



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

**Département : Biologie Animale..**      **قسم : بيولوجيا الحيوان**

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

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : *Toxicologie***

**Intitulé**

---

**L'activité de l'extrait butanolique de la plante *Verbascum sp.*  
vis -à- vis de la toxicité induite par la doxorubicine.**

---

**Présenté et soutenu par :**

**Le : 29 /06/2017**

**Cheriet Wissem**

**Saadouni Bouchra**

**Boulbazine Nour elhouda**

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury : Mr K.LALAOUI.**

Prof. Université Mentouri-Constantine

**Rapporteur : Mme N. BOUBEKRI.**

MC. Université Mentouri-Constantine

**Examineurs : F. Mouri .**

MC. Université Mentouri-Constantine

S. Ihoual.

MAT. Université Mentouri-Constantine

***Année universitaire  
2016- 2017***

# Remerciements

*Avant tout, nous remercions "Allah" le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage et la patience la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles afin d'accomplir ce modeste travail*

*Nous tenons à remercier notre encadreur « **Madame Boubekri Nassima** » Maitre de conférences à l'université Mentouri de Constantine à la faculté des sciences de la nature et de la vie qui nous a fait l'honneur d'avoir guidé et diriger cette étude. Nous voudrions également lui témoigner notre gratitude pour sa simplicité, sa patience, sa prudence et son soutien. Ses compétences et sa détermination nous a apporté beaucoup de résultat.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.*

*Notre cher professeur **Mr LAALAOUI** à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Constantine qui nous a fait l'honneur de présider ce jury*

***Mme MOURI** maitre de conférence et **Mme IHOUAL** maitre assistante à la faculté des sciences de la nature et de la vie de Mentouri Constantine qui ont bien voulu examiner ce travail.*

*Un grand merci accompagné de notre profond respect et notre gratitude envers les professeurs, les maitres de conférence et les maitres assistant de département de biologie animale pour leurs orientations et leurs conseils éclairés durant les cinq années.*

*En particulier un grand merci pour **Mme ZAAMA Dj.** et **Mme Amrani Amel** Reçavez, nos plus sincères remerciements de nous avoir fait profiter de vos nombreuses connaissances dans cette spécialité.*

*Les paroles ne suffisent pas pour remercier **Melle Laaraba Meriem** qui nous a toujours encouragé et aidé aux moments difficiles au cours de la réalisation de ce mémoire, Merci pour sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion.*

*Enfin avec un réel plaisir que nous réservons ces lignes en signe de profonde reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation et à l'aboutissement de ce travail.*



# DEDICACES

*Au nom de dieu le clément par essence et par excellence je dédie ce modeste travail à :*

*A mon père*

*L'école de mon enfance qui a été mon ombre durant toutes mes années d'études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager et à me protéger.*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être, l'éducation que j'ai reçue de toi est un bien précieux,*

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, vous accorde santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.*

**A LA MEMOIRE DE MA MERE SAMIRA ,MON ONCLE NOUAR ET MA GRANDE MERE TOMA**

*J'aurais tant aimé que vous soyez présentes. Que Dieu ait vos âmes dans sa sainte miséricorde.*

**A MON CHER FRERE WALID ET SA FEMME que j' aime profondément**

*Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.*

**CHERE TATA SOUAD**

*Merci pour ton amour, tes conseils et ton soutien pendant ma préparation de ce travail. Que dieu vous accorder santé, bonheur et longue vie. Tu trouves ici l'expression de mon admiration et ma reconnaissance.*

**A MON FRERE CHAKIB**

*Puisse Dieu vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser à votre tour vos vœux les plus chers.*

**À MES CHERES TANTES, ET MES CHERES COUSINS, COUSINES**

*Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère Spécialement mes cousins **Anis** et **Hamdi**. et mes petits anges **Aya, Zaki** et **Yacer**. Mes sœurs **Rayen** et **Malak***

*Puisse Dieu vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser à votre tour vos vœux les plus chers.*

*Je spécialise une dédicace à **Mr Mouize** mon conseiller, qui m'a beaucoup aider, je le remercie pour les efforts qu'il a déployés, pour m'aider, conseiller, encourager et diriger.*

*Un remerciement spécial à ma cousine **ILHEM**, et **MA TANTE SALIMA**, ainsi, **Melle LAARABA MERIEM** qui m'ont aidé et orienté, qu'elles trouvent ici le témoignage De mon affection, mon amour, mon admiration et ma reconnaissance. A tous mes amis, A tout le groupe de ma promotion à qui je souhaite bonheur et réussite qu'ils trouvent ici l'expression de mon respect et mon grand attachement. A tous ceux que j'aurais oublié de citer mais qui existent au fond de mon cœur et de ma pensée.*

# ***DEDICACES***

 *Je dédie ce modeste travail...* 

*A dieu de tout puissant de m'avoir donné le courage, la santé, et m'a accordé son soutien durant les périodes les plus difficiles.*

*Aux deux être le plus chers au monde, qui ont souffert nuit et jour  
Pour nous couvrir de leur amour, mes parents.*

*A mon père "**azeddine**" pour son patient avec moi et son encouragement.  
A ma source de bonheur, la prunelle de mes yeux, ma mère "**Salima**".  
Que le bon ALLAH vous garde en bonne santé.*

*Je dédie aussi ce modeste travail :*

*A mes très chers frères : Akram*

*A mes sœurs :Hanaa et Nahla*

*Ainsi que pour toutes mes amies surtout ma très chère "**Imen**"  
Je le dédie aussi à tous les enseignants de notre faculté qui ont toujours guidé tout au long de mon parcours éducatif*

*A tous ceux que j'aime et que je respecte. .*

 ***Bouchra***

# Dédicace

 Je dédie ce mémoire à ... 

*A ma chère mère fatima :*

*Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse, Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

*A mon Père Rachide :*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

*A mes frères et sœurs :*

*Qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.*

*A mes professeurs :*

*Qui doivent voir dans ce travail la fierté d'un savoir bien acquis.*

*A Mon chère professeure berriche salah dine :*

*Un remerciement infini au professeur berriche pour son soutien tout au long du travail Que nous avons réalisé. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*

*A mes chères amies :*

*Benmhidi ramla, Katia abdoune, Assia binini, Asma drarja, Romaisa zeghibibe, Rayen kara, Khouloude houadegue, randa et nerdjess.*

*Je voudrais aussi saluer mes anges youcef et haroun , Ils m'ont illuminer la vie .*

 Boulbazine nour el houda 

## Liste des abréviations

**Ac** : absorbance du contrôle.  
**At** : absorbance du test effectué  
**ADN** : Acide désoxyribonucléique  
**ASAT** : Aspartateamino transférase  
**ALAT** : Alanine amino transférase  
**ATP** : Adénosine triphosphate  
**AO** : Antioxydant  
**Bax** : Bcl-2 Associated X protein  
**Bcl-xL** : B- cell lymphoma XI  
**C** : Carbone  
**CAT** : Catalase  
**CH<sub>3</sub>** : méthyle  
**CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de carbone  
**Cu<sup>+</sup>** : cuivre  
**IC<sub>50</sub>** : concentration inhibitrice de 50 %  
**DOX** : Doxorubicine  
**DPPH** : 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl  
**DTNB** : l'acide 5, 5'- Dithiobis 2-nitrobenzoïque  
**ERO/ROS** : Espèces réactives oxygénées  
**ERN** : d'espèces réactives de l'azote  
**Fe<sup>3+</sup>** : Ion ferrique  
**Fe<sup>2+</sup>** : Ion ferreux  
**FDA** : Food and Drug Administration  
**GPx** : Glutathionperoxydase  
**GR** : glutathione réductase  
**GSH** : Glutathion  
**GSSG** : Glutathionoxydé  
**g** : gramme  
**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène  
**HO·** : Radical hydroxyle  
**HOCl** : Acide hypochlorique  
**H<sup>+</sup>** : ion hydrogène  
**HSP** : Proteines de choc thermique (heat shock proteins)  
**IκB** : sous-unité inhibitrice κB  
**KCl** : chlorure de potassium  
**Kg** : kilogramme  
**LDL** : Lipoprotéines de densité légère  
**LPS** : Lipolysaccharide  
**MDA** : Malondialdéhyde  
**Mg<sup>2+</sup>** : Magnésium

**Mm** : Mili mole  
**NADH** : Nicotinamide adénine dinucléotide d'hydrogène  
**NADPH** : Nicotinamide-Adénine-dinucleotide-Phosphate  
**NF- $\kappa$ B** : Facteur nucléaire kappa B  
**nm** : Nanomètre  
**NO $\cdot$**  : Monoxyde d'azote  
**NO $_2$**  : dioxyde d'azote  
**Nrf2** : Facteur 2 du facteur nucléaire erythroid  
 **$^1\text{O}_2$**  : Oxygène singulet  
**O $_2$**  : Oxygène  
**O $_2^{\cdot-}$**  : Anion superoxyde.  
**O $_3$**  : Trioxygène  
**OMS** : Organisation mondiale de la santé  
**ONOO $^-$**  : Peroxynitrite  
**ONOOH** : Nitroperoxyde  
**P53** : protéine facteur de transcription  
**P $^{\text{H}}$**  : Hydrogen ion concentration  
**Prx** : Peroxyrédoxines  
**Q** : Coenzyme  
**R** : Radicale  
**Redox** : Reduction-Oxidation  
**ROO $\cdot$**  : Radical peroxy  
**ROOH** : Radical hydroperoxyde  
**ROO $^\circ$**  : peroxydes  
**RO $^\circ$**  : radicaux alcoxydes  
**SO** : Le Stress Oxydant  
**SOD** : Superoxyde dismutase  
**t $_{1/2}$**  : élimination half-life  
**TBA** : acide thiobarbiturique  
**TCA** : Acide trichloroacétique  
**TopoII** : topoisomérase II  
**TNB** : thionitrobenzoïque  
**Trx** : thiorédoxine  
**TrxR** : thiorédoxine réductase  
**UV** : Ultra-violet  
**VE** : vitamine E

Liste des figures

Figure 01:Les structures moléculaires de la doxorubicine et daunorubicine.....	05
Figure 02:Doxorubicine et de son principal métabolite, le Doxorubicinol.....	06
Figure 03:Modèle de transport d'une molécule d'anthracycline par flip-flop (changement de Position des molécules d'un feuillet de la bicouche à l'autre).....	07
Figure 04:métabolisme hépatique de la Doxorubicine.....	08
Figure 05:: Mécanisme d'action des anthracyclines: intercalation dans l'ADN et stabilisation De l'enzyme topoisomerase II. 1. ADN 2.Anthracycline 3.Topoisomérase II.....	14
Figure 06 :: Mécanisme de toxicité cardiaque de la doxorubicine dans les cardiomyocyte....	15
Figure 07 :Structure du noyau phénol.....	20
Figure 08 :: Classification et structure des principales classes de polyphénols.....	22
Figure 09 : Structure de l'acide hydroxybenzoïque.....	23
Figure 10 : Structure de l'acide hydroxycinnamique .....	23
Figure 11 : Structure de base des stilbènes.....	24
Figure12 : Structure de lignane.....	25
Figure 13 : Structure de tanins condensés.....	25
Figure14 : Structure de base des flavonoïdes.....	26
Figure 15 : Structure des flavonols.....	27
Figure 16 : Structure des flavones.....	27
Figure 17 :Structure des flavanones.....	28
Figure 18:Structure des isoflavones.....	28
Figure 19 : Structure de base des anthocyanes.....	29
Figure 20: Aperçu de l'absorption et du métabolisme des polyphénols végétaux chez les animaux de ferme monogastriques .....	30
Figure 21:Les flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliq.....	33
Figure 22 : Les caractéristiques structurales des flavonoïdes avec une activité de piégeage des radicaux libres élevée .....	34
Figure 23 : Un aperçu simplifié des mécanismes clés par lesquels les polyphénols empêchent l'inflammation.....	36
Figure 24 : Pouvoir antiradicalaire de l'extrait butanolique.....	43
Figure 25 : Effet de la Doxorubicine et l'extraitsbutanolique sur la fonction hépatique et sa	



libération des transaminases ASAT et ALAT .....	44
Figure 26 : Influence de l'administration de l'extrait butanolique et la vitamine E sur le taux du cholestérol et triglycéride chez les différents lots .....	45
Figure 27 : Influence de l'administration de l'extrait butanoliqu sur la concentration en MDA (foie et cœur) .....	46
Figure 28 : Effet de l'extraitbutanolique sur le niveau de GSH dans le (foie et cœur).....	47
Figure 29 : Effet de l'extraitbutanolique sur l'activité de la GPx dans le (foie et cœur).....	47

***Liste des tableaux***

<b>Tableau 01 :</b> Principales espèces réactives de l'oxygène et de l'azote.....	10
<b>Tableau 02:</b> Classement des fruits et légumes les plus riches en polyphénols.....	21
<b>Tableau 03:</b> Principales activités biologiques des composées phénoliques.....	32

# Sommaire

**Remerciements**

**Dédicaces**

**Liste des Abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

<b>Introduction</b> .....	01
<b>Partie I : Synthèse bibliographique</b>	
I-Doxorubicine et stress oxydatif.....	03
1-Le cancer.....	03
2- Généralités sur les anthracyclines .....	04
2-1- Activités biologiques des anthracyclines .....	04
2-2- Structure moléculaire.....	04
3- Doxorubicine (Adriamycine).....	05
3-1- La pharmacocinétique de la Doxorubicine .....	06
3-1-1-L'absorption et distribution .....	06
3-1-2-Métabolisme hépatique .....	07
3-1-3-L'élimination .....	08
4- La doxorubicine et le stress oxydatif .....	09
4-1- Le stress oxydant.....	09
4-1-1-Un radical libre .....	09
4-1-2- Les systèmes antioxydants .....	10
4-1-2-1-Les systèmes antioxydants primaires .....	10
4-1-2-2-Les systèmes antioxydants secondaires .....	12
4-2- Mécanisme d'action de la doxorubicine .....	13
4-2-1- Interaction AND-doxorubicine .....	13
4-2-2-Inhibition de l'enzyme topoisomérase II .....	13

4-2-3-Inhibition de la synthèse d'ADN .....	14
4-2-4-Interaction avec les membranes plasmiques .....	14
5- Pathologies et doxorubicine .....	15
5-1-Doxorubicine et la cardiotoxicité .....	15
5-1-1-Production des radicaux libres .....	16
5-1-2-L'homéostasie calcique .....	17
5-1-3-Liaison avec les phospholipides et l'altération du métabolisme énergétique .....	17
5-1-4-La production de métabolites .....	17
5-1-5-La mort cellulaire induite par la doxorubicine .....	18
5-2-La doxorubicine et l'hépatotoxocité .....	18
<b>II- Les polyphénols</b>	
1-Généralités .....	19
2- Classification des métabolites secondaires .....	19
2-1-Terpénoïdes .....	19
2-2-Alcaloïdes .....	20
2-3-Polyphénols .....	20
2-3-1-Répartition des polyphénols au niveau des fruits et légumes .....	21
2-3-2-Classification .....	22
2-3-2-1-Les acides hydroxybenzoïques .....	23
2-3-2-2-Les acides hydroxycinnamiques .....	23
2-3-2-3-Les stilbènes.....	24
2-3-2-4-Lignans .....	24
2-3-2-5-Les tanins .....	25
2-3-2-6-les flavonoïdes .....	26
2-3-3-Biodisponibilité des polyphénols .....	29
2-3-3-1-Absorption et métabolisme des polyphénols .....	30
2-3-4-Activité biologique des polyphénols .....	31
2-3-4-1-L'activité antioxydante des polyphénols .....	32
2-3-4-2-Activité anti-tumorale des polyphénols .....	35
2-3-4-3-Activité antibactérienne des polyphénols .....	35
2-3-4-4- Activité anti-inflammatoire des polyphénols .....	36

## **Partie II : MATERIEL ET METHODES**

1-La plante .....	38
2- activité antioxydante In vitro .....	38
3-Expérimentations animale .....	39
3-1- Animaux et conditions d'hébergement .....	39
3-2- Toxicité aigüe par la Doxorubicine .....	39
4- Dosage des paramètres du stress oxydant .....	40
4-1- Dosage Peroxydation lipidique .....	40
4-2- Dosage de glutathion (GSH) .....	40
4-3-Evaluation de l'activité enzymatique de la GPx .....	40
5- Dosage des paramètres biochimiques .....	41
5-1-Préparation de sérum et le test de la fonction hépatique .....	41
5-2-Dosage du cholestérol total .....	41
5-3-Dosage des triglycérides .....	41
6- Evaluation statistique .....	41

## **Partie III : RESULTATS ET DISCUSSION:**

1-Interprétation des résultats .....	42
1-1-Evaluation du pouvoir antiradicalaire de l'extrait butanolique .....	42
1-2-Effet de la Doxorubicine sur la fonction hépatique .....	43
1-3-Effet de la Doxorubicine sur cholestérol et triglycérides et l'action protectrice de l'extrait .....	43
1-4-Effet de l'extrait butanolique sur la peroxydation lipidique .....	44
1-5-Effet de l'extrait butanolique sur le GSH .....	45
1-6-Effet de l'extrait butanolique de la plante <i>Verbascum sp</i> Sur l'activité de la GPx.....	46
II-Discussion .....	48
Conclusion générale et perspectives .....	52

### **Résumé**

### **Références bibliographiques**

# INTRODUCTION

## Introduction

La doxorubicine (DOXO), appartenant à la famille des anthracyclines, est l'un des agents chimiothérapeutiques le plus efficace utilisé dans le traitement d'une variété de tumeurs solides et hématologiques malignes. Son efficacité anti-tumorale est dose-dépendante, mais son utilisation clinique est limitée en raison de sa toxicité grave sur divers organes tels que : le cœur, le foie, les poumons et les reins (Judson et al., 2014).

Plusieurs hypothèses ont été suggérées concernant les mécanismes de la toxicité induite par les anthracyclines. Il a été reporté que les radicaux libres de l'oxygène (RLO) et la peroxydation lipidique jouent un rôle essentiel dans la toxicité provoquée par la DOXO. En effet, la plupart des études mettent en jeu le rôle du stress oxydatif dans ce processus qui est induit par la formation des RLO découlant de la structure chimique de la DOXO ayant tendance à générer des espèces réactives de l'oxygène durant la métabolisation du médicament (Stěrba et al., 2013).

Au cours des dernières décennies, et malgré la découverte de nouveaux composés en chimie de synthèse, les sources naturelles restent le principal fournisseur de nouveaux médicaments et de nouvelles structures chimiques. Nous assistons donc à un regain de la phytothérapie surtout pour les produits riches en polyphénols, et principalement en flavonoïdes qui ont montré des propriétés biologiques antioxydants intéressantes (Kurek-Górecka et al., 2013; Georgiev et al., 2014).

Les polyphénols possèdent un large éventail d'activités biologiques *In vitro* (antibactérienne, anti-cancérogène, anti-inflammatoire, antioxydante etc...) liées à leur caractère réducteur et à leur affinité pour les protéines et les ions métalliques. Les polyphénols présentant ainsi des propriétés anti-oxydantes bien établies et en lien avec l'inhibition de l'oxydation aussi bien dans le domaine alimentaire (oxydation des lipides) que physiologique (stress oxydant) (Japon-Lujan et al., 2008).

Plusieurs études épidémiologiques suggèrent que la protection qu'une alimentation riche en produits végétaux semble apporter contre le développement de diverses pathologies dégénératives associées au stress oxydant telles que les maladies cardio-vasculaires, les maladies neurodégénératives et divers cancers, serait due aux micro-constituants de cette diète dont les polyphénols sont les principaux représentants (Huang et al., 2008 ; Lalas et al., 2011).

Dans cette étude, nous avons évalué l'effet antioxydant *In vitro* et l'effet protecteur de l'extrait butanolique de la plante *Verbascum sp.* contre la toxicité cardiaque et hépatique induite par la doxorubicine chez des rats femelles de souche *Wistar Albinos*.



**PARTIE I**  
**SYNTHESE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

## I-Doxorubicine et stress oxydatif

### I-1-Le cancer

Le cancer est une cause majeure de décès dans le monde, à l'origine de 8,2 millions de décès en 2012. Les cancers du poumon, de l'estomac, du foie, du côlon et du sein sont ceux qui entraînent le plus grand nombre de décès chaque année. Par ailleurs, les types de cancer les plus fréquents ne sont pas identiques chez les hommes et chez les femmes. D'après les projections, la mortalité due au cancer devrait augmenter de 50 % d'ici 2030 (OMS., 2013).

Le cancer est donc le résultat de la multiplication anarchique de cellules anormales mutées d'un tissu, qui échappent aux mécanismes habituels de différenciation et de régulation lors de leur multiplication. Ces cellules sont capables d'envahir un tissu normal avoisinant, en le détruisant, puis de migrer dans d'autres compartiments de l'organisme pour former des métastases (Sudhakar., 2009).

Plusieurs voies thérapeutiques ont été décrites:

- La chirurgie
- La radiothérapie
- L'hormonothérapie
  
- **La chimiothérapie** : c'est un traitement qui fait appel à la capacité de certaines molécules chimiques à favoriser la mort des cellules cancéreuses par arrêt de la division des noyaux. La chimiothérapie fut initiée pendant la deuxième guerre mondiale mais ce n'est qu'en 1970 qu'apparaissent la majorité des médicaments. Une soixantaine de produits actifs sont utilisés et parmi eux, les anthracyclines, le sont dans 80 % des traitements. La chimiothérapie présente des effets secondaires touchant en général les cellules à division rapide provoquant des alopecies, nausées, diarrhées et mucites, ainsi qu'une cardiotoxicité, hépatotoxicité, neurotoxicité et néphrotoxicité (Teuffel et al., 2013).

C'est pourquoi, la chimiothérapie est encore très employée malgré les effets secondaires qui peuvent en résulter. Parmi les agents chimio-thérapeutiques les plus utilisés en milieu clinique pour le traitement de formes variées de cancers, figurent les anthracyclines. Cette famille d'agents anti-tumoraux regroupe de nombreuses molécules analogues. Parmi les anthracyclines les plus prescrits,

jusqu'à ce jour, on retrouve la doxorubicine (DOXO).

