



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 Appliquée

قسم : البيولوجيا التطبيقية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologie et Biothérapie

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Évaluation de l'hépatotoxicité et du potentiel antibactérien de *Silybum marianum*

Présenté par : HAMZA HANINE
BOUDEFFA NIHÉL

Le :22/06/2025

Jury d'évaluation

Présidente : Dr. MILET ASMA (MCB- Université Frères Mantouri, Constantine 1).

Encadrante : Dr. HALMI Siham (MCA- Université Frères Mantouri, Constantine 1).

Examinateuse : Dr. BELLOUM Zahia (MAA- Université Frères Mantouri, Constantine 1).

**Année universitaire
2024 - 2025**

Remerciements

*Avant tout, nous souhaitons exprimer notre reconnaissance envers **Allah** tout puissant pour nous avoir accordé le courage, la volonté et la force nécessaires pour mener à bien ce projet. Nous lui sommes reconnaissants d'avoir éclairé notre chemin vers la réussite.*

*Nous adressons également nos plus sincères remerciements à l'encadrante de ce mémoire, **Dr. HALMI Siham**, pour sa patience inlassable, sa disponibilité permanente, ainsi que pour ses conseils précieux et judicieux, qui ont profondément guidé notre réflexion et enrichi notre parcours.*

*Nos remerciements vont aussi aux membres du jury **Dr. MILLET Asma** et **Dr. BELLOUM Zahia** pour leur acceptation d'évaluer et juger ce travail avec rigueur et impartialité.*

*Nous tenons à remercier tout spécialement **Dr. BAHRI Laid**, responsable de l'animalerie_UFMC1, pour son soutien précieux, sa disponibilité et ses conseils quand nous en avions besoin.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail. Une mention spéciale est réservée à **Mme BOUFANDI houda**, technicienne au laboratoire d'histologie du Centre de Recherche en Biotechnologie, pour son aide précieuse lors de la réalisation de certaines coupes histologiques. Nous avons grandement bénéficié de sa vaste expérience, de sa rigueur scientifique et de ses qualités humaines. Qu'elle veuille bien trouver ici le témoignage de notre sincère reconnaissance et de notre profond respect. Nous remercions également **Mme ASMA**, dont l'assistance et l'engagement ont été d'une grande importance*

*De même, nous adressons nos sincères remerciements à **Mme BOUHOUCHE Mouna**, ingénierie de laboratoire, pour son accompagnement, sa disponibilité et son professionnalisme tout au long de notre travail.*

Enfin, nous remercions profondément notre précieuse famille universitaire et nos chères amies à la fois pour leur soutien infatigable et leur patience admirable.

Dédicace

*A ma mère chérie **Benchikh Meriem**, aucune dédicace, aucun mot, aucun acte ne saurait être assez éloquent pour exprimer la profondeur des sentiments d'affection, d'estime et de respect que je vous porte pour ton amour, ta compréhension et ton écoute permanente, que Dieu vous bénisse.*

*A mon père bien-aimé **Hamza Bachir**, qui m'a toujours soutenu et encouragé tout au long de mon parcours d'études. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

*A ma jolie sœur **Hadil**, mes adorables frères **Mohamed Abd ElDjalil** et **Abderrahim**, pour leurs soutien et leur amour.*

*A ma grand-mère **Brik Fatiha**, merci pour tout et que Dieu vous donne bonne santé et longue vie.*

A tous ma famille mes tantes et oncles chacun par son nom, que Dieu les garde et les bénisse.

*A tous mes cousins et cousines, particulièrement **Feriel**, vos rires, vos farces et votre amour ont laissé une empreinte indélébile dans mon cœur.*

*A mon chère binôme **Nihel**, merci énormément pour ton soutien moral, ta patience et ta compréhension tout au long de ce projet.*

Je ne peux clôturer la page des dédicaces sans évoquer mes amis à qui je souhaite la réussite dans leurs vies.

HANINE.

Dédicace

Avant tout, je rends grâce à Dieu pour Ses innombrables bienfaits.

Ce travail est le fruit de mes efforts, et je le dédie du plus profond de mon cœur à toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

À mon très cher père, qui est mon encouragement et mon soutien.

*À ma mère **Labbani Wafa**. Ma force, mon inspiration, et ma boussole. Sans ton amour indéfectible, tes sacrifices et tes prières, je n'aurais jamais pu atteindre cet accomplissement. Voir ton sourire est ma plus grande récompense et la raison d'être de ma persévérance. Merci, maman, d'être la lumière de ma vie.*

*À mon amie chère et complice dans cette aventure, **Hanine**. Tu as été bien plus qu'une partenaire de travail. Nos moments partagés, les rires, les doutes et les défis surmontés ensemble resteront gravés à jamais dans ma mémoire. Merci d'avoir rendu cette expérience plus belle et plus légère.*

*À mes amies exceptionnelles et sœurs de cœur **Cheima, Manel et Malak**. Votre présence a toujours été une ancre dans les moments difficiles, et votre amitié, un véritable cadeau. Je vous souhaite de tout mon cœur la réalisation de tous vos rêves et un chemin parsemé de succès*

Enfin, je tiens à remercier chaleureusement l'ensemble de mes professeurs qui, par leur savoir et leur dévouement, ont éclairé mon chemin tout au long de mes études.

NIHEL

Liste des matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....1

1ére partie synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Généralités sur *Silybum marianum*

1. Généralités sur le chardon marie.....	5
2. Classification systématique.....	5
3. Description morphologique	6
4. Période de croissance	8
5. Composition chimique du chardon-marie.....	9
6. Activité pharmacologique de la plante	11
1. Effets sur le foie	12
2. Effets antioxydants	12
3. Effets anti-inflammatoires.....	12
4. Effets anticancéreux	13
7. PHARMACOCINÉTIQUE.....	15

Chapitre II: Le foie et la phytothérapie

1. Anatomie du foie	18
1.1 cellules hépatiques	19
1.2 Structure du tissu hépatique.....	21
2. Fonction du foie	22
2.1 Rôle du foie dans le métabolisme des nutriments	22
2.2 Rôle et Formation de la Bile dans le Foie	23
3. Pathologies du Foie	23
3.1 Hépatite.....	23
3.1.1 Hépatite A	24
3.1.2 Hépatite B	24
3.1.3 Hépatite C	24
3.2 Cirrhose	25
3.3 Stéatose hépatique	26

4. Enzymes Hépatiques et Diagnostic	26
5. La Phytothérapie	27
6. Phytothérapie et Santé du Foie.....	28

Chapitres III :Stress oxydatif

1. Le stress oxydatif	30
2. Les radicaux libres.....	30
3. Production de radicaux libres.....	32
4. Rôle des radicaux libres	32
5. Processus d'oxydation.	33
6. Pathologies liées au stress oxydatif.....	33

2éme Partie Expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I- Matériel.....	37
1. Matériel biologique	37
1.1 Préparation du matériel végétal	37
1.2 Matériel microbien	38
1.3 Choix des animaux et conditions d'élevage	38
II- Méthode.....	39
1. Etudes de l'extrait des graines du <i>silybum marianum</i>	39
1.1 Extraction hydro-méthanolique des graines	39
1.1.1 Macération	39
1.1.2 Filtration.....	39
1.1.3 Évaporation	40
1.2 Analyses quantitatives des extraits de graines.....	41
1.2.1 Dosage des composés phénoliques totaux (CPT)	41
1.2.2 Dosage des flavonoïdes.....	42
2. Étude et évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de <i>Silybum marianum</i>	42
2.1 Méthode de diffusion sur milieu gélosé (Aromatogramme)	42
2.2 Préparation des disques	43
2.3 Préparation de Milieu de culture	43
2.4 Préparation de l'inoculum	44
2.5 Préparation de différentes concentrations de l'extrait	44
2.6 Ensemencement et dépôt des disques.....	44
2.7 La conservation des boites de pétri.....	45
2.8 Expression des résultats.....	45

3. Expérimentation animale.....	46
3.1 Protocole expérimental	46
3.1.1 Préparation de l'infusion	46
3.1.2 Etude de la toxicité aigüe de <i>Silybum marianum</i>	46
3.1.4 Sacrifice des rats et prélèvements des organes	48
3.1.5 Examen microscopique des coupes histologiques	48

Chapitre II : Résultats et Discussion

1. Le rendement de l'extraction.....	53
2. Analyses quantitatives des extraits des graines.....	54
2.1 Dosage des composés phénoliques totaux	54
2.2 Dosage des flavonoïdes	55
3. Évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait de <i>Silybum marianum</i>	56
4. Evaluation de la toxicité de l'extrait de notre plante	60
5. Evaluation de l'activité hépatoprotectrice	61
5.1 Effets des traitements sur la variation du poids corporel.....	61
5.2 Effet de l'extrait sur les paramètres biochimiques	62
6. Etude histologique	66
6.1 Impact sur l'histoarchitecture hépatique.....	66
Conclusion.....	70
Références bibliographiques.....	72

Résumé

Liste des figures

Figure 01 : La carte de répartition géographique de <i>silybum marianum</i>	05
Figure 02 : Feuilles de chardon marie.....	06
Figure 03 : Tige de chardon marie.....	07
Figure 04 : Fleurs de chardon marie.....	07
Figure 05 : Les fruits de chardon marie.....	08
Figure 06 : Structure chimique des isomères des flavonolignanes de la silymarine.....	10
Figure 07 : Mécanismes d'action de la silymarine.....	11
Figure 08 : Morphologie du foie.....	19
Figure 09 : Organisation anatomique et fonctionnelle du tissu hépatique.....	20
Figure 10 : Micrographie d'hépatocytes normaux.....	20
Figure 11 : Schéma d'une coupe d'un lobule hépatique.....	21
Figure 12 : Coupe histologique du foie.....	22
Figure 13 : Virus de l'hépatite C.....	25
Figure 14 : Histoire naturelle de la maladie stéatosique du foie.....	26
Figure 15 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie.....	31
Figure 16 : La poudre végétale de la plante <i>silybum marianum</i>	37
Figure 17 : Elevage des rats.....	38
Figure 18 : Le macérat hydro-méthanolique.....	39
Figure 19 : Filtration du macérat hydro-méthanolique.....	39
Figure 20 : Evaporation par le rotavapor.....	40
Figure 21 : L'extrait brut de la plante.....	40
Figure 22 : Protocole d'étude expérimentale.....	40
Figure 23 : Cinétique de dégradation des couleurs dans le dosage des polyphénols.....	41
Figure 24 : Cinétique de dégradation des couleurs dans le dosage des flavonoïdes.....	42
Figure 25 : Préparation des disques.....	43
Figure 26 : Préparation de Milieu de culture.....	43
Figure 27 : Préparation des dilutions.....	44
Figure 28 : Ensemencement.....	44
Figure 29 : Méthode de préparation de l'infusion.....	46
Figure 30 : Administration orale par gavage.....	47
Figure 31 : L'injection intrapéritonéale du CCl4.....	47

Figure 32 : Prélèvement du sang et des organes.....	48
Figure 33 : Déshydratation des échantillons	48
Figure 34 : Inclusion des échantillons	49
Figure 35 : Coupe au microtome	49
Figure 36 : Fixation de la coupe sur la lame.....	50
Figure 37 : Coloration et observation au microscope.....	50
Figure38 : Schéma des étapes du protocole expérimental.....	51
Figure39 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique.....	54
Figure40 : Droite d'étalonnage de la Quercétine.....	55
Figure41 : Variation du diamètre des zones d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait de <i>Silybum marianum</i>	57
Figure42 : Contrôle positif et négatif dans un test d'activité antimicrobienne	58
Figure43 : Variation du poids corporal (g) chez les rats de différents groupes de traitement...	61
Figure44 : Variation des activités enzymatiques de l'aspartate aminotransférase (AST) et de l'alanine aminotransférase (ALT) et urée chez les lots expérimentaux.....	63
Figure45 : Effets du <i>Silybum marianum</i> sur les paramètres biochimiques hépatiques et rénales chez des rats traités avec CCl4	64
Figure46 : Observation microscopique des hépatocytes chez les rats.	66

Liste des Tableaux

Tableau 01: Classification de <i>Silybum marianum</i>	6
Tableau02 : Description des souches bactériennes utilisées.....	38
Tableau03 : rendement de l'extrait hydro-méthanolique de <i>Silybum marianum</i>	53
Tableau04 : comparaison entre le rendement de l'extrait obtenu et les valeurs de référence ...	53
Tableau 05: Activité antibactérienne de l'extrait de <i>Silybum marianum</i> selon les concentrations testées sur différentes souches bactériennes.....	56
Tableau 06 : Comportement des rats pendant 5 jours de suivi.....	60
Tableau 07: Effets du <i>Silybum marianum</i> sur les Niveaux Plasmatiques d'AST, d'ALT et d'urée chez les rats intoxiqués au CCl4.....	62

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ALAT : Alanine Amino Transférase.

ASAT : Aspartate Amino Transférase.

CCL4 : Tétrachlorure de carbone.

DMSO : Diméthyl sulfoxyde.

ALCl3 : Trichlorure d'aluminium.

NACl : Chlorure de sodium.

M.H : Muller-Hinton.

T- : Témoin négative.

ERO : Espèces réactives de l'Oxygène.

RL : Radicaux libres.

Abs : Absorbance.

EQ : Equivalent de Quercétine.

EAG : Equivalent d'acide gallique.

AG : Acide gallique.

Ms : Matière sèche.

SM : *Silybum marianum*.

V/V : Volume/Volume.

C° : Degrés celsius.

Cm : Centimètre.

m : Mètre.

Mg : Milligramme.

ml : Millilitre.

Mm : Millimètre.

mn : Minute.

S : Seconde.

nm : Nanomètre.

J : Jour.

Kg : Kilogramme.

L : Litre.

h : Heure.

UI : Unité Internationale.

%: Pourcentage.

R : Rendement.

NO : L'azote.

Introduction

Introduction

Les progrès de la médecine depuis plus d'un demi-siècle ont fait rentrer dans l'oubli les temps où l'on ne parlait guère de sa santé, sauf lorsque le corps refusait ses services, devenus trop pénibles. Aujourd'hui, chacun de nous la considère comme un bien à protéger, et dont il doit se préoccuper. Le mode de vie actuel de notre société a ajouté ses propres risques à ceux des maladies "classiques". Les mortalités se sont parallèlement développées vers un souci permanent de prévention et d'information, et cette évolution permet à chacun de nous de bénéficier des immenses progrès constatés (**Petit Larousse de la médecine, 2007**).

Jusqu'au XIX^e siècle, les médecins se contentaient, pratiquement, de puiser dans la pharmacie du bon dieu pour soulager les maux de leurs contemporains, c'est alors que les chimistes ont réussi à isoler les principes actifs de certaines plantes médicinales importantes. Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît. Les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus (**Encyclopédie des plantes médicinales, 2002**).

L'utilisation des plantes médicinales continue de croître rapidement à travers le monde et de nombreuses personnes se tournent maintenant vers ce type de produit pour traiter et prévenir divers maladies en utilisant des plantes médicinales (**Romano et al., 2021**).

Les plantes peuvent être considérées comme des bibliothèques de métabolites secondaires, des molécules organiques d'une diversité structurale qui serait autrement inaccessible par la synthèse chimique en laboratoire (**Bindseil et al., 2001**).

Parmi les nombreuses espèces aromatiques et médicinales, celles appartenant à la famille des *Astéraceae* présentent un intérêt particulier. Dans le cadre de notre étude, nous avons choisi d'explorer les propriétés biologiques d'une plante représentative de cette famille : le chardon-Marie (*Silybum marianum*).

Silybum marianum est une plante de la famille *Asteraceae*, qui a un intérêt médicinal et pharmaceutique important grâce à sa richesse en substances bioactives. Elle est utilisée, en médecine traditionnelle pour guérir les troubles digestifs, hépatiques et biliaires. Ces propriétés sont dues à la présence de la silymarine avec une concentration d'environ 70 à 80%, responsable de la plupart des effets thérapeutiques de la plante (**Svobodova et al., 2006**).

Dans ce mémoire, nous visons à évaluer les propriétés hépatoprotectrices et antimicrobiennes de l'extrait de *Silybum marianum* afin d'établir son potentiel thérapeutique dans la prévention et le traitement des maladies du foie.

Introduction

Les objectifs de cette étude étaient les suivants :

- Réaliser une étude phytochimique pour identifier les composés bioactifs présents dans l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Silybum marianum*.
- Mettre en évidence l'activité antimicrobienne de l'extrait contre certaines bactéries pathogènes.
- Étudier l'effet hépatoprotecteur de *Silybum marianum* contre les lésions hépatiques induites par le CCl₄ chez le rat.

Pour cela, nous avons organisé notre travail en deux parties :

- Une revue bibliographique présentant des données générales sur *Silybum marianum* et ses propriétés médicinales, ainsi que le contexte des maladies du foie.
- Une partie expérimentale représente la méthodologie de notre travail, les résultats obtenus, la discussion et enfin une conclusion.

Partie 01 : Synthèse bibliographique

Chapitre I :
Généralités sur
Silybum marianum

1. Généralités sur le chardon marie

Le chardon-Marie, de son nom scientifique *Silybum marianum* (L.) Gaertn. et membre de la famille des *Astéracées*, présente un cycle de vie bisannuel à l'état sauvage, où sa première année est consacrée à la croissance végétative. Cependant, en culture, il est majoritairement traité comme une plante annuelle, avec une longueur de cycle qui s'ajuste en fonction de la période de semis (**Marceddu et al., 2022**).

La distribution naturelle de cette plante s'étend du Moyen-Orient à la péninsule arabique (Figure 01), en passant par le sous-continent indien, l'Afrique du Nord et certaines contrées européennes. Elle a ensuite été acclimatée dans diverses régions comme le Japon, l'Afrique subsaharienne, l'Amérique du Nord et du Sud, certaines zones d'Europe, l'Australie et la Nouvelle-Zélande (**Maaloul et al., 2024**).

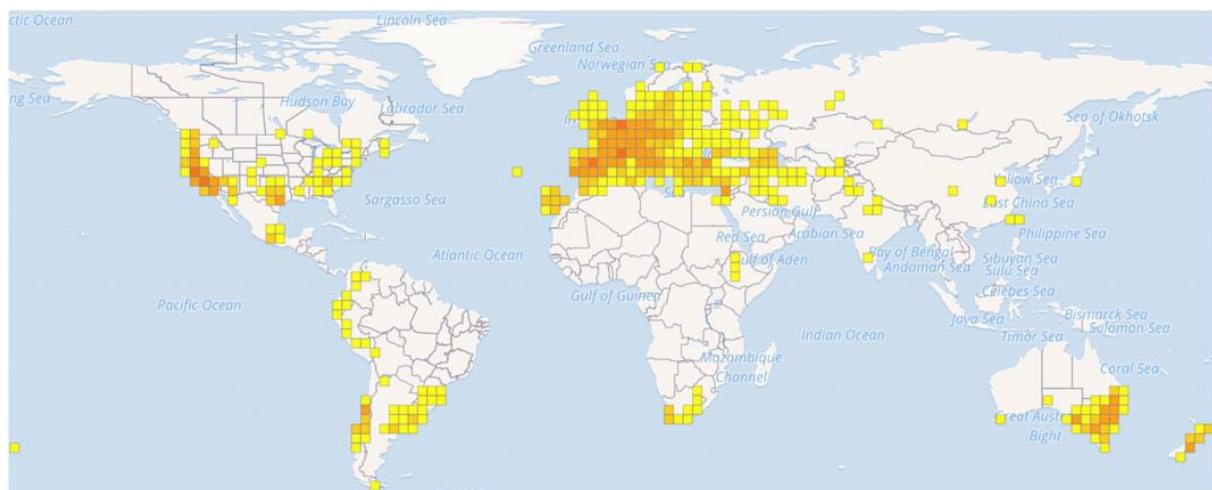


Figure 01 : La carte de répartition géographique de *S. marianum* (**Zhang et al., 2024**).

Selon une légende remontant au Moyen Âge, l'appellation "chardon Marie" serait liée à une histoire du voyage de la Vierge Marie entre l'Égypte et la Palestine. Afin de protéger le nourrisson des troupes d'Hérode, elle l'aurait caché dans les amples feuilles de la plante. Cette légende attribue les marbrures blanches caractéristiques des feuilles aux gouttes de lait maternel de Marie, perpétuées au fil des générations de la plante (**Rahal, 2012**).

2. Classification systématique

Selon. (**Couplan, 2012**), la systématique du chardon-Marie se résume comme suit (Tableau 01) :

Tableau 01 : Classification de *Silybum marianum*(**Couplan, 2012**).

Embranchement	Phanérogames
Sous - embranchement	Angiospermes
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Sous-famille	<i>Tubuliflores</i>
Genre	<i>Silybum</i>
Espèce	<i>Silybum marianum (L.) Gaertn</i>

3. Description morphologique

Il existe une grande variabilité dans les traits morphologiques de *Silybum marianum* , et une liste complète de descripteurs morphologique pour l'espèce a été compilée en 2016 (**Marceddu et al., 2022**).

Silybum marianum varie de 25 cm à 2 m de hauteur et de 5 cm à 1,5 m de diamètre de base

Feuilles:Caractérisées par leur couleur vert clair et leurs taches (Figure 02), les feuilles sont finement pubescentes sur les deux surfaces. Leurs lobes latéraux affichent une forme ovoïde triangulaire, et le bord est orné de dents pointues. L'examen de la surface foliaire révèle des cellules épidermiques aux contours rectilignes et arrondis, formant une structure polygonale. On note que les cellules de l'épiderme adaxial sont de plus grande taille que celles de l'abaxial. Enfin, aucun trichome n'est présent sur les feuilles (**Nigmatullaev et al.,2019**).



Figure 02 : Feuilles de chardon marie(**AnonymeA**).

Tiges : Le chardon-Marie présente une tige haute de 40 à 200 cm (Figure 03), dressée et ramifiée, dont la surface est soit lisse, soit légèrement duveteuse (Montemurro et al., 2007).



Figure 03 : Tige de chardon marie (AnonymeA).

Fleurs : Le chardon-Marie se pare de fleurs rondes (Figure 04), solitaires et terminales (au sommet de la tige ou des branches), pouvant atteindre 13 cm de long et de large. Leur palette de couleurs s'étend du jaune pâle au blanc durant l'été, pour se teinter de violet à la fin de l'hiver et au printemps. Des bractées aciculaires (en forme d'aiguilles) entourent ces fleurs (Rasha et al., 2021).



Figure 04 : Fleurs de chardon marie (AnonymeA).

Fruits : Les akènes, qui constituent les fruits du chardon-Marie, sont munis d'un long pappus blanc. Leur couleur oscille entre le noir et le brun brillant, mais des graines grises avec des marbrures sont aussi observées (Figure 05). Le poids de 1000 de ces akènes varie de 20 à 30 grammes. La quantité de graines produites par chaque capitule dépend du génotype et des

conditions de culture, allant de 65-100 jusqu'à environ 190. Une seule plante peut ainsi produire plus de 6000 graines, avec un taux de viabilité élevé de 94 % (Marceddu et al., 2022).



Figure 05 : Les fruits de chardon marie (photo personnelle 2025).

