydant.

Pour induire la toxicité aiguë, une dose unique de CCl₄ à 3 ml/kg a été administrée par injection intrapéritonéale. Ensuite, les rats ont été traités par voie orale pendant 10 jours avec des extraits aqueux de *Marrubium sp* et de *Ruta sp*.

Les paramètres biochimiques évalués incluaient les niveaux de transaminases, PAL et GGT dans le sang, ainsi que les marqueurs du stress oxydatif (MDA, GSH, GST et CAT) dans les homogénats hépatiques. Des études histologiques ont également été menées pour évaluer les dommages tissulaires dans le foie.

Les résultats de cette étude montrent que les extraits aqueux de *Marrubium sp* et de *Ruta sp* jouent un rôle thérapeutique essentiel dans la régénération hépatique après une hépatotoxicité induite par le CCl₄. Ils réduisent le stress oxydatif et minimisent les dommages cellulaires, favorisant ainsi une récupération plus efficace du foie.

Mots clés : *Marrubium sp*, *Ruta sp*, le CCl₄, l'hépatotoxicité, le stress oxydatif.

Abstract

Hepatotoxicity induced by carbon tetrachloride (CCl₄) is a major concern due to the oxidative stress it causes in the liver. This study aims to evaluate the therapeutic effects of aqueous extracts of *Marrubium sp* and *Ruta sp* against this hepatic toxicity in male rats.

Before conducting in vivo studies on rats, tests for lipid peroxidation, such as TBARS, and antioxidant activity, like DPPH, were performed on the aqueous extracts of *Marrubium sp* and *Ruta sp* to assess their antioxidant potential.

To induce acute toxicity, a single dose of CCl₄ at 3 ml/kg was administered intraperitoneally. Subsequently, the rats were orally treated for 10 days with aqueous extracts of *Marrubium sp* and *Ruta sp*.

Biochemical parameters evaluated included levels of transaminases, PAL, and GGT in the blood, as well as markers of oxidative stress (MDA, GSH, GST, and CAT) in hepatic homogenates. Histological studies were also conducted to assess tissue damage in the liver.

The results of this study show that aqueous extracts of *Marrubium sp* and *Ruta sp* play an essential therapeutic role in liver regeneration after CCl₄-induced hepatotoxicity. They reduce oxidative stress and minimize cellular damage, thereby promoting more effective liver recovery.

Keywords: *Marrubium sp*, *Ruta sp*, CCl₄, hepatotoxicity, oxidative stress.

ملخص

تعد السمية الكبدية الناجمة عن رابع كلوريد الكربون (CCl4) مصدر قلق كبير بسبب الإجهاد التأكسدي الذي يسببه في الكبد. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الآثار العلاجية للمستخلصات المائية من *Marrubium SP* و *Ruta SP* ضد هذه السمية الكبدية في ذكور الجرذان.

قبل إجراء الدراسات في الجسم الحي على الجرذان، أُجريت اختبارات بيروكسيد الدهون، مثل TBARS ، والنشاط المضاد للأكسدة، مثل DPPH ، على المستخلصات المائية من نبات *Marrubium SP* و *Ruta SP* لتقييم قدرتها المضادة للأكسدة. ولإحداث سمية حادة، أُعطيت جرعة واحدة من كلوريد الكربون بمعدل 3 مل/كجم عن طريق الحقن داخل الصفاق. ثم عولجت الفئران بعد ذلك عن طريق الفم لمدة 10 أيام بمستخلصات مائية من نبات *Marrubium sp* و *Ruta sp*.

وشملت المعلمات الكيميائية الحيوية التي تم تقييمها مستويات Transaminases، و PAL و GGT في الدم، وكذلك علامات الإجهاد التأكسدي (MDA) ، و GHS، و GST، و CAT في متجانسات الكبد. كما أُجريت دراسات نسيجية لتقييم تلف الأنسجة في الكبد.

كشفت نتائج هذه الدراسة أن المستخلصات المائية من *Marrubium sp* و *Ruta sp* تلعب دورًا علاجيًا أساسيًا في تجديد الكبد بعد التسمم الكبدي الناجم عن كلوريد الكربون. كما أنها تقلل من الإجهاد التأكسدي وتقلل من التلف الخلوي، وبالتالي تعزيز تعافي الكبد بشكل أكثر فعالية.

الكلمات المفتاحية: *Marrubium sp*، *Ruta sp*، رابع كلوريد الكربون، السمية الكبدية، الإجهاد التأكسدي.

Année universitaire : 2023-2024

Présenté par : Soualmia Mannar
Taleb Maissa

L'effet thérapeutique d'extraits Aqueux des plantes médicinales algériennes *Marrubium sp* et *Ruta sp* contre la toxicité hépatique induite par le Tétrachlorure de Carbone

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Toxicologie et santé

Résumé

L'hépatotoxicité induite par le tétrachlorure de carbone (CCl₄) est une préoccupation majeure en raison du stress oxydatif qu'elle provoque dans le foie. Cette étude vise à évaluer les effets thérapeutiques des extraits aqueux de *Marrubium sp* et de *Ruta sp* contre cette toxicité hépatique chez des rats mâles.

Avant de procéder à des études in vivo sur les rats, des tests de peroxydation lipidique, tels que le TBARS, et d'activité antioxydant, comme le DPPH, ont été effectués sur les extraits aqueux de *Marrubium sp* et de *Ruta sp* pour évaluer leur potentiel antioxydant.

Pour induire la toxicité aiguë, une dose unique de CCl₄ à 3 ml/kg a été administrée par injection intrapéritonéale. Ensuite, les rats ont été traités par voie orale pendant 10 jours avec des extraits aqueux de *Marrubium sp* et de *Ruta sp*.

Les paramètres biochimiques évalués incluaient les niveaux de transaminases, PAL et GGT dans le sang, ainsi que les marqueurs du stress oxydatif (MDA, GSH, GST et CAT) dans les homogénats hépatiques. Des études histologiques ont également été menées pour évaluer les dommages tissulaires dans le foie.

Les résultats de cette étude montrent que les extraits aqueux de *Marrubium sp* et de *Ruta sp* jouent un rôle thérapeutique essentiel dans la régénération hépatique après une hépatotoxicité induite par le CCl₄. Ils réduisent le stress oxydatif et minimisent les dommages cellulaires, favorisant ainsi une récupération plus efficace du foie.

Mots-clefs : *Marrubium Sp*, *Ruta SP*, le CCl₄, l'hépatotoxicité, stresse oxydative

Laboratoires de recherche : laboratoire de biologie et d'environnement (U Constantine 1 Frères Mentouri).

Président du jury : Pr MENAD Ahmed (PROF / MC(A) - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : Dr IHOUAL Safia (MC(B) - UFM Constantine 1).

Examineur(s) : Pr ATTALAH Saleh (PROF - UFM Constantine 1),
Dr DEHILI Nedjouda (MA(A) - UFM Constantine 1).