## I-2-Généralités sur les anthracyclines

Au début des années 60, des chercheurs français et italiens ont isolé simultanément la même molécule antibiotique à partir de souches de *Streptomyces caeruleorubidus* et *peucetius*. Le nom italien de cet antibiotique fut daunomycine (Di Marco et al., 1963), et le nom français fut rubidomycine (Dubost et al., 1963). Pour enfin de compte être actuellement distribué sous le nom de daunorubicine ou daunomycine (Arcamone et al., 1969).

Depuis les années 70 de nombreuses anthracyclines ont été développées au cours d'études in vitro et in vivo, et ont montré une large diversité dans leurs actions biologiques et chimiques. Parmi les analogues testés dans des études précliniques, beaucoup se sont avérés décevants en phase d'essais cliniques I et II (Muggia and Green., 1991).

### I-2-1- Activités biologiques des anthracyclines

- Les anthracyclines sont des agents intercalants dans l'ADN impliquant:
  - ✓ des inhibitions de synthèse de macromolécules,
  - ✓ des formations d'adduits d'ADN et de liaisons croisées.
  - ✓ l'altération de l'activité de l'hélicase.
  - ✓ des lésions de l'ADN par inhibition de la topoisomérase II.
- Les anthracyclines peuvent produire des radicaux libres, induisant des lésions à l'ADN et/ou des peroxydations lipidiques.
- Les anthracyclines peuvent avoir un effet direct sur les membranes (Corinne., 2001).

### I-2-2- Structure moléculaire

La structure des anthracyclines comprend deux parties:

- Une aglycone composée d'un noyau polycyclique tétracyclique hydrophobe quasi plan portant des fonctions quinones et hydroquinones, qui leur permet de fonctionner comme accepteur et donneur d'électrons.
- Un aminosucre, la daunosamine, lié au carbone C7 de l'aglycone par une liaison glycosidique.

Les agents cytotoxiques de cette classe ont tous une structure quinone et hydroquinone, qui leur permet de fonctionner comme accepteur et donneur d'électrons (Hortobágyi., 1997). Les structures moléculaires des principaux anthracyclines utilisées en clinique sont présentées dans la figure 01.

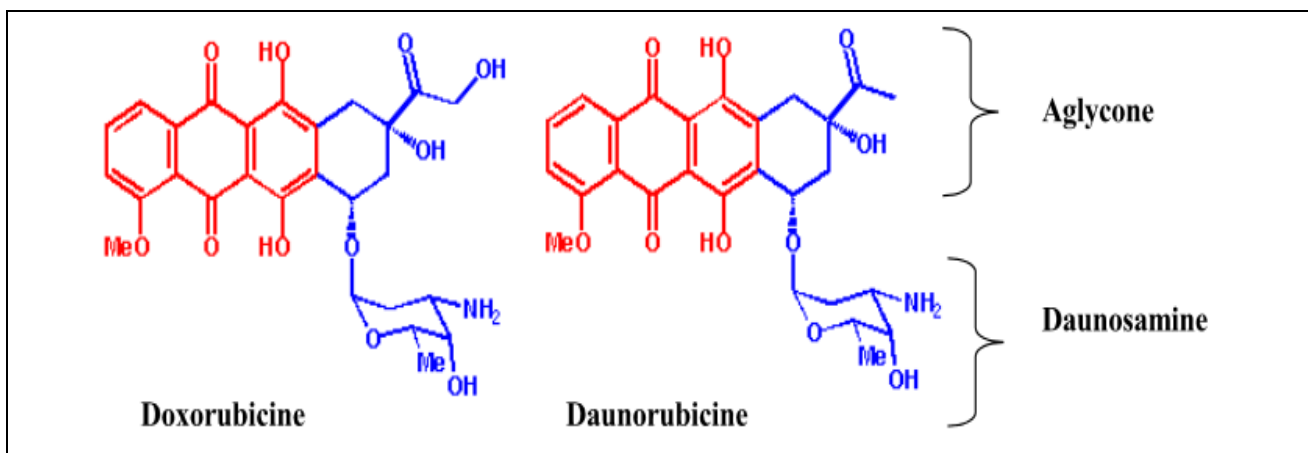


Figure 01: Les structures moléculaires de la doxorubicine et daunorubicine (Chahine., 2014).

### I-3- Doxorubicine (Adriamycine)

La doxorubicine est un médicament anticancéreux de la famille des anthracyclines. Produite tout naturellement par des actinobactéries de genre *Streptomyces*, elle a été isolée pour la première fois en 1960 et approuvée par la Food and Drug Administration (FDA) en 1974. Depuis, c'est le meilleur antinéoplasique connu et le plus utilisé, entre autres dans le traitement des cancers tels que les leucémies et les tumeurs solides (Mizutani et al., 2005).

Son administration se fait par voie intraveineuse afin d'atteindre rapidement la tumeur sans être trop dégradée (Hande., 1998). Les demi-vies de la doxorubicine sont: de 8 à 25 minutes, de 1h30 à 10h et de 24h à 48h. La présence de la deuxième phase de demi-vie serait due au métabolisme du médicament au niveau du foie, en doxorubicinol, et la troisième phase serait attribuable au relâchement du médicament des sites de liaison dans les tissus (figure 02). (Tannock and Hill., 1998). Tout d'abord, près de 99.8% de son accumulation se ferait au niveau du noyau chez des cellules sensibles à cause de sa très grande affinité avec l'ADN.

La doxorubicine ainsi que ses métabolites excrétés majoritairement par la bile. Cependant,

5% serait excrété par les voies urinaires ce qui expliquerait la coloration rouge de l'urine, soit la couleur de ce médicament, quelques jours après le traitement (Tannock and Hill., 1998).

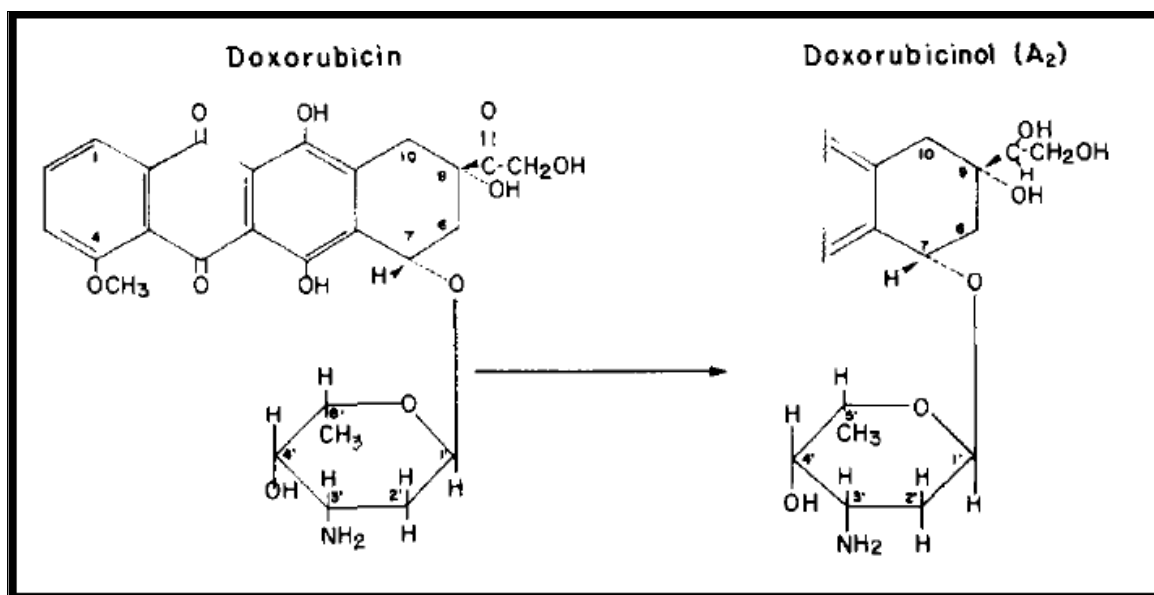
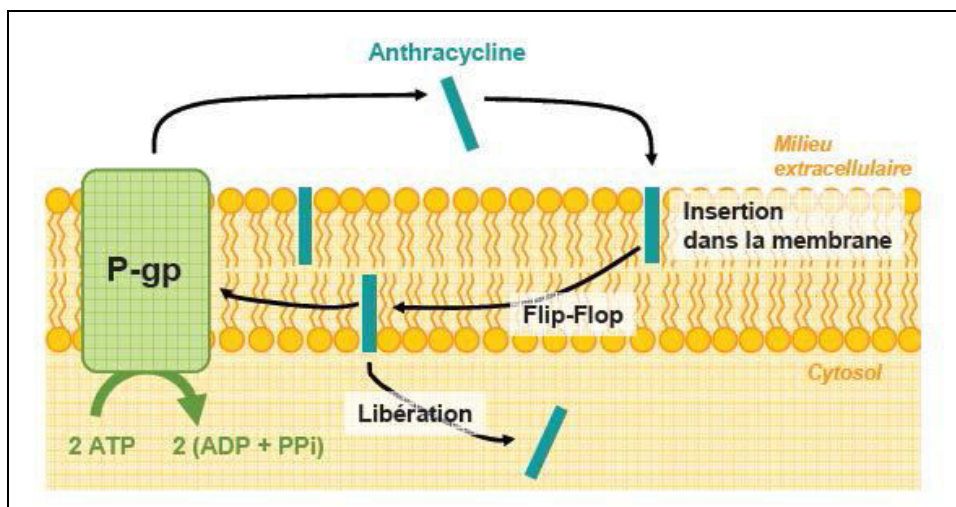


Figure 02 : Structure du Doxorubicine et de son principal métabolite Doxorubicinol (Boucek et al., 1997).

### I-3-1- La pharmacocinétique de la Doxorubicine

#### I-3-1-1-L'absorption et distribution

L'hydrophobicité de la doxorubicine associée à sa nature de base faible non chargée lui permet de diffuser passivement à travers la membrane plasmique par un mouvement de flip-flop du feuillet externe au feuillet interne. Elle atteint le noyau toujours par diffusion pour enfin se lier à l'ADN. Au p<sup>H</sup> physiologique intracellulaire (7.2-7.4), le groupement sucre se charge positivement, ce qui permet de stabiliser la drogue intercalée via des liaisons électrostatiques. Le transport transmembranaire de la doxorubicine associe ainsi une diffusion passive et un efflux actif par la P-glycoprotéine (P-gP) dont le mécanisme d'action n'est pas encore complètement élucidé. Son accumulation intracellulaire est fonction de la cinétique d'incorporation qui dépend des mécanismes d'influx et d'efflux (figure 03) (Gallois et al., 1996).



**Figure 3. Modèle de transport d'une molécule d'anthracycline par flip-flop (changement de position des molécules d'un feuillet de la bicouche à l'autre)(Gallois et al., 1996).**

La Doxorubicine injectée par voie intraveineuse est rapidement distribuée aux divers tissus du corps où elle est concentrée dans les noyaux des cellules, la concentration est élevée dans le foie et le cœur, les poumons, les reins, la rate et l'intestin grêle, tandis qu'une faible concentration dans le cerveau.

La demi-vie de distribution initiale d'environ 5 minutes, tandis que son élimination est lente à partir des tissus qui se traduisent par une demi-vie terminale de 20 à 48 heures. La Doxorubicine ne traverse pas la barrière hémato-encéphalique (Mross et al., 1990).

### I-3-1-2-Métabolisme hépatique

Le métabolisme de la Doxorubicine se déroule principalement au niveau du foie et est un processus très complexe et comprend plusieurs des interactions (figure4) :

- Réduction de la fonction carbonyle ( $C = O$ ) de l'atome de carbone numéro 13 dans de la chaîne latérale de la Doxorubicine à un groupement alcoolique (OH) et cela par stimulation de l'enzyme cytoplasmique (NADPH-dépendent Aldo-céto réductase) et formation du métabolite hydroxy Doxorubicine (figure 04), nommé doxorubicinol qui est le principal métabolite actif de ce médicament (Zhou et al., 2002).
- Déglycosylation en activant l'enzyme cytochrome P450 réductase et formation de hydroxy aglycones ou déoxy aglycones.

➤ Ensuite la Doxorubicine et ses métabolites sont excrétés par la bile sous forme de DOXO ou doxorubicinol après 24 heures d'absorption ou bien sous forme de sulfates et glucuronides après 48 heures.

La réduction enzymatique et le clivage en sucre de daunosamine aglycone sont accompagnés par la formation des radicaux libres.

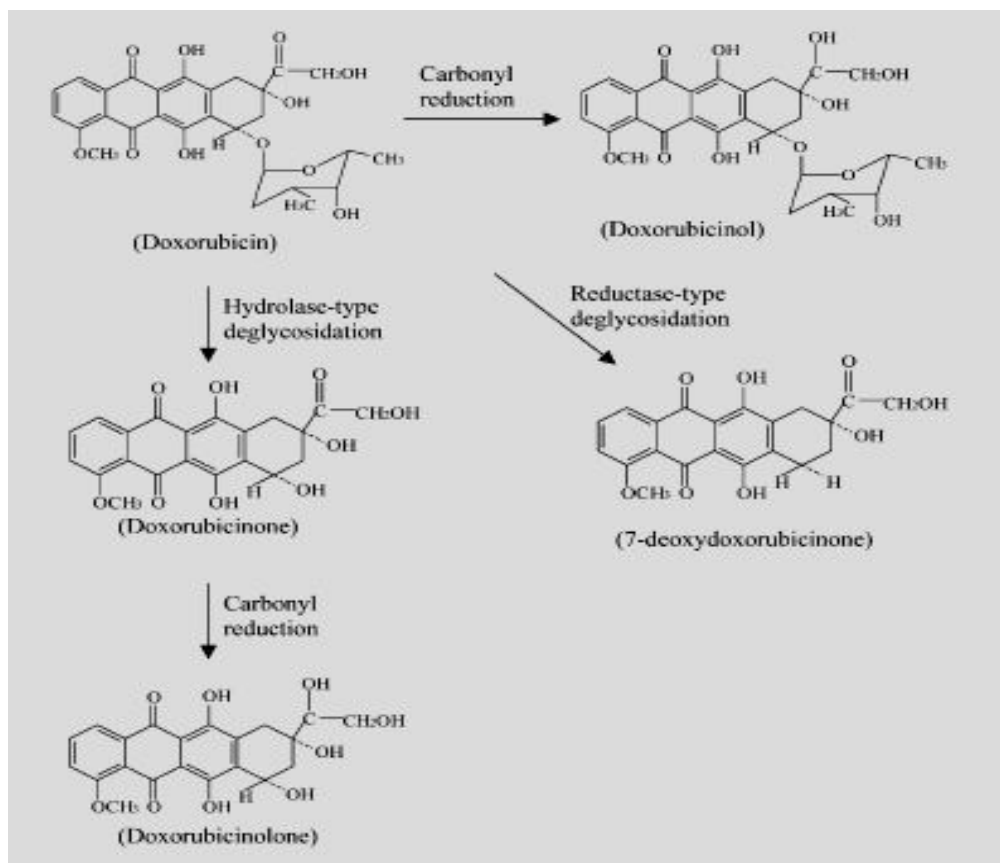


Figure 04 : métabolisme hépatique de la Doxorubicine (Zhou et al., 2002).

### I-3-1-3-L'élimination

L'élimination est biliaire. Environ 40% de la dose apparaît dans la bile en 5 jours, alors que seulement 5 à 12% du médicament et de ses métabolites apparaît au cours de la même période de temps dans l'urine (Zhou et al., 2002).

## **I-4- La doxorubicine et le stress oxydatif**

### **I-4-1- Le stress oxydant**

Le Stress Oxydant (SO) est actuellement défini comme "un déséquilibre de la balance entre les prooxydants et les antioxydants en faveur des premiers, conduisant à une perturbation du contrôle et de la signalisation redox des cellules et/ou à des dommages moléculaires" (Sies & Jones., 2007).

#### **I-4-1-1-Un radical libre**

Un radical libre est un atome ou une molécule possédant un (ou plusieurs) électron(s) non appariés dans son orbite externe. Cette propriété confère au radical la capacité de soustraire un ou plusieurs électrons à d'autres atomes ou molécules afin d'apparier son (ses) électron(s) célibataire(s), ce processus correspondant à un phénomène d'oxydation (Pacher et al., 2007).

les ERO sont indispensables au bon fonctionnement des cellules lorsque leur production est contrôlée et qu'il existe un équilibre entre la production des ERO et leur dégradation assurée par des systèmes de défenses antioxydants. Cependant, dans des conditions particulières cet équilibre peut être rompu provoquant une augmentation de la quantité d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN) intracellulaires. La cellule va alors tenter de contenir cette augmentation en sur-activant des systèmes antioxydants (synthèse d'enzymes antioxydantes). Si cette adaptation n'est pas suffisante et que cela conduit à une accumulation d'ERO, la cellule se trouve dans un état de stress oxydant (Mougeolle., 2014).

L'appellation espèces oxygénées réactives (EOR) inclut les radicaux libres de l'oxygène (radical superoxyde, radical hydroxyle, monoxyde d'azote, etc....) mais aussi certains dérivés réactifs non radicalaires dont la toxicité est plus importante tels que le peroxyde d'hydrogène et le peroxynitrite (Bartosz., 2003 ; Halliwell et al., 2004) (tableau 01).



Tableau 01 : Principales espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (Bartosz., 2003).

Espèces Réactives dérivées de l'Oxygène (ERO)		Espèces Réactives dérivées de l'Azote (ERN)	
Anion superoxyde	$O_2^{\circ-}$	Oxyde nitrique	$^{\circ}NO$
Radical hydroxyle	$^{\circ}OH$	Peroxynitrite	$ONOO^-$
Peroxyde d'hydrogène	$H_2O_2$	Acide proxy-nitreux	$ONOOH$
Radical Peroxyle	$ROO^{\circ}$	Dioxyde de nitrogène	$NO_2$
Hydro-peroxyde	$ROOH$		
Oxygène singulet	$^1O_2$		
Ozone	$O_3$		

#### I-4-1-2-Les systèmes antioxydants

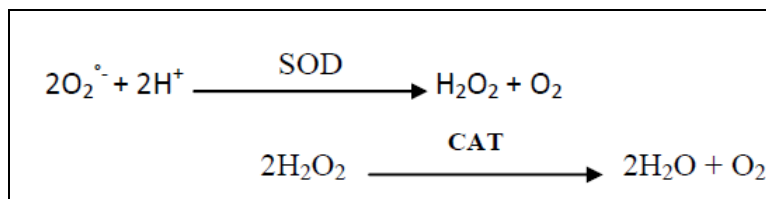
Le système de défense antioxydant correspond à l'ensemble des moyens mis en œuvre pour contrôler l'oxydation et ses effets négatifs. Il comprend plusieurs lignes de défenses qui visent à prévenir la formation des radicaux libres.

##### I-4-1-2-1-Les systèmes antioxydant primaires

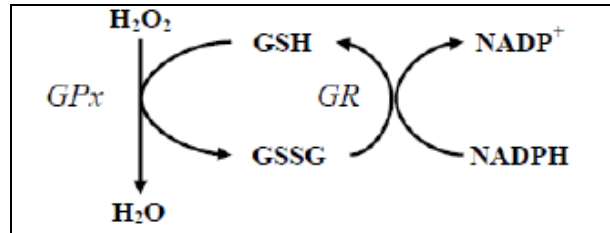
➤ **Les systèmes primaires enzymatiques :**

Les enzymes antioxydantes peuvent être classées en 2 groupes : les dismutases et les réductases.

➤ **Les dismutases :** elles ne nécessitent pas d'apport énergétique pour leur fonctionnement. Il s'agit de la superoxyde dismutase (SOD), et de la catalase (CAT).

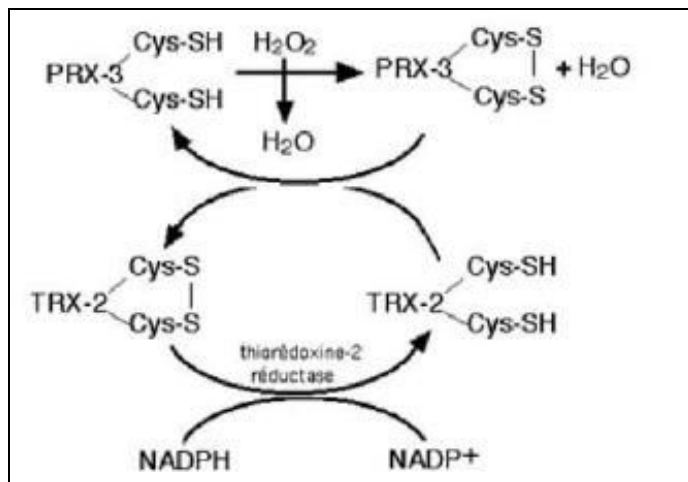


- **Les réductases** : elles consomment des cofacteurs réducteurs devant être régénérés. La glutathion peroxydase (GPx) représente l'enzyme la plus importante de ce groupe. Elle travaille en synergie avec la glutathion réductase (GR).



*Élimination du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par les réactions enzymatiques combinées de la GPx et de la GR.*

Plus récemment, d'autres enzymes antioxydantes ont été identifiées, comme le couple thiorédoxine (Trx)/thiorédoxine réductase (TrxR) et les peroxyrédoxines (Prx). Associées aux thiorédoxine réductases, les Trx constituent un élément clé de la régulation redox des cellules. Par transfert d'électrons (provenant des molécules de NADPH), la TrxR réduit la Trx, cette dernière pouvant alors réduire à son tour les protéines redox comme les Prx (schéma ci-contre). Les Prx, ou thiorédoxine peroxydases, exercent leur activité antioxydante par leur activité peroxydase (les substrats éliminés sont l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, le peroxy-nitrite, les hydroperoxydes) dans le cytosol, les mitochondries, les peroxysomes, dans le noyau et les membranes (Wood et al., 2003).