4. Période de croissance

Le chardon-Marie se développe comme une herbe annuelle ou bisannuelle d'hiver, selon le climat, avec une germination qui se produit en automne et au printemps. La germination des graines est influencée par la lumière et la température. Les graines fraîches nécessitent une période de post-maturation et germent mieux à basse température. Elles peuvent rester viables pendant plus de 9 ans. Young (1978) a noté que des températures plus élevées prolongent la période de post-maturation. Melnikova (1983) a rapporté que les températures minimales et maximales de germination pour *S. marianum* sont respectivement de 10 et 35°C, avec une germination optimale à 20-25°C. Ghavami et Ramin (2007) ont observé un meilleur pourcentage de germination à 15°C qu'à 25 et 35°C. Après l'établissement des plantules, le chardon-Marie hiverne sous forme de rosette, augmentant le nombre de feuilles basales. À la fin de l'hiver et au début du printemps, il fleurit en réponse aux basses températures, avec une floraison de avril à mai. Les akènes (fruits) mûrissent en juillet. La période de croissance totale est de 125 à 140 jours, comprenant le stade de plantule (15 à 20 jours), le stade végétatif (45 à 60 jours) avec la rosette et l'elongation de la tige, le stade de floraison, ainsi que les stades de fructification et de flétrissement. L'anthèse dans un capitule dure généralement cinq jours, et les fruits mûrs sont libérés environ 17 jours plus tard. Chaque plante peut produire en moyenne 55 capitules, et une seule tête de graine peut donner entre 100 et 190 graines. L'accumulation

de flavonolignane dans les graines atteint son maximum à la fin de la floraison, en fonction du stade de développement de la fleur (**Porwal et al., 2019**)

5. Composition chimique du chardon-marie

Silybum marianum renferme divers composés actifs, dont la silymarine est le plus étudié. Constituant environ 70 à 80 % de la totalité des flavonoïdes présents, la silymarine est le principal et le plus puissant de ces composés (**Tahmasbi et al., 2024**).

Les flavonolignanes :

La silymarine, principal actif du *Silybum marianum*, est composée de plusieurs flavonolignanes (Figure 06), dont la silybine est la plus concentrée. Les autres incluent la déshydrosilybine, l'isosilybine, la silydine et la silicristine. L'isolement du premier constituant pharmacologiquement actif de la silymarine, la silybine, à partir des akènes de *S. marianum* est attribué à Wagner et al. (1968), avec une première isolation indépendante la même année par Pelter et al. La silicristine, second composant identifié dans *S. marianum* par Wagner et al. (1971), vit sa structure déterminée en 1974. La silydianine fut signalée en 1976 par le même groupe. L'isosilydianine, un isomère de la silydianine, fut ensuite découvert par Arnone et coll. En 2003, des isomères cis des silybines et de l'isosilybine ont été isolés. L'analyse des akènes de *S. marianum* révèle la présence de silicristine A et B, de 2,3-cis-silybine A et B, et de plus de vingt autres flavonolignanes, ainsi que divers flavonoïdes comme la quercétine, la saccharine, la naringénine, le kaempférol et la dihydropyrane-4-one(**Zhang et al., 2024**). Les flavonolignanes de silymarine sont des composés constitutifs qui s'accumulent dans le péricarpe des fruits de *S. marianum*.

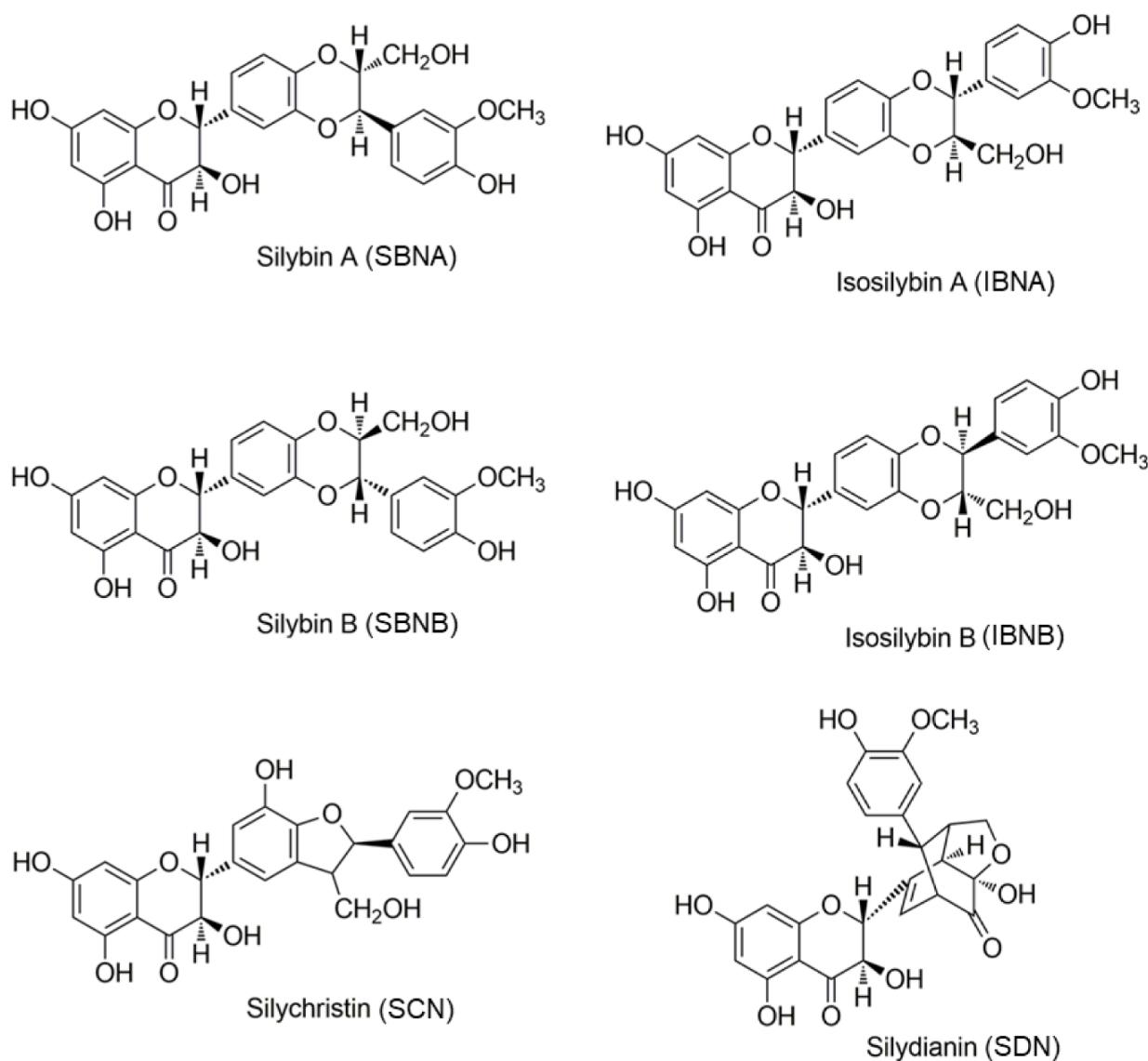


Figure 06 : Structure chimique des isomères des flavonolignanes de la silymarine (Chen et al., 2024).

Flavonoïdes :

Quercétol, taxifoline, ériodyctiol, chrysoériol, naringine, kaempférol- dihydrokaempférol, apigénol, naringétol (Charrié et al., 2017).

Composés d'huile :

Les extraits huileux obtenus des graines de *Silybum marianum* à 220 bar et 40°C sont principalement composés d'acides gras, notamment l'acide linoléique (65,22%), l'acide oléique (27,01%) et l'acide palmitique (12,12%) (Rahal., 2012).

Autres composés :

À pleine maturité, le fruit (*graine*) de *S. marianum* renferme principalement des lipides (20 à 30 %) et des protéines (20 à 30 %), avec une teneur en eau d'environ 7 %. On y trouve également des tocophérols (0,038 %), des stérols (0,63 %) et d'autres composés tels que le mucilage et les 3-désoxyflavonolignanes (Marceddu et al., 2022).

6. Activité pharmacologique de la plante

Le *Silybum marianum* et ses composés dérivés ont démontré des effets protecteurs sur le foie et les reins, ainsi que des propriétés hypolipidémiantes et anti-athéroscléroses, contribuant à la santé cardiovasculaire. Ils pourraient également prévenir la résistance à l'insuline, notamment chez les personnes atteintes de cirrhose, et jouer un rôle dans la prévention du cancer et de la maladie d'Alzheimer (Figure 07). Traditionnellement, en Europe, la silymarine est employée pour traiter diverses maladies et troubles du foie (Bahmani et al., 2015).

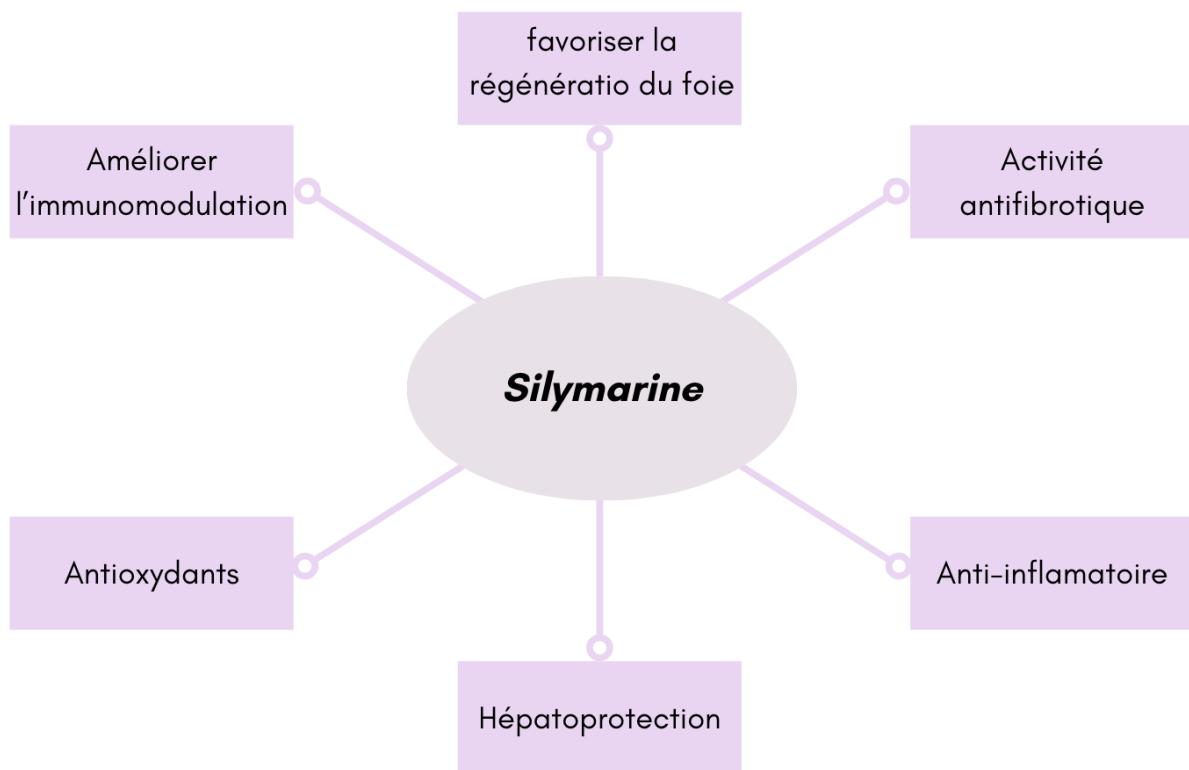


Figure 07 : Mécanismes d'action de la silymarine

1. Effets sur le foie

La silymarine, un composé réputé pour sa capacité à protéger le foie, a été soumise à des investigations cliniques afin de déterminer son efficacité dans la prise en charge de l'inflammation hépatique (**Zhao et al., 2024**)

Les recherches suggèrent que la silymarine a la capacité de normaliser les changements de fluidité induits par le tétrachlorure de carbone dans les membranes microsomales et mitochondrielles du foie, en restaurant la fluidité superficielle accrue et en augmentant la fluidité profonde réduite (**Abenavoli et al., 2018**).

De nombreuses études suggèrent fortement que les propriétés hépatoprotectrices de la silymarine résultent principalement de son activité antioxydante et de sa capacité à piéger les radicaux libres, ce qui se manifeste par la modulation du glutathion et la stabilisation des membranes(**Yang et al., 2014**).

L'action de la silymarine sur les hépatocytes implique une liaison spécifique au récepteur de l'estradiol, entraînant son activation. Cette activation stimule l'ARN polymérase I nucléaire, augmentant la transcription de l'ARN ribosomique. L'augmentation du nombre de ribosomes qui s'ensuit favorise la synthèse de protéines et d'enzymes structurelles, stimulant indirectement la synthèse d'ADN et contribuant ainsi au processus de réparation et de régénération des hépatocytes(**Zhang et al., 2024**).

2. Effets antioxydants

Les mécanismes par lesquels le SM participe aux défenses antioxydantes sont multiples. Il agit directement en piégeant les radicaux libres, mais aussi indirectement en prévenant leur formation par l'inhibition d'enzymes spécifiques ou en soutenant l'intégrité de la chaîne respiratoire mitochondriale en conditions de stress. De plus, le SM contribue à un état redox cellulaire optimal en activant diverses enzymes antioxydantes, un processus souvent médié par des facteurs de transcription comme Nrf2 et NF-κB. Enfin, il induit l'activation de vitagènes, qui sont responsables de la synthèse de molécules protectrices telles que les HSP, la thioredoxine et les sirtuines, offrant une protection supplémentaire face au stress(**Surai, 2015**).

3. Effets anti-inflammatoires

La silymarine possède une forte activité anti-inflammatoire en supprimant les produits des gènes régulés par NF-κB, notamment la cyclooxygénase-2 (COX-2), la prostaglandine E2 (PGE2) et les cytokines pro-inflammatoires. Il est important de noter que NF-κB est un facteur de transcription responsable de l'activation des gènes impliqués dans les réponses immunitaires, l'inflammation et la carcinogenèse(**Esmaeil et al., 2017**).

Le *Silybum marianum* (SM) a démontré une action bénéfique en améliorant la phosphorylation des kinases MAP NF-κB p65 et p38 et en limitant la production excessive de cytokines inflammatoires et du facteur de croissance endothérial vasculaire (VEGF) induite par la streptozotocine (STZ). Il est particulièrement intéressant de noter que le SM, ou potentiellement sa composante silybine (SB), a régulé à la baisse l'activité du facteur de transcription NF-κB ainsi que les molécules pro-inflammatoires qu'il contrôle, telles que le TNF-α, l'IL-1β, l'IL-6, l'IL-12, l'IL-23, le CCL4 et le CXCL10(Surai et al., 2024).

4. Effets anticancéreux

Carcinome hépatocellulaire

Le cancer du foie est une complication courante des hépatopathies chroniques et de la cirrhose. Le carcinome hépatocellulaire (CHC), forme primaire de cancer du foie, se classe au cinquième rang des cancers les plus répandus chez les hommes et au septième chez les femmes. Tragiquement, il est également la troisième cause de décès par cancer dans le monde (Emadi et al., 2022).

La silymarine exerce son effet sur le cancer du foie en employant différents mécanismes. Elle inhibe la croissance des cellules cancéreuses hépatocellulaires humaines HepG2, ce qui se traduit par une augmentation de la concentration de cellules apoptotiques. De plus, elle peut entraîner une réduction du potentiel transmembranaire mitochondrial en raison d'une élévation des niveaux de cytochrome c cytosolique (Cyt c) (Emadi et al., 2022).

Dans les tissus hépatiques, la silymarine entraîne une réduction considérable de l'expression du Ki-67, un marqueur de prolifération cellulaire. Chez le rat, elle a également démontré sa capacité à prévenir l'élévation des marqueurs tumoraux sériques, notamment l'alpha-fœtoprotéine et l'antigène carcinoembryonnaire, et à inhiber l'apparition du carcinome hépatocellulaire (Pradhan et Girish, 2006).

Cancer de la vessie

L'administration orale de silymarine et de silibinine inhibe la croissance et la progression tumorales à travers les stades de dysplasie et de carcinome, et réduit la gravité des lésions cancéreuses dans un modèle murin de tumorigénèse vésicale induite chimiquement. Ces effets chimiopréventifs étaient associés à une diminution de la prolifération cellulaire et à une augmentation de l'apoptose, impliquant une régulation négative des voies de signalisation ERK1/2 et NF-κB, ainsi qu'une réduction de l'expression de la cycline D1 et de la survivine. Ces résultats pathologiques et mécanistiques suggèrent le potentiel de la silymarine et de la silibinine contre le cancer de la vessie chez l'homme (Tyagi et al., 2007).

Cancer du sein

(Jao et al., 2022) Il a été démontré que la silibinine favorise l'autophagie et induit l'apoptose dans les cellules cancéreuses du sein MCF-7 en diminuant l'expression d'ER α et en augmentant celle d'ER β .

Cancer gastrique

Les effets de la silymarine sur la prolifération et l'apoptose des cellules cancéreuses gastriques humaines (AGS) ont été étudiés. L'administration de silymarine a entraîné une réduction significative et dose-dépendante de la viabilité et de la migration des cellules AGS. Simultanément, la silymarine a induit une augmentation dose-dépendante du taux d'apoptose et du nombre de corps apoptotiques. Sur le plan moléculaire, la silymarine a significativement augmenté l'expression des formes phosphorylées de JNK et p38, ainsi que de Bax et de la PARP clivée, tandis qu'elle a diminué l'expression de Bcl-2 et de la forme phosphorylée d'ERK1/2, et ce de manière dose-dépendante (**Fallah et al., 2021**).

5. Activité antidiabétique

Le diabète sucré est un trouble métabolique évolutif caractérisé par une hyperglycémie chronique persistante, une résistance à l'insuline, une production d'insuline altérée et une libération excessive de glucose par le foie. La silymarine et ses composants ont montré des effets hypoglycémiant potentiels, et de plus en plus de preuves expérimentales et cliniques indiquent que la silymarine réduit significativement la glycémie et stimule la sécrétion d'insuline (**Wadhwa et al., 2022**).

Un composé bioactif des extraits de silymarine, la silibinine, a démontré une protection significative contre l'apoptose induite par les ROS dans les cellules INS 1. Cette protection est associée à une augmentation des niveaux de protéines Bax et caspase-3 clivée et à une diminution de l'expression des gènes Bcl-2 et pro-caspase-3. En plus du stress oxydatif, l'inflammation est un facteur clé dans la progression et les complications du diabète, les cytokines inflammatoires jouant un rôle décisif dans la régulation de l'homéostasie du glucose et de la résistance à l'insuline (**Qin et al., 2017**).

Il ressort d'études *in vitro* que la silymarine pourrait améliorer l'élimination des lipoprotéines de basse densité et réduire la production de cholestérol par les cellules hépatiques. De plus, des observations chez des rats et des lapins hypercholestérolémiques suggèrent que la silymarine pourrait prévenir les complications liées à un taux de cholestérol élevé et limiter le développement de l'athérosclérose (**Bahmani et al., 2015**).

6. Activité neuroprotectrice

La silymarine et ses flavonolignanes sont également impliquées dans le traitement de diverses maladies neurodégénératives et dans l'atténuation des dommages neurodégénératifs consécutifs à une ischémie cérébrale. Le traitement à la silymarine réduit significativement le stress oxydatif neuronal et la neuroinflammation en stimulant plusieurs activités enzymatiques protectrices et en atténuant les réponses inflammatoires (**Wadhwa et al., 2022**).

Il est suggéré que la silymarine pourrait être un agent neuroprotecteur contre plusieurs maladies neurodégénératives, y compris la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et l'ischémie cérébrale. De plus, la capacité des composés de la silymarine à traverser la barrière hémato-encéphalique leur confère un potentiel effet neuroprotecteur direct au niveau cérébral(**de Oliveira et al., 2015**).

7. Pharmacocinétique

Après administration orale, la silymarine est absorbée et se distribue principalement dans le foie, l'estomac, l'intestin et le pancréas, comme l'ont montré les études pharmacocinétiques. Son élimination se fait principalement par la bile sous forme de métabolites, avec une recirculation entérohépatique. Un aspect important est la très faible toxicité de la silymarine, illustrée par une dose létale 50 orale chez le rat de 10 000 mg/kg. De plus, elle est considérée comme non embryotoxique(**Fraschini et al., 2002**).

L'extrait de silymarine normalisé (70-80 % silibinine) est faiblement soluble dans l'eau, ce qui limite son absorption orale (biodisponibilité de 23-47 %). Cependant, des formulations telles que le complexe silibinine-phosphatidylcholine, les dispersions solides, l'encapsulation liposomale ou le SMEDDS® peuvent augmenter considérablement (2-3 fois) son absorption orale. Le pic plasmatique est atteint en 2 à 6 heures, avec une demi-vie d'élimination d'environ 6 heures. La silymarine subit une importante circulation entéro-hépatique, atteignant des concentrations biliaires bien supérieures aux niveaux sériques. La silibinine et les autres composants sont rapidement glucurononconjugués et sulfatés dans le foie. Une grande partie d'une dose orale (40-80 %) est retrouvée dans la bile sous forme conjuguée, tandis qu'une faible quantité (2-5 %) est excrétée dans l'urine(**Dubé, 2010**).

8. Effets secondaires et toxicités

Toxicité et contre-indications. Des types de réactions allergiques peuvent survenir chez les personnes sensibles aux produits naturels. Une réaction allergique à *Silybum marianum* a également été rapportée. On a signalé un effet indésirable au *Silybum marianum* chez une

Anglaise qui avait apparemment une capsule contenant plusieurs extraits de plantes. Cependant, il n'est pas évident de savoir à quelle plante de la capsule la réaction s'est produite. Un cas d'anaphylaxie chez un patient présentant une allergie connue au kiwi a également été rapporté (**Bahmani et al., 2015**).

Toxicité aiguë. Chez les animaux, la silymarine n'a eu aucun effet secondaire significatif, même lorsqu'elle est administrée à des doses élevées. En raison des effets stimulants de la plante sur le foie et la vésicule biliaire, certains experts estiment qu'un léger effet laxatif peut survenir au cours des premiers jours de consommation. Cependant, dans un essai randomisé et contrôlé, les effets secondaires de cette plante n'ont guère dominé ceux du placebo. Dans une étude portant sur plusieurs milliers de patients, de très faibles incidences d'effets indésirables ont été constatées, qui se limitaient principalement à de légers troubles gastro-intestinaux (**Bahmani et al., 2015**).

Toxicité chronique. L'utilisation à long terme de cette plante est sûre et sans incidence d'anomalie. Il n'y a aucun rapport faisant allusion à des réactions indésirables aux herbes au cours d'une maladie ou chez des patients présentant un trouble spécifique à un organe (**Bahmani et al., 2015**).

Interactions médicamenteuses : Le profil d'interaction médicamenteuse de la silymarine a été étudié de manière approfondie, à la fois dans des modèles de laboratoire/animaux et dans des essais cliniques. Des études sur des hépatocytes humains démontrent une inhibition négligeable des enzymes CYP450 à des concentrations suprathérapeutiques de silymarine, ce qui suggère qu'à des doses thérapeutiques, la silymarine est peu susceptible de provoquer des interactions médicamenteuses liées aux hépatocytes. La silymarine peut être indirectement impliquée dans cette réduction, en tant qu'effet additif secondaire aux interactions avec les agents antihyperglycémants. De plus, des études ont montré que la silymarine peut théoriquement interférer et affecter la clairance d'autres médicaments, tels que les statines, les médicaments glucorinidés et les immunosuppresseurs, tels que le sirolimus (**Tighe et al., 2020**).

Chapitre II: Le foie et la phytothérapie

Le foie, qui est l'organe le plus volumineux de l'abdomen et normalement localisé dans la partie supérieure droite, sert de biofiltre et remplit plusieurs rôles métaboliques, allant des fonctions exocrines à endocrines. Son approvisionnement en sang unique et double, issu à la fois de l'artère hépatique et de la veine porte, témoigne de son rôle multifonctionnel dans le maintien de l'homéostasie ; les veines hépatiques recueillent le sang du foie pour le transmettre à la veine cave inférieure. L'ampleur des maladies chroniques du foie, de la cirrhose et de ses complications est significative, soulignant la nécessité de stratégies supérieures de prévention et de suivi (**Pomohaci et al., 2025**).

1. Anatomie du foie

Le foie est un organe fascinant, doté de caractéristiques anatomiques et fonctionnelles uniques (Figure 08) , avec un apport sanguin riche provenant de deux sources distinctes : l'artère hépatique et la veine porte. Au cours des soixante dernières années, et particulièrement durant les trois dernières décennies, nos connaissances sur l'anatomie vasculaire et fonctionnelle du foie ont considérablement progressé. Ces avancées, accompagnées de développements techniques et technologiques, ont profondément influencé l'état actuel de la chirurgie hépatique, contribuant à sa sophistication et à sa précision.

En tant que plus lourd des organes glandulaires, le foie pèse environ 1,5 kg chez l'adulte moyen (soit environ 2 % du poids corporel), et est légèrement plus lourd chez les hommes que chez les femmes. Un foie en bonne santé présente une couleur bordeaux profond, témoignant de sa riche vascularité, ainsi qu'une surface lisse et une consistance variant de molle à ferme. Il est situé dans la partie supérieure de la cavité abdominale, occupant la majeure partie de la région hypochondriaque droite, tout en s'étendant dans la région épigastrique et vers le côté gauche (**Mahadevan, 2020**).

Le sang veineux portal retourne à la veine cave inférieure par le biais des veines hépatiques, qui sont grandes et présentent une répartition différente de celle de la triade portal. Les trois principales veines hépatiques sont la veine hépatique droite, la veine hépatique gauche et la veine hépatique centrale. Celles-ci suivent une trajectoire postéro-supérieure à travers le tissu hépatique et se déversent dans la veine cave inférieure, située à la face postéro-supérieure du foie. Bien que leur arrangement puisse varier, il est fréquent que la veine centrale (la plus petite des trois) se jette dans la veine gauche juste avant de se drainer (**Ellis, 2011**).

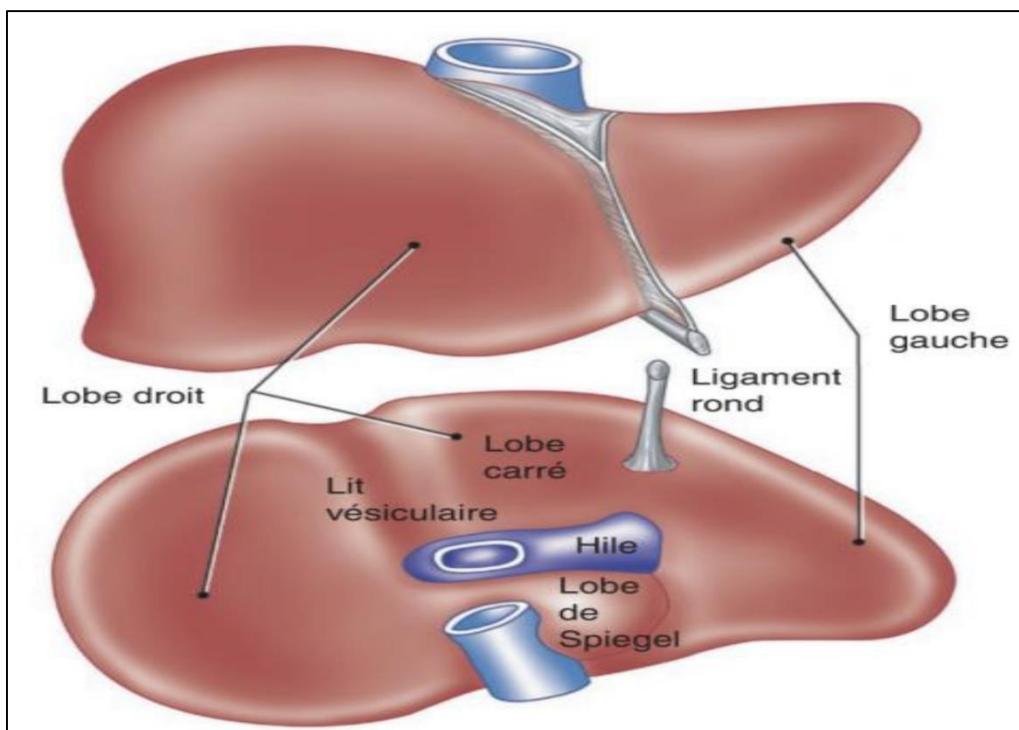


Figure 08: Morphologie du foie (Castaing et al., 2022).

1.1 Cellules hépatiques

Différentes populations d'hépatocytes ayant des fonctions distinctes selon leur emplacement dans le foie. Les cellules hépatiques sont principalement composées d'hépatocytes, de cellules étoilées hépatiques (CEH), de cellules de Kupffer et de cellules endothéliales sinusoïdales hépatiques (CESH). De plus, on trouve des cholangiocytes dans les canaux biliaires et des cellules musculaires lisses près de la veine centrale. Les cellules hépatiques ont des fonctions spécialisées en fonction de leur emplacement, bien que les hépatocytes soient morphologiquement similaires (Figure 09). Notamment, les hépatocytes situés dans la veine porte et la veine centrale ont des fonctions différentes, ce qui suggère que les hépatocytes situés dans différentes zones exercent des fonctions différentes. Les hépatocytes périportaux reçoivent des niveaux élevés de nutriments, d'oxygène et d'hormones, et ils sont spécialisés dans la fonction oxydative, la gluconéogenèse, la β -oxydation des acides gras et la synthèse du cholestérol. Inversement, les hépatocytes périveineux obtiennent de faibles niveaux de nutriments, d'oxygène et d'hormones et fonctionnent dans la glycolyse, la lipogenèse et la détoxicification des médicaments (Park et al., 2023).

Les hépatocytes jouent un rôle clé dans la synthèse des protéines liées à la réaction inflammatoire aiguë et à la nutrition (Feldmann, 1989).

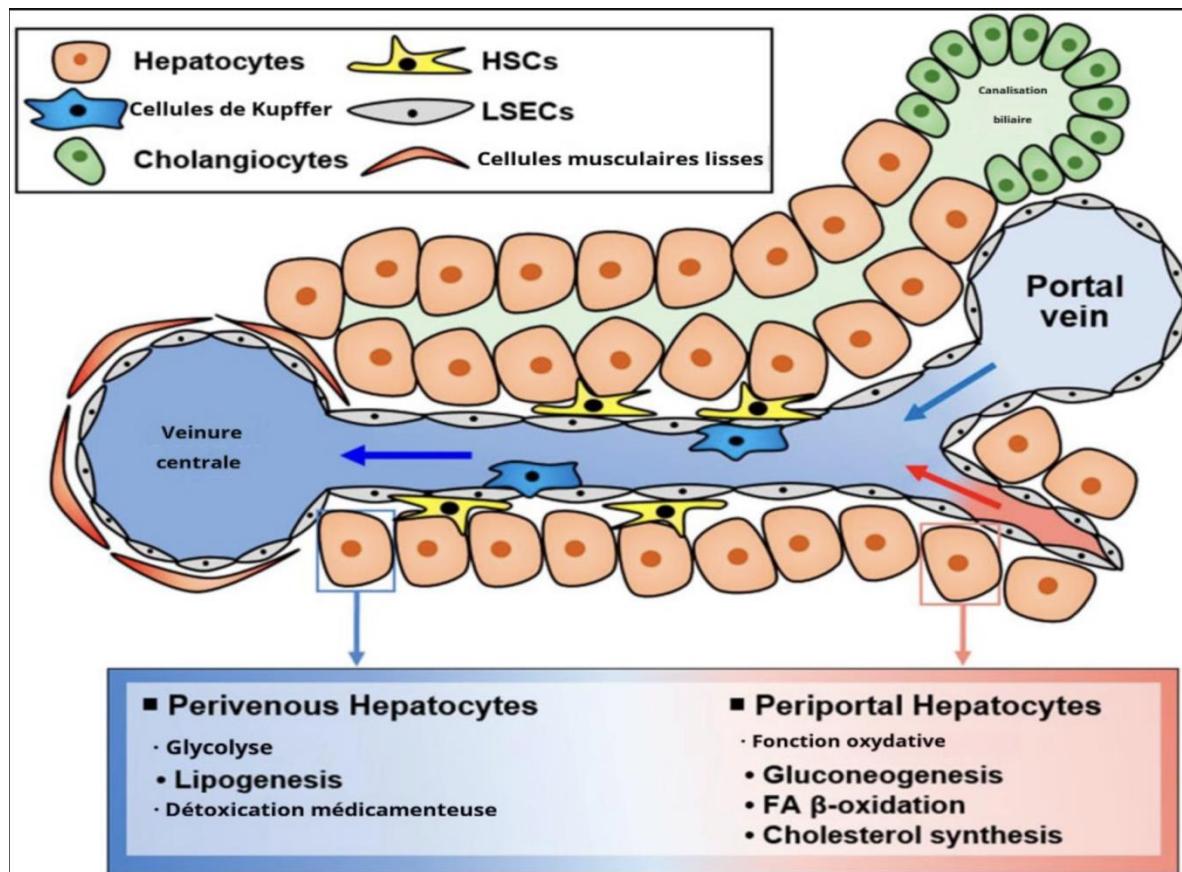


Figure 09: Organisation anatomique et fonctionnelle du tissu hépatique (Park et al., 2023).

Les hépatocytes réalisent la majorité des fonctions du foie, bien qu'ils soient morphologiquement similaires, leur rôle varie selon leur localisation, de la veine porte à la veine centrale, Les hépatocytes forment des cordons hépatiques et les sinusoides sont tapissés de cellules endothéliales (flèche) et de cellules de Kupffer (Trefts et al., 2017) (Figure 10).

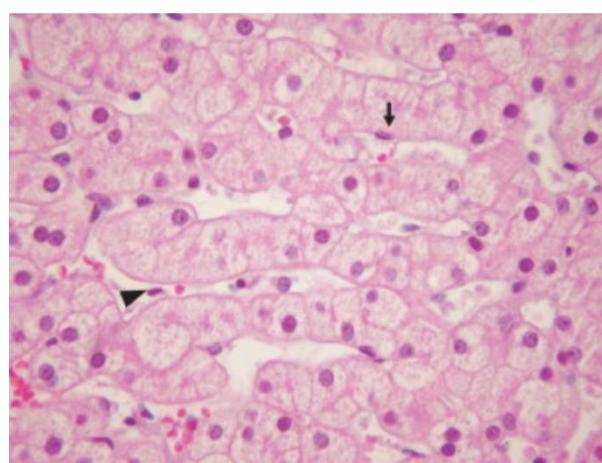


Figure 10 : Micrographie d'hépatocytes normaux (Liu et al., 2004).

1.2 Structure du tissu hépatique

Le foie est composé de millions de lobules hépatiques, au sein desquels circulent :

- Des vaisseaux sanguins qui fournissent les lobules en nutriments et recueillent les substances qu'ils produisent.
- Des canaux biliaires qui récupèrent la bile générée par les lobules.

Au centre de chaque lobule se trouve une veine centrolobulaire, qui assure le drainage du sang sortant du lobule (Figure 11). Chaque lobule est formé de milliers de cellules hépatiques organisées de manière complexe pour garantir, d'une part, la production et l'écoulement de la bile, et d'autre part, les échanges avec le sang (Plumeter et al., 2018).

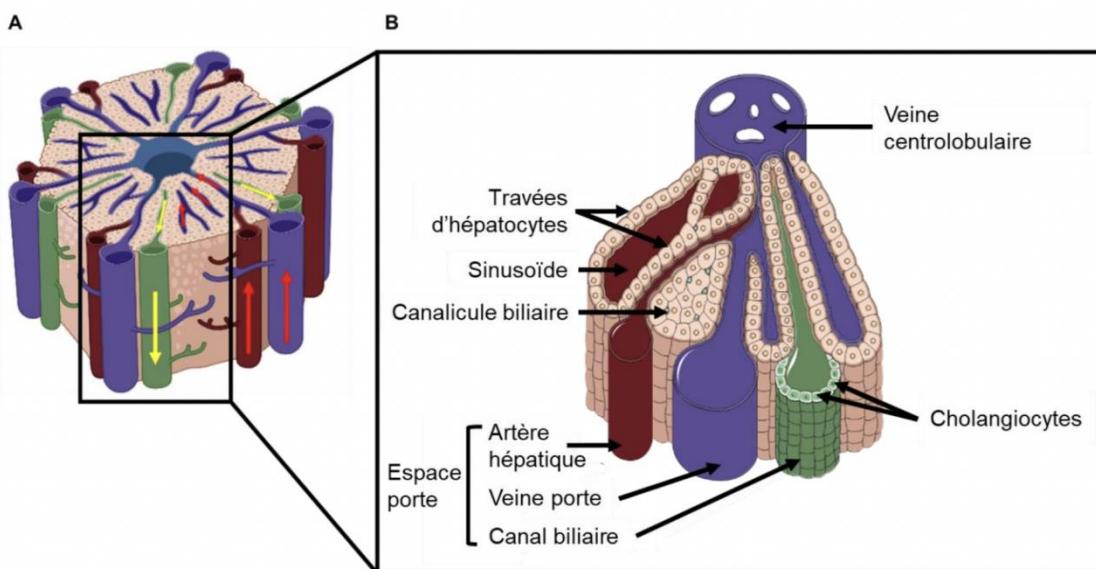


Figure 11: (A) Schéma d'une coupe d'un lobule hépatique.

Le sang circule de l'espace porte vers la veine centrolobulaire en passant dans les sinusoides (flèches rouges). La bile, produite par les hépatocytes, est transportée des canalicules biliaires vers les canaux biliaires (flèches jaunes). (B) Schéma d'un zoom sur une partie d'un lobule hépatique montrant différentes cellules et structures hépatiques (Castaing et al., 2022).

L'anatomie intra-hépatique (Figure 12) a révélé que la fonction hépatique repose principalement sur les relations entre les vaisseaux sanguins et les voies biliaires, plutôt que sur l'anatomie externe. Cette compréhension a considérablement amélioré la sécurité et la faisabilité des interventions chirurgicales sur le foie à l'heure actuelle (Champetier et al., 1989).

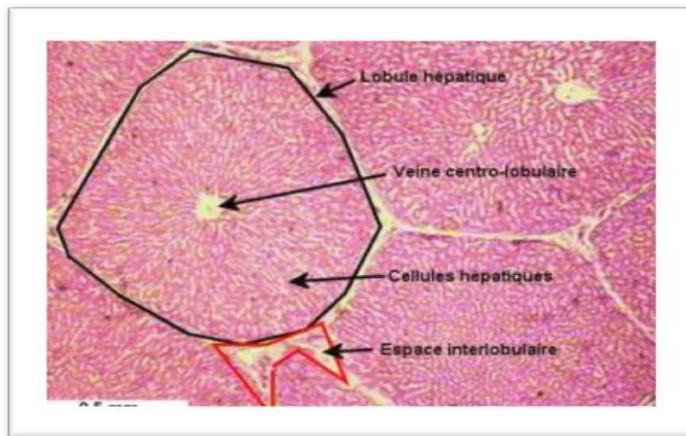


Figure 12: Coupe histologique du foie (LeCluyse et al., 2012).

2. Fonction du foie

Le foie, l'un des organes les plus vitaux pour le métabolisme et la synthèse, reçoit environ 25 % du débit cardiaque, ce qui est supérieur à tout autre organe. Il joue de nombreux rôles, notamment la dégradation des toxines en substances moins risquées, la production et la sécrétion de bile, le stockage du glycogène, ainsi que le métabolisme des médicaments. Cependant, ces fonctions hépatiques peuvent être altérées par des lésions dues à des maladies du foie ou à la consommation de drogues (Asbaghi et al., 2021).

Grâce à sa structure histologique spécifique, le foie facilite l'assimilation de la plupart des nutriments. De plus, la synthèse de la bile par le foie permet l'absorption des lipides. Cet organe joue également un rôle essentiel dans de nombreuses fonctions physiologiques, car il constitue un site majeur de synthèse et de stockage pour divers éléments, notamment des protéines, des glucides, des vitamines et des ions (Bessaguet et al., 2021).

Le foie joue un rôle essentiel dans le métabolisme, en activant ou en inactivant de nombreux agents anticancéreux, qu'il s'agisse de traitements cytotoxiques ou de nouveaux agents biologiques (Field et al., 2008).

2.1 Rôle du foie dans le métabolisme des nutriments

Le foie est essentiel à l'homéostasie nutritionnelle, participant à la synthèse et au métabolisme des macronutriments, ainsi qu'au stockage du glycogène et des micronutriments. Il représente 2,5 % de la masse corporelle et consomme 20 % de l'énergie au repos. Grâce à son système porte, il reçoit tous les nutriments hydrosolubles, les lipides échappant à l'effet de « premier passage hépatique ». Le foie régule le métabolisme lipidique, est un acteur majeur dans la synthèse des protéines plasmatiques et joue un rôle crucial dans la composition des acides

aminés dans la circulation systémique, influençant ainsi l'administration parentérale par rapport à l'administration entérale (**Leverve, 1999**).

2.2 Rôle et Formation de la Bile dans le Foie

La fonction biliaire conditionne l'absorption intestinale des lipides, assure l'homéostasie du cholestérol et l'élimination de différents produits de dégradation, comme ceux de l'hémoglobine, sous forme de bilirubine. La bile est initialement produite par les cellules parenchymateuses hépatiques (hépatocytes), puis modifiée par les activités de sécrétion et de réabsorption des cholangiocytes (cellules épithéliales biliaires). Le principal déterminant de la formation de la bile est un processus de filtration osmotique dû au transport actif des acides biliaires et de solutés osmotiquement actifs. Les transporteurs membranaires assurant la formation de la bile sont maintenant en grande partie identifiés. L'expression de ces transporteurs membranaires est régulée par des mécanismes, en particulier transcriptionnels, sous le contrôle de récepteurs nucléaires activés par des ligands dont les principaux sont les acides biliaires, stéroïdes synthétisés dans l'hépatocyte à partir du cholestérol (**Poupon et al., 2004**).

3. Pathologies du Foie

L'inflammation est un élément commun dans la pathogénèse de la plupart des maladies hépatiques chroniques qui mènent à la fibrose et à la cirrhose. L'inflammation se caractérise par l'activation des cellules immunitaires innées et la production de cytokines pro-inflammatoires. Il arrive aussi que des maladies hépatiques passent inaperçues (on les dit alors asymptomatiques). Elle peut être alors découverte fortuitement lors d'un examen de santé, ou bien se manifester tardivement (**Szabo et al., 2012**).

3.1 Hépatite

Il existe deux principaux types d'hépatites virales : les hépatites à transmission oro-fécale, représentant l'hépatite A et l'hépatite E, et les hépatites à transmission parentérale et sexuelle, qui incluent l'hépatite B, l'hépatite C et l'hépatite Delta. On parle d'hépatite virale aiguë lorsque la maladie se manifeste au moment de l'infection par le virus, tandis qu'une hépatite virale chronique désigne une situation où une personne est porteuse du virus et présente des manifestations cliniques sur le long terme. Ainsi, environ un cas sur dix d'hépatite B évolue vers une forme chronique, alors que pour l'hépatite C, ce chiffre grimpe à 80 %. Dans le cadre d'une hépatite virale aiguë, les taux de transaminases dans le sang peuvent atteindre des niveaux extrêmement élevés, dépassant 50 fois la normale, sans corrélation directe avec la gravité de l'affection. Les éléments indiquant une hépatite sévère incluent une baisse des facteurs de

coagulation sanguins et un taux de prothrombine inférieur à 50 %, ainsi que l'apparition d'une encéphalopathie lors de l'hépatite aiguë. Ce dernier aspect définit l'hépatite fulminante, qui est associée à un taux de mortalité élevé, supérieur à 50 % (**“Les Hépatites Virales,” 2014**).

3.1.1 Hépatite A

L'infection par l'hépatite A est connue depuis les anciennes civilisations chinoise, grecque et romaine, mais le premier rapport documenté a été publié au dix-huitième siècle. Le virus de l'hépatite A (VHA) est la première cause d'hépatite virale aiguë dans le monde. L'hépatovirus appartient à la famille des Picornaviridae et porte une RNA à brin simple. Il existe 7 génotypes. Les anticorps des classes IgM et IgA, lors des infections naturelles, apparaissent tôt dans le sérum, avec les premières manifestations cliniques de la maladie, mais ils peuvent également apparaître à la fin de la première semaine d'infection. Il existe un spectre de présentation clinique : infection asymptomatique, symptomatique sans ictere et symptomatique avec ictere. Une forme rare et fatale d'hépatite a été décrite. Le diagnostic de l'infection par l'hépatite A est confirmé par la détection d'anticorps IgM anti-HAV, généralement réalisés par un test ELISA. Le traitement est de soutien. L'immunoglobuline gamma anti-A intramusculaire est utilisée pour la prophylaxie immunitaire passive, et il existe un vaccin efficace pour la prophylaxie immunitaire active (**Pereira et al., 2003**).

3.1.2 Hépatite B

Le virus de l'hépatite B (VHB) infecte plus de 300 millions de personnes dans le monde et constitue une cause fréquente de maladies hépatiques et de cancer du foie. Classé dans la famille des Hepadnaviridae, le VHB est un petit virus à ADN qui se réplique via un intermédiaire ARN et peut s'intégrer dans le génome de l'hôte, ce qui lui permet de persister dans les cellules infectées. L'infection par le VHB peut entraîner une variété de maladies du foie, allant de l'hépatite aiguë, qui peut être asymptomatique ou se manifester par des symptômes, à l'hépatite chronique, la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire. Bien que la plupart des adultes infectés se rétablissent, environ 5 à 10 % développent une infection chronique, dont certains peuvent avoir des maladies hépatiques graves nécessitant une surveillance et une intervention thérapeutique. Des tests virologiques et sérologiques ont été développés pour diagnostiquer et traiter l'hépatite B chronique (**Liang, 2009**).

3.1.3 Hépatite C

Environ 3 % de la population mondiale est infectée par le virus de l'hépatite C (Figure13), touchant principalement les personnes ayant reçu des transfusions sanguines ou consommé des drogues. Les interventions dentaires, médicales, constituent également des facteurs de risque. Cette infection peut devenir chronique chez jusqu'à 85 % des individus, souvent sans

symptômes pendant de nombreuses années, et se manifeste de manière clinique variée. Pour diagnostiquer l'infection, la détection des anticorps anti-VHC est très sensible, et la confirmation se fait par la mesure de l'ARN du VHC dans le sang. La stadiéfaction de la maladie et l'évaluation de l'activité inflammatoire sont réalisées par biopsie hépatique. Le traitement a pour objectif de freiner la progression de la maladie du foie en inhibant la réPLICATION virale (Strauss, 2001).

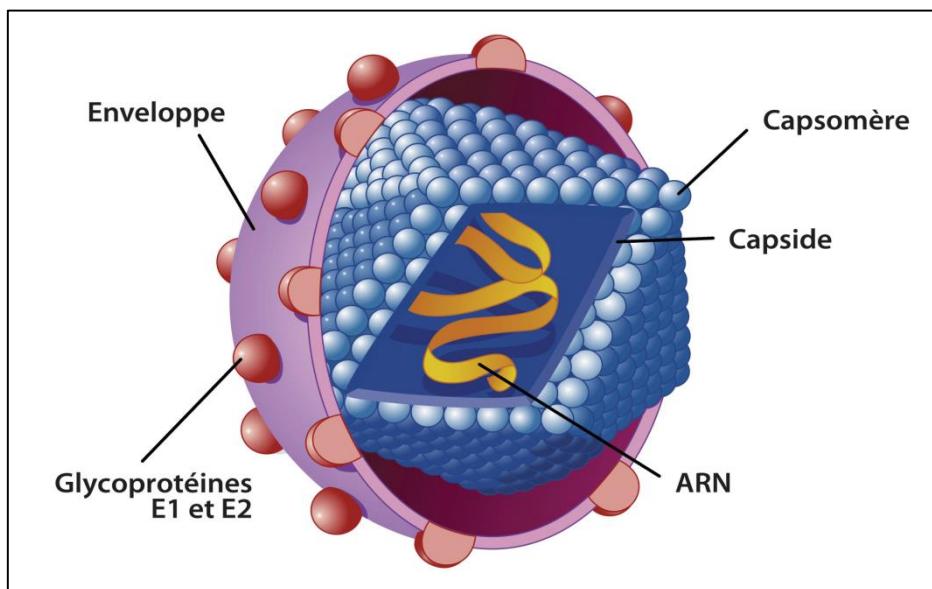


Figure 13: Virus de l'hépatite C (Le Guillou-Guillemette and Apare-Marchais, 2019).