### ➤ Les systèmes primaires non-enzymatiques

Les enzymes antioxydantes ne constituent pas la seule protection contre les radicaux libres. Un autre type de protection est assuré par des substances capables de neutraliser un unique radical libre par molécule : on les appelle piègeurs stœchiométriques. Si l'activité enzymatique est insuffisante, l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène s'accumulent, des radicaux hydroxyles apparaissent, entraînant des peroxydations en chaîne des lipides membranaires. L'organisme ne possède pas d'enzymes antioxydantes luttant contre les radicaux alcoyles ( $RO^\circ$ ) et peroxy les ( $ROO^\circ$ ), mais les réactions de peroxydation lipidique peuvent être stoppées par les piègeurs de radicaux libres. Il s'agit de composés facilement oxydables présents dans le cytoplasme (glutathion, vitamine C) ou dans les membranes cellulaires (vitamine E,  $\beta$ -carotène) qui forment avec ces radicaux des composés plus stables. Notre alimentation comporte de nombreux antioxydants comme les vitamines et certains oligo-éléments. Ces antioxydants sont localisés soit dans la partie aqueuse de l'organisme soit dans la partie lipidique.

Parmi les antioxydants lipidiques, on trouve la vitamine E, le coenzyme Q10 ainsi que de nombreux caroténoïdes. Parmi les antioxydants hydrosolubles, la vitamine C est la plus connue. La plupart de ces antioxydants comme la vitamine E, la vitamine C, les thiols et le coenzyme Q10 sont basés principalement sur des réactions redox et agissent en synergie (Malardé., 2012).

### I-4-1-2-2-Les systèmes antioxydants secondaires

Les systèmes secondaires interviennent lorsque les ERO/ERN n'ont pu être éliminés et ont attaqué les constituants cellulaires entraînant des altérations plus ou moins graves. Les systèmes réparateurs vont tenter de réparer les lésions induites. Plusieurs grands systèmes se différencient. Concernant les protéines, ce sont **les systèmes protéolytiques** et autophagiques qui vont assurer l'élimination des protéines endommagées, de concert avec les protéines de choc thermique (HSP).

Pour les lipides, **le système lipolytique** répare les lipides membranaires en éliminant les acides gras peroxydés ou en les régénérant. La phospholipase A2 possède la propriété de couper les acides gras oxydés des phospholipides.

Enfin, les dommages oxydatifs au niveau de l'ADN sont pris en charge par certaines enzymes comme l'oxoguanine-DNA glycosylase (OGG1) (Bohr et al., 2002).

#### **I-4-2- Mécanisme d'action de la doxorubicine**

Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer l'activité anti-tumorale du DOX. (Gewirtz., 1999).

Deux principaux mécanismes:

- ✓ L'intercalation dans l'ADN conduisant à l'inhibition de la synthèse ou de l'intoxication par l'ADN de la topoisomérase II.
- ✓ La génération de radicaux libres, menant à l'ADN et les dommages aux membranes cellulaire.

##### **I-4-2-1-Interaction AND-Doxorubicine**

Les anthracyclines se lient de façon covalente aux doubles-brins de l'ADN pour former un complexe [ADN-anthracycline]. Ces liaisons se font principalement sur les résidus guanine de l'ADN et sont réversibles. Leur structure multi-cyclique plane leur permet de former des adduits ou ponts (cross link) en s'interposant entre deux paires de bases adjacentes dans la double hélice et d'y contracter des liaisons hydrophobes et électrostatiques. En s'intercalant dans l'ADN, les anthracyclines inhibent la réplication, la transcription et donc la synthèse protéique (figure 05) (Jain et al., 2005 ).

##### **I-4-2-2-Inhibition de l'enzyme topoisomérase II**

Les topoisomérases sont des enzymes chargées de réguler les conversions topologiques de l'ADN. Leur fonction est essentielle durant de nombreuses étapes du métabolisme de l'ADN et permettent le bon fonctionnement nucléaire. Les topoisomérases II induisent des cassures doubles brins transitoires de l'ADN afin de permettre à un segment de l'ADN de passer à travers un autre et ensuite ressouder les segments coupés. Les anthracyclines en s'intercalant à l'ADN stabilisent le complexe transitoire de clivage [ADN-enzyme] et empêchent la religation des brins par les topoisomérases II. Ainsi, la formation du complexe ternaire stable [anthracycline-ADN-topoisomérase II] stabilise les coupures double brins et prévient la topoisomérase II de relier les extrémités libres des segments coupés pour la restitution de la structure tridimensionnelle de l'ADN. L'inhibition de cette enzyme provoque un arrêt du cycle cellulaire en G2/M et la mort cellulaire.

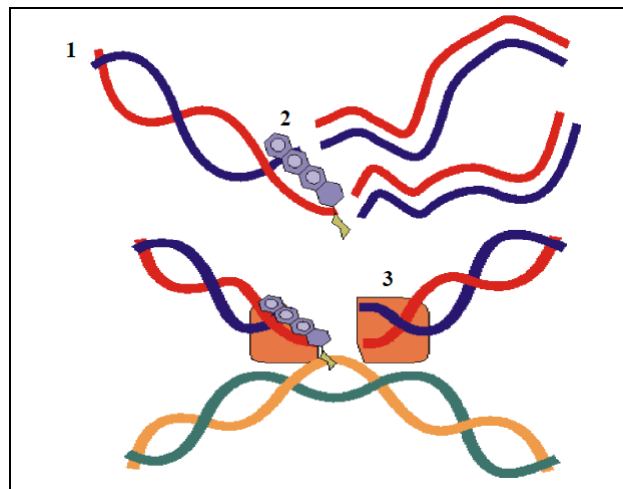
Les cellules en phase G0 ne possédant que peu de topoisomérases II sont peu sensibles à ces agents (figure 05) (Isaacs et al., 1995).

#### I-4-2-3-Inhibition de la synthèse d'ADN

L'action pro-apoptotique des anthracyclines est en partie initiée par une voie de signalisation impliquant la protéine P53. En effet, la doxorubicine peut induire l'expression de cette protéine de manière dose dépendante. La p53 se fixe sur l'ADN, y active la transcription du gène Bax (médiateur pro-apoptotique), qui induit la libération du cytochrome C par ouverture des pores mitochondrial, et inhibe celle du gène Bcl-xL (médiateur anti-apoptotique). La synthèse d'ADN est donc inhibée (Minotti et al., 2004).

#### I-4-2-4-Interaction avec les membranes plasmiques

la doxorubicine et les anthracyclines en général ont une très forte affinité pour les membranes lipidiques à travers lesquelles elles diffusent passivement. Elles s'associent directement avec les phospholipides par interactions ionique. La présence d'anthracyclines au sein de la bicouche lipidique peut altérer la structure et la fonction membranaire en modifiant les interactions lipides-lipides et lipides-protéines, notamment les protéines membranaires impliquées dans les voies de signalisation cellulaires. La doxorubicine peut ainsi exercer son action cytotoxique directement en modifiant les propriétés de fluidité membranaire (Lubgan et al., 2006).



**Figure 05 : Mécanisme d'action des anthracyclines: intercalation dans l'ADN et stabilisation de l'enzyme topoisomérase II. 1. ADN 2. Anthracycline 3. Topoisomérase II.**

## I-5- Pathologies et doxorubicine

### I-5-1-Doxorubicine et la cardiotoxicité

Les mécanismes d'action de la doxorubicine sont associés à l'intercalation dans l'ADN, la génération d'un stress oxydant et l'inhibition de la topoisomérase II. L'induction de ces mécanismes par la DOXO est à l'origine de l'activité anti-tumorale de la DOXO qui conduit à l'apoptose des cellules cancéreuses.

Cependant, l'induction de ces mêmes mécanismes est également à l'origine des atteintes des cardiomyocytes et de leurs voies de signalisation, conduisant à un remodelage cardiaque important (Mazevet., 2015).

Plusieurs hypothèses ont été énoncées: le stress oxydatif, la dérégulation de l'homéostasie calcique, l'inhibition de la cardiolipine et la production de métabolites (figure 06) (Suzanne., 2015).

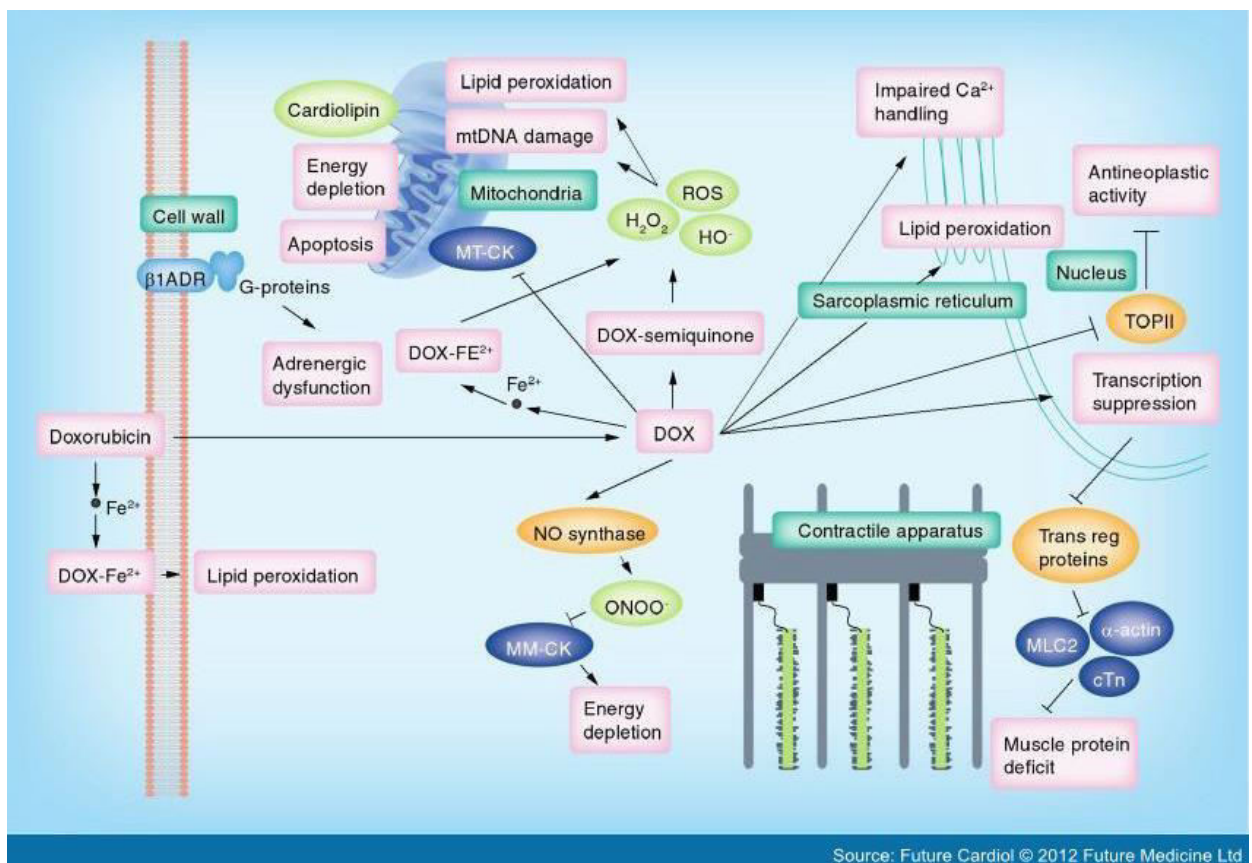


Figure 06: Mécanisme de toxicité cardiaque de la doxorubicine dans les cardiomyocytes (Chahine., 2014).

### I-5-1-1-Production des radicaux libres

La première hypothèse, est la production d'un stress oxydatif, qui joue un rôle important dans l'induction de la cardiotoxicité. Les cellules myocardiques sont particulièrement sensibles aux RL car elles sont pauvres en agents antioxydants comme la catalase et la SOD. Le stress oxydatif peut être produit par deux voies différentes, soit en présence d'enzymes capables de réduire la molécule, soit par son association avec des atomes de fer (Delemasure et al., 2006).

- ✓ La voie de la réduction par les flavines réductases placées au niveau de la membrane mitochondriale, les anthracyclines ont une structure de type quinone pouvant subir une réduction par les flavines réductases (cytochrome P450 réductase, NADH déshydrogénase), pour aboutir à la formation d'un dérivé semi-quinone radicalaire et induire une production accrue de RLO (Olson and Mushlin., 1990).
- ✓ La voie non enzymatique par la réaction d'Haber-Weiss avec liaison du cation  $Fe^{3+}$  avec trois molécules de doxorubicine puis réduction du  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$  avec transfert d'électrons. Cette voie fait intervenir la formation d'un complexe entre les anthracyclines et le fer (Minotti et al., 1999).
- ✓ La doxorubicine peut également produire via une production importante de ROS et de monoxyde d'azote (NO) des espèces réactives de l'azote (RNS) et plus particulièrement le peroxy-nitrite (ONOO) (Mukhopadhyay et al., 2009).

La production de ces radicaux libres entraîne l'oxydation de divers types de macromolécules dont les lipides, les protéines, les acides nucléiques et altère ainsi la fonction de tous les constituants cellulaires situés à proximité des lieux de leur formation et notamment du noyau, des mitochondries et du réticulum sarcoplasmique (Mazevet., 2015).

La peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés est responsable de l'altération et dégradation des fonctions membranaires: elle altère la physiologie des membranes cellulaires en induisant une diminution de leur fluidité membranaire, modifie leur perméabilité aux ions, entraîne l'inactivation d'enzymes et de récepteurs... L'oxydation des acides aminés modifie les structures secondaires et tertiaires des protéines, et entraîne des dénaturations, des fragmentations et la formation d'agrégats (Minotti et al., 2004).

### **I-5-1-2-L'homéostasie calcique**

Une autre hypothèse pouvant expliquer le développement d'effets cardiotoxiques est le dérèglement de l'homéostasie calcique des cellules. La doxorubicine a la capacité d'activer directement les canaux calciques et déléber le calcium du réticulum endoplasmique. L'activation des canaux par la doxorubicine permet d'augmenter leur probabilité de s'ouvrir et de relâcher le calcium dans le milieu (Octavia et al., 2012).

### **I-5-1-3-Liaison avec les phospholipides et l'altération du métabolisme énergétiques**

La troisième hypothèse est la capacité de la doxorubicine à se lier à des phospholipides. Des études ont démontré que la doxorubicine possède une affinité qui est approximativement 80 fois plus élevée pour la cardiolipine que pour les autres phospholipides. La présence de la cardiolipine est essentielle pour le bon fonctionnement de la mitochondrie. La doxorubicine en s'associant avec la cardiolipine, interfère avec sa capacité d'interagir avec les autres protéines et modifie ainsi le fonctionnement de la mitochondrie à produire l'énergie (Jung and Reszka., 2001).

En effet, une altération du métabolisme énergétique après traitement à la DOXO conduisant à une baisse des réserves énergétiques du cœur est observée. Cette altération est associée à la diminution de la production d'ATP (Tokarska-Schlattner et al., 2002).

### **I-5-1-4-La production de métabolites**

L'hypothèse énoncée peut expliquer que les métabolites produits sont plus toxiques que la molécule parentale. La doxorubicine est principalement métabolisée dans le cœur pour former un métabolite de l'alcool que l'on nomme la doxorubicinole, qui devient plus polaire et favorise sa rétention dans les cellules myocardiques. De plus, le métabolite formé semble jouer un rôle plus important que la doxorubicine dans l'homéostasie des ions fer. En dérégulant la disponibilité des ions ferriques et en produisant ainsi un stress oxydatif. Ce métabolite de la Doxorubicine entraînerait un dysfonctionnement dans la production d'énergie par la cellule, l'altération des membranes cellulaires et la perturbation dans les mouvements ioniques avec une accumulation de calcium intracellulaire avec perte de l'homéostasie calcique (Appel et al., 2007).



### **I-5-1-5-La mort cellulaire induite par la doxorubicine**

Une hypothèse physiopathologique est née du fait que les anthracyclines sont de puissants inducteurs d'apoptose impliqués dans le développement de l'insuffisance cardiaque cellulaire. L'induction d'un stress oxydant, de dysfonctions mitochondriales, de l'altération de l'homéostasie calcique et la signalisation  $\beta$ -adrénergique ainsi que l'inhibition d'un certain nombre de gènes cardiaques contribuent à l'activation des voies de mort des cardiomyocytes. Différentes voies de mort cellulaire peuvent alors être activées par la doxorubicine: l'apoptose, la nécrose et l'autophagie (Mazevet., 2015).

### **I-5-2-La Doxorubicine et l'hépto-toxicité**

L'ensemble des atteintes toxiques généralement figurées au niveau hépatique sont regroupées sous le mot hépto-toxicité. Ces atteintes dépendent fréquemment de la nature du toxique, la sévérité de l'intoxication, et ainsi du type d'exposition (aiguë ou chronique) : Stéatose, les hépatites aiguës (Nécrose, Fibrose, Cytolyse, Choléstase), les hépatites chroniques (Cirrhose), ainsi que les dommages vasculaires, biliaires et tumoraux (Wallace & Meyer., 2010).

La Doxorubicine, est un agent important qui a un large spectre contre les tumeurs humaines. Cependant, son utilisation dans la chimiothérapie du cancer est limitée à cause de sa toxicité. Sa structure chimique de base quinone, son métabolisme hépatique, ainsi son mécanisme d'action induisent la formation des radicaux libres qui sont à l'origine de l'hépto-toxicité induite par ce médicament. L'induction du stress oxydatif causée par la génération des radicaux libres, provoque un déséquilibre aux niveaux des enzymes antioxydantes endogènes : Il a été mentionné que La Doxorubicine cause une augmentation des niveaux du superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et le glutathion peroxydase (GPx) de cobayes (Durak et al., 1998).

Cependant, l'administration d'une dose unique de Doxorubicine diminue la teneur en cytochrome P-450 et le glutathion dans le foie du rat, et des niveaux élevés de glutathion ont été prouvés pour protéger les hépatocytes isolés de la toxicité induite par la Doxorubicine.

Cette perturbation dans le système enzymatique (antioxydant), se manifeste par la peroxydation lipidique et l'oxydation des protéines ce qui conduit à une lésion tissulaire hépatique (Marchand & Babson., 1981 ; Bagchi et al., 1995).

## II- Polyphénols

### II-1-Généralités

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leurs capacités à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ils s'accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (Macheix et al., 2005).

Les métabolites primaires sont des produits issus directement des photo-assimilats (sucres simples, acides aminés, protéines, acides nucléiques et organiques), qui participent à la structure de la cellule végétale ainsi qu'à son fonctionnement de base (Hopkins., 2003).

Les métabolites dits « secondaires » ce sont des composés différents en fonction des espèces et bien que leurs rôles soient encore mal connus, il est cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent. Ils sont probablement des éléments essentiels de la coévolution des plantes avec les organismes vivants (Krief., 2003).

### II-2-Classification des métabolites secondaires

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes :

Les terpènes, les alcaloïdes et les composés phénoliques. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Krief., 2003).

#### II-2-1-Terpénoïdes

Le terme terpène inventé par Kekulé, vient de leur origine historique de l'arbre de térébinth : «*Pistacia Terebinthus*» (Ayad., 2008). Ce sont des substances généralement lipophiles qui dérivent d'une entité simple à cinq atomes de carbones (Hopkins., 2003), synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux (Benaïssa., 2011).

#### II-2-2-Alcaloïdes

Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe, parmi les alcaloïdes on a » tels que la morphine, coca et caféine (Reven et al., 2000 ; Badiaga., 2011).

### II-2-3-Polyphénols

Les composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal (Bianco et al., 2006). On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement (Richter., 1993), contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème.

Le terme « phénol » en globe approximativement 10000 composés naturels identifiés (Martin et Andriantsitohaina., 2002). L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (figure 07), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (Bruneton., 1999 ; Balasundram et al., 2006 ).

Les composés phénoliques sont très nombreux et peuvent être divisés en plusieurs catégories. Ils possèdent par définition la structure des phénols avec au moins un groupement hydroxyle fixé sur un carbone appartenant lui-même à un cycle aromatique. En fait, l'appellation courante des phénols végétaux recouvre majoritairement des dérivés possédant plusieurs groupements phénoliques, d'où le nom de polyphénols, avec ou non d'autres groupements (OH alcooliques, carboxyles etc...). Ils sont souvent engagés dans des combinaisons notamment sous forme d'éthers, faisant intervenir une liaison C-O-C entre un OH alcoolique ou phénolique du noyau et un OH d'une molécule glucidique (Theeshan., 1995).

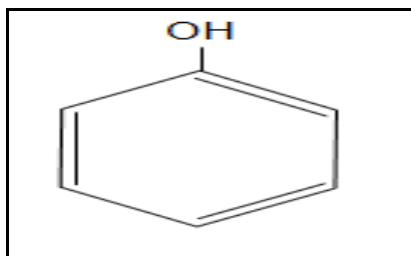


Figure 07: Structure du noyau phénol (Sarni-Manchado and Cheyner., 2006).

### II-2-3-1-Répartition des polyphénols au niveau des fruits et légumes

Plusieurs milliers de polyphénols ont été identifiés chez les plantes dont plusieurs centaines dans les plantes comestibles. Il est généralement admis que les humains ingèrent environ 1 gramme de polyphenols par jour (Tableau 02) (Akowauh et al., 2004).

**Tableau 02: Classement des fruits et légumes les plus riches en polyphénols (Michel., 2012).**

Position	fruits	Polyphénols totaux (mg GAE / 100g)	légumes	Polyphénols totaux (mg GAE / 100g)
1	fraise	263.8	Artichaut (cœur)	321.3
2	litchi	222.3	Persil	280.2
3	raisin	195.5	Choux de bruxelles	257.1
4	abricot	179.8	Echalote	104.1
5	pomme	179.1	Brocoli	98.9
6	Datte	99.3	Céleri	84.7

### II-2-3-2-Classification

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux (figure 08).