3.2 Cirrhose

La cirrhose est une affection courante à l'échelle mondiale, résultant de diverses causes, comme l'obésité, la stéatose hépatique non alcoolique, une consommation excessive d'alcool, l'infection par les virus de l'hépatite B ou C, des maladies auto-immunes, des maladies cholestatiques, ainsi que des surcharges en fer ou en cuivre. Elle se développe suite à une inflammation chronique, entraînant le remplacement du tissu hépatique sain par du tissu fibreux et la formation de nodules régénératifs, ce qui cause une hypertension portale. La maladie progresse d'une phase sans symptômes (cirrhose compensée) à une phase avec symptômes (cirrhose décompensée), où les complications entraînent souvent des hospitalisations, une diminution de la qualité de vie et un risque de mortalité élevé. L'évolution de la maladie est influencée par une hypertension portale progressive, une inflammation systémique et une insuffisance hépatique. La gestion de la cirrhose se concentre sur le traitement des causes et des complications, et une transplantation hépatique peut être nécessaire dans certains cas (Ginès et al., 2021).

3.3 Stéatose hépatique

Les pathologies stéatosiques hépatiques sont des troubles définis par une accumulation inhabituelle de lipides au sein du foie (stéatose hépatique). Ces dernières incluent la maladie du foie liée à l'alcool, la maladie stéatosique du foie associée à une dysfonction métabolique, précédemment désignée comme la stéatose hépatique non alcoolique, la pathologie mixte associée à l'alcool et au contexte métabolique ainsi que les causes moins fréquentes de la stéatose hépatique. Elles affectent plus de 30% de la population et constituent la principale cause de cirrhose. Cependant, seule une petite partie des individus souffrant de stéatose progresse vers la cirrhose. Cela est associé à l'existence d'une inflammation et d'un malaise au niveau du foie, en plus de la stéatose (Figure 14). Par le biais d'efforts coordonnés de divers intervenants de la santé (médecins généralistes, endocrinologues, hépatologues) et en utilisant des algorithmes de prise en charge simples, il est possible d'évaluer la gravité de cette maladie chez les personnes à risque, une démarche recommandée par les sociétés scientifiques (Lanthier, 2022).

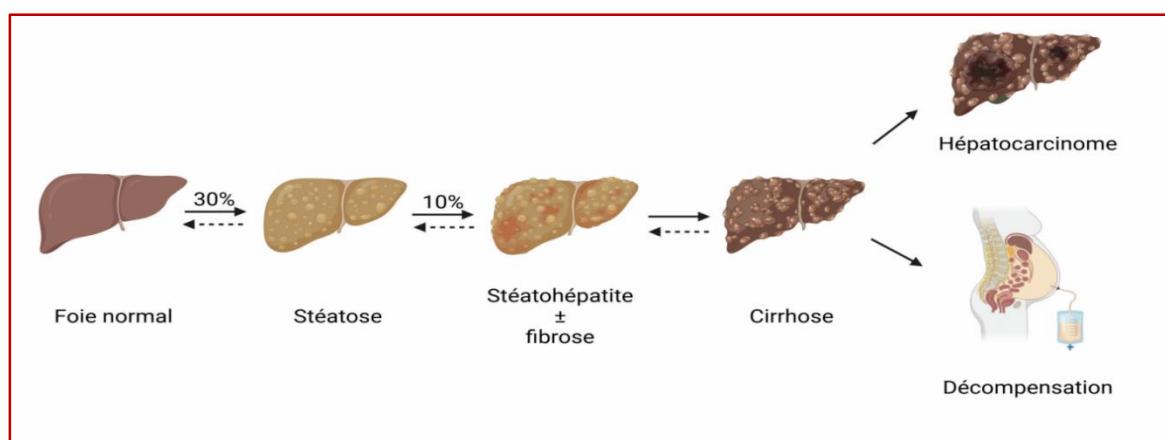


Figure 14 : Histoire naturelle de la maladie stéatosique du foie (Lanthier, 2022).

4. Enzymes Hépatiques et Diagnostic

Chaque organe peut déclencher un schéma unique de libération d'enzymes, qui reste encore mal compris. En particulier, des niveaux d'activité enzymatique dans le plasma supérieurs à la normale sont souvent considérés comme des éléments diagnostiques pour diverses maladies. La libération des enzymes suit généralement les gradients de concentration entre un organe, comme le foie, et les compartiments sanguins. En réalité, les valeurs d'activités enzymatiques sériques (« libérées ») sont beaucoup plus élevées que les constantes de taux de disparition apparentes et correspondent également aux taux de disparition du plasma liés au lactate déshydrogénase (LDH) ainsi qu'aux aminotransférases aspartate (AST) et alanine (ALT) après une lésion hépatique aiguë. Cependant, les mécanismes régissant la libération des enzymes cellulaires demeurent mal élucidés (Contreras et al., 2016).

De plus, une augmentation significative des activités sériques des « marqueurs enzymatiques hépatiques » ne reflète pas nécessairement la mort cellulaire au niveau du foie. Ainsi, les élévations pathologiques des activités plasmatiques des enzymes hépatiques ne semblent pas découler simplement de la libération quantitative de ces enzymes par le foie. Par conséquent, plusieurs indices enzymatiques peuvent indiquer des différences dans le schéma temporel de libération des enzymes hépatiques, plutôt que de véritables variations dans les quantités libérées de diverses enzymes. Toutefois, l'utilisation quantitative des données enzymatiques est limitée par le fait que les constantes de taux cataboliques fractionnels pour l'élimination des activités enzymatiques du plasma restent inconnues. La libération des enzymes mitochondrielles du foie est considérée comme un indicateur fort de nécrose hépatique et est également liée à certaines formes spécifiques de maladies du foie. Par exemple, il a été démontré que **le** glutamate déshydrogénase (GDH) corrèle bien avec la présence et l'étendue de la nécrose dans la maladie hépatique alcoolique. De plus, le rapport des AST mitochondrielles et totales (mAST) a été proposé comme un marqueur de l'alcoolisme chronique. Cependant, ni la GDH ni la mAST n'ont une spécificité suffisante en tant que marqueurs de lésions hépatiques, étant largement distribuées dans divers organes. Bien qu'il ait été rapporté que la libération cumulative de diverses enzymes cytosoliques se produit en proportion des activités correspondantes dans les foies de contrôle humains, les mécanismes régissant la libération des enzymes hépatiques dans la circulation sanguine demeurent largement inconnus. (**Contreras et al., 2016**).

5. La Phytothérapie

La phytothérapie est l'une des méthodes de traitement les plus anciennes, mais qui n'est pas dépassée. Les produits phytothérapeutiques, qui sont extraits de plantes médicinales, contiennent des principes actifs capables de soulager les symptômes et, dans certains cas, de guérir des maladies, bien qu'ils puissent également entraîner des effets indésirables. La pharmacognosie a connu des avancées significatives, facilitant ainsi l'utilisation des plantes médicinales par les professionnels de la santé et les praticiens de médecine traditionnelle. L'application de ces médicaments, ainsi que des plantes médicinales, offre de nombreuses possibilités thérapeutiques. Cependant, malgré l'augmentation annuelle du nombre de publications dans ce domaine, il existe encore un manque de revues et de méta-analyses qui pourraient favoriser une meilleure intégration des connaissances acquises. De plus, une recherche approfondie sur les interactions pharmacologiques, accompagnée d'études multidisciplinaires, pourrait accélérer et sécuriser le passage de la phase de recherche aux essais cliniques (**Ferreira et al., 2014**).

Un autre aspect à considérer est l'avancée des techniques de culture et de conservation des plantes médicinales. Aujourd'hui, il est possible de cultiver des plantes médicinales, parfois génétiquement améliorées, permettant d'offrir sur le marché des plantes riches en composés actifs. En parallèle, le développement de méthodes modernes de traitement et de préservation des plantes médicinales (comme la déshydratation sous vide ou la lyophilisation) aide à conserver leur qualité sur le long terme. Toutefois, de nombreux médicaments phytothérapeutiques utilisés en Occident n'ont pas été soumis à des études scientifiques rigoureuses, et leur qualité peut varier considérablement. De plus, les composants de ces médicaments ne sont pas toujours clairement justifiés. Récemment, des cas d'efficacité et de toxicité ont été rapportés concernant certains médicaments à base de plantes commercialisés, suscitant des doutes sur l'efficacité et la sécurité des traitements phytothérapeutiques (**Capasso et al., 2000**).

6. Phytothérapie et santé du foie

Une approche phytothérapeutique pour le développement de médicaments modernes peut aboutir à de précieux traitements issus de plantes médicinales traditionnelles. Cependant, la recherche de composés phytochimiques purs en tant que médicaments s'avère longue et coûteuse. De nombreuses plantes et formulations à base de plantes sont utilisées pour traiter les maladies du foie, mais dans la plupart des cas graves, les résultats des traitements ne sont pas satisfaisants. Bien que des études expérimentales aient été réalisées sur un nombre important de ces plantes et de ces formulations, celles-ci restent souvent incomplètes et insuffisantes. Les valeurs thérapeutiques ont été testées principalement sur de légères lésions hépatiques induites par des produits chimiques chez des rongeurs. Même des antioxydants alimentaires courants peuvent offrir une protection contre les lésions hépatiques causées par les mécanismes oxydatifs des toxines. En cas de lésions hépatiques graves, la plupart des cellules hépatiques subissent une mort cellulaire ou une fibrose. Dans ces situations, le traitement doit comprendre, en plus des agents thérapeutiques, des substances qui stimulent la prolifération des cellules hépatiques. Pour développer des associations de plantes efficaces dans le traitement des maladies hépatiques graves, il est essentiel d'évaluer systématiquement les propriétés des plantes, notamment leur activité antivirale, et d'identifier celles présentant des activités remarquables pour chacune de ces propriétés (**Capasso et al., 2000**).

Chapitres III : Stress oxydatif

1. Le stress oxydatif

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme via la formation de radicaux libres et d'espèces oxygénées activées (EOA). Dès les années 1950, Gerschman et Hartman ont abordé la toxicité de l'oxygène et la théorie des radicaux libres. En 1969, McCord et Fridovich ont identifié le superoxyde dismutase (SOD) dans le sang humain, montrant que l'organisme produit des agents antioxydants pour neutraliser les radicaux libres. Cette découverte a lancé de nombreuses recherches mondiales sur le stress oxydant et les antioxydants (**Haleng et al., 2007**).

Le stress oxydatif se définit comme un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (ROS/RNS) et la capacité de l'organisme à neutraliser leurs effets via les systèmes antioxydants. Il peut résulter soit d'une augmentation des ROS/RNS, soit d'un affaiblissement des défenses antioxydantes. Ce phénomène se traduit par une altération des mécanismes endogènes de protection, rendant les biomolécules vulnérables aux dommages oxydatifs (**Pisoschi and Pop, 2015**).

À l'origine, le stress oxydatif était une notion selon laquelle toutes les maladies résultraient soit d'une surproduction de radicaux libres, soit d'une défaillance des systèmes de détoxification. Initialement, l'objectif n'était pas de le mesurer, mais de le « traiter » à l'aide d'antioxydants. Pourtant, les essais cliniques à grande échelle utilisant des suppléments antioxydants, pourtant capables de neutraliser les radicaux libres, n'ont pas démontré d'effets bénéfiques significatifs chez l'homme (**Azzi, 2022**).

Les oxydants se forment lors de la réduction progressive de l'oxygène moléculaire en eau, un processus qui engendre des espèces réactives telles que l'anion superoxyde (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le radical hydroxyle ($\cdot OH$). Ces composés sont produits par divers systèmes biologiques, incluant la phosphorylation oxydative mitochondriale, les NADPH oxydases, les peroxysomes, la chaîne de transport d'électrons microsomale, ainsi que des enzymes comme les cyclooxygénases et la xanthine oxydase (**Sadasivam et al., 2022**).

2. Les radicaux libres

Il s'agit d'un atome ou d'une molécule qui contient un (ou plusieurs) électron(s) non pairé(s), comme conséquence de la perte d'un (ou plusieurs) électron(s) de l'orbite externe, aboutissant à la formation d'une demi-liaison qu'il faut satisfaire par un pillage local d'électron(s) (**Berger, 2006**).

Les radicaux libres constituent un ensemble de molécules très instables et particulièrement toxiques au niveau cellulaire puisqu'elles “attaquent” les autres molécules en leur retirant un électron, ce qui contribue à les déstabiliser. Les trois sortes de radicaux libres les plus connues sont l'anion superoxyde (O_2^-), le radical hydroxyle (HO^-) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Sebbar et al., 2023).

Les radicaux libres issus du transfert d'électrons lors de la respiration mitochondriale des cellules aérobies diffusent dans le cytoplasme, provoquant des réactions de peroxydation et contribuant au stress oxydatif (Figure 15), qui peut aussi résulter de maladies, de déficits en antioxydants ou d'un exercice intense. L'organisme possède un système de défense antioxydant, enzymatique et non enzymatique, aux actions complémentaires mais parfois antagonistes. Les études sur l'impact de l'exercice sur ces systèmes donnent des résultats variables. Le système antioxydant du glutathion s'adapte bien à l'effort et est crucial pour contrer le stress oxydatif. L'entraînement ne cause pas de carence importante en antioxydants, mais leur insuffisance peut réduire la performance. La supplémentation en antioxydants ne semble pas améliorer les capacités fonctionnelles (Tessier and Marconnet, 1995).

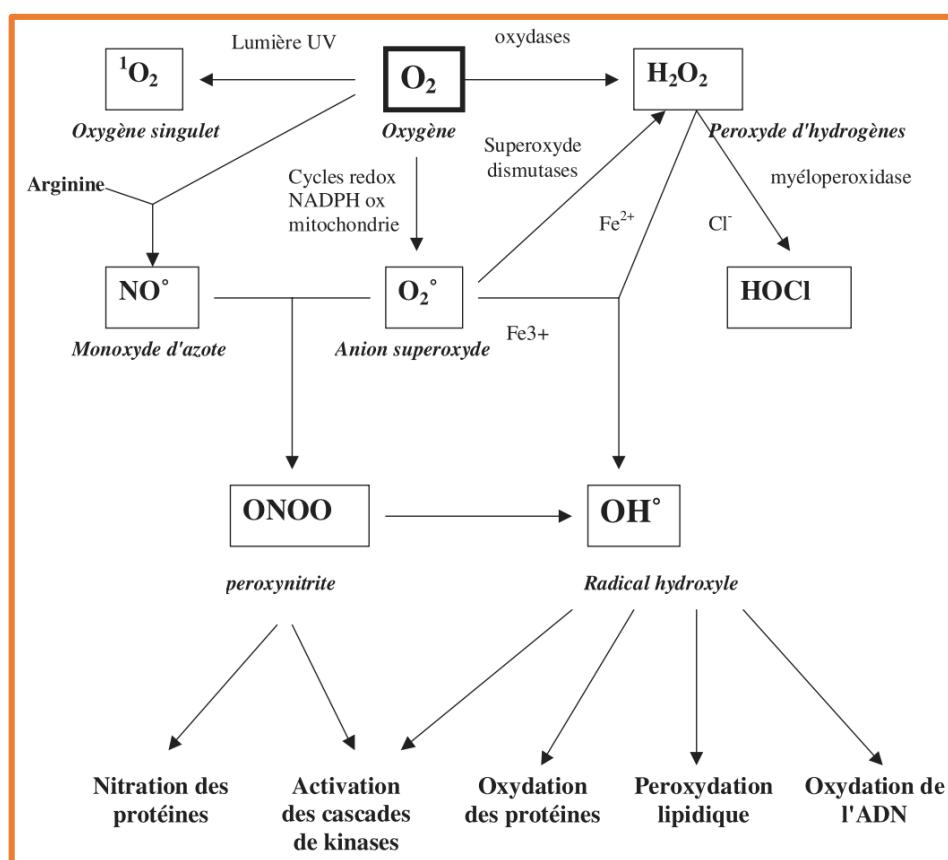


Figure 15 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003).

3. Production de radicaux libres

La formation de ROS et de RNS peut se produire dans les cellules de deux manières : des réactions enzymatiques et non enzymatiques. Les réactions enzymatiques générant des radicaux libres incluent celles impliquées dans la chaîne respiratoire, la phagocytose, la synthèse des prostaglandines et le système du cytochrome P450. Les radicaux libres peuvent être produits par des réactions non enzymatiques de l'oxygène avec des composés organiques, ainsi que par des réactions initiées par des radiations ionisantes. Ce processus non enzymatique peut également se produire lors de la phosphorylation oxydative (respiration aérobie) dans les mitochondries (**Pham-Huy et al., 2008**).

(**Migdal and Serres, 2011**) a dit la production d'ERO par le complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire, la plupart des cellules sont capables de produire des radicaux superoxydes $O_2^{\cdot-}$ via une activité NAD(P)H oxydase membranaire (NOX). La NOX est une enzyme qui catalyse la réduction monoélectronique de l' O_2 en utilisant le NADPH ou le

NADH comme donneur d'électrons :



4. Rôle des radicaux libres

Chez l'homme, une augmentation de la production de radicaux libres dérivés de l'oxygène, comme l'anion superoxyde, est associée à plusieurs maladies, où ils provoquent des lésions tissulaires et l'inflammation. Pour contrer cette surcharge de radicaux, le corps utilise des enzymes telles que la SOD, qui convertit l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, ensuite éliminé, empêchant la formation de radicaux plus nuisibles. La compréhension précise de leur rôle dans la physiopathologie humaine s'est améliorée grâce à des techniques génétiques, et les molécules mimant la SOD représentent une voie thérapeutique prometteuse. (**Afonso et al., 2007**)

Les espèces radicalaires réactives (ERO) jouent un rôle crucial dans la physiologie vasculaire, notamment en contribuant à la dysfonction endothéiale lors de pathologies telles que l'athérosclérose, l'hypertension, le diabète ou le choc. Elles agissent comme seconds messagers, induisent du stress oxydatif, et sont libérées par les leucocytes lors d'infections, aggravant les lésions endothéliales. En cas de sepsis, la surproduction d'ERO perturbe la régulation vasculaire, augmente la perméabilité, favorise l'adhésion leucocytaire, l'œdème, et l'ischémie, tout en modifiant les voies de signalisation, en favorisant l'apoptose et en inhibant les défenses antioxydantes, donc perpétuant la dysfonction endothéiale (**Huet et al., 2008**).

Les radicaux libres, produits lors de processus métaboliques essentiels, peuvent devenir toxiques en réagissant avec des biomolécules et les tissus, contribuant à la toxicité et à certains troubles ; leur production augmente sous l'effet de l'oxydation et de la présence de métaux comme le fer, que ce soit à l'intérieur de la cellule ou dans son environnement (Basaga, 1990).

Lorsque la production cellulaire d'ERO dépasse sa capacité antioxydante, des dommages aux macromolécules cellulaires, telles que les lipides, les protéines et l'ADN, peuvent en résulter. Un tel état de "stress oxydatif" est considéré comme contribuant à la pathogenèse d'un certain nombre de maladies humaines, y compris celles du poumon. Des études récentes ont également impliqué les ERO générées par des oxydases spécialisées de la membrane plasmique dans le signalement physiologique normal par les facteurs de croissance et les cytokines (Thannickal et al., 2000)

5. Processus d'oxydation

L'oxydation est une réaction chimique au cours de laquelle des substances organiques, riches en énergie, sont brûlées ou dégradées en présence d'oxygène. Cependant, dans le contexte biologique, cette réaction nécessite souvent de l'oxygène atomique ou actif, car l'oxygène moléculaire ordinaire ne réagit pas facilement avec ces substances à température ambiante (Annales de la brasserie et de la distillerie, 1906).

6. Pathologies liées au stress oxydatif

Le stress oxydant ne soit pas une maladie en soi, il constitue un terrain favorable à diverses pathologies (plus de 200 recensées), notamment en favorisant l'oxydation des lipides (maladies cardiovasculaires) ou de l'ADN (cancers). Avec l'avènement de la biologie moléculaire, il a été compris que les EOA jouent aussi un rôle physiologique essentiel dans le maintien de l'équilibre cellulaire, et que les antioxydants régulent leur production pour prévenir leurs effets néfastes (Berger, 2006).

Le stress oxydant survient lorsque nos cellules ou tissus produisent, de manière endogène ou exogène, des radicaux libres oxygénés en quantité supérieure à leurs capacités antioxydantes. Cet excès non neutralisé endommage les macromolécules essentielles, provoquant des anomalies génétiques, des troubles immunitaires, des mutations, et des accumulations de protéines ou de lipofushine dans les tissus. Il est impliqué dans la pathogenèse de nombreuses maladies humaines et animales, notamment celles liées au vieillissement (Fontaine, 2007) comme :

- le cancer,
- les maladies oculaires,
- les maladies neurodégénératives,

- les maladies génétiques telles que la sclérose latérale amyotrophique (**Baudin, 2016**).

Souvent secondaire, le stress oxydant contribue également à des complications immunitaires ou vasculaires dans des maladies comme :

- le sida,
- le diabète,
- Parkinson,
- l'insuffisance rénale.

Ces antioxydants doivent être administrés précocement et à doses modérées, afin de ne pas supprimer la production essentielle de radicaux libres nécessaires à de nombreuses fonctions (**Favier, 2006**).

7. Moyen de lutte contre le stress oxydatif

Le stress oxydatif, à l'origine de nombreuses maladies, ne doit pas être simplement éliminé, car ses dégâts se produisent souvent plusieurs années avant l'apparition des symptômes et sont irréversibles. La lutte consiste à utiliser des antioxydants, en particulier un mélange de molécules ayant une activité complémentaire, pour réduire ou neutraliser les espèces actives de l'oxygène. Cependant, des essais massifs, comme ceux avec du bêta-carotène à forte dose, ont montré leurs limites, notamment chez les personnes déjà à risque. En revanche, certains nutriments comme le sélénium ou les vitamines C et E ont permis de réduire le risque de cancer. Une approche préventive consiste donc en une alimentation riche en fruits et légumes, qui améliorent naturellement le statut antioxydant, et en l'utilisation prudente de suppléments complémentaires, en tenant compte des spécificités individuelles (**Favier, 2003**).

L'augmentation de la consommation d'antioxydants aura pour principal objectif de prévenir ces maladies. L'orange douce (*Citrus sinensis*), originaire d'Asie, est utilisée depuis plus de 2000 ans en médecine, puis en parfumerie dès le XIe siècle en Méditerranée. Cultivée en Sicile, elle est célèbre pour ses variétés riches en antioxydants, appréciées pour leur saveur et leur parfum (**Demars et al., 2025**).

Partie 02 :
Expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

Ce travail expérimental a pour objectif d'évaluer *in vitro* le potentiel antimicrobien de la plante médicinale *silybum marianum*, ainsi que son effet sur les dommages hépatiques aigus induits par le tétrachlorure de carbone chez les rats *in vivo*.

Dans le cadre de cette étude, nous avons également procédé au dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes, afin de mieux caractériser les composés bioactifs de la plante.

Les expérimentations ont été réalisées dans plusieurs laboratoires :

- L'animalerie du campus Chaâbat Ersas de l'Université des Frères Mentouri Constantine 1.
- Le laboratoire pédagogique de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne de l'Université des Frères Mentouri Constantine 1.
- Le Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT) de Constantine.

I- Matériel

1. Matériel biologique

1.1 Préparation du matériel végétal

Nous avons porté notre choix sur la plante *silybum marianum*, après une enquête ethnobotanique couplée à une étude bibliographique des plantes recensées chez les tradipraticiens de Constantine.

Le matériel végétal (Figure16) est constitué de la partie aérienne de la plante *silybum marianum* obtenue auprès d'un herboriste local de la wilaya de Constantine. L'identification botanique de l'espèce a été confirmée par l'herboriste, les graines ont été séchées à l'abri de la lumière afin d'éliminer les impuretés grossières ainsi que les graines endommagées ou altérées. Après séchage les graines ont été pulvérisées à l'aide d'un broyeur domestique pour obtenir une poudre fine, qui a servi à la préparation des différents extraits.



Figure 16 : La poudre végétale de la plante *silybum marianum*.

1.2 Matériel microbien

Les souches bactériennes utilisées proviennent du Laboratoire de Microbiologie de l'Université des Frères Mentouri Constantine.

La collection bactérienne utilisée est composée de quatre souches de référence issues de l'ATCC® (American Type Culture Collection).

Il s'agit d'*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*. Leurs principales caractéristiques sont regroupées dans le tableau ci-dessous (Tableau02) :

Tableau02 : Description des souches bactériennes utilisées.

Nom de la souche	Gram	ATCC®
<i>Escherichia coli</i>	Bacille G-	NCTC 10538
<i>Bacillus spizizenii</i>	Bacille G+	ATCC 6633
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocci G+	ATCC 16404
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bacille G-	NCIMB 8626

1.3 Choix des animaux et conditions d'élevage

L'étude *in vivo* a été réalisée sur un modèle animal constitué de 15 rats mâles blancs de la souche Wistar albinos (Figure17), ayant un poids compris entre 200 g et 330 g.

Les animaux provenant de l'animalerie du Campus Chaâbat Ersas de l'Université des Frères Mentouri Constantine 1, ont été hébergés dans des conditions visant à assurer leur bien-être. Ils avaient un accès libre à une alimentation standard et à l'eau. La salle était soumise à un cycle jour/nuit de 12h/12h, ces rats ont été répartis dans quatre cages selon le traitement reçu et soumis à une période d'adaptation de deux semaines avant le début de l'expérimentation.



Figure17 : Elevage des rats.

II- Méthode

1. Etudes de l'extrait des graines du *silybum marianum*

1.1 Extraction hydro-méthanolique des graines

1.1.1 Macération

100 g de poudre de graines de *Silybum marianum* ont été placés dans un flacon contenant un mélange de solvants (méthanol : eau à 70:30, v/v).

La macération a été effectuée dans une fiole hermétiquement fermée pendant 72 heures, à température ambiante, à l'abri de la lumière, avec agitation occasionnelle (Figure18).

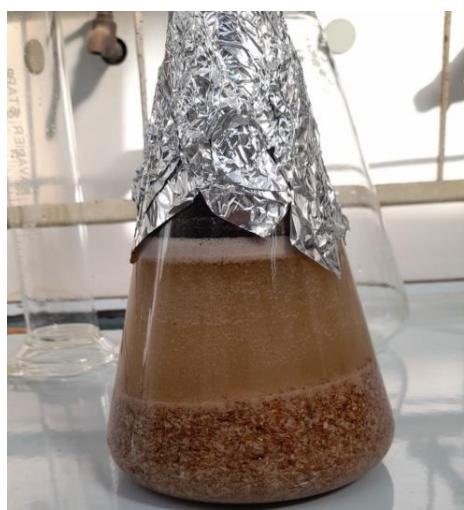


Figure18 : Le macérat hydro-méthanolique.

1.1.2 Filtration

Les extraits obtenus ont ensuite été filtrés à l'aide d'un filtre Whatman afin d'obtenir une solution limpide (Figure19)



Figure19 : Filtration du macérat hydro-méthanolique.

1.1.3 Évaporation

Après la préparation des extraits, ceux-ci ont été placés dans un évaporateur rotatif afin d'éliminer les solvants (Figure20). La température était toujours réglée à 45 °C, soit en dessous du point d'ébullition du solvant pour préserver les composés thermosensibles. La matière recueillie a ensuite été étalée dans des boîtes de Pétri stériles, étiquetées de manière appropriée, puis laissée à sécher à température ambiante(Figure21).



Figure 20: Evaporation par le rotavapor.



Figure 21: L'extrait brut de la plante.

➤ Détermination du rendement

Le rendement d'extraction en pourcentage (%) est défini comme étant le rapport entre le poids de l'extrait sec en gramme et le poids de la plante sèche en poudre. Il est calculé par l'équation suivante :

$$R\% = M_e/M_v \times 100$$

Considérons :

R% : rendement par rapport au poids de la matière végétale utilisée.

M_e : poids en gramme de l'extrait sec.

M_v : poids en gramme la matière végétale initiale sèche.

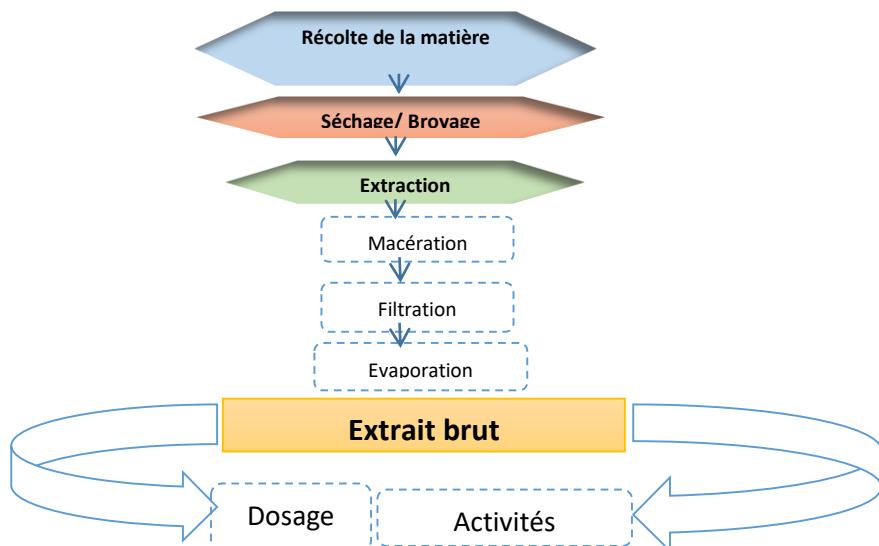


Figure 22 : Protocole d'étude expérimentale

1.2 Analyses quantitatives des extraits de graines

1.2.1 Dosage des composés phénoliques totaux (CPT)

Principe

La méthode de Folin-ciocalteu, est une technique colorimétrique utilisée pour doser les polyphénols totaux dans une solution. Elle repose sur la capacité des groupes phénoliques à agir avec le réactif de Folin-ciocalteu en milieu alcalin. Cette réaction entraîne la réduction des ions de tungstène et de molybdène, ce qui produit un complexe bleu, dont l'intensité est mesurable par spectrométrie à une longueur d'onde de 765 nm. L'intensité de la couleur bleue est proportionnelle à la concentration en polyphénols totaux dans l'échantillon.

Mode opératoire

Le réactif de Folin-Ciocalteu est dilué avec de l'eau distillée dans un rapport de 1:10.

Une solution standard d'acide gallique est préparée à la concentration de 0,01 mg/ml, car ce composé est utilisé comme référence pour mesurer les polyphénols.

Pour l'échantillon, 1mg de l'extrait est dissous dans 1ml d'eau distillée.

Dans des tubes à essai :

- On pipette 200 μ l de la solution standard d'acide gallique (à différentes concentrations).
- On ajoute ensuite 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué.
- Puis on verse 2,5 ml d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5 %.

Après avoir bien mélangé, on laisse réagir pendant 2 heures à température ambiante (Figure23).

Enfin, on mesure l'absorbance à 765 nm avec un spectrophotomètre, en utilisant un blanc comme référence.

Les concentrations en polyphénols sont obtenues à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec les différentes concentrations d'acide gallique.

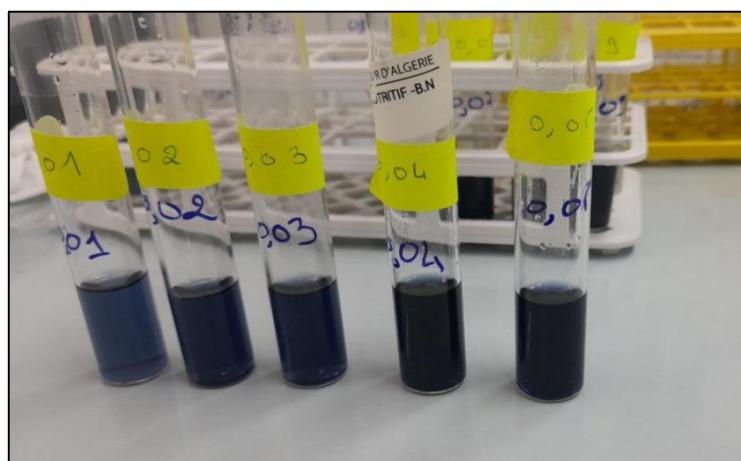


Figure 23 : La cinétique de dégradation des couleurs dans le dosage des polyphénols.

1.2.2 Dosage des flavonoïdes

Principe

Le dosage des flavonoïdes totaux est basé sur un test colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium AlCl_3 . En effet, il a été démontré que ce réactif forme des complexes acides stables soit avec le carbonyle, soit avec le groupe hydroxyle des flavonoïdes.

Nous avons choisi de réaliser le dosage à l'aide d'un composé standard, à savoir la Quercétine.

Mode opératoire

Une quantité de 1 ml de chaque échantillon ou du standard (préparer dans le méthanol) est ajouté à 1 ml de la solution d' AlCl_3 (2%). Le mélange est vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm est mesurée après 10 minutes d'incubation(Figure24).

Les concentrations des flavonoïdes ont été déduites à partir de la gamme de la courbe d'étalonnage établie avec la Quercétine (0.01-0.1 mg/ml).

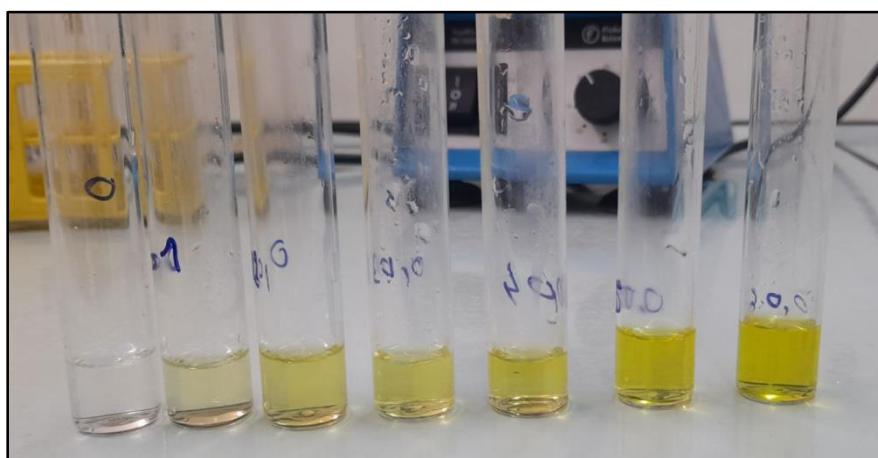


Figure24 : La cinétique de dégradation des couleurs dans le dosage des flavonoïdes

2. Étude et évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de *Silybum marianum*

L'activité antibactérienne de l'extrait de *Silybum marianum* a été testé vis à vis des souches microbiennes. Cette étude a été réalisée par la technique de diffusion sur gélose.

2.1 Méthode de diffusion sur milieu gélosé (Aromatogramme)

Cette technique consiste à imprégner des disques de papier stériles (6 mm de diamètre) avec l'extrait filtré à la concentration souhaitée. Les disques sont ensuite placés sur un milieu gélosé approprié (Mueller Hinton), préalablement ensemencé avec une suspension microbienne standardisée (1×10^8 UFC/ml, équivalant à la turbidité McFarland 0.5). Selon les protocoles, l'imprégnation des disques peut se faire avant ou après l'inoculation. Les boîtes sont ensuite incubées (24 heures à 37°C pour les bactéries, 48 heures à 25°C pour les champignons). Après incubation, le diamètre des zones d'inhibition (définies par une réduction de 80 % de la croissance microbienne) est mesuré avec précision au millimètre (Das *et al.*, 2010).

2.2 Préparation des disques

Le papier Whatman n°1 est utilisé pour la préparation de nos disques de 6 mm de diamètre(Figure25). Une fois préparés les disques sont placés dans un flacon en verre, puis autoclavés à une température de 120°C pendant 20 min pour éviter tous types de contamination.



Figure 25: Préparation des disques.

2.3 Préparation de Milieu de culture

Nous avons utilisé le milieu Mueller-Hinton, une gélose riche composée d'infusion de viande de bœuf, d'hydrolysat acide de caséine et d'amidon de maïs, pour la culture des bactéries. La gélose est portée à ébullition dans un bain-marie jusqu'à dissolution complète. Elle est ensuite coulée dans des boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm, puis pré-séchée avant utilisation(Figure26).



Figure 26: Préparation de Milieu de culture.

2.4 Préparation de l'inoculum

À partir d'une culture jeune (18 à 24 h) et pure sur un milieu d'isolement, on a raclé, à l'aide d'une pipette Pasteur stérile 3 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques. Ensuite on a déchargé la pipette Pasteur dans 5 ml d'eau physiologique stérile.

2.5 Préparation de différentes concentrations de l'extrait

L'extrait de la plante obtenu a été dissout dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO), afin de préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives(Figure27), sachant que la concentration de la solution mère de l'extrait est de 100 mg/ml.



Figure 27: Préparation des dilutions.

2.6 Ensemencement et dépôt des disques

Après préparation du milieu de culture, on effectue l'ensemencement sous forme de bandes étroites à l'aide d'un écouvillon gélifié trempé dans la suspension(Figure28). Le processus a été répété 3 fois, en tournant la boîte de pétri d'un angle de 60° à chaque fois. Les disques imprégnés des extraits sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile. De même les disques imprégnés de DMSO (témoin négatif) et de l'antibiotique (témoin positif) ont été déposés.



Figure 28 : Ensemencement.

2.7 La conservation des boîtes de pétri

Toutes les boîtes ont été laissées pendant 15 min à température ambiante pour permettre la diffusion des extraits, puis incubées à 37 °C pendant 24 heures.

2.8 Expression des résultats

La lecture se fait par la mesure du diamètre d'inhibition en millimètre, dont les résultats sont exprimés d'après (**Poncé et al., 2003**), selon quatre niveaux d'activité :

- Non sensible ou résistant (-) pour les diamètres inférieurs à 8 mm.
- Sensible (+) pour les diamètres compris entre 9 et 14 mm.
- Très sensible (++) pour diamètres compris entre 15 et 19 mm.
- Extremement sensible (+++) pour les diamètres supérieurs à 20 mm.

3. Expérimentation animale

3.1 Protocole expérimental

3.1.1 Préparation de l'infusion

Une quantité de 100 ml d'eau bouillante a été utilisée pour chaque dose et versée sur des graines moulues de *Silybum marianum* (2,5 g et 10 g). Cette préparation a été laissée à infuser pendant 10 à 15 minutes, puis refroidie et filtrée. L'infusion obtenue a été administrée quotidiennement aux rats par gavage. Le CCl4 a été injecté aux rats par voie intrapéritonéale à une dose de 2 ml/kg(Figure29).

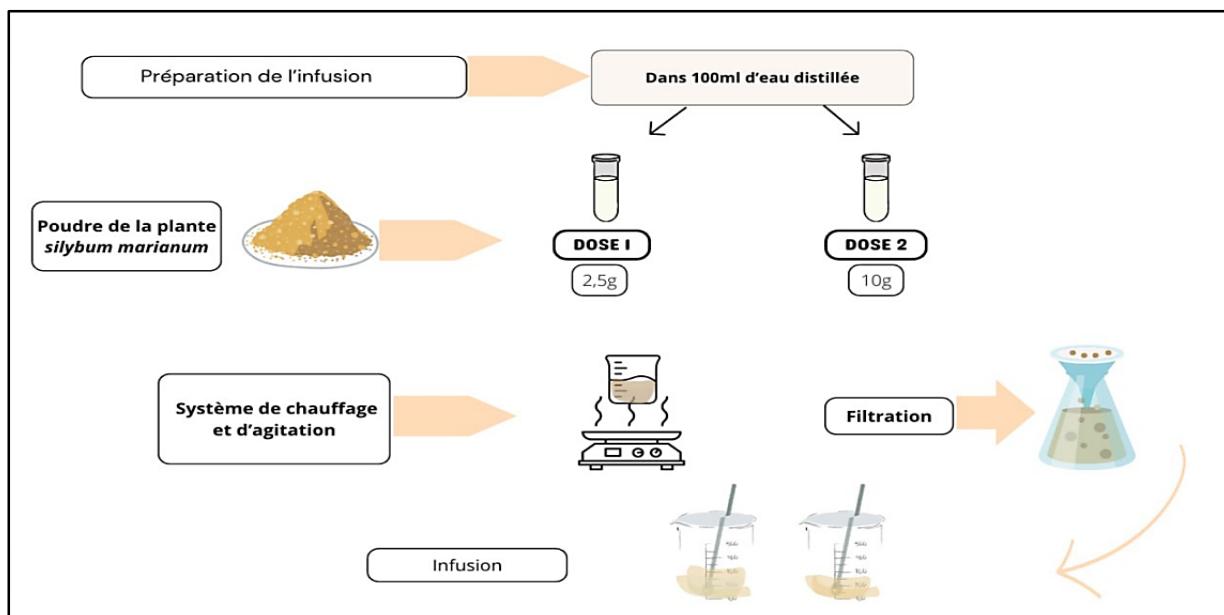


Figure29 : Méthode de préparation de l'infusion.

3.1.2 Etude de la toxicité aigüe de *Silybum marianum*

Après avoir soumis les animaux à jeun pendant 24 heures, les différentes solutions sont administrées par voie orale, au volume de 1 ml. La dose administrée est exprimée en mg/kg de poids corporel. L'administration du produit est réalisée par gavage à l'aide d'une sonde rigide. Pour ce test, des lots de rats reçoivent per os des doses croissantes du produit à tester. Cette procédure permet de déterminer la plus forte des faibles doses qui donne 0% de mortalité et la plus faible des fortes doses qui donne 100 % de mortalité. Après l'administration de l'extrait aux doses respectives de 2.5, 5, 10 et 15 g/Kg (l'eau distillée pour le lot témoin), les animaux sont observés toutes les 30 minutes pendant 8 heures le premier jour et tous les jours de la recherche d'éventuels signes de toxicité retardée, Ils ont aussi pesés pour suivre l'évolution de leur poids. Pendant cette période d'observation, on note le nombre de morts ainsi que les troubles symptomatiques.

3.1.3 Evaluation de l'activité hépatoprotectrice

Le protocole suivi pour évaluer l'hépatoprotection est basé sur la méthode décrite par Ozturk et al.,(2012).

Quinze rats ont été utilisés dans cette étude et répartis aléatoirement en quatre groupes (3 animaux par groupe). Les groupes ont été organisés comme suit :

- **Groupe témoin** : 4 ml de solution saline.
- **Groupe CCl4** : 4 ml de solution saline + CCl4
- **Groupe infusion 2,5 %** : CCl4 + infusion à 2,5 % de *Silybum marianum*
- **Groupe infusion 10 %** : CCl4 + infusion à 10 % de *Silybum marianum*

Chaque jour, une quantité de 4 ml de solution saline ou d'infusion a été administrée aux rats par voie orale (gavage) (Figure30). Le traitement par infusion a été poursuivi pendant une période de 5 jours consécutif.



Figure30 : Administration orale par gavage.

Deux heures après les traitements par infusion, une solution à 50 % de CCl4 (2 ml/kg de poids corporel) a été administrée par voie intrapéritonéale les jours 2 et 3(Figure31).



Figure31 : L'injection intrapéritonéale du CCl4.

3.1.4 Sacrifice des rats et prélèvements des organes

Le sixième jour était réservé à la dissection et au prélèvement d'échantillons(Figure32). Les rats ont été décapités sous anesthésie au chloroforme. Le sang a été collecté à partir de l'aorte abdominale dans des tubes héparinés. Ce sang a été centrifugé à 3000 tours/minute pendant 10 minutes. Puis le sérum a été récupéré et stocké au congélateur à -20°C jusqu'à l'analyse des paramètres biochimiques. Après la dissection, les échantillons de foie ont été prélevés, puis lavés avec de l'eau physiologique et pesés. Les foies ainsi obtenus ont été immédiatement plongés dans le formol (10%) pour la confection des coupes histologiques.



Figure32 : Prélèvement du sang et des organes.

3.1.5 Examen microscopique des coupes histologiques

Les coupes histologiques ont été réalisées au Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT) de Constantine. La technique comporte les étapes suivantes :

Déshydratation des échantillons : Les fragments d'organes fixés précédemment sont placés dans des cassettes. Ces dernières sont immergées dans des bains d'alcool à concentration croissante(Figure33).



Figure33 : Déshydratation des échantillons.

Inclusion des échantillons : L'inclusion consiste à immerger les échantillons dans la paraffine liquide à l'aide d'un appareil chauffant(Figure34), puis à les solidifier sur une plaque réfrigérée. Après refroidissement de la paraffine, les échantillons sont démoulés des cassettes.

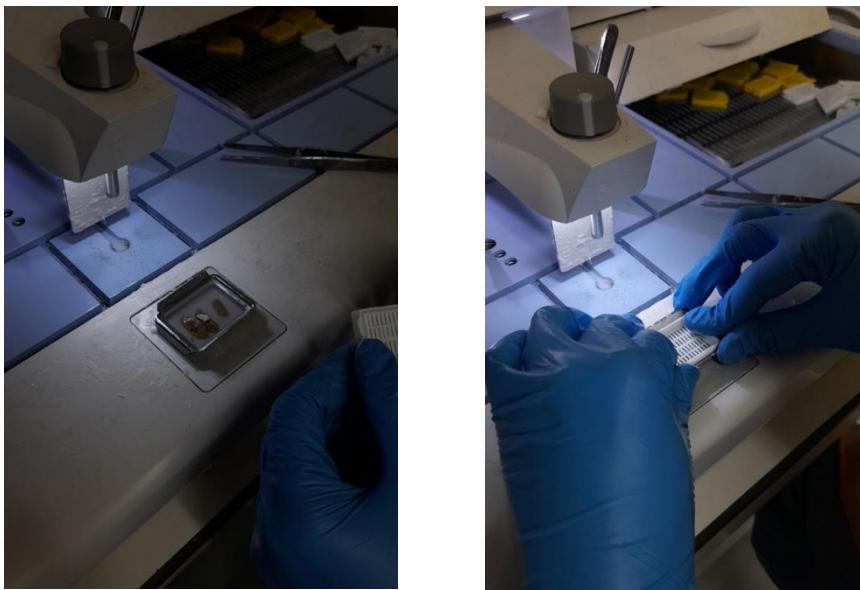


Figure34 : Inclusion des échantillons.

Coupe au microtome : Les blocs de paraffine obtenus sont d'abord dégrossis manuellement, puis coupés à l'aide d'un microtome en coupes fine sections de $4\mu\text{m}$ d'épaisseur(Figure35). Enfin, les coupes sont recueillies sur des lames de verre.