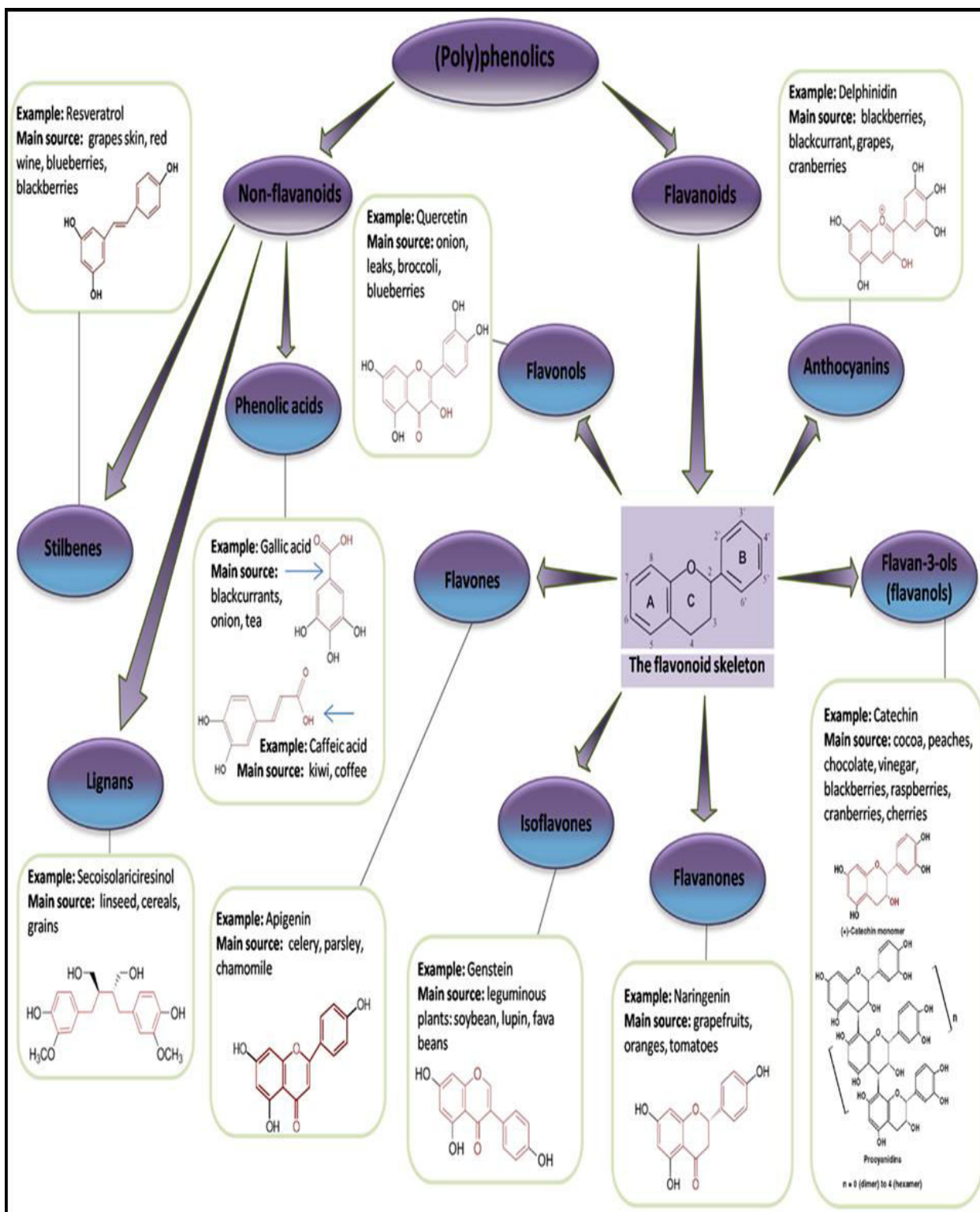


Figure 08: Classification et structure des principales classes de polyphénols (Katarzyna et al., 2015 ).

### II-2-3-2-1-Les acides hydroxybenzoïques

Les acides hydroxybenzoïques présentent une structure en C6-C1, composée d'un noyau benzénique sur lequel vient s'attacher une chaîne aliphatique à un carbone. On trouve l'acide vanillique, l'acide syringique, l'acide gentisique et l'acide gallique. Le principal composé est l'acide gallique dont la teneur est comprise entre 100 et 230 mg/kg (figure 09) (Chira et al., 2008).

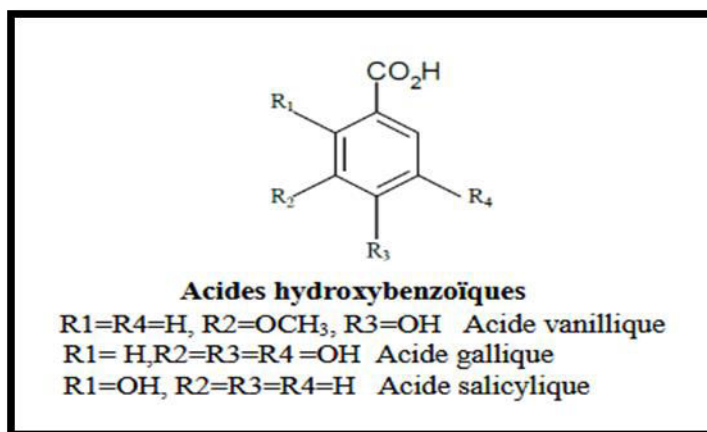


Figure 09 : Structure de l'acide hydroxybenzoïque (Macheix et al., 2005)

### II-2-3-2-2-Les acides hydroxycinnamiques

L'acide cinnamique est un composé C6-C3 produit par une désamination de la phénylalanine catalysée par la phénylalanine amonia-lyase (figure 10 ) (Chira et al., 2008).

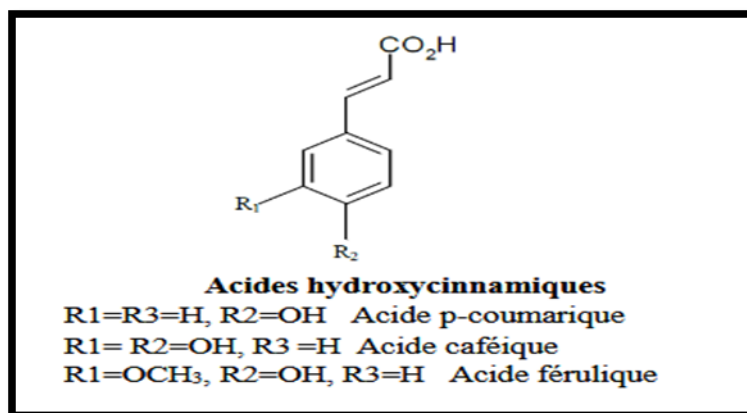


Figure 10 : Structure de l'acide hydroxycinnamique (Macheix et al., 2005)

### II-2-3-2-3-Les stilbènes

Sont des composés polyphénoliques qui ont une structure C6-C2-C6, deux noyaux benzéniques reliés par un pont méthylène. Ils sont produits par les plantes en réponse à des attaques fongiques, bactériennes ou virales, ce qui a été montré pour le trans- resvératrol. La réaction est catalysée par la stilbène synthase, les produits impliqués étant les mêmes que pour la synthèse des flavonoides, la seule différence concernant l'enzyme catalysant la réaction (Chira et al., 2008).

Ces composés sont en très petite quantité dans notre alimentation. Le plus connu d'entre eux est le resveratrol (figure 11), qui a été largement étudié pour ses propriétés anticancéreuses mises en évidence lors de l'étude des activités biologiques de plantes médicinales (Kundu., 2008).

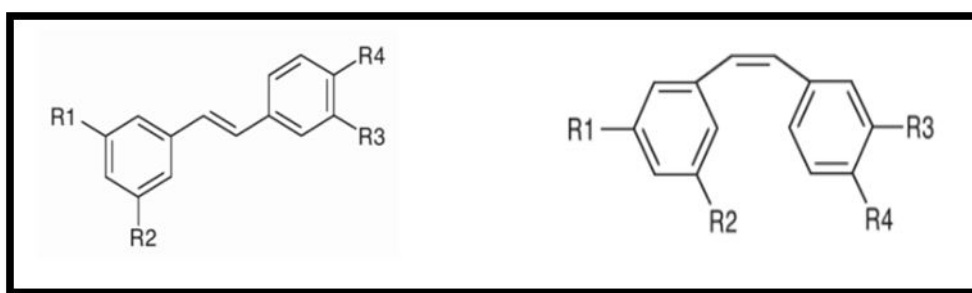


Figure 11 : Structure de base des stilbènes (tran ou cis) (Collin and Crouzet., 2011).

### II-2-3-2-4-Lignans

Les lignanes sont des dimères phénylpropanoïdes, où les unités phénylpropane sont liées par le carbone central (C8) de leurs chaînes latérales. Les lignanes varient considérablement selon le niveau d'oxydation, le motif de substitution et la structure chimique de leur structure carbone basique. En plus de la diversité structurale, les lignanes présentent une diversité considérable en termes de composition énantiomère, de biosynthèse et de distribution phylogénétique (figure 12) (Umezawa., 2003).

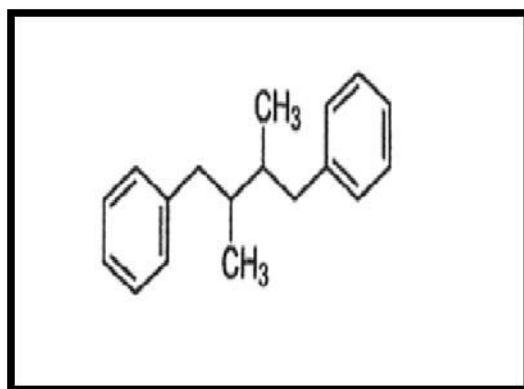


Figure12 : Structure de lignane (Jost and Jost – Tse., 2016).

#### II-2-3-2-5-Les tanins

Le terme tanin provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour «tanner» les peaux d'animaux, autrement dit pour transformer une peau en cuir. Ces extraits contiennent des dérivés phénoliques qui se lient aux protéines et donc les dénaturent (Hopkins., 2003). Ce sont des molécules fortement hydroxylées et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux (Alkurd et al., 2008).

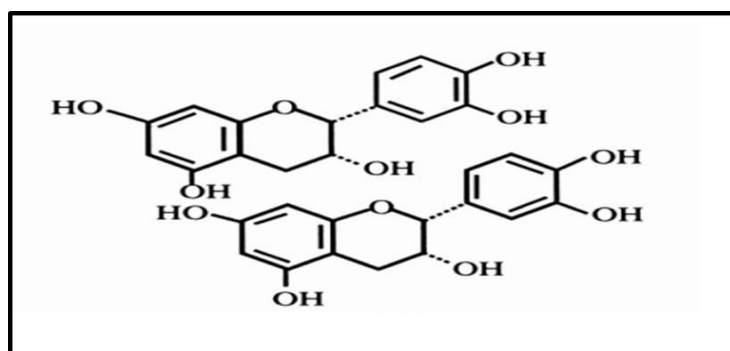


Figure 13 : Structure de tanins condensés (Cowan., 1999).



### 2-3-2-6-les flavonoïdes

Sont considérés comme la catégorie la plus importante des polyphénols et se caractérisent par leur faible poids moléculaire (Erdman et al., 2005; Maru et al., 2014). Les caractéristiques structurales des flavonoïdes peuvent « et peut » être utilisées pour la classification en différents groupes. La structure de base des flavonoïdes consiste en un noyau flavan (2-phénylchromane) contenant 15 atomes qui constituent trois anneaux (anneau A (C6), anneau B (C6) et anneau C (C3)) (Dayem et al., 2016). La variation entre flavonoïdes dépend de ce qui suit:

- Des changements dans le C-anneau (présence du groupe 3-hydroxyle, et une liaison double ou un groupe 4-oxo).
- Des changements dans les cycles A et B, tels que la différence dans nombre et la position des groupes hydroxyle et méthoxyle.

Si un ou plusieurs groupes de sucre se lient à la structure flavonoïde, ils sont appelés "glycosides flavonoïdes", tandis que les flavonoïdes sans sucre sont décrits comme des "aglycones". Les flavonoïdes alimentaires sont principalement des «flavonoïdes glycosides», à l'exception des flavanols (Dayem et al., 2016).

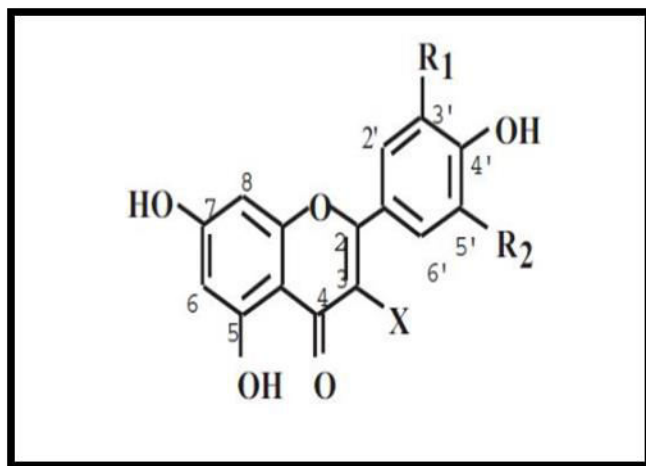


Figure14 : Structure de base des flavonoïdes (Lugasi et al., 2003).

Les principaux groupes de flavonoïdes peuvent être définis et différenciés comme suit :

### ✚ Flavonols

Les flavonols sont des composés flavonoïdes largement répandus, et surtout la quercétine, sont largement distribués dans les plantes et sont présents en quantités considérables dans les fruits et légumes. En plus de leur effet anti-oxydant, les flavonols interfèrent avec un grand nombre de voies de signalisation biochimique et, par conséquent, des processus physiologiques et pathologique. (Perez-Vizcaino et al., 2010).

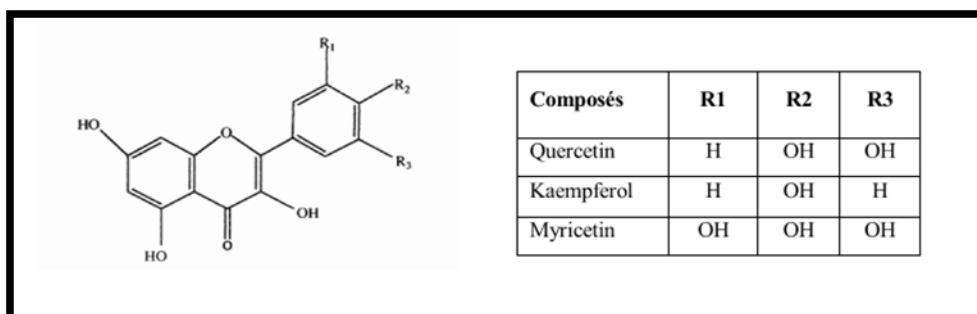


Figure 15 : Structure des flavonols (O'connell and Fox., 2001).

### ✚ Flavones

Les flavones sont structurellement très proches des flavonols. Les flavones « étant » se présentant principalement sous forme de glucosides. Ils ont des activités physiologiques remarquables, notamment des propriétés antimicrobiennes et antivirales (Stafford., 1990 ; Chira et al., 2008).

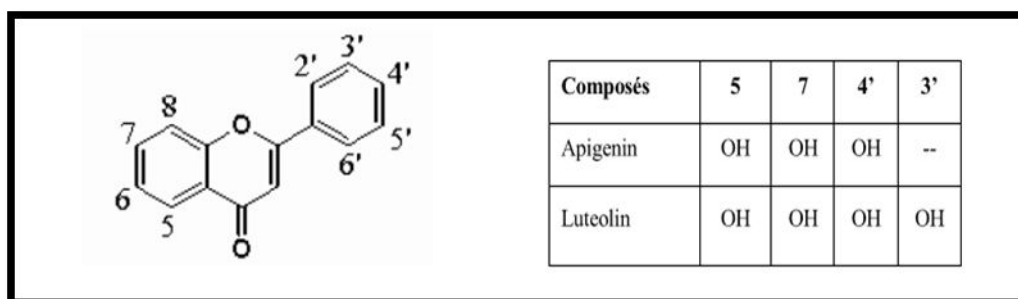


Figure 16 : Structure des flavones (Yordi et al., 2012).

### ✚ Flavanones

Les flavanones sont les premiers produits de la voie de synthèse des flavonoïdes. La structure des flavanones est très réactive et donne lieu à des réactions d'hydroxylations, de méthylations et de glycosylations. Ils sont caractérisés par la présence d'un hétérocycle saturé à trois carbones en chaîne et un atome d'oxygène dans la C4. Ils sont généralement glycosylés par un disaccharide en C7 (Tapas et al., 2008 ; Chira et al., 2008).

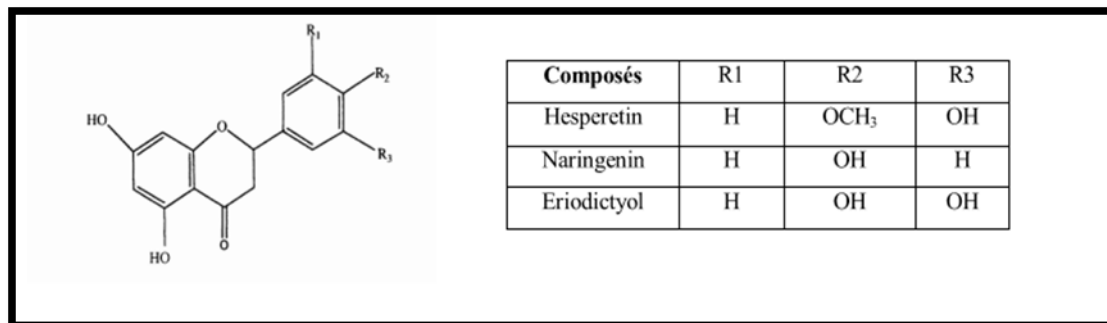


Figure 17: Structure des flavanones (O'connell and Fox., 2001).

### ✚ Isoflavones

Les isoflavones ont des similitudes structurales avec les œstrogènes, à savoir des groupes hydroxyles dans les positions C7 et C4, comme molécule d'œstradiol. Ils peuvent se lier à l'œstrogène récepteur et sont classés ainsi que les phyto-œstrogènes. Les isoflavones sont contenues presque exclusivement dans les légumineuses (D'Archivio et al., 2007 ; Tapas et al., 2008).

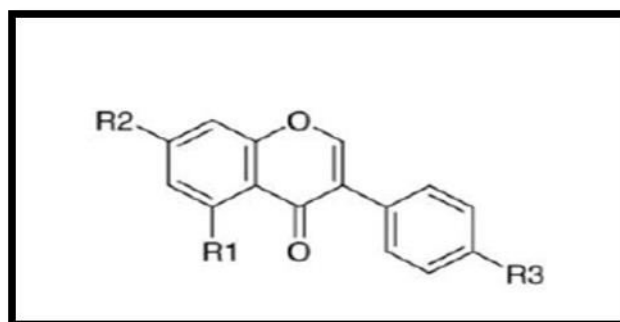


Figure 18: Structure des isoflavones (Rijik et al., 2006).

### ✚ Anthocyanidines

Les anthocyanes possèdent une structure de base, le 2-phényl-1-benzopyrilium (cation flavylium) constituée de trois cycles aromatiques, responsable du pouvoir absorbant (chromophore). Cette structure porte plusieurs fonctions hydroxyles dont l'une est glycosylée par des différents oses (glucose, galactose, rhamnose, arabinose), omigosides ou hétérosides (Samouelian et al., 2009).

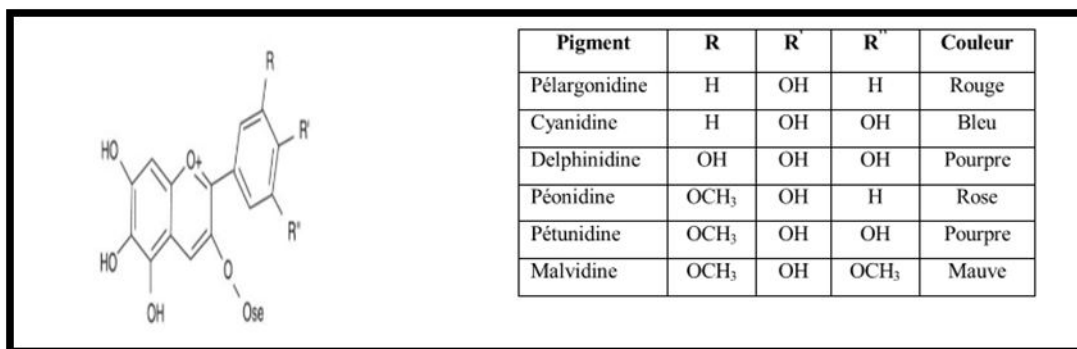


Figure 19 : Structure de base des anthocyanes (Samouelian et al., 2009).

### II-2-3-3-Biodisponibilité des polyphénols

La biodisponibilité peut être définie comme la fraction réelle d'un composé ou d'un nutriment ingéré qui atteint la circulation systémique et les sites spécifiques où elle peut exercer son action biologique (Gaston., 2016).

De nombreux facteurs susceptibles d'interférer avec la biodisponibilité existent, la structure chimique propre à chaque composé est bien sûr déterminante puisque les composés phénoliques existent très souvent sous forme de polymère sous formes glycosylées, formes qui ne peuvent être absorbées telles quelles (Sarni-Manchado and Cheynier., 2006).

### II-2-3-3-1-Absorption et métabolisme des polyphénols

Les concentrations en composés phénoliques dans la circulation sanguine dépendent de leur métabolisme et de leur absorption depuis le tractus gastro-intestinal (Gaston., 2016).

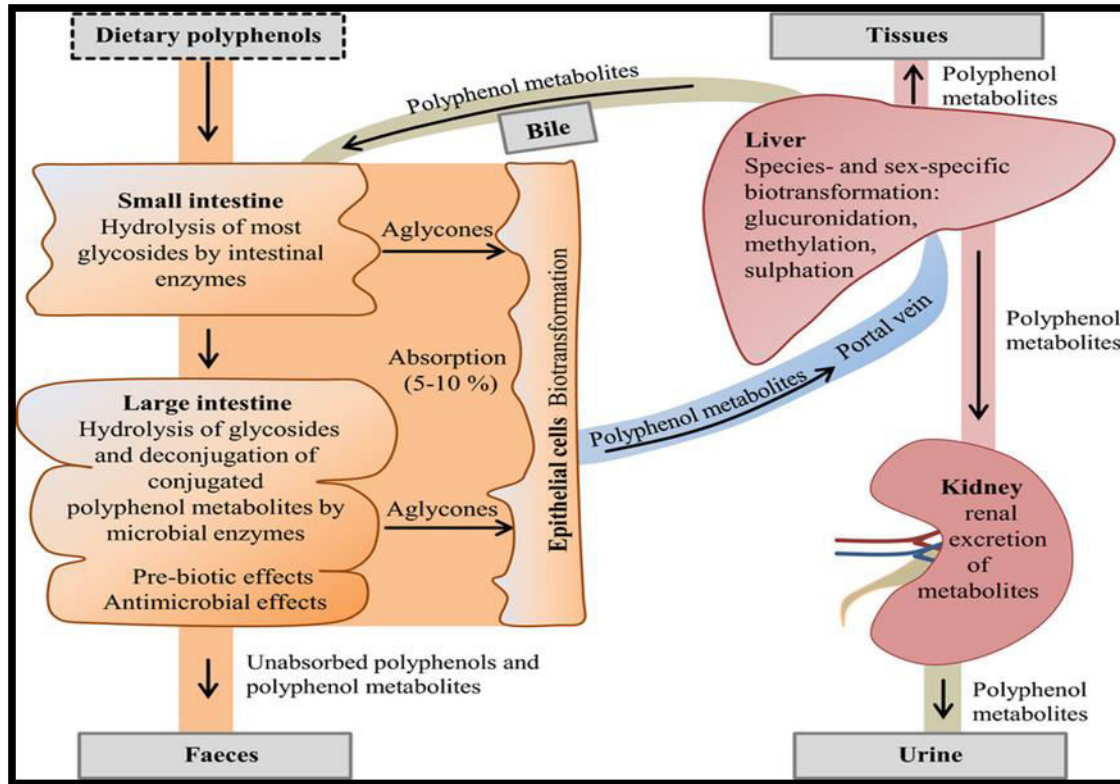


Figure 20: Aperçu de l'absorption et du métabolisme des polyphénols végétaux chez les animaux de ferme monogastriques (Denise et al., 2016).

#### ➤ Absorption au sein de l'estomac

Seuls les anthocyanes et quelques acides hydroxycinnamiques sous forme liée tels que l'acide chlorogénique peuvent être absorbés directement à partir de dans l'estomac (Manach et al., 2005).

#### ➤ Absorption à partir de dans l'intestin grêle

Dans les animaux monogastriques, une petite partie (5-10%) des polyphénols végétaux, qui existent principalement comme esters, glycosides ou polymères, est absorbée dans l'intestin grêle après avoir été hydrolysée par des enzymes digestives ou microbiennes. Étant donné que les polyphénols sont reconnus comme des xénobiotiques par le système de biotransformation du corps, la plupart des polyphénols sont fortement bio-transformés par des voies classiques de

désintoxication (méthylation, glucuronidation, sulfatation) dans les entérocytes et le foie à un grand nombre de conjugués hydrophiles (méthylés, glucuronidés et sulfatés) métabolites, qui peuvent atteindre partiellement le sang et les tissus, mais sont également rapidement excrétés par l'urine et la bile. (Denise et al., 2016).

Les aglycones de polyphénols (ex: les flavanols) et les O- $\beta$ -D-glucosides peuvent être notablement absorbés dans le petit intestin, les premiers par diffusion passive, les seconds selon deux mécanismes (Day et al., 2003).

#### ➤ Absorption a partie du dans le colon

La grande proportion de polyphénols, qui traversent l'intestin grêle sans être absorbée (environ 90% à 95% des polyphénols ingérés), ainsi que les métabolites de polyphénols conjugués excrétés du foie par la bile entrent dans le côlon et sont bio-transformés et / ou déconjugués avec l'aide des activités enzymatiques du microbiote du côlon à divers métabolites de polyphénols.

Les métabolites de polyphénols dans le côlon peuvent ensuite être partiellement absorbés dans la circulation après avoir été conjugués à nouveau dans l'entérocyte et le foie, servent en partie comme substrats favorisant la croissance (effet pré-biotique) ou substances antimicrobiennes pour les bactéries du microbiote du côlon et la partie restante des métabolites de polyphénols non-absorbés et non métabolisés est excrétée par les selles (Denise et al., 2016).

#### II-2-3-4-Activité biologique des polyphénols

Les polyphénols naturels ont montré de nombreuses activités biologiques et des avantages pour la santé pour la prévention et le traitement des maladies liées à l'âge, des cancers, des maladies cardiaques, etc....

**Tableau 03: Principales activités biologiques des composées phénoliques (Donatien., 2008).**

Les polyphénols	Activités biologiques
<b>flavonoïdes</b>	Anti-cancérogène, Anti-ulcéreuses, Anti-inflammatoires, Analgésiques, Anit athérogéniques, Anti-thrombotiques, Anti-allergéniques, vosodilatatoires, Anti-virales, osteogène.
<b>coumarines</b>	Anti-cancérogène, Anti-inflammatoires, Analgésiques, Anit-athérogéniques, Anti-thrombotiques, Anti-allergéniques.
<b>Acides phénoliques</b>	Anti-ulcéreuses, Anit-athérogéniques, Anti-thrombotiques, Anti-allergéniques.
<b>lignanes</b>	Anti-inflammatoires, Analgésiques, Anit-athérogéniques, Anti-thrombotiques, Anti-allergéniques
<b>Les autres classes</b>	Anti-inflammatoires, Analgésiques, Anit-athérogéniques, Anti-thrombotiques, Anti-allergéniques

#### II-2-3-4-1-L'activité antioxydants des polyphénols

Le rôle des antioxydants dans la nutrition et la santé, ainsi que leurs mécanismes d'action, ont fait l'objet de recherches approfondies.

Les polyphénols agissent principalement comme antioxydants primaires, en stabilisant les radicaux peroxydases mais ils peuvent aussi désactiver les espèces oxygénées réactives, inhiber la lipoxygénase ou encore chélater les métaux (Sarni-machado and Cheynier., 2006).

##### Inhibition enzymatique

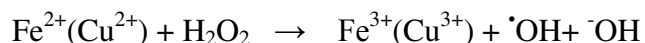
Les polyphenols ont une capacité de se lier avec beaucoup de protéines globulaires, notamment des enzymes, des récepteurs et transporteurs (Dangles., 2012).

Les phénomènes d'interaction polyphénols-protéines ont été largement étudiés in vitro, particulièrement dans le cas des flavonoïdes : inhibition d'une grande variété d'enzymes ( Haslam .,1996 ; Havesteen., 2002). Afin de préciser le mécanisme d'action de l'activité inhibitrice des flavonoïdes, des études ont été réalisées sur l'effet de la quercétine sur l'oxydation de l'acide linoléique par une lipoxygénase. Les auteurs ont constaté que le mécanisme d'inhibition des lipoxygénases par la quercétine ne serait pas dû à une oxydation du  $Fe^{2+}$ , mais plutôt à une inhibition irréversible résultant des liaisons covalentes entre l'enzyme et les dérivés oxydés de la quercétine (quinone ou radical phénoxy) (Chebil., 2006).

De nombreux flavonoïdes sont aussi de puissants inhibiteurs des métalloenzymes lipoxigénase, myéloperoxydase et NADPH oxydase (Dangles and Dufour., 2008).

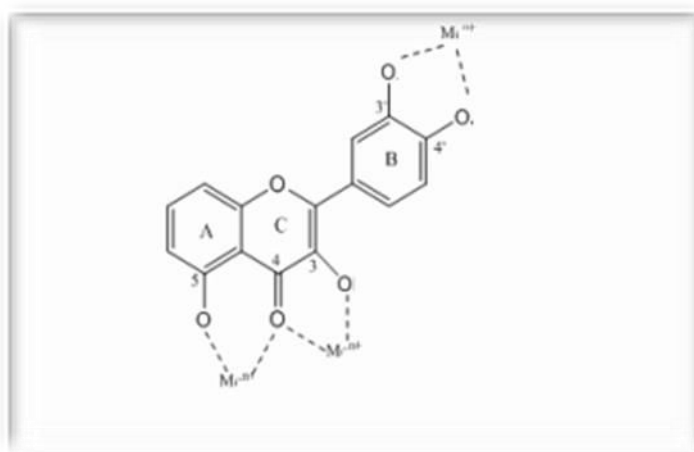
### ✚ Chélation des ions métalliques

Les polyphénols contribuent à l'inhibition de la formation des radicaux libres par la chélation de métaux de transition tels que le fer ( $\text{Fe}^{2+}$ ) et le cuivre ( $\text{Cu}^+$ ), les ions du fer ou du cuivre sont essentiels pour de nombreuses fonctions physiologiques, mais ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon la réaction de fenton (Hider et al., 2001).



En outre, l'auto-oxydation des ions  $\text{Fe}^{2+}$  et  $\text{Cu}^{2+}$  est une source de superoxyde et peroxyde d'hydrogène. la chélation des ions métalliques par les flavonoïdes nécessite trois sites principaux (Heim et al., 2002 ;Pietta., 2000)

- ✓ noyau catéchol sur le cycle B .
- ✓ les groupe 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C .
- ✓ le groupe 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycles A et C.



**Figure 21: Les flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques (Van et al., 1996)**



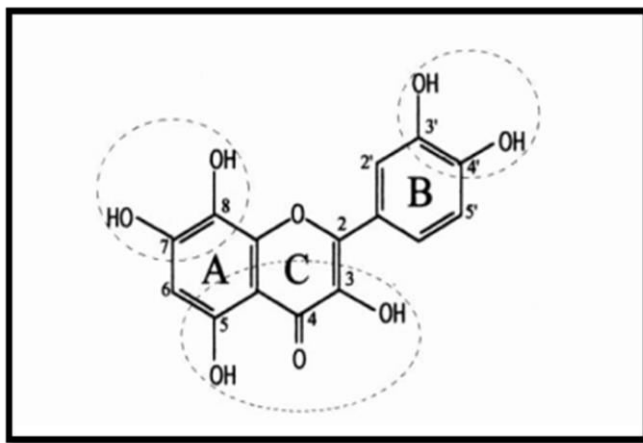
### ✚ Piégeage des radicaux libres

La réduction de divers radicaux par les polyphénols a été beaucoup étudiée afin de déterminer les éléments majeurs de l'activité antioxydante à cause de leur faible potentiel redox (Jovanovic et al., 1994). Les antioxydants de flavonoïdes fonctionnent comme des charognards des radicaux libres par la donation rapide d'un atome d'hydrogène aux radicaux (Amic et al., 2003).

Les flavonoïdes en général et les flavan-3-ols en particulier sont de bons piègeurs des radicaux libres (Fraga., 2007).

L'exigence structurelle considérée comme essentielle pour l'élimination efficace des radicaux par les flavonoïdes est :

- La présence d'un 3'-4'-dihydroxy, c'est-à-dire, un groupe o-dihydroxydans le cycle B, possédant un donneur d'électrons et être une cible radicale.
- La double liaison C2-C3 conjuguée à un groupe 4-céto, qui est responsable de l'électron de l'anneau b, améliore encore la capacité de balayage des radicaux, et la saturation de la liaison 2,3-double est censée provoquer une perte d'activité potentielle.
- La présence à la fois des groupes 3-OH et 5-OH en combinaison avec une fonction 4-carbonyle et une double liaison C2-C3 augmente l'activité de piégeage du radical (figure 22) (Amic et al., 2003).



**Figure 22 : Les caractéristiques structurales des flavonoïdes avec une activité de piégeage des radicaux libres élevée (Amic et al., 2003)**

#### **II-2-3-4-2-Activité anti-tumorale des polyphénols**

L'effet des polyphénols sur les lignées de cellules cancéreuses humaines est fréquemment protecteur et induit une réduction du nombre de tumeurs et de leur croissance, de nombreux polyphénols, tels que la quercétine, les catéchines, les isoflavones, les lignanes, les flavanones, les polyphénols à vin rouge, le resvératrol ou la curcumine ont été testés; tous a montré des effets protecteurs dans certains modèles (Scalbert., 2005).

Les polyphénols peuvent agir comme agents bloquants au stade de l'initiation. Ils influencent le métabolisme des procarcinogènes en modulant l'expression des enzymes du cytochrome P450 impliquées dans leur activation à des agents cancérogènes. Ils peuvent également faciliter leur excrétion en augmentant l'expression des enzymes conjuguantes de phase II (Scalbert., 2005).

Les substances polyphénoliques sont capables d'activer les mécanismes naturels de la défense anticancéreuse. En effet, les premiers stades de la phase d'initiation cancéreuse peuvent être bloqués par la capacité des tissus cibles à intercepter et à métaboliser les agents mutagènes. Des cellules impliquées, comme les hépatocytes, synthétisent des enzymes dites de phase I (notamment des monooxygénases, telles que les cytochromes P-450) qui peuvent oxyder les substances mutagènes hydrophobes en produits constituant le substrat des enzymes de phase II (glucoronyl transférases, sulfotransférases...) (Ames et al., 1995; Jhonson., 1999). De plus, ils suppriment les phases finales de la carcinogénèse telles que l'angiogénèse et les métastases (Delmas et al., 2006).

#### **II-2-3-4-3-Activité antibactérienne des polyphénols**

L'activité antimicrobienne des polyphénols dans les aliments végétaux et les plantes médicinales a été largement étudiée contre une large gamme de microorganismes. Parmi les polyphénols, les flavane-3-ols, les flavonols et les tanins ont reçu plus d'attention du à leur large spectre et forte activité antimicrobienne par rapport aux autres polyphénols (Daglia., 2011).

Les flavonoïdes agiraient à plusieurs niveaux: le cycle B jouerait un rôle important dans l'intercalation avec les acides nucléiques inhibant ainsi la synthèse d'ADN et d'ARN des microorganismes, ils peuvent également inhiber l'ADN gyrase d'*Escherichia coli* (Wu et al., 2013). Certaines catéchines (flavan-3-ols), la 2,4,2'-trihydroxy-5'-méthylchalcone, la naringénine et la quercétine possèdent un effet antibactérien en provoquant un changement de perméabilité membranaire. Les licochalcones interféreraient avec le métabolisme énergétique en inhibant la NADH cytochrome C réductase (Cushnie et al., 2005).

### II-2-3-4-4-Activité anti-inflammatoire

Les polyphénols sont des composés naturellement présents dans les plantes avec une large gamme de fonctions biologiques. En plus de leurs propriétés anti-oxydantes bien documentées, les polyphénols alimentaires ont exercé une variété de bioactivités précieuses, y compris les propriétés anti-inflammatoires (Link et al., 2010 ; Bakker et al., 2010). Les flavonoïdes possèdent des propriétés anti inflammatoires et qui sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation athérosclérotique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires (González-Gallego et al., 2007) .

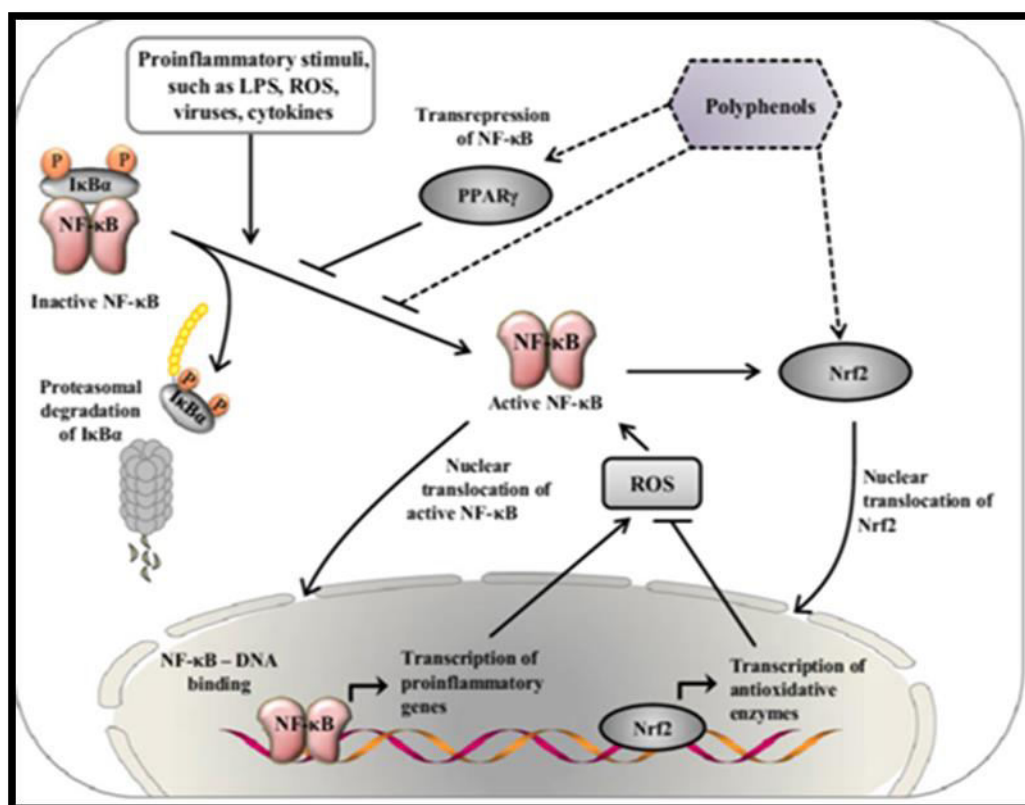


Figure 23 : Un aperçu simplifié des mécanismes clés par lesquels les polyphénols empêchent l'inflammation (Denise et al., 2016).

Les stimuli pro-inflammatoires tels que les lipopolysaccharides (LPS), les espèces réactives d'oxygène (ROS), les virus ou les cytokines activent le facteur nucléaire kappa B (NF- $\kappa$ B), qui est le régulateur central de l'inflammation. L'activation se produit par la phosphorylation et la libération de la sous-unité inhibitrice  $\kappa$ B (I $\kappa$ B) qui est dégradée par le protéasome. Le NF- $\kappa$ B activé se transforme en noyau et déclenche la transcription d'un large spectre de gènes pro-inflammatoires.

Les polyphénols sont capables de bloquer l'activation de NF- $\kappa$ B directement par inhibition de la phosphorylation d'I $\kappa$ B et par balayage de ROS. En outre, les polyphénols sont capables d'inhiber l'activation de NF- $\kappa$ B de manière indirecte, par activation de PPAR $\gamma$  qui provoque la transrépression de NF- $\kappa$ B et en activant le facteur 2 du facteur nucléaire erythroïde (Nrf2). Nrf2, un facteur de transcription redox sensible, stimule la transcription d'enzymes antioxydantes qui sont utiles pour éliminer les ROS (figure 23) (Denise et al., 2016).

**PARTIE II**  
**MATERIELS**  
**ET**  
**METHODES**

## Matériels et méthodes

### 1- La plante

Dans cette étude on a utilisée l'extrait butanolique de la plante *Verbascum sp.*, C'est une plante bisannuelle décrit pour la première fois en 1890 par Battendier. J. A dans la flore de l'Algérie. Cette plante a été authentifiée par Dr Sarri (département de biologie, université de Msila, Algérie).

#### ➤ Classification

Domaine : *Eukaryota*

Règne : *Plantae*

Sous-règne: *Viridiaeplantae*

Embranchement : *Magnoliophyta*

Sous-embranchement : *Euphyllophytina*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Lamiidae*

Super-ordre: *Lamianae*

Ordre : *Scrophulariales*

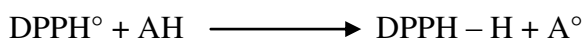
Famille : *Scrophulariaceae*

Genre: *Verbascum*

Espèce : *Verbascum sp.*

### 2- Activité antioxydante *In vitro*

La capacité antiradicalaire de l'extrait butanolique est évaluée *in vitro* par la méthode de DPPH° (2, 2 - Diphenyl-1-picrylhydrazyl) rapporté par Tepe et al., (2005). La méthode de mesure du pouvoir antioxydant par le DPPH repose sur la capacité d'un composé à réduire le DPPH° :



Cette méthode spectrophotométrique est basée sur la capacité des atomes d'hydrogène dans l'extrait à décolorer la couleur de la solution méthanol de 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) utilisé comme réactif.

Plusieurs concentrations de l'échantillon dans le méthanol sont ajoutées au 3ml de solution de DPPH (0,004% de méthanol).Après une période de 30mn d'incubation dans la température de la chambre.

Le calcul des pourcentages d'inhibition est par la formule suivante :

$$I \% = ((Ac - At) / Ac) \times 100$$

Ac : absorbance du contrôle.

At : absorbance du test effectué.

- **Calcul des IC<sub>50</sub>**

IC<sub>50</sub> ou concentration inhibitrice de 50 % (aussi appelée EC50 : Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH°.

Les IC<sub>50</sub> sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés de pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées.

### 3-Expérimentations animale

#### 3-1-Animaux et conditions d'hébergement

Les animaux d'expérience sont des rats femelles de souche *Wistar Albinos*, pesant entre (150-200) g. Dès leur réception, les rats sont placés aléatoirement en groupe de 6 dans des cages standard pour une période d'acclimatation (2 semaines) avant d'être utilisés dans les différentes expériences. Pendant cette période les animaux ont un accès libre à la nourriture et à l'eau et sont maintenus dans une animalerie à température constante, soumis à un cycle de lumière/obscurité de 12/12h.

#### 3-2-Toxicité aigue par la Doxorubicine

Rats ont été divisés en 6 groupes (n=7):

- **(T)** Contrôle groupe: les rats non traités ;
- **(E100)** traitement pendant 10 jours avec l'extrait butanolique de la plante *Verbascum sp.* à la dose 100mg/kg (par gavage);
- **(D)** : group traité par Doxorubicine ; une seule injection intra-péritoniale (IP) à la dose 15mg/kg au 7<sup>ème</sup> jours du traitement (Ashour et al., 2011);
- **(E100+D)** : préventif, reçoit l'extrait butanolique pendant 7 jours ; au 7<sup>ème</sup> jours l'administration d'une monoprise de la DOXO (15 mg/kg) ( IP) ; traitement jusqu'au 10<sup>ème</sup> jour par l'extrait;
- **(VE)** : traitement pendant 10 jours avec la vit E (100mg/kg) par gavage ;
- **(VE+D)** : prétraitement avec la vit E pendant 7 jours au 7<sup>ème</sup> jours l'administration d'une monoprise de la DOXO (15 mg/kg) ( IP) ; traitement jusqu'au 10<sup>ème</sup> jour par la vit E.

Après le traitement, les rats sont sacrifiés par dislocation cervicale et les foies et les cœurs sont immédiatement prélevés, pour l'analyse des paramètres du stress oxydant. Le prélevés du sang se fait à travers le sinus rétro-orbital au niveau de l'œil des rats. Le sang récupéré est

immédiatement centrifugé à 4000 t/min pendant 10 minutes à 10°C centrifugeuse, pour l'analyse des paramètres biochimiques.