Figure35 : Coupe au microtome.

Fixation de la coupe sur la lame : Sur une plaque chauffante maintenue à une température de 50°C , on place une lame sur laquelle on dispose une solution d'eau distillée albuminée à 1% en veillant à faire un dôme d'eau sur la lame pour éviter les bulles d'air. L'eau albuminé permet à la coupe de bien glisser sur la lame, on dépose alors la coupe histologique sur la lame(Figure36).



Figure36 : Fixation de la coupe sur la lame.

Coloration : Les lames sont immergées dans un bain d'hématoxyline pendant 5 min, puis rincées à l'eau. Elles sont ensuite trempées dans un autre bain d'éosine pendant 3 min puis lavées à l'eau distillée. La première coloration permet de colorer les noyaux en bleu-violet alors que la seconde colore le cytoplasme en rose. Deux autres bains successifs d'alcool à 95% et 100%, pendant 1 min chacun, permettent d'enlever les résidus de colorant restants sur les lames.

Montage et lecture des lames :

Les lames sont ensuite montées à l'aide d'un milieu de montage et recouvertes d'une lamelle.

Observation au microscope :

Les préparations sont observées au microscope optique pour l'analyse histologique(Figure37).



Figure37 : Coloration et observation au microscope.

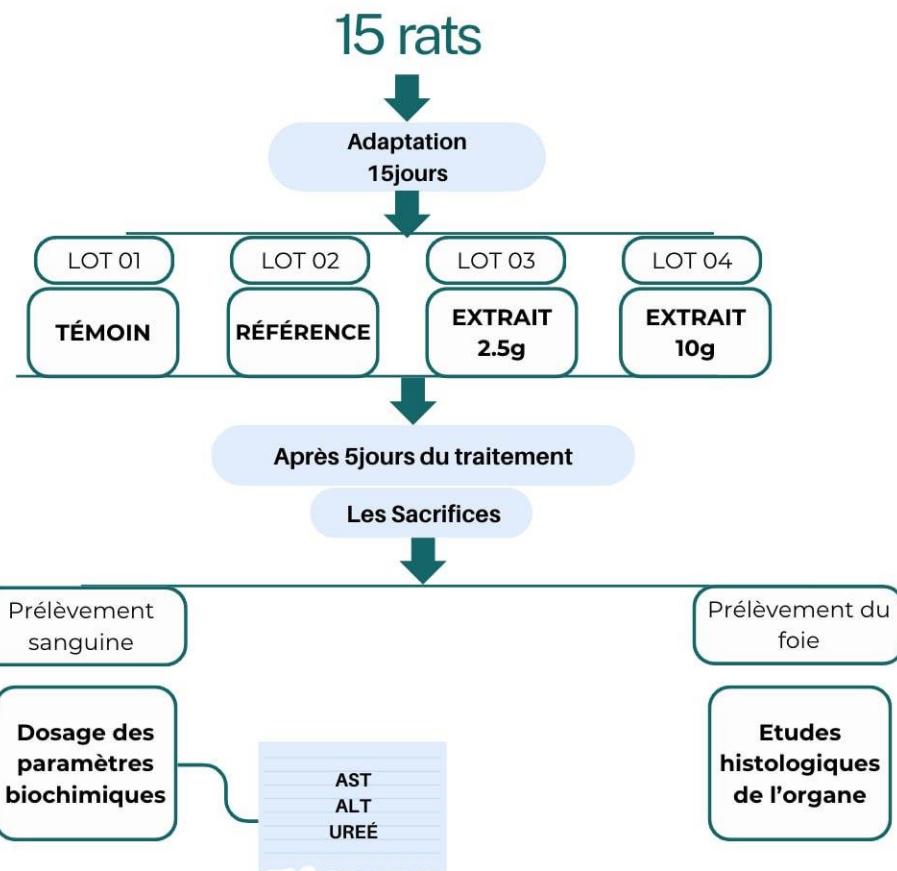


Figure38 : Schéma des étapes du protocole expérimental.

Chapitre II : Résultats et Discussion

1. Le rendement de l'extraction

Le tableau ci-dessous (Tableau03) présente le rendement de l'extrait hydro-méthanolique de *Silybum marianum* obtenu par macération des graines, et calculé selon la formule indiquée dans la partie "Matériel et Méthodes".

Tableau03 : rendement de l'extrait hydro-méthanolique de *Silybum marianum*.

Chardon marie $Silybum marianum$ 		
poids en gramme la matière végétale initiale	poids en gramme de l'extrait sec	Rendement en %
100 g	7.20 g	7.20%

Tableau04 : comparaison entre le rendement de l'extrait obtenu et les valeurs de référence.

	L'extrait de <i>Silybum marianum</i>	Les valeurs de référence
Rendement(%)	7.20%	De 5% à 15%

La différence de rendement dépendent de plusieurs facteurs, notamment les variations de la concentration en composés bioactifs, qui sont influencées par le stade de développement de la plante ainsi que par les conditions environnementales. Certaines parties peuvent contenir une quantité plus importante de ces composés que d'autres. Par ailleurs, l'efficacité de l'extraction peut varier selon la méthode utilisée et le solvant choisi, ceux-ci pouvant être plus appropriés à une partie spécifique de la plante en raison de sa composition chimique et de ses propriétés physiques(Iraqi *et al.*, 2025).

Dans une démarche de valorisation de notre travail, une comparaison des rendements obtenus au cours de notre étude avec ceux rapportés par **Jahan *et al.*, (2016)** et **Benchaachoua *et al.*, (2018)** est éclairante. Ces études ont démontré que les moyennes de rendement d'extraction les plus élevées provenaient des extraits méthanolique (23,24 %), le méthanol pur atteignant un maximum de 11,2 %. Cependant, il est important de noter que la comparabilité des rendements d'extraction entre différentes études est souvent difficile. Le rendement est

intrinsèquement relatif et varie considérablement en fonction des conditions expérimentales et des méthodes d'extraction utilisées.

2. Analyses quantitatives des extraits des graines

2.1 Dosage des composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques obtenus à partir de l'extrait brut de notre plante a été estimée grâce à une courbe d'étalonnage, réalisée avec un extrait de référence (l'acide gallique). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg EAG/g MS) (Figure39).

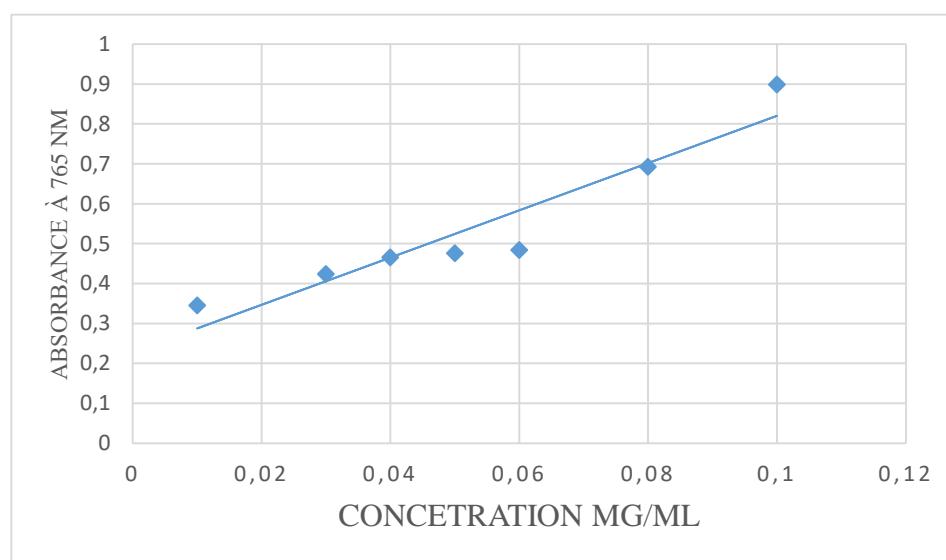


Figure39 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux révèlent que l'extrait hydrométhanolique est riche en composés phénoliques (5,35 mg EAG / g d'extrait).

Toutefois, dans leur étude sur le *Silybum marianum* d'Irak, Eldalawy *et al.* ont observé que les graines contenaient la plus grande concentration de composés phénoliques par rapport aux autres parties de la plante.

Les travaux menés par **Guemari *et al.* (2020)** sur les différentes parties de *Silybum marianum* provenant d'Algérie ont montré que les graines présentaient la teneur en composés phénoliques la plus élevée, atteignant $9,05 \pm 0,04$ mg EAG/g de matière sèche. Ce résultat indique que les graines constituent une source notable de composés antioxydants phénoliques, bien que cette teneur soit inférieure à celle rapportée dans d'autres études, notamment celles portant sur des spécimens issus d'autres régions (comme l'Irak), ce qui pourrait s'expliquer par des différences écologiques, climatiques ou méthodologiques. Ces différences notables

reviennent également à la complexité de ces composés, le type et la concentration du solvant, la méthode d'extraction, la différence de la période et la région de récolte.

2.2 Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3), en utilisant la Quercétine comme étalon. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS) (Figure40).

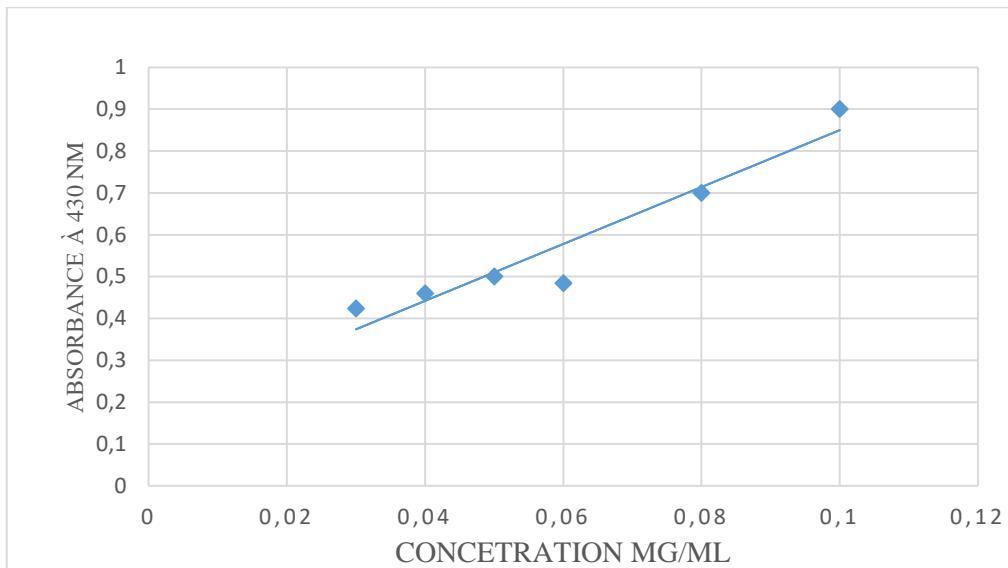


Figure40 : Droite d'étalonnage de la Quercétine.

Les résultats du dosage des flavonoïdes révèlent que l'extrait hydrométhanolique est riche en flavonoïdes (3,45 mg EQ/g d'extrait), exprimés en équivalent quercétine.

Les résultats du dosage révèlent que l'extrait hydro-méthanolique est riche en flavonoides, ce qui est cohérent avec les propriétés reconnues du méthanol pour extraire efficacement les composés phénoliques. Cette richesse en flavonoïdes suggère un fort potentiel antioxydant.

L'évaluation des substances bioactives de *Silybum marianum* par Akbel et Bulduk, (2022), Maaloul et *al.*, (2024) et Ahmed et *al.*, (1989), a collectivement révélé la richesse de cette plante en composés phénoliques et en activités antioxydantes.

3. Évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait de *Silybum marianum*

Méthode de diffusion (Antibiogramme)

Les observations effectuées sur les effets de l'extrait de *silybum marianum* sur la croissance des souches bactériennes testées : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *E.coli* et *Bacillus Spizizenii*. Sont représentées dans le tableau 05.

Tableau 05: Activité antibactérienne de l'extrait de *Silybum marianum* selon les concentrations testées sur différentes souches bactériennes.

		Extrait dose 1		Extrait dose 2		Extrait dose 3		Extrait dose 4	
		Ø mm	Grade						
Bactéries	<i>Bacillus Spizizenii</i>	12 ±0,1	+	11 ±0,1	+	/	-	/	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>	24 ±0,1	+++	19 ±0,1	++	18 ±0,1	++	14 ±0,1	+
Gram Positif	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	/	-	/	-	/	-	/	-
	<i>E.coli</i>	/	-	/	-	/	-	/	-
Bactéries Gram Négatif	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	/	-	/	-	/	-	/	-
	<i>E.coli</i>	/	-	/	-	/	-	/	-

(**Extrait dose1** :100 mg/ml ; **Extrait dose2** : 50 mg/ml ; **Extrait dose3** :25 mg/ml ; **Extrait dose4** :12,5 mg/ml).

Selon la méthode proposée par **Poncé et al., (2003)** une absence de sensibilité ou résistance (-) pour des diamètres inférieurs à 8 mm ; une sensibilité (+) pour des diamètres allant de 9 à 14 mm ; une très forte sensibilité (++) pour des diamètres compris entre 15 et 19 mm ; et une sensibilité extrême (+++) lorsque le diamètre dépasse 20 mm.

Les résultats présentés dans le tableau mettent en évidence l'activité antibactérienne de l'extrait de *Silybum marianum* sur différentes souches, testée à diverses concentrations.

Chez les bactéries Gram positives, *Bacillus spizizenii* a révélé une zone d'inhibition de 12 mm, indiquant une sensibilité modérée à faible concentration. En revanche, *Staphylococcus aureus* a montré des zones d'inhibition variant de 14 mm à 24 mm, avec des grades de sensibilité allant de + à ++. Cela suggère que *Staphylococcus aureus* est très sensible à l'extrait,

particulièrement à la concentration la plus élevée (100 mg/ml), ce qui en fait une cible potentielle pour des traitements basés sur *Silybum marianum*.

Ces observations confirment les données de la littérature, la silybine contenue dans l'extrait possède une activité antimicrobienne marquée contre les bactéries à Gram positif (**Lee et al., 2003**), tandis que la silymarine s'est révélée très active contre toutes les souches Gram positives testées (**Hanna et al., 2008**).

En ce qui concerne les bactéries Gram négatives, aucune inhibition n'a été observée pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, indiquant une résistance totale à l'extrait, même à des concentrations élevées ce qui s'accorde avec la littérature soulignant souvent la moindre sensibilité des bactéries Gram négatif en raison de la structure plus complexe de leur membrane externe, qui limite la pénétration des constituants actifs (**Abed et al., 2015**).

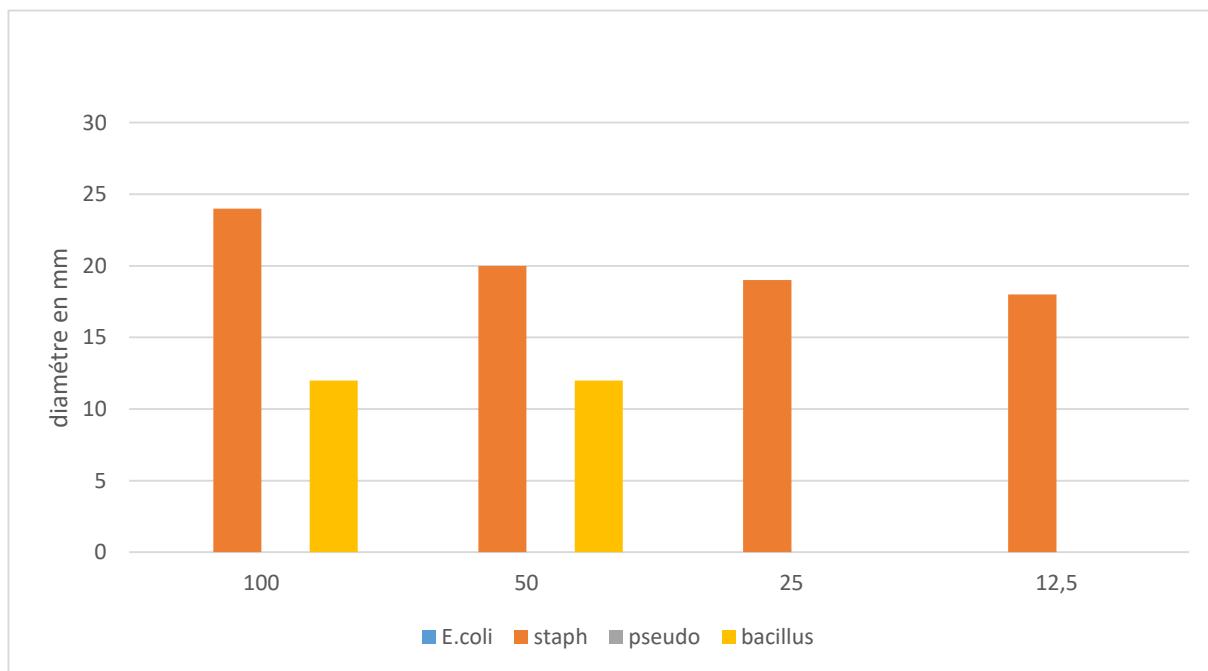


Figure 41: Variation du diamètre des zones d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait de *Silybum marianum*.

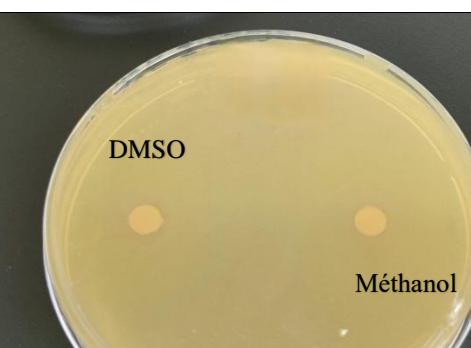
<p>ANTIBIOTIQUE (témoin positif)</p>	 A Petri dish containing a yellow agar medium. A circular disc has been placed on the agar, creating a distinct zone of clear or less dense agar around it, indicating bacterial growth inhibition.
<p>DMSO +Méthanol (témoin négatif)</p>	 A Petri dish containing a yellow agar medium. Two circular discs have been placed on the agar, one labeled "DMSO" and the other labeled "Méthanol". Both discs are surrounded by a uniform, dense yellow agar, indicating no significant bacterial growth inhibition.

Figure 42 : Contrôle positif et négatif dans un test d'activité antimicrobienne.

Dans le témoin positif, on s'attend à observer une inhibition de la croissance bactérienne, ce qui indiquerait l'efficacité de l'antibiotique par une zone d'inhibition claire. L'antibiotique que nous avons utilisé est **AMOCLAN BID 875 mg/125 mg**, avec une concentration appropriée selon l'équation suivante :

$$\text{Volume (ml)} = \frac{\text{Masse de l'antibiotique (mg)}}{\text{Concentration souhaitée (mg/ml)}}$$

En revanche, Le solvant utilisé pour la préparation des solutions composées (DMSO) ne montre aucune inhibition contre les bactéries testées (en tant que témoin négatif).

L’usage excessif d’antibiotiques conduit fréquemment à l’émergence de souches résistantes de microorganismes. En raison de la résistance aux agents antibactériens, il devient crucial de lutter contre les effets néfastes de ces micro-organismes. C’est pourquoi l’extrait des graines de chardon-Marie a été évalué contre diverses bactéries (**S. M. Ali *et al.*, 2020**).

Cependant, dans notre étude, l'extrait de *S. marianum* n'a pas montré d'action significative contre *Bacillus Spizizenii* aux faibles concentrations testées. Cette divergence pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs, tels que la concentration de silibine dans l'extrait, la méthode d'extraction, ou encore la sensibilité des souches bactériennes utilisées. La charge du disque influe l'activité antimicrobienne, **Rasooli et ses collaborateurs, (2008)** ont remarqué que l'inhibition de la croissance est forte lorsque le disque est plus chargé. En dépit de ces résultats, la littérature suggère que la silibine pourrait avoir un potentiel antimicrobien sous certaines conditions, et cette activité pourrait être modulée par la composition globale de l'extrait, qui inclut une variété de composés qui pourraient agir en synergie ou, dans notre cas, limiter l'effet antibactérien observé (**Cruz-Carrillo et al., 2010**).

Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram (+) par rapport aux Gram (-) (**Turkmen et al., 2007** ; **Falleh et al., 2008**), Ceci peut aussi s'attribuer à la différence dans les couches externes des bactéries Gram (-) et Gram (+). Les flavonoïdes extraits des graines de *S. marianum* possèdent un potentiel antimicrobien, mais leur efficacité varie selon les types de bactéries. Des études supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre leurs mécanismes d'action (**Abed et al., 2015**).

L'extrait de graines de chardon-Marie présente des teneurs élevées en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes totaux. En tant qu'antioxydants naturels, ces composés offrent un large éventail d'effets pharmacologiques, notamment des activités antibactériennes.

Bien que les extraits de chardon-Marie soient riches en composés phénoliques, leur activité antibactérienne semble limitée, suggérant que leurs effets antioxydants sont probablement plus marqués que leurs propriétés antibactériennes (**Iraqi et al., 2025**).

4. Evaluation de la toxicité de l'extrait de notre plante

Le comportement des rats des lots témoin (T-) et traité (SM) a été suivi pendant 5 jours (tableau 06).

Tableau 06 : Comportement des rats pendant 5 jours de suivi.

	Lots témoin (T-)	Lots traité(SM)
Augmentation et réduction de l'activité	-	-
diarrhée	-	-
Salivation	-	-
Convulsion	-	-
Coma	-	-
Mort	-	-

Le tableau présente les effets de l'extrait testé de *Silybum marianum* (SM) sur le comportement des rats sur une période de cinq jours, en comparaison avec un groupe témoin (T-). Aucune modification comportementale ni symptôme physique n'a été observé chez les rats traités, ce qui suggère l'absence d'effet toxique à court terme.

L'évaluation toxicologique indique qu'aucun signe majeur de toxicité n'a été détecté chez les rats mâles après administration orale de l'extrait, en comparaison avec les animaux témoins. Ces résultats confirment que l'extrait de *Silybum marianum* est bien toléré à la dose administrée, sans effets secondaires apparents durant les cinq jours d'observation.

Aucune mortalité ni altération du comportement général n'ont été enregistrées au cours de la période d'essai. L'extrait, issu d'une plante de la famille des Astéracées, s'est ainsi révélé non toxique dans les conditions expérimentales appliquées.

Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés par Eminzade et *al.* (2008), Doehmer et *al.* (2011) et Shaker et *al.* (2010), qui ont montré qu'une administration conforme aux doses thérapeutiques recommandées ne présente aucun danger pour la santé ni effet indésirable notable.

5. Evaluation de l'activité hépatoprotectrice

5.1 Effets des traitements sur la variation du poids corporel

Au cours de la période d'expérimentation, Les rats mâles traités (SM) et les témoins (T) ont été pesés le premier, et le dernier jour (5ème jour) du test pour déterminer l'effet de l'extrait. Les résultats sont présentés au niveau du graphique suivant (Figure 43).



Figure 43 : Variation du poids corporel (g) chez les rats de différents groupes de traitement.

D'après les résultats de la présente étude, le traitement des rats par la plante *Silybum marianum* a entraîné une réduction du poids vif des rats, cette perte de poids dans les groupes traités (G3 et G4) par rapport au témoin (T-) suggère que l'extrait influence le métabolisme ou l'appétit des rats.

Des études antérieures ont montré des résultats intéressants sur le potentiel de la silymarine dans la prévention et le traitement des comorbidités associées à l'obésité, ainsi qu'une diminution du poids corporel et de l'indice de masse corporelle chez des souris obèses après 4 semaines de supplémentation avec une formulation nutraceutique à base de silymarine (**Nehmi et al., 2021**).

Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés par **Nehmi-Filho et al. (2024)**. Une étude clinique menée par notre groupe a montré qu'une supplémentation de 180 jours en silymarine, associée à un composé nutraceutique, permettait de réduire significativement plusieurs mesures anthropométriques chez des volontaires en surpoids ($IMC \leq 34,9 \text{ kg/m}^2$), notamment le tour de taille ainsi que les rapports taille, hauteur et hanches.

5.2 Effet de l'extrait sur les paramètres biochimiques

Les effets du *Silybum marianum* (SM) sur les niveaux plasmatiques d'AST, d'ALT et d'urée ont été examinés après un traitement de 5 jours avec CCl₄ et SM chez des rats. Les métabolites du sérum sanguin analysés sont présentés dans le tableau 07 :

Tableau 07 : Effets du *Silybum marianum* sur les Niveaux Plasmatiques d'AST, d'ALT et d'urée chez les rats intoxiqués au CCl₄.

	Témoin	Référence	Groupe 3	Groupe 4
AST	74±7	250±6	232±11	166±13
ALT	45,66±4	65±3	144±5	58±2
Urée	0,94±0,02	1,05±0,03	1,07±0,01	1,03±0,04

Comme l'indique le tableau, l'administration de CCl₄ a induit une élévation significative des taux d'AST et d'ALT par rapport au groupe témoin, témoignant d'une atteinte hépatique. Suite au traitement avec l'extrait de *Silybum marianum*, une tendance à la diminution de ces enzymes a été observée. Toutefois, seule la réduction du taux d'AST dans le groupe 3 (232 ± 11 U/L) par rapport au groupe de référence (250 ± 6 U/L) s'est révélée statistiquement significative ($p < 0,05$). Cette diminution semble dose-dépendante, puisque la concentration la plus faible de l'extrait a entraîné une valeur plus élevée, confirmant l'influence de la dose administrée ($p < 0,05$).

Concernant les paramètres rénaux, le CCl₄ n'a pas provoqué de modifications notables : les niveaux d'urée ainsi que ceux d'ALT, bien qu'en légère baisse après traitement, n'ont pas atteint de seuil de signification statistique.

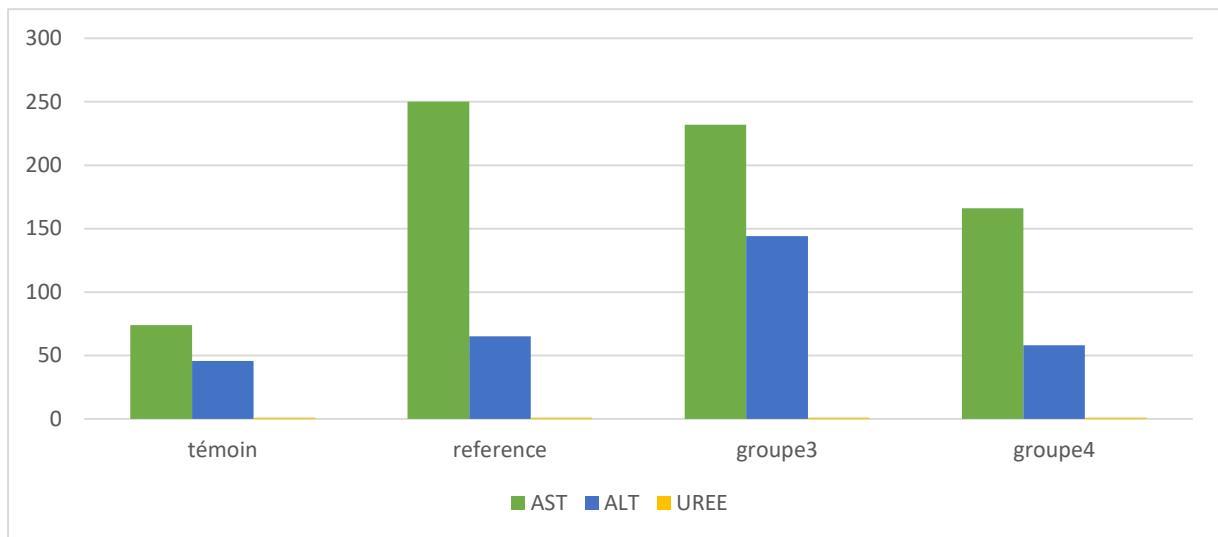


Figure 44 : Variation des activités enzymatiques de l'aspartate aminotransférase (AST) et de l'alanine aminotransférase (ALT) et urée chez les lots expérimentaux.

• **Groupe témoin**

Les valeurs normales ou faibles d'AST et d'ALT indiquent que le foie est en bonne santé.

L'UREE est également dans la norme, sans signe de dysfonction rénale ou métabolique.

• **Groupe de référence (traité au CCl₄ sans traitement protecteur)**

- AST = **250 U/L** : Très élevé par rapport au témoin, signe d'une destruction cellulaire hépatique.
- ALT = **65 U/L** : Également élevé, confirmant une lésion hépatique.

La réaction du foie au CCl₄ est caractérisée par une augmentation significative des transaminases, témoignant d'une néo-vascularisation ou d'une hémorragie intracellulaire.

• **Groupe 3 (traité avec extrait 2,5g après CCl₄)**

- AST = **232 U/L** : Toujours élevé, proche de celui du groupe de référence, suggérant une efficacité limitée ou une dose insuffisante.
- ALT = **144 U/L** : Très élevé, indiquant une aggravation ou une inefficacité complète du traitement.

L'efficacité hépatoprotectrice de l'extrait dans ce groupe est faible, ou peut-être que la dose administrée n'était pas optimale.

• **Groupe 4 (traité avec extrait à une dose 10g)**

- AST = **166 U/L** : Réduction notable par rapport au groupe de référence, indiquant une atténuation des lésions.
- ALT = **58 U/L** : Légère diminution, ce qui suggère une protection partielle ou une réparation des cellules hépatiques endommagées.

• UREE

Les valeurs de l'urée restent relativement normales dans tous les groupes, indiquant que le traitement n'a pas significativement affecté la fonction rénale ou que la surcharge de toxines n'a pas altéré cette fonction.

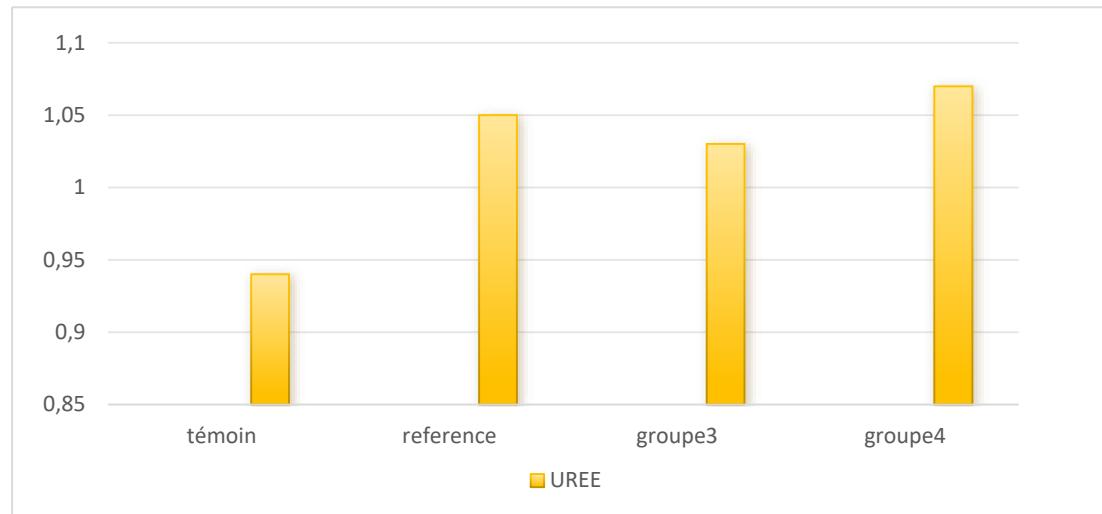


Figure 45 : Effets du *Silybum marianum* sur les paramètres biochimiques hépatiques et rénales chez des rats traités avec CCl4 .

Le tétrachlorure de carbone est un produit chimique de formule CCl4, utilisé pour induire un modèle de cirrhose hépatique pour la recherche scientifique (Gutiérrez et Solís, 2009).

En comparant nos résultats avec ceux rapportés dans la littérature, il ressort que l'exposition à certaines substances toxiques entraîne une élévation du taux de l'enzyme hépatique ALP, pouvant conduire à une cirrhose hépatique ou à la mort cellulaire (Madani et al., 2008 ; Ramadan et al., 2011 ; Rasool et al., 2014 ; Yousif et al., 2021 ; Kumar et al., 2018). Toutefois, l'administration d'extraits de *Silybum marianum*, seuls ou en combinaison avec d'autres extraits, a significativement réduit les niveaux d'ALP. Cela suggère que les extraits de *S. marianum* exercent un effet hépatoprotecteur contre les lésions des hépatocytes induites par le tétrachlorure de carbone (CCl4).

Les lésions des cellules hépatiques se manifestent par une élévation des enzymes spécifiques du foie, qui sont principalement localisées dans le cytoplasme. Ces enzymes sont libérées dans le sang suite à des dommages cellulaires, témoignant ainsi d'une atteinte hépatique (Sallie et al., 1991).

Les valeurs normales ou faibles d'AST (74 ± 7 U/L) et d'ALT ($45,66 \pm 4$ U/L) indiquent un foie sain sans endémie de lésion cellulaire. L'urée ($0,94 \pm 0,02$ g/L) dans cette groupe se situe dans la norme, témoignant d'une fonction rénale préservée (Sallie et al., 1991).

Les valeurs d'AST (250 ± 6 U/L) et d'ALT (65 ± 3 U/L) sont fortement élevées, ce qui indique un déchaînement de l'atteinte hépatique par la toxicité du CCl₄ donc la libération accrue des enzymes hépatocytaires dans le sang confirme la destruction des cellules hépatiques, comme décrit par (Sun, 2000).

La réduction relative d'AST (232 ± 11 U/L) et la valeur accrue d'ALT (144 ± 5 U/L) par rapport au groupe de référence témoignent d'une efficacité hépatoprotectrice limitée ou conditionnée par la dose. La persistance de valeurs élevées d'enzymes peut indiquer une réparation partielle ou une protection insuffisante contre l'agression toxique dans cette condition (Sallie *et al.*, 1991).

Une baisse significative des valeurs d'AST (166 ± 13 U/L) et d'ALT (58 ± 2 U/L) par rapport au groupe de référence témoigne d'un effet protecteur notable de l'extrait à cette concentration. Confirme également l'amélioration de la fonction hépatique et rénale dans ce groupe, indiquant que *Silybum marianum* possède un potentiel hépatoprotecteur en atténuant les lésions induites par le CCl₄. Ces résultats sont en accord avec ceux de Zafar et Mujahid Ali (1998), qui ont aussi rapporté des effets protecteurs des extraits à base de plantes.

La diminution significative des enzymes hépatiques (AST, ALT) dans le groupe traité avec une dose plus élevée de *Silybum marianum* suggère un effet hépatoprotecteur, limitant la nécrose cellulaire induite par le CCl₄. La stabilité de l'urée dans tous les groupes indique que les traitements n'ont pas compromis la fonction rénale. Ces résultats confirment le rôle potentiel des extraits polyphénoliques dans la protection contre les lésions hépatiques induites par des toxiques (Sun, 2000).

Selon Post-White *et al.* (2007), le chardon-Marie a été principalement étudié pour traiter des affections hépatiques comme l'hépatite, la cirrhose et les troubles biliaires, avec des résultats variables en raison de la diversité des produits et dosages utilisés (120 à 560 mg/j). Une grande étude observationnelle menée sur 2 637 patients atteints de maladie hépatique chronique a montré qu'un traitement de 8 semaines à la silymarine (560 mg/j) réduisait le taux d'AST sérique. De plus, chez 50 enfants atteints de leucémie aiguë lymphoblastique et présentant une hépatotoxicité liée à la chimiothérapie, le chardon-Marie (5,1 mg/kg/j) a entraîné une baisse significative de l'AST après 56 jours.

Les 5 études de (Madani *et al.*, 2008; Ramdan *et al.*, 2011; Rasool *et al.*, 2014; Post-White *et al.*, 2007; Torres *et al.*, 2004), ont montré que lors de l'administration de CCl₄, une augmentation du niveau d'enzyme hépatique AST a été observée, et cette augmentation s'explique par des dommages aux cellules hépatiques, mais lors d'un traitement avec du chardon-Marie, le niveau d'enzyme hépatique AST a diminué par rapport aux groupes

non traités, et cela indique que *S.marianum* a des effets protecteurs contre les lésions aux hépatocytes induites par le thioacétamide et le CCl4.

(Amad *et al.*, 2002) confirment que la silymarine empêche le métabolisme de composés toxiques tels que le tétrachlorure.

6. Etude histologique

6.1 Impact sur l'histoarchitecture hépatique

Un examen histologique des foies prélevés sur tous les lots a été réalisé afin de confirmer l'effet toxique du CCl4 et le pouvoir détoxifiant des extraits de *Silybum marianum*.

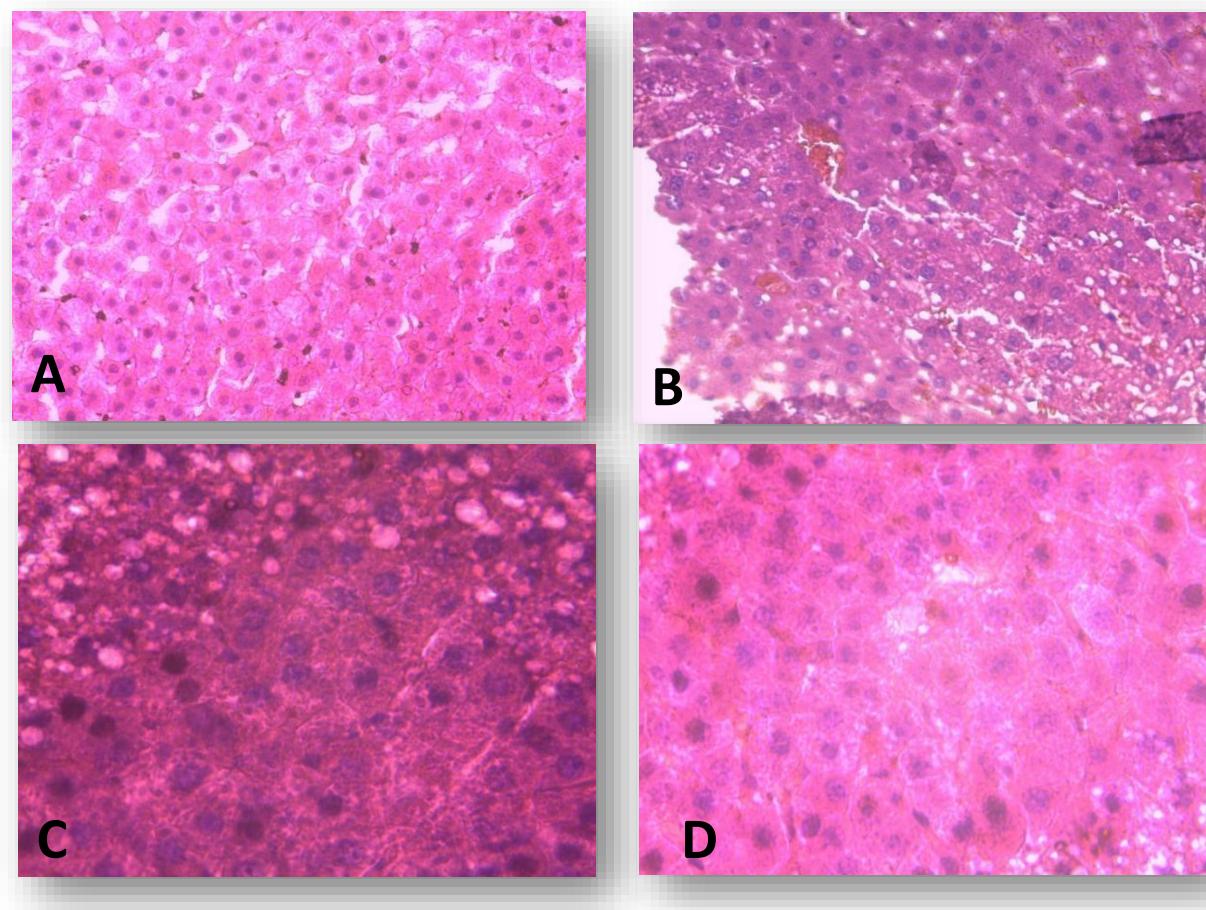


Figure 46 : Observation microscopique des hépatocytes chez les rats , (A) Groupe témoin : cellules hépatiques de rats normaux. (B) Groupe CCl₄ : cellules hépatiques de rats intoxiqués au CCl₄. (C) Groupe infusion à 2,5 % : cellules hépatiques de rats traités avec une infusion à 2,5 % de *Silybum marianum* en plus du CCl₄. (D) Groupe infusion à 10 %: cellules hépatiques de rats traités avec une infusion à 10 % de *Silybum marianum* en plus du CCl₄, (grossissement ×40).

L'observation microscopique des coupes histologiques du foie des rats du groupe témoin (A) montre une structure normale. Le tissu hépatique présente une architecture typique de

lobules hépatatiques hexagonaux, avec une veine centrale entourée de sinusoïdes et de travées d'hépatocytes réguliers (Figure .A). Ces hépatocytes ont une organisation homogène, sans signe de vacuolisation, de dégénérescence ou d'autres altérations, ce qui indique un foie en bonne santé.

Dans le groupe de référence (traité au CCl₄, figure B), une destruction progressive de l'architecture hépatique est observée. Les tissus montrent une vacuolisation importante des hépatocytes, avec une présence notable de débris cellulaires, ainsi qu'un délabrement structural avec perte de l'organisation lamellaire habituelle (Figure. B). Ces modifications traduisent des dommages hépatocytaires sévères, confirmant la toxicité aiguë du CCl₄.

Chez les rats du groupe C (traités avec la dose faible de *Silybum marianum*, 2,5 mg), l'observation révèle une organisation tissulaire partiellement préservée. La vacuolisation des hépatocytes est présente mais moins marquée qu'au sein du groupe référent, et l'architecture hépatique révèle une certaine régénération ou protection partielle contre le dégât (Figure.C). Les hépatocytes montrent moins de dégradation, suggérant une activité hépatoprotectrice limitée mais notable du traitement.

Enfin, dans le groupe D (traités avec la dose plus élevée de *Silybum marianum*, 10 mg), une amélioration significative de l'intégrité structurelle est observée. L'architecture hépatique se rapproche de celle du groupe témoin, avec une diminution importante des hépatocytes vacuolisés et une organisation lamellaire presque restaurée (Figure .D). Ces résultats indiquent une capacité de réparation ou de protection accrue à la dose plus élevée de *Silybum marianum*, atténuant efficacement les lésions induites par le CCl₄.

Ces résultats concordent avec de nombreuses études, lesquelles ont montré que la silymarine possède des propriétés hépatoprotectrices, notamment en réduisant la libération d'enzymes hépatiques en cas de lésions induites par des toxiques comme le CCl₄. La capacité de la silymarine à atténuer les dommages cellulaires et à restaurer l'architecture hépatique a été largement documentée, notamment par ses effets antioxydants et anti-inflammatoires. La microscopie histologique confirme que le CCl₄ induit des lésions sévères du foie, tandis que le traitement par *Silybum marianum*, surtout à doses élevées, contribue à une protection significative, illustrée par la restauration de l'architecture hépatique normale et la réduction de la vacuolisation hépatocytaire. Ces effets suggèrent que la silymarine possède un potentiel hépatoprotecteur appréciable, surtout en préventif (**Ozturk et al., 2012**).

L'importance de la silymarine dans la prise en charge des affections hépatiques est en plein développement (**Wellington et al., 2001**).

Une étude de **Suja et al.** a également employé le CCl4 comme agent hépatotoxique et la silymarine comme traitement, selon un modèle expérimental similaire au nôtre (traitement de 5 jours, CCl4 administré les jours 2 et 3). Les résultats obtenus corroborent les nôtres : l'induction de lésions hépatiques par le CCl4 a significativement augmenté les taux sériques d'AST et d'ALT et a induit des modifications histopathologiques telles que la stéatose massive, la nécrose étendue, une infiltration lymphocytaire prononcée et la perte de l'intégrité cellulaire. Le traitement par silymarine a exercé un effet protecteur comparable sur ces marqueurs de lésion.

Lee et al. ont rapporté que l'administration de CCl4 induisait des lésions hépatiques caractérisées par une infiltration lymphocytaire périvasculaire centrale, une dégénérescence graisseuse, une nécrose, une vacuolisation cytoplasmique et une activité mitotique au sein des hépatocytes. Histologiquement, leur étude a démontré que le traitement à la silymarine exerçait un effet préventif contre cette hépatotoxicité induite par le CCl4.

Conclusion

Conclusion

L'investigation pharmacologique des plantes médicinales traditionnelles reste importante pour offrir des bases scientifiques pour l'usage traditionnel des plantes et fournir à la société de nouvelles sources de médicaments sains et efficaces. L'objectif visé par ce travail est l'évaluation qualitative et quantitative des extraits de la plante *Silybum marianum*. Les résultats obtenus nous ont permis de tirer les conclusions suivantes :

L'étude phytochimique et pharmacologique des extraits du *Silybum marianum* nous a permis de conclure que :

- L'analyse a révélé que cette espèce est particulièrement riche en composés phénoliques et en flavonoïdes.
- **L'administration du tétrachlorure de carbone (CCl₄) chez les rats a engendré :**
 - Des lésions hépatiques importantes, confirmées par une augmentation des enzymes hépatiques (ALAT, ASAT...) et par des altérations histologiques.
 - La supplémentation en extrait de *Silybum marianum* a permis une amélioration significative de l'état histologique du foie et une normalisation des paramètres biochimiques hépatiques perturbés.
- Une activité antimicrobienne notable contre *Staphylococcus aureus*, bien que son efficacité reste limitée contre les bactéries Gram négatives.
- Une bonne tolérance de l'extrait, indiquant une faible toxicité à court terme.

Ces résultats confirment que le *Silybum marianum* présente un potentiel thérapeutique important, notamment en tant qu'agent hépatoprotecteur et antimicrobien. L'ensemble de ces effets semble lié à la richesse de la plante en composés phénoliques, et ouvre des perspectives prometteuses pour une utilisation élargie en phytothérapie.