#### 4- Dosage des paramètres du stress oxydant

##### 4-1-Dosage Peroxydation lipidique

Le malondialdéhyde (MDA) est un marqueur de la peroxydation lipidique, il a été mesuré à partir d'homogénats de (cœurs et foie) par le TBARS assay selon la méthode d'Uchiyama and Mihara, 1978. Le dosage des TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances) est basé sur la réaction du MDA avec le TBA (acide thiobarbiturique), sous conditions de haute température et d'acidité. Le complexe de couleur rouge MDA-TBA formé a été mesuré par colorimétrie.

Pour le dosage du MDA, 20% du foie et cœur est additionné à une solution de KCl (1.15 %) puis broyage par un homogénéiseur de Dounce (Kontes, *Glass companyan ISO-9001 steered firm, New Jersey USA*). À 0,5 ml de l'homogénat ; 0,5 ml d'acide phosphorique 20 % et 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 % sont additionnés. Le mélange est chauffé à 100 °C pendant 45 minutes, refroidi puis additionné de 4 ml de n-butanol. Après centrifugation de 15 minutes à 3000 tours/minute, l'absorbance est déterminée sur le surnageant au spectrophotomètre à 532 nm.

##### 4-2-Dosage de glutathion (GSH)

Le dosage du GSH est basé sur la méthode colorimétrique d'Ellman (1959). Le dosage de glutathion est basé sur la réaction d'oxydation du GSH par l'acide 5, 5'- Dithiobis 2-nitrobenzoïque (DTNB) libérant ainsi l'acide thionitrobenzoïque (TNB) absorbant à 412 nm, Pour ce dosage, un gramme de chaque organes est homogénéisé dans trois volumes de TCA 5 % à l'aide d'un broyeur de Dounce puis centrifugé à 2000 rpm. 50 µl de surnageant sont dilués dans 10 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 8). À 3 ml du mélange de dilution, 20 µl de DTNB (0,01 M) sont additionnés. L'absorbance est lue à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le TCA 5 %.

##### 4-3-Evaluation de l'activité enzymatique de la GPx

Pour estimer l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase nous avons utilisé la méthode de Flohe et Gunzler (1984) qui reposent sur la réduction de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en présence de glutathion réduit (GSH), qui se transforme en une (GSSH) en présence de la GPx selon la réaction suivante:





Incubation de 0.2ml de l'homogénat avec 0.4ml de GSH (0.1mM) et 0.2ml de solution TBS (Tris 50mM, NaCl 150mM, P<sup>H</sup> 7.4) dans un bain-marie à 25 ° C pendant 5 minutes. Ajoutée 0,2 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1,3 mM) laisse à interagir pendant 10 minutes, puis ajouter 1 ml de TCA (1%), Le mélange est placé dans la glace pendant 30 minutes, Après avoir procédé de centrifugation, Prendre 0,48 ml de surnageant et ajouté à sa 2,2ml de la solution TBS et 0,32 ml de solution DTNB (1 mM). Après 5 minutes l'absorbance est lue à 412nm.

## **5- Dosage des paramètres biochimiques**

### **5 -1-Préparation de sérum et le test de la fonction hépatique**

Après les différents traitements, les rats sont décapités par dislocation cervicale le sang collecter dans des tubes non héparinés puis centrifuger à 3000 rpm pendant 10 min pour récupérer le sérum. Les activités enzymatiques de l'ASAT et de L'ALAT, biomarqueurs de la fonction hépatique, sont déterminées par colorimétrie en utilisant des Kits du commerce (SPINREACT, SPAIN). Le pyruvate ou l'oxaloacétate formés sont dosés sous forme de leurs dérivés 2,4-dinitrophénylhydrazones.

### **5 -2-Dosage du cholestérol total**

Dans notre étude, le cholestérol a été déterminé suivant une méthode enzymatique colorimétrique. Après hydrolyse enzymatique puis oxydation, l'indicateur quinoneimine formé à partir du peroxyde d'hydrogène et du amino 4 antipyrine en présence du phénol et de peroxydase permet la quantification du cholestérol. L'intensité de la coloration de la quinoneimine mesurée à 500 nm, est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol présente dans l'échantillon du sérum.

### **5 -3-Dosage des triglycérides**

Le dosage des triglycérides a été effectué suivant une méthode enzymatique colorimétrique quantifiant le glycérol libéré après action de la lipase. L'intensité de la coloration de la quinone imine mesuré à 500 nm est directement proportionnelle à la quantité de triglycérides contenue dans l'échantillon du sérum.

## **6- Evaluation statistique**

Les résultats sont donnés sous forme de moyennes et écart-types. L'évaluation statistique est effectuée en utilisant le test *t* de Student. La valeur trouvée par le calcul du *t* peut affirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur *p* tel que :

$p < 0,05$  = la différence est significative\*;

$p < 0,01$  = la différence est significative\*\* ;

$p < 0,001$  = la différence est très hautement significative\*\*\* ;

ns = la différence est non significatif par apport au group témoin.

Le calcul statistique est réalisé par SPSS 13.0

**PARTIE III**  
**RESULTATS**  
**ET**  
**DISCUSSION**

## I-Interprétation des résultats

### I-1-Evaluation du pouvoir anti radicalaire de l'extrait butanolique

L'activité anti radicalaire *In vitro* de l'extrait butanolique est évaluée par la diminution du taux de DPPH° dosé après l'addition de l'extrait à différentes concentrations (figure 24).

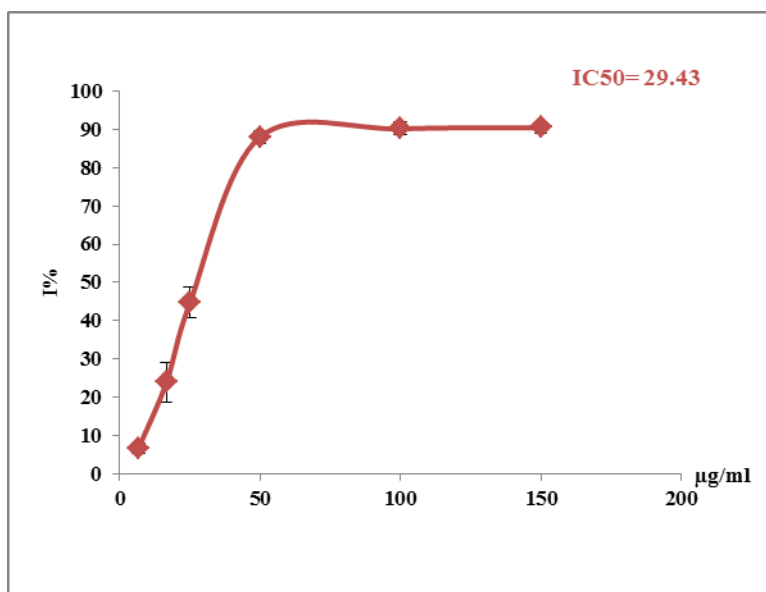


Figure 24 : Pouvoir anti radicalaire de l'extrait butanolique (moyenne de 3 essais).

Dans la présente étude, la capacité de piégeage des radicaux libres du DPPH du l'extrait n-butanol de *Verbascum sp.* a été calculée de manière dépendante de différentes doses. L'extrait n-butanol de *Verbascumsp.* est avéré être un piège efficaces de radicaux du DPPH  $IC_{50} = 29,43$  par rapport à la vitamine C  $IC_{50} = 5,183$ .

### I-2-Effet de la Doxorubicine sur la fonction hépatique

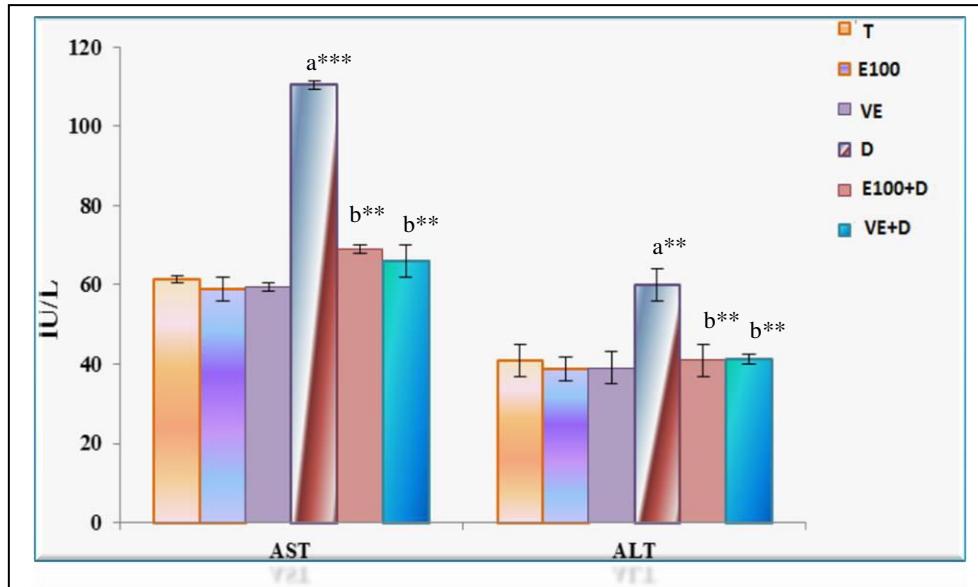


Figure 25 : Effet de la Doxorubicine et l'extrait *butanolique* sur la fonction hépatique et la libération des transaminases ASAT et ALAT. Les valeurs sont données en moyenne  $\pm$  Ecart type. \*\* :  $P < 0.01$ , \*\*\* :  $P < 0.001$ ,  
 a : Groupes comparés au groupe témoin.  
 b : Groupes comparés au groupe DOXO.

L'effet de la Doxorubicine sur les fonctions hépatiques avec ou sans l'extrait butanolique et la vitamine E est illustré par la figure 25. Sur cette figure on constate une élévation très significative ( $p < 0.001$ ) du niveau sérique d'ASAT chez les rats traités par DOXO contre le groupe témoin non traité.

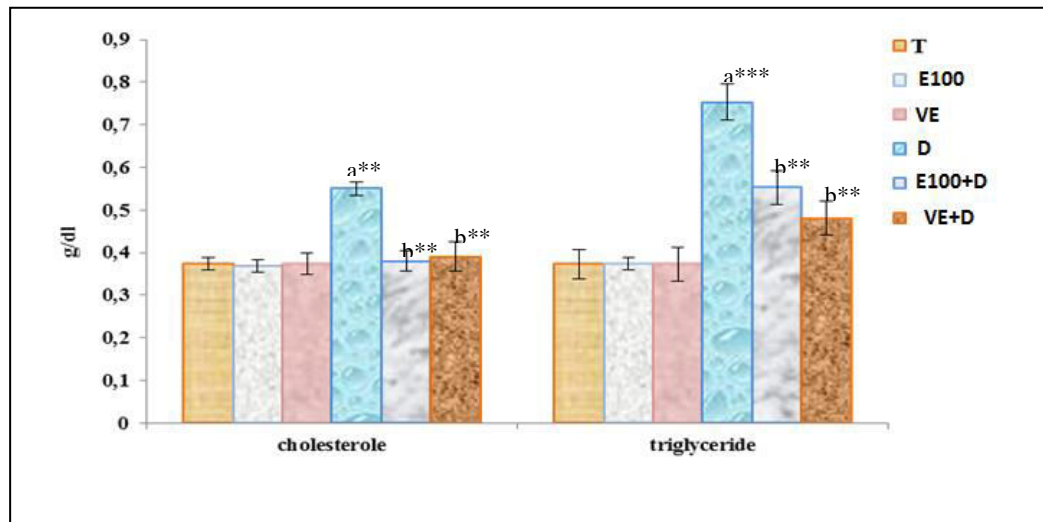
L'administration de l'extrait temporelise l'effet de la Doxorubicine et normalise la valeur de cette enzyme contre le groupe traité par DOXO seulement ( $p < 0.01$ ). Chez le groupe traité par la vitamine E et la DOXO, nous avons constaté une diminution significative du niveau sérique d'ASAT ( $p < 0.01$ ). Les mêmes remarques pour les variations de l'ALT. L'extrait butanolique de la plante *Verbascum sp.* et la vitamine E préservent le foie contre la toxicité provoquée par la DOXO.

### I-3-Effet de la Doxorubicine sur cholestérol et triglycérides et l'action protectrice de l'extrait

Selon les résultats présentés dans la figure 26, on trouve que le taux du cholestérol augmente significativement ( $p < 0.01$ ) chez les rats traités par la Doxorubicine contre le groupe témoin. Par contre chez les rats traités par DOXO+l'extrait 100mg/kg (vitamine E),

l'administration de l'extrait butanolique et la vitamine E, tempore ( $p < 0.01$ ) l'effet de la DOXO et normalise la valeur du cholestérol.

Les mêmes remarques pour les variations des taux de triglycérides: une élévation significative ( $p < 0.001$ ) du taux des triglycérides chez les rats traités par DOXO. L'extrait butanolique réduit ces valeurs. Ce qui montre que notre extrait a un effet efficace diminuant l'excès du cholestérol et triglycérides dans le sang.



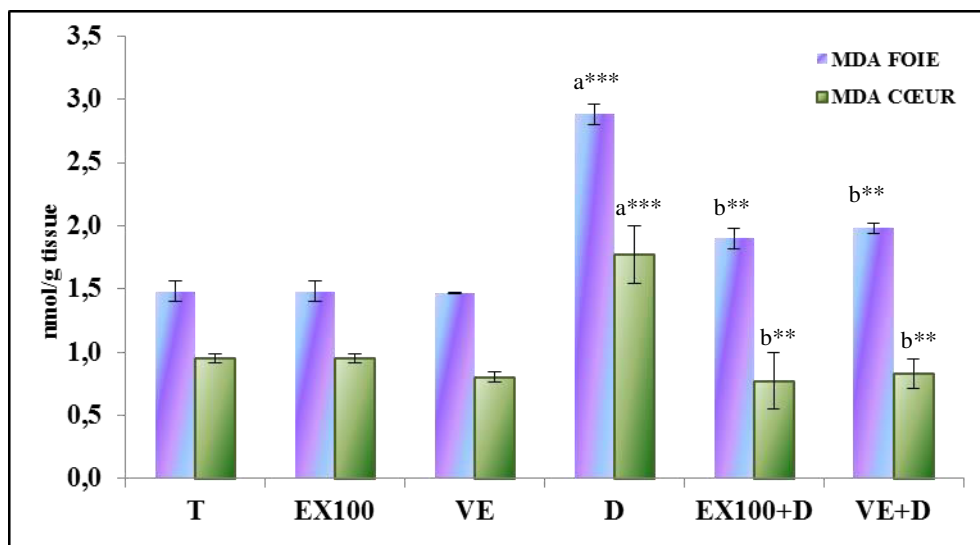
sur le taux du cholestérol et de triglycéride chez les différents lots. Les valeurs sont données en moyenne  $\pm$  Ecart type. \*\* :  $P < 0.01$ , \*\*\* :  $P < 0.001$ ,  
 a : Groupes comparés au groupe témoin.  
 b : Groupes comparés au groupe DOXO.

#### I-4-Effet de l'extrait butanolique sur la peroxydation lipidique

La figure 27 illustre l'effet de l'extrait butanolique sur la variation du MDA dans (foie et cœur) chez les rats traités par DOXO et l'extrait.

Nous avons constaté (dans le foie et le cœur) une élévation très hautement significative ( $p < 0.001$ ) d' MDA chez les rats recevant DOXO par rapport au groupe témoin normal. Par ailleurs, aucune variation significative du MDA n'est constatée chez les rats recevant DOXO et traités par l'extrait (n'ont aucune différence significative avec celle obtenue avec le témoin normal). Ce résultat explique probablement la protection des animaux par l'extrait butanolique de la plante *Verbascum sp.* contre le stress oxydatif dans le foie et le cœur. Les mêmes résultats obtenus dans le groupe traité par la vitamine E et DOXO.

Le prétraitement par l'extrait diminue l'oxydation des lipides chez les rats et normalise la valeur du MDA comparée au groupe témoin.



**Figure 27 : Influence de l'administration de l'extrait butanolique sur la concentration en MDA (foie et cœur). Les valeurs sont données en moyenne  $\pm$  Ecart type. \*\* :  $P < 0.01$ , \*\*\* :  $P < 0.001$ , a : Groupes comparés au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe DOXO.**

### I-5-Effet de l'extrait butanolique sur le GSH

Nous avons remarqué au niveau du (foie et cœur) une diminution très hautement significative ( $p < 0.001$ ) de GSH chez les rats recevant la DOXO par rapport au groupe témoin normal. Par contre, aucune variation significative de GSH n'est constatée chez les rats recevant la DOXO et prétraités par l'extrait butanolique par rapport au groupe témoin normal.

L'administration de l'extrait butanolique a augmenté le taux du glutathion réduit (GSH) dans le groupe traité par DOXO par rapport au groupe témoin positif. Une variation significative de GSH chez les rats recevant DOXO et la vitamine E par rapport au groupe DOXO ( $p < 0.01$ ).

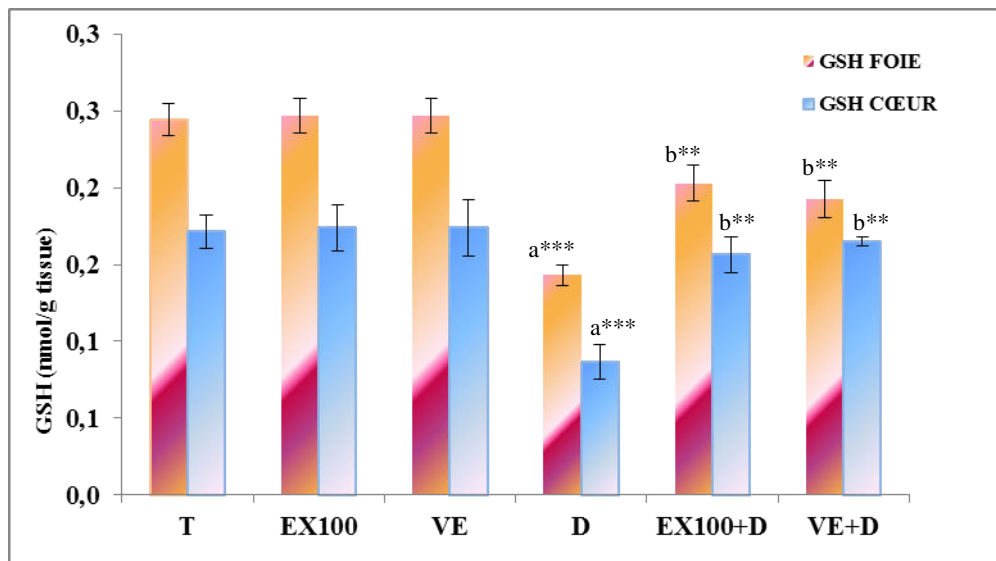


Figure 28 : Effet de l'extrait butanolique sur le niveau de GSH dans le (foie et cœur). Les valeurs sont données en moyenne  $\pm$  Ecart type. test de Student t: \*\*\* :  $p < 0.001$ , \*\* :  $P < 0.01$ . a : Groupes comparés au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe DOXO.

#### I-6-Effet de l'extrait butanolique de la plante *Verbascum sp.* Sur l'activité de la GPx

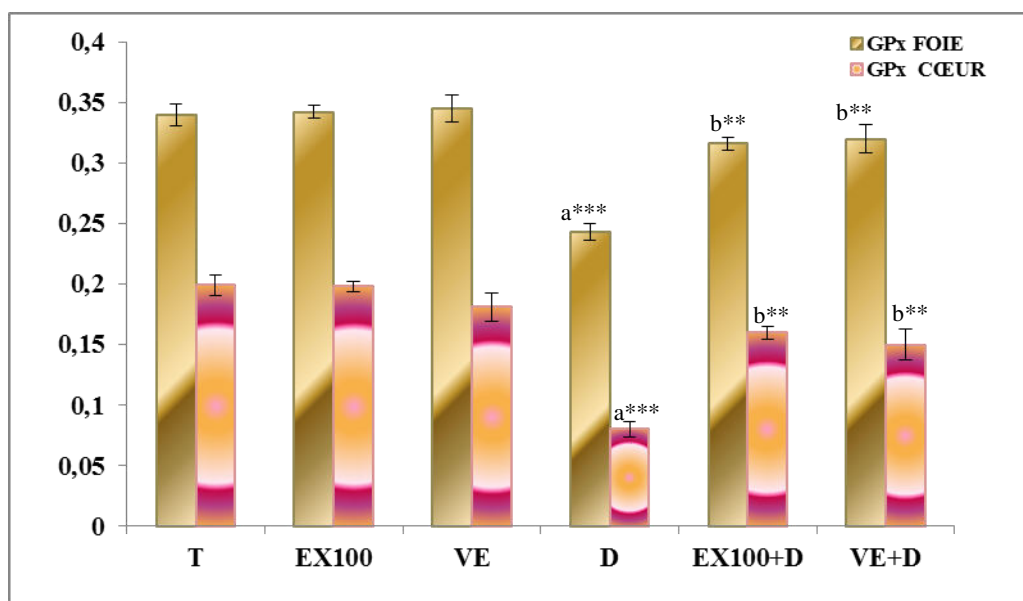


Figure 29 : Effet de l'extrait butanolique sur l'activité de la GPx dans le (foie et cœur). Les valeurs sont données en moyenne  $\pm$  Ecart type. test de Student t: \*\*\* :  $p < 0.001$ , \*\* :  $P < 0.01$ . a : Groupes comparés au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe DOXO.

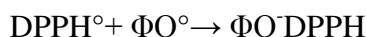


L'activité de la GPx dans l'homogénat du (foie et cœur) a diminué ( $p < 0.001$ ) chez les rats traités par DOXO seule par rapport à celle mesurée chez les témoins. L'activité enzymatique de ce système antioxydant est conservée à son niveau normal chez les rats prétraités par l'extrait par rapport au groupe DOXO ( $p < 0.001$ ) (les mêmes résultats obtenus dans le groupe prétraité par la vitamine E).

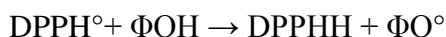
L'activité enzymatique de ce système antioxydant est conservée à son niveau normal chez les rats prétraités par l'extrait butanolique de la plante *Verbascum sp.* (figure 29).

## II-Discussion

La méthode de DPPH est une méthode largement utilisée pour évaluer l'activité des antioxydants à piéger les radicaux libres. Dans le test DPPH, les antioxydants sont capables de réduire le radical DPPH (violet) à la forme non radicale DPPH-H (jaune). Cette activité est due à leurs capacités de donner d'hydrogène (Kanoun., 2010). Le radical DPPH accepte un électron ou un radical d'hydrogène pour devenir une molécule diamagnétique stable avec une autre couleur selon la réaction suivante :



Ainsi, le degré de décoloration du pourpre au jaune est attribué à la capacité donneuse d'hydrogène du composé ajouté, ce qui est révélateur de son potentiel de piégeage des radicaux (Hung-Chih Ting et al., 2011).



Dans la présente étude, la capacité de piégeage des radicaux libres du DPPH du l'extrait n-butanol de *Verbascum sp.* a été calculée de manière dépendante de différentes doses. L'extrait n-butanol de *Verbascum sp.* est avéré être un piège efficaces de radicaux du DPPH ( $\text{IC}_{50} = 29,43$  par rapport à la vitamine C  $\text{IC}_{50} = 5,183$ ).

L'administration d'une seule dose de 15 mg / kg de doxorubicine a induit des signes de toxicité générale, et un déficit pondéral significatif. On sait que les anticancéreux tels que la doxorubicine, la daunorubicine et l'idarubicine provoquent une perte pondérale (Kalender et al., 2001 ;Kozluca et al., 1995 ;Kavutcu et al., 1996) d'où l'utilisation prolongée avec des doses excessives provoquent la mort par toxicité.

Le dosage des transaminases sériques est l'une des prescriptions biologiques les plus fréquentes, en raison des informations diagnostiques qu'il peut fournir dans des circonstances cliniques très variées (Green and Flamm., 2002).

Une hépto-toxicité est induite chez les rats qui ont reçu une seule dose de 15 mg/Kg du doxorubicine, cette dernière est caractérisée par une augmentation du taux des transaminases (ALAT et ASAT) dans le sérum par rapport au lot témoin non traité. Les transaminases sont en effet les marqueurs biologiques les plus spécifiques d'une atteinte hépatique (Gopal and Rosen., 2000). Nos résultats sont en accord avec ceux apportés par Mahalaxmi et al., 2011, qui

ont constaté que l'administration de DOXO à des rats de souches *Wistar Albinos* augmente de manière très significative ( $p < 0.001$ ) les taux d'ALAT et d'ASAT sériques.

L'ASAT est une enzyme présente principalement dans le foie (Djembi et al., 2003) sous la forme de deux isoenzymes de 92 kDa, l'une cytosolique (ASAT I) et l'autre mitochondriale (ASAT II) (Augustin., 2007), donc la présence de ces enzymes en dehors de la cellule représente des lésions au niveau du lobule hépatique (Djembi et al., 2003).

Les lésions aux hépatocytes altèrent leur fonction de transport et leur perméabilité à la membrane, conduisant à une fuite d'enzymes provenant des cellules (Ziemmerman and Seef., 1970). L'augmentation d'ALAT et ASAT dans le sérum est causée par cette dernière (Yadav and Dixi., 2003). Il a été constaté que la DOXO provoque une perturbation du métabolisme basal en montrant un effet toxique, en particulier dans le foie (Amandeep et al., 2012).

Cependant; l'administration de l'extrait butanolique (100 mg/kg) en association avec la DOXO (Extrait +DOXO) par rapport au lot traité par DOXO uniquement a entraîné une diminution remarquable du taux de ALAT et ASAT d'où l'atténuation de l'effet provoqué par la DOXO et la stabilisation des valeurs des transaminases. Idem pour l'administration de la Vit E. Cela signifie que notre extrait butanolique a un pouvoir diminutif et épargne les rats d'une hépatotoxicité.

Dans notre étude ; on a constaté une élévation significative ( $p < 0.01$ ) du taux de cholestérol et de triglycérides chez les rats traités par la DOXO par rapport aux témoins, de même Laszlo et al., 2013 ont aussi enregistré des résultats similaires (Koti et al., 2008 ; Venkatesan et al., 1997). et ils ont également observé que les acides gras totaux, en particulier les acides gras C16-C18, étaient significativement élevés après injection du DOXO (Hong et al., 2002) ce qui concorde avec plusieurs d'autres études comme celle publiée par Koti et al., 2008 qui ont constaté aussi que la doxorubicine peut interférer avec le métabolisme ou la biosynthèse des lipides.

Par contre ; dans le lot des rats traités Ex+DOXO et VE on a constaté une diminution des taux de cholestérol et triglycérides. On déduit alors que l'extrait butanolique a un pouvoir diminuant de l'excès du cholestérol et des triglycérides au niveau du sang.

La formation de radicaux libres a été fortement recommandée comme un mécanisme majeur de la cardiotoxicité induite par DOXO (Doroshov et al., 1983). La structure chimique de DOXO elle-même est propice à la génération de radicaux libres. La formation de radicaux libres

réactifs à partir de médicaments à base de quinone peut croire être générée par deux mécanismes, le premier implique une réduction électronique du médicament à un intermédiaire radicalaire de semi quinone et le second mécanisme est lié à l'interaction du DOXO avec le fer (Bachur et al., 1977 ; Eliot et al., 1984 ; Muindi et al., 1985 ; Sinha et al., 1987).

DOXO sous la forme de DOXO semi quinone a été suggérée de jouer un rôle majeur dans son action hépatotoxique (Bachur et al., 1979). Les hépatocytes sont les cibles probables d'une attaque réactive d'espèces d'oxygène dans le foie défaillant (Kalender et al., 2005).

Le DXR augmente non seulement la production de radicaux libres hépatiques, mais diminue également sa capacité à détoxifier les espèces réactives d'oxygène ( Amandeep et al., 2012).

Dans notre étude; on a constaté que la DOXO augmente significativement les taux des marqueurs de stress oxydant d'où leurs mesure met en évidence l'augmentation du taux de MDA (homogénat du foie et cœur) qui est un indicateur important de la peroxydation des lipides. Cela est contrairement au taux du GSH et GPx (foie et cœur) qui a subi une diminution très hautement significative ( $p < 0,001$ ) et qui peut être un signe d'excès des radicaux libres produits par la DOXO. Nos résultats vont dans le même sens que ceux de Amandeep et al., 2012.

Pour les rats recevant le prétraitement de l'extrait butanolique et les rats recevant le prétraitement de VE on a constaté que les niveaux de MDA GSH et l'activité de GPx réintégrant dans les normes.

Dans de nombreuses études, la vitamine E a été démontrée pour neutraliser la peroxydation lipidique et les lipides non saturés de la membrane en raison de son effet de balayage de l'oxygène (Wang et al., 1980). Ces résultats suggèrent que Le prétraitement par l'extrait ou la vitamine E a permis de réduire les manifestations hêpato- et cardiotoxiques induites par la doxorubicine .Ceci indique que la VE est capable de piéger les ROS et principalement l'oxygène singlet. En protégeant les cellules et les structures subcellulaires contre les dommages oxydatifs par l'inhibition de la formation d'oxygène et la diminution des niveaux de MDA (Kalender et al., 2002).

Le prétraitement par l'extrait butanolique diminue l'oxydation des lipides chez les rats et normalise la valeur du MDA.

Les résultats de l'activité de la GPx et de la concentration du GSH et du MDA montrent clairement que l'extrait n-butanolique de la plante *Verbascum sp.* possède une activité très

efficace de piégeage des radicaux libres, ce qui protège contre les altérations pathologiques causées par ces derniers.

Ces résultats suggèrent que l'extrait n-butanolique de la plante *Verbascum sp.* a pu protéger les organes vitaux des rats (foie et cœur) contre le stress oxydant et l'action cytotoxique induite par la doxorubicine. La présence des flavonoïdes pourrait être responsable de la protection antioxydante et de l'activité hépatoprotectrice et cardioprotectrice.

En conclusion, à travers nos études biochimiques on a pu confirmer que l'administration de la doxorubicine à une dose unique (IP) de 15 mg/kg, peut provoquer une hépato et cardiotoxicité. Ainsi que, la Co-administration orale de l'extrait butanolique de la plante *Verbascum sp.* et de la vitamine E à une dose journalière de 100 mg/kg pendant 10 jours a permis la protection des rats vis-à-vis des lésions hépatiques et cardiaques et la restauration du système antioxydant.

**CONCLUSION  
ET  
PERSPECTIVES**

## Conclusion générale et Perspective

Les plantes aromatiques et médicinales sont la source de la majorité des antioxydants naturels et elles restent encore sous exploitées dans le domaine médical.

Dans l'industrie pharmaceutique, les antioxydants sembleraient de manière significative être liés à la prévention des maladies, le développement de nouveaux médicaments à base d'antioxydants d'origine naturelle doit être à l'ordre de jour.

La majorité des médicaments actuels sont des copies concentrées de remèdes végétaux, notamment les polyphénols qu'ils sont les composés les plus intéressants et les plus étudiés de nos jours. Et comme la phytothérapie suscite un renouveau d'intérêt, nous sommes intéressées dans ce travail à l'effet de l'extrait phénolique de la plante médicinale et son activité antioxydante et leur effet cardioprotecteur et la protection hépatique contre la toxicité du doxorubicine.

La doxorubicine non seulement un médicament anticancéreux utilisé en chimiothérapie mais aussi est un agent producteur des radicaux libres dans les tissus hépatique et cardiaque.

La prévention ou le contrôle du stress oxydant par un traitement antioxydant fait partie de la stratégie thérapeutique actuelle. Donc pour éviter la toxicité de DOXO il faut administrer quelques agents supplémentaires comme les antioxydants qui inhibent directement la formation de radicaux libres, de la propagation ou de détruire les espèces actives de l'oxygène. Ils peuvent agir en réduisant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion. La prévention ou le contrôle du stress oxydant par un traitement antioxydant fait partie de la stratégie thérapeutique actuelle.

Le but principal de notre étude est d'évaluer les propriétés antioxydantes de l'extrait butanol de la plante *Verbascum sp.* *In vivo* et *In vitro*.

- ✓ Dans la première partie, Le potentiel antiradicalaire a été déterminé par la méthode de DPPH (2,2-Diphenyle-1-picrylhydrazyl) rapporté par Tep et al., 2005 et l'extrait de la plante étudiée présentent des propriétés antioxydantes remarquables.
- ✓ Dans la deuxième partie, on a confirmé la toxicité hépatique induite par le doxorubicine, cet anticancéreux produit des radicaux libres provoquant un déséquilibre dans le statut redox cellulaire. En effet, il a été constaté que le système de défense antioxydant a diminué significativement, laissant la place aux prooxydants responsables de la lipoperoxydation et la

dysfonction des structures membranaires et libèrent des enzymes transaminases (ASAT et ALAT) dans le sang.

- ✓ Troisième partie en générale montre que l'extrait butanolique de la plante *Verbascum sp.* contient probablement des molécules très intéressantes qui peuvent être considérées comme des agents antioxydants de première classe .
- il diminue l'excès du cholestérol et des triglycérides dans le sang
- il diminue l'oxydation des lipides MDA (foie et cœur) donc il donne un bon effet contre les radicaux libres qui sont formés par le DOXO.
- il augmente le taux de GSH pour réduire le stress oxydatif.
- il conserve l'activité enzymatique de système antioxydant GPx (foie et cœur).

Alors, il peut être employé pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que les maladies cardiaques et hépatiques.

Les perspectives de notre travail sont encore nombreuses sur ce sujet.

Cette recherche nécessite d'autres études approfondies pour mieux se concentrer sur les effets révélés. Il serait souhaitable de développer cette étude en mesurant d'autres paramètres du statut antioxydant (SOD, catalase,...).

*In vivo* nous intéressons à développer une méthode de provocation d'un système protecteur chez les rats et le suivi de l'effet anti-oxydant de nos extraits sur les différents paramètres.

Nos travaux aussi visent l'évaluation de l'effet anti oxydant contre la toxicité de doxorubicine au niveau du foie et cœur. L'identification et la caractérisation des extraits montrant un intérêt quelconque sera l'étape suivante dans nos études pour que nous puissions entamer une étude pharmacologique en vue d'une application thérapeutique.



## Résumé

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'activité antioxydante et hépato-cardioprotectrice de l'extrait butanolique de la plante *Verbascum sp.* contre la toxicité induite par DOXO chez des rats femelles de souche *Wistar Albinos*.

La toxicité hépatique et cardiaque chez les rats induite par la DOXO a été évaluée par le dosage des transaminases (ALAT et ASAT) sériques, ainsi dosage des taux de cholestérol et triglycéride, le stress oxydant issu a été estimé à travers la concentration de la molondialdehyde (MDA) et (GSH) ainsi par l'évaluation de l'activité enzymatique de (GPx). Le potentiel antioxydant *In vitro* de notre extrait était évalué en utilisant la technique de DPPH°.

Le prétraitement des rats par l'extrait butanolique de la plante *Verbascum sp.* (100mg/kg) (Pendant 10 jours) les a nettement protégés contre la toxicité provoquée par la doxorubicine (15mg/kg). Les résultats indiquent clairement que l'extrait butanolique de la plante *Verbascum sp.* joue un rôle protecteur important vis-à-vis la toxicité cardiaque et hépatique provoquée par la doxorubicine et qu'il a un effet antioxydant très puissant.

**Mots clés :** *Verbascum sp.*; Doxorubicine; Extrait butanolique ; oxidative stress; Activités antioxydantes; DPPH.

### **Abstract**

The objective of our study is to evaluate the antioxidant and hepato-cardioprotective activity of the butanol extract of the plant *Verbascum sp.* Against DOXO-induced toxicity in female rats of Wistar Albinos strain.

Hepatic and cardiac toxicity in rats induced by DOXO was assessed by the serum transaminase (ALAT and ASAT) assay, thus assaying cholesterol and triglyceride levels, oxidative stress derived was estimated through the concentration of malondialdehyde (MDA) and (GSH) as well as by the evaluation of the (GPx) enzymatic activity. The *in vitro* antioxidant potential of our extract was evaluated using the DPPH technique.

Pretreatment of rats by the butanol extract of the plant *Verbascum sp.* (100mg / kg) (10 days) clearly protected them from the toxicity caused by doxorubicin (15mg / kg). The results clearly indicate that the butanol extract of the plant *Verbascum sp.* Plays an important protective role against the cardiac and hepatic toxicity caused by doxorubicin and that it has a very powerful antioxidant effect

**Keywords:** *Verbascum sp.*; Doxorubicin; Butanol extract; oxidative stress; Antioxidant Activities; DPPH.

## ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الفعالية البيولوجية للمستخلص البيتانولي لنبات *Verbascum sp.* ضد السمية المحرصة بواسطة doxorubicin (على مستوى الكبد و القلب) على جرذان اناث من سلالة *Wistar Albinos*.

السمية القلبية و الكبدية عند الفئران المحرصة بواسطة الدوكسوروبيسين قدرت بواسطة قياس مستويات (ALT و AST)، كما تم تقدير كولسترول كلي، جلسريدات ثلاثية، و قدرت مؤشرات الجهد التأكسدي من خلال قياس تركيز MDA وتقييم نشاط إنزيمي (GSH) و (GPx). كما تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص خارج العضوية باستعمال طريقة DPPH

معاملة الجرذان بالمستخلص البيتانولي المستخرج من النبات *Verbascum Sp.* (100 mg/kg) لمدة عشرة ايام عن طريق الفم، حمتهم بشكل كبير ضد سمية الناجمة عن استخدام دوكسوروبيسين بجرعة (15 / MG / كغ)، النتائج تشير بوضوح إلى أن المستخلص البيتانولي المستخرج من النبات *Verbascum Sp.* يلعب دورا وقائيا هاما ضد سمية القلب والكبد الناجمة عن دوكسوروبيسين، وله تأثير قوي كمضاد للأكسدة.

**الكلمات المفتاحية:** *Verbascum sp.*, Doxorubicin, المستخلص البيتانولي, الجهد التأكسدي, نشاط مضاد للأكسدة, DPPH.

# REFERENCE

## Références

- Akowauh G.A, Zhari. I, Norgyati. I, Sadikun.A et Khamsah S.M.(2004).** The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. *Food chemistry* 87: 559-566.
- Amandeep Kaur ,Manpreet Kaur Ramica Sharma Sunil Kumar (2012).** Doxorubicin: a critical review on toxicity *Journal of Pharmacy Research*,5(5),2890-2894.
- Alkurd, A., Hamed, T. R., & Al-Sayyed, H. (2008).**Tannin contents of selected plants used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 4, 265 – 274.
- Ames BN, Gold LS, Willett WC. (1995).**The causes and prevention of cancer. *Proc. Natl. Acad.Sci*, 92: 5258-65.
- Amić, D., Davidović-Amić, D., Bešlo, D., &Trinajstić, N. (2003).** Structure-radical scavengingactivityrelationships of flavonoids. *CroaticaChemicaActa*, 76 (1), 55 – 61
- Appel JM, Nielsen D, Zerahn B, Jensen BV, Skagen K. (2007).** Anthracycline-induced chronic cardiotoxicity and heart failure.*Acta Oncol.* 46(5): p. 576-80.
- Arcamone, F., Cassinelli, G., Fantini, G., Grein, A., Orezzi, P., Pol, C. et Spalla, C. (1969).** Adriamycin, 14-hydroxydaunomycin, a new antitumor antibiotic from *S. peuceetius* var. *caesius*. *Biotechnol Bioeng*, II, (6),1101-10.
- Ashour Osama M., Elberry Ahmed A., Alahdal Abdulrahman M., Al Mohamadi Ameen M., Nagy Ayman A., Abdel-Naim Ashraf B., Abdel-Sattar Essam A., Mohamadin Ahmed M. (2011).** Protective effect of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) against doxorubicin-induced oxidative cardiotoxicity in rats. *Med Sci Monit*; 17(4): BR110-115.
- Augustin, Marie Rives.( 2007).** Pharmacocinétique d'enzymes hépatiques chez le chien,p13
- Ayad,R.(2008).**recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *zygophyllum cornutum*,Mémoire magister En Chimie Organique, université Mentouri Constantine.p35-39, 40, 47.
- Bachur, N.R., Gordon, S.L., and Gee, M.V.(1977).** Anthracycline antibiotic augmentation of microsomal electron transport and free radical formation. *Mol. Pharmacol.* 13, 901-910
- Bachur NR, Gordon SL, Gee MV, Kon H.(1979)** .NADPH-cytochrome P450 reductaseactivation of quinone anticancer agents to freeradicals. *Proceedings of the National Academy ofSciences USA.* 76, 954-957
- Badiaga, M. (2011).**Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako.10 p.

- Bagchi, D., Bagchi, M., Hassoun, E.A., Kelly, J., Stohs, S.J (1995).** Adriamycin-induced hepatic and myocardial lipid-peroxidation and DNA-damage, and enhanced excretion of urinary lipid metabolites in rats. *Toxicology* 95, 1–9.
- Bakker GC, van Erk MJ, Pellis L, Wopereis S, Rubingh CM, Cnubben NH, et al.(2010).** An antiinflammatory dietary mix modulates inflammation and oxidative and metabolic stress in overweight men: a nutrigenomics approach. *Am J Clin Nutr* ;91:1044–59
- Balasundram, N.; Sundram, K. and Samman, S. (2006).** Phenolic compounds in plant and agri-industrial byproducts: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem*, 99, 191-203.
- Bartosz, G. (2003).** Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*. 9: 5-21.
- Benaissa, O. (2011).** Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. *Activité Biologique*, Thèse Doctorat, université Mentouri Constantine.63p
- Bianco A., Chiacchio M.A.,Grassi G., Iannazzo D., Piperno A et Romeo R (2006).** Phenolics compounds of *Olea europaea* : Isolation of new tyrosol and hydroxytyrosol derivatives. *Food Chemistry*. 95: 562-565.
- Bohr VA., Stevnsner T. and de Souza-Pinto NC. (2002).** Mitochondrial DNA repair of oxidative damage in mammalian cells. *Gene*. 286(1): 127-34.
- Boucek RJ, Jr, Dodd DA, Atkinson JB, Oquist N, Olson RD. (1997)** Contractile failure in chronic doxorubicin-induced cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol* 29:2631–2640
- Bruneton J. (1999).** *Phytochimie. Plantes médicinales. Pharmacognosie. 3eme édition*, Paris, France. pp : 125165.
- Chahine Nathalie.(2014).** Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique Université de REIMS CHAMPAGNE-ARDENNE Ecole Doctorale Sciences Technologie Santé.
- Chebil, L. (2006).** Acylation des flavonoïdes par les lipases de *Candida antarctica* et de *Pseudomonas cepacia*: études cinétique, structurale et conformationnelle. Thèse de Doctorat : Institut national polytechnique de LORRAINE.
- Chira.K, j.-h. suh, c. saucier, p.-l.(2008).** teissèdre (les polyphénols du raisin) , université victor-segalen, bordeaux-ii, faculté d'oenologie – umr 1219 – isvv, laboratoire de chimie appliquée, 351, cours de la libération, f-33405 talence cedex
- Collin, S., & Crouzet, J. (2011).** Polyphénols et procédés. Edition Lavoisier TEC & DOC, p 5 , 13 , 16 , 235.
- Corinne Bour.(2001).** Distribution intracellulaire des anthracyclines : implication dans le processus de mort cellulaire induite et le phenotype de resistance pleiotrope.

**Cowan, M. M. (1999).** Plant Products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4), 564 – 582.

**Cushnie T.P.T. and Lamb A.J.(2005).**Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*,26: 343–356.

**Cowan, m. m. (1999).** plant products as antimicrobial agents. *clinicalmicrobiologyreviews*, 12 (4), 564 – 582

**Daglia, M. (2011).** Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23, 1 – 8.

**Dangles O., Dufour C. (2008).** Recent advances in Polyphenol Research. Chapter 3: 67-87

**Dangles O. (2012).** Antioxidant activity of plant phenols: chemical mechanisms and biological significance. *Current Organic Chemistry*. 16 : 692-714

**D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., & Masella, R. (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann. Ist. Super Sanità*, 43 (4), 348 – 361.