Enfin, ces résultats restent préliminaires et ce travail ouvre de nombreuses perspectives :

- Poursuivre l'analyse phytochimique pour isoler, purifier et caractériser les molécules actives flavonolignanes comme la silymarine responsables des effets observés.
- Tester les extraits sur des lignées cellulaires hépatiques humaines pour confirmer les effets observés chez les rats, et évaluer leur pertinence pour l'homme.
- Étudier l'effet protecteur du chardon-Marie en cas d'exposition combinée à plusieurs toxiques environnementaux ou industriels (plomb, cadmium...).
- Développer des compléments alimentaires ou phytomédicaments à base de silymarine, pour les patients souffrant de maladies hépatiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Abenavoli, L., Izzo, AA, Milić, N., Cicala, C., Santini, A., et Capasso, R. (2018).** Le chardon-Marie (*Silybum marianum*) : un aperçu concis de ses utilisations chimiques, pharmacologiques et nutraceutiques dans les maladies du foie. *Phytother. Res.* 32 (11), 2202–2213. doi:10.1002/ptr.6171.
- **AbouZid, S., Ahmed, O.M., 2013.** Chapter 14 - Silymarin Flavonolignans: Structure–Activity Relationship and Biosynthesis, in: Atta-ur-Rahman (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry*. Elsevier, pp. 469–484. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59603-1.00014-X>.
- **Amad, A., K.K. Pillai, A.K. Najmi and S.N. Pal, 2002.** Evaluation of hepatoprotective potential of jigrine post-treatment against thioacetamide induced hepatic damage. *J. Ethnopharmacol.*, 79: 35-41.
- **(AnonymeA).**<https://www.tela-botanica.org/bdtx-nn-64454-illustrations>(consulté le 18/4/2025).
- **Bahmani, M., Shirzad, H., Rafieian, S., Rafieian-Kopaei, M., 2015.** *Silybum marianum: Beyond Hepatoprotection.* *J Evid Based Complementary Altern Med* 20, 292–301. <https://doi.org/10.1177/2156587215571116>.
- **Bijak, M., 2017.** Silybin, a Major Bioactive Component of Milk Thistle (*Silybum marianum* L. Gaernt.)—Chemistry, Bioavailability, and Metabolism. *Molecules* 22, 1942. <https://doi.org/10.3390/molecules22111942>.
- **Bindseil K.U., Jakupovic J., Wolf D., 2001.** Pure compound libraries; a new
- **Chambers, C.S., Holečková, V., Petrášková, L., Biedermann, D., Valentová, K., Buchta, M., Křen, V., 2017.** The silymarin composition... and why does it matter??? *Food Research International*, SI: PHYTOCHEMICAL PROFILES 100, 339–353. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.017>
- **Charrié. JC ; Chastel. B ; Cieur. C; Combe .P; Damak .M; Hedayat.K; Saigne-soulard .C. (2017).**Plantes médicinales, Phytothérapie clinique intégrative et médecine endobiogénique, ED, Lavoisier Tec & Doc : 256-257-260-261-262,264.
- **Chen, W., Zhao, X., Huang, Z., Luo, S., Zhang, X., Sun, W., Lan, T., He, R., 2024.** Determination of Flavonolignan Compositional Ratios in *Silybum marianum* (Milk Thistle) Extracts Using High-Performance Liquid Chromatography. *Molecules* 29, 2949. <https://doi.org/10.3390/molecules29132949>.
- **Couplan, F. (2012)** Les plantes et leurs noms : Histoires insolites, Quae, 44p.

Références bibliographiques

- **Das, K., Tiwari, R., & Shrivastava, D. (2010).** Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *Journal of medicinal plants research*, 4(2), 104-111.
- **de Oliveira, D.R., Schaffer, L.F., Busanello, A., Barbosa, C.P., Peroza, L.R., de Freitas, C.M., Krum, B.N., Bressan, G.N., Boligon, A.A., Athayde, M.L., de Menezes, I.R.A., Fachinetto, R., 2015.** La silymarine a un potentiel antioxydant et modifie l'activité de la Na⁺/K⁺-ATPase et de la monoamine oxydase *in vitro*. *Industrial Crops and Products* 70, 347–355. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.060>
- **Doehmer, J., Weiss, G., McGregor, G.P., Appel, K., 2011.** Évaluation d'un extrait sec de chardon-Marie (*Silybum marianum*) pour son interférence avec les activités du cytochrome P450 hépatique humain. *Toxicology in Vitro* 25, 21–27. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2010.09.001>.
- **Dubé, P.-A., 2010.** LA SILYMARINE DANS L'INTOXICATION AUX AMATOXINES 26.
- **Eita, A.A.B., 2022.** Chardon-Marie (*Silybum marianum (L.) Gaertn.*) : aperçu de sa pharmacologie et de ses utilisations médicinales, en mettant l'accent sur les maladies bucco-dentaires. *Journal of Oral Biosciences* 64, 71–76. <https://doi.org/10.1016/j.job.2021.12.005>.
- **El-Kot, S.M., Wanas, W., Hafez, A.M., Mahmoud, N.A., Tolba, A.M., Younis, A.H., Sayed, G.E., Abdelwahab, H.E., 2023.** Effect of silymarin on the relative gene expressions of some inflammatory cytokines in the liver of CCl4-intoxicated male rats. *Sci Rep* 13, 15245. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-42250-7>.
- **Emadi, S.A., Ghasemzadeh Rahbardar, M., Mehri, S., Hosseinzadeh, H., 2022.** A review of therapeutic potentials of milk thistle (*Silybum marianum* L.) and its main constituent, silymarin, on cancer, and their related patents. *Iran J Basic Med Sci* 25, 1166–1176. <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2022.63200.13961>.
- **Eminzade, S., Uras, F., Izzettin, F.V., 2008.** Silymarin protects liver against toxic effects of anti-tuberculosis drugs in experimental animals. *Nutr Metab (Lond)* 5, 18. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-5-18>.
- **Encyclopédie des plantes médicinales:** [identification, préparations, soins], Ed. mise à jour. ed, 2002. . Larousse, Paris.
- **Esmaeil, N., Anaraki, S.B., Gharagozloo, M., Moayedi, B., 2017.** Silymarin impacts on immune system as an immunomodulator: One key for many locks. *International Immunopharmacology* 50, 194–201. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2017.06.030>.

Références bibliographiques

- **Fallah, M., Davoodvandi, A., Nikmanzar, S., Aghili, S., Mirazimi, S.M.A., Aschner, M., Rashidian, A., Hamblin, M.R., Chamanara, M., Naghsh, N., Mirzaei, H., 2021.** Silymarin (milk thistle extract) as a therapeutic agent in gastrointestinal cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 142, 112024. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112024>
- **Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C., 2008.** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies.* Pp372-379.
- **Fraschini, F., Demartini, G., Esposti, D., 2002.** Pharmacology of Silymarin. *Clin. Drug Investig.* 22, 51–65. <https://doi.org/10.2165/00044011-200222010-00007>.
- **Gutiérrez, R.M.P. and R.V. Solís, 2009.** Hepatoprotective and inhibition of oxidative stress in liver of *prostecchea michuacana*. *Rec. Nat. Prod.*, 3: 46-51.
- **Iraqi, O., Aouji, M., Oubihi, A., Imtara, H., Noman, O.M., Mothana, R.A., Tarayrah, M., Taboz, Y., Habsaoui, A., 2025.** Exploring the chemical composition, antioxidant, and antibacterial properties of milk thistle (*Silybum marianum* L.). *Front. Sustain. Food Syst.* 9. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2025.1551584>
- **Kumar S.; Khanna R.K. (2018):** Beneficial effects of *Silybum marianum* seed extract against hepatic fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats . *BMJ journal* 67, (2):AB.CO 265.
- **Kvasnička, F., Bíba, B., Ševčík, R., Voldřich, M., Krátká, J., 2003.** Analysis of the active components of silymarin. *Journal of Chromatography A*, 13th International Symposium on Capillary Electrophoresis Techniques 990, 239–245. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)01971-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)01971-4).
- **Lee CP, Shih PH, Hsu CL, Yen GC.,2007.** Hepatoprotection of tea seed oil (*Camellia oleifera* Abel.) against CCl₄induced oxidative damage in rats. *Food Chem Toxicol* ; 45: 888-895.
- **Madani H., Talebolhosseini M., Asgary S., Naderi G. H. 2008.** Hepatoprotective activity of *Silybum marianum* and *Cichorium intybus* against thioacetamide in rat. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7(1), 172-176.
- **Marceddu, R., Dinolfo, L., Carrubba, A., Sarno, M., Di Miceli, G., 2022.** Milk Thistle (*Silybum Marianum* L.) as a Novel Multipurpose Crop for Agriculture in Marginal Environments: A Review. *Agronomy* 12, 729. <https://doi.org/10.3390/agronomy12030729>.
- **Moosavikia, A.A., Moosavi, G.R., Seghatoleslami, M.J., Bradaran, R., 2021.** Morphological and yield responses of *Silybum marianum* L. to chemical and biological

Références bibliographiques

fertilizers in different planting dates. *Horticultural Plants Nutrition* 4, 173–186. <https://doi.org/10.22070/hpn.2021.5681.1103>.

- **Nehmi, V.A., Murata, G.M., Moraes, R.C.M. de, Lima, G.C.A., Miranda, D.A.D., Radloff, K., Costa, R.G.F., Jesus, J. de C.R. de, Freitas, J.A.D., Viana, N.I., Pimenta, R., Leite, K.R.M., Otoch, J.P., Pessoa, A.F.M., 2021.** A novel supplement with yeast 6-glucan, prebiotic, minerals and *Silybum marianum* synergistically modulates metabolic and inflammatory pathways and improves steatosis in obese mice.
- **Nehmi-Filho, V., de Freitas, J. A., Franco, L. A., Martins, R. C., Turri, J. A. O., Santamarina, A. B., Fonseca, J. V. da S., Sabino, E. C., Moraes, B. C., Souza, E., Murata, G. M., Costa, S. F., Alcântara, P. S., Otoch, J. P., & Pessoa, A. F. M. (2024).** *Modulation of the gut microbiome and Firmicutes phylum reduction by a nutraceutical blend in the obesity mouse model and overweight humans: A double-blind clinical trial.* *Food Science & Nutrition*, 12(4), 2436–2454. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3927>.
- **Nigmatullaev, B. , Duschanova, G. , Abdurahmonov, B. et Sotimov, G. (2019)** Structure anatomique des organes végétatifs et génératifs de *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (Fam. Asteraceae). *American Journal of Plant Sciences* , 10 , 38-43.
- **Ozturk, M., Akdogan, M., Keskin, I., Kisioglu, A.N., Oztas, S., Yildiz, K., 2012.** Effect of *Silybum marianum* on acute hepatic damage caused by carbon tetrachloride in rats.
- perspective for natural product based drug discovery. *Drug Discov. Today*. Pp 840-847.
- **Petit Larousse de la médecine : 4500 articles, 2007.** . Paris : Larousse.
- **Poncé AG, Fritz R, Delvalle C, Roura SI (2003)**.Anti microbial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LebensmittelWissenschaft und Technologic* 36:679684.
- **Porwal, O., Mohammed Ameen, M.S., Anwer, E.T., Uthirapathy, S., Ahamad, J., Tahsin, A., 2019.** *Silybum marianum* (Milk Thistle): Review on Its chemistry, morphology, ethno medical uses, phytochemistry and pharmacological activities. *J. Drug Delivery Ther.* 9, 199–206. <https://doi.org/10.22270/jddt.v9i5.3666>
- **Post-White J., Ladas E. J., Kelly K. M. 2007.** Advances in the use of milk thistle (*Silybum marianum*). *Integrative cancer therapies*, 6(2), 104-109.
- **Pradhan, S. C., and Girish, C. (2006).** Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian J. Med. Res.* 124 (5), 491–504
- **Qin, N.; Hu, X.; Li, S.; Wang, J.; Li, Z.; Li, D.; Xu, F.; Gao, M.; Hua, H.(2017).** Effet hypoglycémiant de la silychristine A du fruit de *Silybum marianum* via la protection des

Références bibliographiques

cellules β des îlots pancréatiques contre les dommages oxydatifs et l'inhibition de l'activité α -glucosidase in vitro et chez les rats atteints de diabète de type 1. *J. Funct. Foods*, 38, 168–179.

- **Rahal, N.B., 2012.** Extraction, identification et caractérisation des molécules bioactives de la graine et de l'huile de *Silybum marianum*. Étude de leurs activités antioxydante et antitumorale (phdthesis). Université de Lorraine.
- **Rahimi, A., Kamali, M., 2012.** Different Planting Date and Fertilizing System Effects on the Seed Yield, Essential Oil and Nutrition Uptake of Milk Thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn).
- **Ramadan S. I., Shalaby M. A., Afifi N., El-Banna H. A. 2011.** Hepatoprotective and antioxidant effects of *Silybum marianum* plant in rats. *Int J Agro Veter Med Sci*, 5, 541-47.
- **Rasool M., Iqbal J., Malik A., Ramzan H. S., Qureshi M. S., Asif M., ... Karim S. 2014.** Hepatoprotective effects of *Silybum marianum* (Silymarin) and *Glycyrrhiza glabra* (Glycyrrhizin) in combination: a possible synergy. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Research* 2009;3:20-23.
- **Romano, B., Lucariello, G., & Capasso, R. (2021).** Topical Collection “Pharmacology of Medicinal Plants.” *Biomolecules*, 11(1), 101. doi:10.3390/biom11010101.
- **Sallie, R., J.M. Tredger and R. William, 1991.** Drug and the liver. *Biopharmaceutical Drug Disposition*, 12: 251-259.
- **Shaker, E., Mahmoud, H., Mnaa, S., 2010.** La silymarine, le composant antioxydant et les extraits de *Silybum marianum* préviennent les dommages au foie. *Food and Chemical Toxicology* 48, 803–806. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.12.011>.
- **Suja SR, Latha PG, Pushpangadan P, Rajasekharan S.,2004.** Evaluation of hepatoprotective effects of *Helminthostachys zeylanica* (L.) hook against carbon tetrachloride-induced liver damage in Wistar rats. *J Ethnopharmacol* ; 92: 61-66.
- **Sun, F., 2000.** Evaluation of oxidative stress based on lipid hydroperoxide, vitamin C and vitamin E during apoptosis and necrosis caused by thioacetamide in rat liver. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1500: 181- 185.
- **Surai, P.F., 2015.** Silymarin as a Natural Antioxidant: An Overview of the Current Evidence and Perspectives. *Antioxidants* 4, 204–247. <https://doi.org/10.3390/antiox4010204>.
- **Surai, P.F., Surai, A., Earle-Payne, K., 2024.** Silymarin and Inflammation: Food for Thoughts. *Antioxidants* 13, 98. <https://doi.org/10.3390/antiox13010098>.

Références bibliographiques

- **Svobodova A., Walterova D., Psotova J. 2006.** Influence of silymarin and its flavonolignans on H₂O₂-induced oxidative stress in human keratinocytes and mouse fibroblasts. *Burns*, (32): 973–979.
- **Tahmasbi, Z., Boroughani, M., Heidari, M.M., Namvar, E., Hashempur, M.H., Faraji, S.N., Nazarpour-Servak, M., Heydari, M., 2024.** Potential therapeutic effects of milk thistle (*Silybum marianum*) in eye diseases, a scoping review. *Discov Appl Sci* 7, 17. <https://doi.org/10.1007/s42452-024-06401-3>
- **Tighe, S.P., Akhtar, D., Iqbal, U., Ahmed, A., 2020.** Chronic Liver Disease and Silymarin: A Biochemical and Clinical Review. *J Clin Transl Hepatol* 8, 454–458. <https://doi.org/10.14218/JCTH.2020.00012>.
- **Torres M., Rodríguez-Serrano F., Rosario D. J., Rodríguez-Pérez F., Toro D. H. 2013.** Does *Silybum marianum* play a role in the treatment of chronic hepatitis C?. *Puerto Rico health sciences journal*, 23(2).
- **Tyagi, A., Raina, K., Singh, R.P., Gu, M., Agarwal, C., Harrison, G., Glode, L.M., Agarwal, R., 2007.** Chemopreventive effects of silymarin and silibinin on N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine–induced urinary bladder carcinogenesis in male ICR mice. *Molecular Cancer Therapeutics* 6, 3248–3255. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-07-2006>.
- **Wadhwa, K., Pahwa, R., Kumar, M., Kumar, S., Sharma, P.C., Singh, G., Verma, R., Mittal, V., Singh, I., Kaushik, D., Jeandet, P., 2022.** Mechanistic Insights into the Pharmacological Significance of Silymarin. *Molecules* 27, 5327. <https://doi.org/10.3390/molecules27165327>.
- **Wellington K, Jarvis B. Silymarin: a review of its clinical properties in the management of hepatic disorders. *BioDrugs* 2001;15(7):465-89.**
- **Zafar, R. and S. Mujahid Ali, 1998.** Anti-hepatotoxic effects of root and root callus extracts of *Cichorium intybus* L. *J. Ethnopharmacol.*, 63: 227-231.
- **Zhang, X., Liu, M., Wang, Z., Wang, P., Kong, L., Wu, J., Wu, W., Ma, L., Jiang, S., Ren, W., Du, L., Ma, W., Liu, X., 2024.** A review of the botany, phytochemistry, pharmacology, synthetic biology and comprehensive utilization of *Silybum marianum*. *Front. Pharmacol.* 15. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1417655>.
- **Zhao, Y., Zhou, Y., Gong, T., Liu, Z., Yang, W., Xiong, Y., Xiao, D., Cifuentes, A., Ibáñez, E., Lu, W., 2024.** The clinical anti-inflammatory effects and underlying mechanisms of silymarin. *iScience* 27, 111109. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.111109>.

Résumés

Résumé

Résumé

Le *Silybum marianum*, communément appelé chardon-Marie, est une plante médicinale aux propriétés hépatoprotectrices largement reconnues. Cette étude visait à analyser *in vitro* et *in vivo* ses composés bioactifs, notamment ses polyphénols et flavonoïdes, ainsi qu'à évaluer ses effets antimicrobiens.

Les tests antimicrobiens effectués par diffusion sur gélose ont montré une activité notable contre certaines bactéries Gram positives, spécifiquement *Staphylococcus aureus*. Toutefois, aucune activité antimicrobienne significative n'a été observée contre les bactéries Gram négatives, telles que *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

Sur le plan pharmacologique, les extraits de *Silybum marianum* ont démontré une capacité à atténuer les lésions hépatiques induites par le tétrachlorure de carbone (CCl₄) chez les rats. L'étude histologique a révélé que l'administration de l'extrait permettait une restauration partielle de l'architecture hépatique, avec une réduction de la vacuolisation et apparition des signes de régénération cellulaire, notamment à dose élevée. Les paramètres biochimiques, tels que les concentrations d'AST, ALT et d'urée, ont également montré une tendance à la diminution significative, confirmant l'effet hépatoprotecteur.

Enfin, l'évaluation de la toxicité a indiqué que la plante est bien tolérée à court terme, sans effets secondaires majeurs observés chez les rats, même à doses élevées. Ces résultats confirment le potentiel thérapeutique du *Silybum marianum* dans la prévention et le traitement des maladies hépatiques, grâce à ses propriétés hépatoprotectrices et, dans une moindre mesure, antibactériennes.

Mots clés : *Silybum marianum*, hépatoprotection, toxicité, enzymes hépatiques, activité antimicrobienne, composants phénoliques.

Abstract

Abstract

Silybum marianum, commonly known as milk thistle, is a medicinal plant widely recognized for its hepatoprotective properties. This study aimed to analyze its bioactive compounds, particularly polyphenols and flavonoids, both *in vitro* and *in vivo*, as well as to evaluate its antimicrobial effects.

Antimicrobial tests carried out using agar diffusion showed notable activity against certain Gram-positive bacteria, specifically *Staphylococcus aureus*. However, no significant antimicrobial activity was observed against Gram-negative bacteria such as *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*.

Pharmacologically, extracts of *Silybum marianum* demonstrated the ability to attenuate liver lesions induced by carbon tetrachloride (CCl₄) in rats. Histological studies revealed that administration of the extract allowed partial restoration of hepatic architecture, with a reduction in vacuolization and the appearance of signs of cellular regeneration, particularly at higher doses. Biochemical parameters, such as AST, ALT, and urea concentrations, also showed a trend toward significant decrease, confirming the hepatoprotective effect.

Finally, toxicity assessment indicated that the plant was well tolerated in the short term, with no major side effects observed in rats even at high doses. These results confirm the therapeutic potential of *Silybum marianum* in the prevention and treatment of liver diseases, owing to its hepatoprotective properties and, to a lesser extent, antimicrobial effects.

Keywords: *Silybum marianum*, hepatoprotection, toxicity, liver enzymes, antimicrobial activity, phenolic compounds.

الملخص

يُعرف نبات السيليبسيوم ماريانوم، الذي يُطلق عليه عادةً الحليب المقدد، بأنه نبات طبي ذو خصائص مرققة للكبد ومرتفعة الاعتراف بها. استهدفت الدراسة تحليل مركباته النشطة بيولوجيًّا، ولا سيما مركبات الفينول والفلافونويد، وتقييم تأثيراته المضادة للميكروبات.

أظهرت الاختبارات الميكروبية التي أُجريت بواسطة الانتشار على الوسط الزرعي نشاطاً ملحوظاً ضد بعض البكتيريا موجبة الغرام، وتحديداً *Staphylococcus aureus*. ومع ذلك، لم يُلاحظ أي نشاط مضاد للميكروبات ذو أهمية ضد البكتيريا سالبة *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* مثل الغرام.

من الناحية الدوائية، أظهرت مستخلصات السيليبسيوم ماريانوم قدرة على التخفيف من إصابات الكبد الناتجة عن الكلوروفورم (CCl₄) في فئران تجارب. كشفت الدراسة الهيستولوجية أن إعطاء المستخلص أدى إلى استعادة جزئية للبنية التشريحية للكبد، مع تقليل التورم وخطوط علامات التجدد الخلوي، خاصة عند الجرعة العالية. كما أظهرت المعابر الكيميائية الحيوية، مثل مستويات ALT و AST والاليوريا، ميلًا نحو انخفاض ملحوظ، مما يؤكد وجود تأثير مرق للكبد.

وفي النهاية، أشارت تقييمات السمية إلى أن النبات يتحمل جيداً على المدى القصير، دون ظهور آثار جانبية رئيسية في الفئران، حتى عند تناول جرعات عالية. تؤكد هذه النتائج الإمكانيات العلاجية لنبات السيليبسيوم ماريانوم في الوقاية والعلاج من أمراض الكبد، بفضل خصائصه المرطّفة للكبد، وإلى حد أقل، خصائصه المضادة للميكروبات.

الكلمات المفتاحية: السيليبسيوم ماريانوم، حماية الكبد، السمية، إنزيمات الكبد، النشاط المضاد للبكتيريا، المركبات الفينولية.

Thème : Évaluation de l'hépatotoxicité et du potentiel antimicrobien de *Silybum marianum*.

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et Biothérapie

Résumé

Le *Silybum marianum*, communément appelé chardon-Marie, est une plante médicinale aux propriétés hépatoprotectrices largement reconnues. Cette étude visait à analyser *in vitro* et *in vivo* ses composés bioactifs, notamment ses polyphénols et flavonoïdes, ainsi qu'à évaluer ses effets antimicrobiens. Les tests antimicrobiens effectués par diffusion sur gélose ont montré une activité notable contre certaines bactéries Gram positives, spécifiquement *Staphylococcus aureus*. Toutefois, aucune activité antimicrobienne significative n'a été observée contre les bactéries Gram négatives, telles que *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

Sur le plan pharmacologique, les extraits de *Silybum marianum* ont démontré une capacité à atténuer les lésions hépatiques induites par le tétrachlorure de carbone (CCl₄) chez les rats. L'étude histologique a révélé que l'administration de l'extrait permettait une restauration partielle de l'architecture hépatique, avec une réduction de la vacuolisation et apparition des signes de régénération cellulaire, notamment à dose élevée. Les paramètres biochimiques, tels que les concentrations d'AST, ALT et d'urée, ont également montré une tendance à la diminution significative, confirmant l'effet hépatoprotecteur.

Enfin, l'évaluation de la toxicité a indiqué que la plante est bien tolérée à court terme, sans effets secondaires majeurs observés chez les rats, même à doses élevées. Ces résultats confirment le potentiel thérapeutique du *Silybum marianum* dans la prévention et le traitement des maladies hépatiques, grâce à ses propriétés hépatoprotectrices et, dans une moindre mesure, antibactériennes.

Mots-clés : *Silybum marianum*, hépatoprotection, toxicité, enzymes hépatiques, activité antimicrobienne, composants phénoliques.

Présidente du jury : Dr. MILET Asma (MCB- Université Frères Mantouri, Constantine 1).

Encadrante : Dr. HALMI Siham (MCA- Université Frères Mantouri, Constantine 1).

Examinateuse : Dr. BEELLOUM Zahia (MAA- Université Frères Mantouri, Constantine 1).