**Day A.J., Gee J.M., Dupont M.S., Johnson I.T., Williamson G. (2003).** Absorption of quercetin-3-glucoside and quercetin-4'-glucoside in the rat small intestine: the role of lactase phlorizin hydrolase and the sodium-dependent glucose transporter. *Biochemical Pharmacology*. 65: 1199-1206

**Dayem Ahmed Abdal, Hye Yeon Choi, Gwang-Mo Yang, Kyeongseok Kim,Subbroto Kumar Saha and Ssang-Goo Cho.(2016).**The Anti-Cancer Effect of Polyphenols against Breast Cancer and Cancer Stem Cells: Molecular Mechanisms. Department of Stem Cell & Regenerative Biotechnology, Incurable Disease Animal Model and Stem Cell Institute (IDASI), Konkuk University, Gwangjin-gu, Seoul 05029, Korea.

**Djembi djatchedjie., Liliane nicole. (2003).** Etiologies des hypertransaminasemies dans les services de medecine interne de l'hopital du point g et d'hepato- gastro-enterologie de l'hopital gabriel toure ,p17.

**Delemasure, S., Vergely, C., Zeller, M., Cottin, Y. et Rochette, L. (2006).** [Preventing the cardiotoxic effects of anthracyclins. From basic concepts to clinical data]. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, volume 55, numéro 2, p. 104-112.

**Delmas, D., Lançon, A., Colin, D., Jannin, B & Latruffe, N. (2006).** Resveratrol as a chemopreventive agent: A promising molecule for fighting cancer. *Current Drug Targets*, 7 (4), 423 – 442.

**Denise K. Gessner, Robert Ringseis and Klaus Eder.(2016).** Potential of plant polyphenols to combat oxidative stress and inflammatory processes in farm animals

**Di Marco, A., Gaetani, M., Dorigotti, L., Soldati, M. et Bellini, O. (1963).** Studi sperimentali sull'attivata' antineoplasica del nuevo antibiotico daunomicina. Tumori, 49,203-17.

**Donatien Kone.(2008).** enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes - extraction,identification d'alcaloïdes -caractérisation, quantification de polyphénols : etude de leur activité antioxydante, l'universite paul verlaine de metz –upv- m (france) faculte des sciences et techniques.(tbl les activités des polyphenols).

**Doroshov, J. H., (1983).** Effects of anthracycline antibiotic on oxygen radical for mation in rat heart. Cancer. Res. 43, 460-472.

**Dubost, M., Granter, P., Maral, R., Ninet, L. et Pinnert, S. (1963).** Un nouvel antibiotique à propriétés cytostatiques: la rubidomycine, C. R. Academie des Sciences, 1813-15.

**Durak, I., Ozturk, H.S., Kavutcu, M., Birey, M., Yel, M., Guven, T., Olcay, E.,Kacmaz, M., Canbolat, O .(1998).** Protective role of antioxidant vitamins on Adriamycin inducedfree radical production and cardiotoxicity in guinea pigs. Cancer Res. Ther. Cont. 5,133–141.

**Erdman, j.w.; balentine, d.; arab, l.; beecher, g.; dwyer, j.t.; folts, j.; harnly, j.; hollman, p.; keen, c.l.; mazza, g.(2007).** flavonoids and heart health: proceedings of the ils north America flavonoids workshop, may 31–june 1, 2005, washington, dc. j. nutr. 137, 718s–737s

**Ellman GL. (1959).** Plasma antioxidants. Arch. Biochemistry and Biophysics. 82: 70-77.

**Eliot, H., Gianni, L., Myers, C. E. (1984).** Oxidative destruction of DNA by the Atinarme, in inm complex. Biochem. 23: 928-936

**Flohé L., GunzlerW.A. (1984).** Assays of glutathione peroxidase. Methods Enzymol, 105:114–121.

**Fraga, C. G. (2007).** Plant polyphenols: How to translate theirin vitro antioxidant actions to in vivo conditions. IUBMB Life, 59 (4-5), 308 – 315.

**Gallois L, Fiallo M, Laigle A, Priebe W and Gamier-Suillerot A.(1996).** The overall partitioning of anthracyclines into phosphatidyl-containing mode membranes depends neither on the drug charge nor the presence of the anionic phospholipids. Eur J Biochem. 241:879-87.

**Gaston etienne (2016),**Les polyphénols du vin rouge : des propriétés pour prévenir les cancers. Université de Bordeaux U.F.R des SCIENCES PHARMACEUTIQUES.

**Georgiev V, Ananga A and Tsoлова V.(2014).** Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. Nutrients. 21;6(1):391-415.

**Gewirtz.DA.(1999).**A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunorubicin in Biochemical pharmacology. Biochem Pharmacol.1;57(7):727-41.



**Gonzalez-Gallego, J., Sanchez-Campos, S., & Tunon, M. J. (2007).** Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids. *Nutricion Hospitalaria*, 22 (3), 287 – 293

**Gopal DV, Rosen HR.(2000).** Abnormal findings on liver function tests. Interpreting results to narrow the diagnosis and establish a prognosis. *Postgrad Med.* 2000 , 107(2):100-2, 105-9, 113-4.

**Green RM, Flamm S.AGA.(2002).** Technical review on the evaluation of liver chemistry tests. *Gastroenterology*.123: 1367-84

**Halliwell, B., Whiteman, M. (2004).** Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture : how should you do it and what do the results mean?. *British journal of pharmacology*. 142: 31-2.

**Hande, K. R. 1998.** «Clinical applications of anticancer drugs targeted to topoisomerase II>>. *Biochim Biophys Acta*. vol. 1400, no 1-3, p. 173-184.

**Haslam E., (1996).** *J. Nat. Prod* ,59,205-215. 22

**Havesteen, (2002).** *J. Pharmacol. Therap* ,96, 67-202

**Heim, E. K., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002).** Flavonoïdsantioxydants : chemistry ; *Biochemistry*, 13, 572 – 584.

**Hider RC, Liu ZD, Khodr HH.** (2001).Metal chelation of polyphenols. *Methods Enzymol.* ;335:190-203.

**Hong.Y.M, H.S. Kim, H.R.(2002).** YoonSerum lipid and fatty acid profiles in adriamycin-treated rats after administration of l-carnitine *Pediatr. Res.*, 51 , pp. 249-255

**Hopkins, W. G. (2003).** *Physiologie végétale*. 2 280. édition. Edition de Boeck Université, p 268,

**Hortobàgyi GN.(1997).** Anthracyclines in the treatment of cancer. *Drugs*. 54(suppl.4).

**Hung-Chih Ting et al., (2011).** The in vitro and in vivo antioxidant properties of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*) seed oil, *Food Chemistry*, V125, pp. 652–659.

**Huang C.L.,Sumpio B.E. (2008).** Mediterranean diet and cardiovascular health. *American College of Surgeons*.207 (03): 408–416.

**Isaacs, R. J., Davies, S. 1., Wells, N. J. et Harris, A. 1. (1995).** Topoisomerase Ha and 13 as therapy targets in breast cancer. *Anti-Cancer Drugs*, 6,195-211.

**Jain M, Barthwal SK, Barthwal R, Govil G.(2005).** Restrained molecular dynamics studies on complex of adriamycin with DNA hexamer sequence d-CGATCG. *Arch Biochem Biophys*. 1;439(1):12–24.

**Japon-Lujan R., Janeiro P., Luque de Castro M.D. (2008).** Solid-liquid transfer of biophenols from olive leaves for the enrichment of edible oils by a dynamic ultrasound-assisted approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56: 7231–7235.

**Jhonson I.(1999).** Antioxydants et anticancéreux. *Biofutur* , 186: 14-15.

**Jost, J. P., & Jost-Tse, Y. C. (2016).** L'automédication chez les animaux dans la nature. Editions connaissances & savoirs, p 23

**Jovanovic S.V. et coll.(1994).** *J. Am. Chem. Soc.*, 116, 4846-4851.coll.,1994. *J. Am. Chem. Soc.*, 116, 4846-4851

**Judson I, Verweij J, Gelderblom H, Hartmann JT, Schöffski P and Blay JY. (2014).**Doxorubicin alone versus intensified doxorubicin plus ifosfamide for first-line treatment of advanced or metastatic soft-tissue sarcoma: a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 15(4): 415-23.

**Jung, K. et Reszka, R. (2001).** Mitochondria as subcellular targets for clinically useful anthracyclines. *Advanced Drug Delivery Reviews*, volume 49, numéro 1-2, p. 87-105.

**Kalender S, Kavutcu M, Kalender Y, Olcay E, Yel M & Ates A (2001).** Protective role of antioxidant vitamin E and catechin on doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Cancer Research, Therapy and Control*, 11: 175-182.

**Kalender.S, Kalender.Y, A. Ates, M. Yel1, E. Olcay and S. Candan.(2002).** Protective role of antioxidant vitamin E and catechin on idarubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Braz J Med Biol Res*, Volume 34(11) 1379-1387

**Kalender, Y., Yel, M., Kalender, S., 2005.** Doxorubicin hepatotoxicity and hepatic free radical metabolism in rats The effects of vitamin E and catechin. *Toxicol*. 209, 39–45

**Kanoun.K, (2010).** Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis L.* (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine) , université Aboubakr Belkaid Tlemcen , p.27.

**Katarzyna goszcz,sherine j.deakin,garry g.duthie,Derek stewart,Stephen j.leslie,lan l.megson.(2015).**Antioxydants in cardiovascular therapy.

**Kavutcu M, Canbolat O, Öztürk S, Olcay E, Ulutepe S, Ekinci C, Gökhun IA & Durak I (1996).** Reduced enzymatic antioxidant defense mechanism in kidney tissues from gentamicin-treated guinea pigs: effect of vitamins E and C. *Nephron*, 72: 269-274

**Koti B C, A H M Vishwanathswamy, Jyoti Wagawade & A H M Thippeswamy .(2008).**Cardioprotective effect of lipistat against doxorubicin induced myocardial toxicity in albino rats. *Indian Journal of Experimental Biology* Vol. 47, pp. 41-46.

**Kozluca O, Olcay E, Sürücü S, Güran Z, Kulaksiz T & Üskent N .(1995).** Prevention of doxorubicin induced cardiotoxicity by catechin. *Cancer Letters*, 98: 1-6.

**Krief, S. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. 32p.

**Kundu J.K. and Surh Y. (2008).** Cancer chemopreventive and therapeutic potential of resveratrol: Mechanistic perspectives. *Cancer Letters*, 269(2):243–261

**Kurek-Górecka A, Rzepecka-Stojko A, Górecki M, Stojko J, Sosada M and Swierczek-Zieba G.(2013).** Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules*. 20;19(1):78-101.

**Lalas S., Athanasiadis V., Gortzi O., Bounitsi M., Giovanoudis I., Tsaknis J., Bogiatzis F. (2011).** Enrichment of table olives with polyphenols extracted from olive leaves. *Food Chemistry*. 127: 1521–1525

**Link A, Balaguer F, Goel A. (2010).** Cancer chemoprevention by dietary polyphenols: promising role for epigenetics. *Biochem Pharmacol* 80:1771–92

**Lubgan D, Marczak A, Walczak M, Distel L and Józwiak Z.(2006).** Pharmacological mechanisms of Doxorubicin activity (DOX) - current state of knowledge. *Przegl Lek.* 63(9):782-8.

**Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K. V., & Biro, L. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*, 47, 119 – 125.

**Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques, 192 pages

**Mahalaxmi Mohan, Sarika Kamble, J.Satyanarayana, M.Nageshwar, Niranjan Reddy.(2011).** protective effect of Solanum torvum on Doxorubicin- induced hepatotoxicity in rats”, *Int. J. Drug Dev. & Res.*, 3(3):131-138 doi: doi number

**Malardé, Ludivine.( 2012).** Activité physique et produits dérivés du soja : intérêts dans la prise en charge du stress oxydant associé au diabète de type 1.

**Manach C., Williamson G., Morand C., Scalbert A., Remesy C. (2005).** Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *American Journal of Clinical Nutrition*. 81: 230S-242S.

**Marchand, D.J., Renton, K.W.(1981).** Depression of cytochrome P-450-dependent drug biotransformation by adriamycin. *Toxicol.Appl. Pharmacol.* 58, 83–88.

**Martin S. et Andriantsitohaina R. (2002).** Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Annales de Cardiologie et d'Angiologie*. 51: 304-315.

**Maru, g.; kumar, g.; ghantasala, s.; tajpara, p.(2014).** polyphenol-mediated in vivo cellular responses during carcinogenesis polyphenols in human health and disease; academic press: Cambridge.

**Mazevet Marianne.(2015).** Etude de la cardiotoxicité induite par les traitements anticancéreux : Rôle d'Epac dans la cardiotoxicité induite par la Doxorubicine

**Michel julien.(2012).** classification et influences des polyphénols du bois de chêne sur la qualité sensorielle des vins (application du procédé oakscan®), Université Bordeaux Segalen.

**Minotti G, Cairo G and Monti E. (1999).** Role of iron in anthracycline cardiotoxicity: new tunes for an old song? FASEB J. 13:199-212.

**Minotti, G., P. Menna, E. Salvatorelli, G. Cairo et L. Gianni. (2004).** «Anthracyclines: molecular advances and pharmacologie developments in antitumor activity and cardiotoxicity». Pharmacol Rev. vol. 56, no 2, p. 185-229.

**Mizutani, H., S. Tada-Oikawa, Y. Hiraku, M. Kojima et S. Kawanishi. (2005).** «Mechanism of apoptosis induced by doxorubicin through the generation of hydrogen peroxide». Life Sei. vol. 76, no 13, p. 1439-1453.

**Mougeolle Alexis.(2014.)** effet du stress oxydant sur les caveoles dans les cellules musculaires squelettiques

**Mross K, Mayer U, Hamm K, Burk K, Hossfeld DK .(1990).** Pharmacokinetics and metabolism of iodo-doxorubicin and doxorubicin in humans. EurJ Clin Pharmacol. ; 39 : 507-513.

**Muggia, F. M. et Green, M. D. (1991).** New anthracycline antitumor antibiotics. Crit Rev Oncol Hematol, 11, (1),43-64.

**Muindi, J.R.F., Sinha, B.K., Gianni, L., Myers, C.E., 1985.** Thiol dependent DNA damage produced by anthracycline-iron complexes: the structure-activity relationships and molecular mechanisms. Mol. Pharmacol. 27, 356-365.

**Mukhopadhyay P, Rajesh M, Bátkai S, Kashiwaya Y, Haskó G, Liaudet L, et al.(2009).** Role of superoxide, nitric oxide, and peroxynitrite in doxorubicin-induced cell death in vivo and in vitro. Am J Physiol Heart Circ Physiol.296(5):H1466–83.

**O'connell, J. E., & Fox, P. F. (2001).** Significance and application of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review .international Dairy journal, 11, 103 – 120

**Octavia, Y., Tocchetti, C. G., Gabrielson, K. L., Janssens, S., Crijns, H. J. et Moens, A. L. (2012).** Doxorubicin-induced cardiomyopathy: from molecular mechanisms to therapeutic strategies. Journal of Molecular & Cellular Cardiology, volume 52, numéro 6, p. 1213-1225.

**Olson RD and Mushlin PS.(1990).** Doxorubicin cardiotoxicity: analysis of prevailing hypotheses. FASEB J. 4:3076–86.

**OMS, 2013.** Organisation mondiale de la santé. [www.who.int](http://www.who.int)

**Pacher P, Beckman JS, Liaudet L.(2007).** Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev*;87:315-424.

**Perez-Vizcaino F, Duarte J. (2010)**Flavonols and cardiovascular disease.

**Pietta, P. G. (2000).** Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63, 1035 – 1042 .metabolism and structure-activity relationships. *The journal of Nutritional*

**Raven H., Evert R. F., Eichhorn S. E. (2000).** *Biologie végétale*. 6e édition. Traduit par Jules Bouharmont avec la collaboration scientifique de Charles-Marie Evrard.De Boeck Université- Paris, 944p.

**Richter G. (1993).** Composés phénoliques in *Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie*. Ed Presse polytechnique et universitaire romande. pp: 317-339.

**Rijke, E., Out, P., Niessen, W. M. A., Ariese, F., Gooijer, C., & Brinkman, U. A. T. (2006)** .Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*, 1112, 31 – 634.

**Samouelian, F., Gaudin, V., & Boccara, M. (2009).** *Génétique moléculaire des plantes*. Edition Quae, p 21, 22.

**Sarni-Manchado P. et Cheynier V. (2006).** *Les polyphénols en agroalimentaire*. Ed Tec et Doc Lavoisier. pp : 02-11

**Scalbert a., manach c., morand c., remesy c., jimenez I. ( 2005).** dietary polyphenols and the prevention of diseases. *critical reviews in food science and nutrition*.45: 287-306.

**Sies H. and Jones DP. (2007).** *Encyclopedia of Stress*. Elsevier.

**Sinha, B.K., Katki, A.G., Batist, G., Cowan, K.H., Myers, C.E., 1987.** Adriamycin stimulated hydroxyl radical formation in human breast tumor cells. *Biochem. Pharmacol.* 36, 793-796.

**Stafford, H. A.(1990).** *Flavonoid metabolism*. CRC Press, Boca Raton, FL. 298 pages.

**Stěrba M, Popelová O, Vávrová A, Jirkovský E, Kovaříková P, Geršl V and Simůnek T.(2013).**Oxidative stress, redox cardioprotection. *Antioxid Redox Signal.* 18(8):899-929. signaling, and metal chelation in anthracycline cardiotoxicity and pharmacological

**Sudhakar A. (2009).** *History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods*. *J Cancer Sci Ther.* 1(2):1-4.

**Suzanne Gascon . (2015).** *Programme de Sciences des Radiations et Imagerie Biomédicale*

- Tannock, Ian, et Richard P. Hill.(1998).**The basic science of oncology, 3<sup>éd</sup>. New York: McGraw-Hill Health Professions Division, 539 p
- Tapas, A. R., Sakarkar, D. M., & Kakde, R. B. (2008).** Flavonoids as nutraceuticals: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3), 1089 – 1099
- Tepe B, Sokmen M, Akpulat H A, Sokmen A. (2005).** In vitro ntioxidant activities of the methanol extracts of five *Allium* species from Turkey. *Food Chem.*;92:89–92.
- Theeshan Bahroun.(1995).** les polyphenols de crataegus monogyna jacq. in vivo et in vitro : analysef et activites antioxydantes.l'universite des sciences et technologies de lille.
- Teuffel O, Leibundgut K, Lehrnbecher T, Alonzo TA, Beyene J and Sung L. (2013).** Anthracyclines during induction therapy in acute myeloid leukaemia: a systematic review and meta-analysis. *Br J Haematol.* 161(2):192-203.
- Tokarska-Schlattner M, Wallimann T,Schlattner U. (2002).** Multiple interference of anthracyclines with mitochondrial creatine kinases: preferential damage of the cardiac isoenzyme and its implications for drug cardiotoxicity. *Mol Pharmacol.* 61(3):516–23.
- Umezawa, T. Phytochemistry Reviews.(2003).** 2: 371. Diversity in lignan biosynthesis
- Uchiyama M. and Mihara M. (1978).** Determination of malonaldehyde precursror in tissues by thribarbituric acid test. *Analytical Biochemistry.* 86, 271-278.
- Van Acker S.A.B.E. et coll., (1996) .** Free Radical. *Biol. Med.*, 20, 331.
- Venkatesan.N, P. Venkatesan, J. Karthikeyan, V. (1997),** ArumugamProtection by taurine against adriamycin-induced proteinuria and hyperlipidemia in rats*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 215 pp. 158-164
- Wallace AD & Meyer SA (2010).** Hepatotoxicity. In: *A Textbook of Modern Toxicology.* 4th ed. John Wiley & Sons. Inc (Hoboken, New Jersey), 277-290.
- Wang YM, Madanat FF, Kimball JC, Gleiser CA, Ali MK, Kaufman MW & van Eys J (1980).** Effect of vitamin E against adriamycin-induced toxicity in rabbits. *Cancer Research*, 40: 1022-1027
- Wood Z. A., Poole LB. and Karplus PA. (2003).** Peroxiredoxin evolution and the regulation of hydrogen peroxide signaling. *Science.* 300(5619): 650-3.
- Wu T., Zang X., He M., Pan S. andXu X.(2013).**Structure-activity relationship of flavonoids on their anti-*Escherichia coli* activity and inhibition of DNA gyrase.*Journal of food chemistry*, 61(34): 8185-8190
- Yadav NP, Dixit VK. (2003).** Hepatoprotectiveactivity of leaves of *Kalanchoepinnata*.*Pers. JEthnopharmacol.* 86, 197-202

**Yordi , E. G., Pérez, E. M ., Matos, M. J ., & villares, E. U. (2012).** Antioxidant and pro oxidant effects of polyphenolic compounds and structure- avtivity relationship evidence, 23-48.

**Zhou Q, Chowbay B (2002).** Determination of doxorubicin and its metabolites in rat serum and bile by LC: application to preclinical pharmacokinetic studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* ; 30 : 1063-1074.

**Ziemmerman HJ, Seef LB. (1970)** .Enzymes inhepatic disease. In: Goodley, E.L. (Ed), *DiagnostiEnzymology.* Lea and Febiger, Philadelphia, pp.1-38.

## Résumé

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'activité antioxydante et hépato-cardioprotectrice de l'extrait butanolique de la plante *Verbascum sp.* Contre la toxicité induite par DOXO chez des rats femelles de souche *Wistar Albinos*.

La toxicité hépatique et cardiaque chez les rats induite par la DOXO a été évaluée par le dosage des transaminases (ALAT et ASAT) sériques, le stress oxydant issu a été estimé à travers la concentration de la molondialdehyde (MDA) et (GSH) ainsi par l'évaluation de l'activité enzymatique de (GPx). Le potentiel antioxydant *In vitro* de notre extrait était évalué en utilisant la technique de DPPH°.

Le prétraitement des rats par l'extrait butanolique de la plante *Verbascum sp.* (100mg/kg) (Pendant 10 jours) les a nettement protégés contre la toxicité provoquée par la doxorubicine (15mg/kg). Les résultats indiquent clairement que l'extrait butanolique de la plante *Verbascum sp.* joue un rôle protecteur important vis-à-vis la toxicité cardiaque et hépatique provoquée par la doxorubicine.

**Mots clés:** *Verbascum sp.*; Doxorubicine; Extrait butanolique ; oxidative stress; Activités antioxydantes; DPPH.