

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département de Biologie physico-chimique
Filière : Science Biologique
Option : Biochimie appliquée



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Evaluation de l'effet hépatoprotecteur des
extraits de *Pistacia lentiscus* et *Fraxinus
angustifolia***

Présenté par :

BOUAZOUNE Kahina & BOUKHRAS Yasmina

Soutenu le : **11 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

M^{me} Debbache N .

M^{me} Atmani D.

M^r Bouguezza Y.

M.A.A.

M.C.B.

M.A.A.

Presidente

Encadreur

Examineur

Année universitaire : 2014 / 2015

Remerciements

D'abord nous remercions notre dieu le tout puissant qui nous protège tout le temps, et qui nous a donné le courage et la patience pour réaliser ce modeste travail.

Nous tenons à remercier très particulièrement notre promotrice M^{me} Atmani. D, pour son aide, ses conseils, son orientation et sa grande gentillesse.

Toutes nos expressions de respect à M^{me} Debbache. N qui nous a fait honneur par sa présence en qualité de présidente de jury

Nos sincères remerciements et considérations sont exprimés à M^r Bouguezza. Y qui a accepté d'examiner ce travail et de consacrer de son temps pour l'évaluer.

Nous remercions aussi M^{elle} Azib L. pour son amitié, sa disponibilité et tout ce qu'elle nous a appris.

Sans oublier toutes les membres de laboratoire de génétique, techniciennes, doctorants et proffes.

Dédicaces

Avant de dédier ce travail, je tiens d'abord à remercier le dieu qui nous a donné de la santé et nous a permis de mener travail ; puis je dédier ce travail

À

À mes parents :

Papa, J'ai toujours trouvé auprès de toi, compréhension et soutien. Tes prières et tes conseils ne m'ont jamais fait défaut tout au long de mes études. Trouve à travers ce modeste travail, la récompense de ton affection, de tes sacrifices et de la patience,

Maman, Les mots me manquent pour t'exprimer tout ma reconnaissance. Que tes sacrifices, des peines et tes privations trouvent leur récompense dans l'aboutissement de ce modeste travail qui est aussi le fruit de ta persévérance, de ton courage, de ton amour, tes bénédictions, ta bonne éducation et surtout de ta patience. Je voudrais à travers ce modeste travail, te dire que sans toi je ne serais jamais ce que je suis aujourd'hui et te dire combien je suis fier de l'éducation que tu nous as donnée.

À mes sœurs :

Leïla, warda, Souad, pour leur amour et leur tendresse.

*Et surtout pour ma petite sœur **Celia***

À ma grand mère, mes ancêtres et leurs familles, toutes mes tantes, sans oublier mes petits cousins.

À tous mes amis (es) pour leur soutien, aide, présence et surtout pour leurs compréhension lamia, soraya, kenza, fatima, siham et pour mon amie d'enfance et ma binôme kahina.

Merci pour tous ceux et celles qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre dans ce travail, Je les remercie du fond du cœur.

Yasmina. B

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*A mes très chers parents pour leur amour, leur sacrifice, leur encouragement,
Pour tout ce qu'ils m'ont apporté et les valeurs qu'ils m'ont enseignées Pour leur
soutien et leur confiance notamment durant mes études.*

A ma soeur Siham, son mari Salim et Son fils Amine

*A mes soeurs Yasmine, Nassima et mes frères Fares, Massinissa, Farid et sa
femme Hanane*

A mes oncles, mes tantes et toute ma famille

A ma binôme Yasmina

A toute la promotion de biochimie appliquée

A toutes mes amies, en particulier : Farida , Lamia, Siham, Fatima et Saida.

Kahina B

Sommaire

LISTE D'ABREVIATION

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION.....1

CHAPITRE I : REVUES BIBLIOGRAPHYQUES

I.1. LES RADICAUX LIBRES.....	2
I.1.1. DEFINITION	2
I.1.2. NATURE DES RADICAUX LIBRES	2
I.1.3. LES PRINCIPALES SOURCES DES ERO.....	2
I.1.3.1. LES SOURCES ENDOGENES	2
I.1.3.2. LES SOURCES EXOGENES	4
I.1.4. ROLES DES RADICAUX LIBRES.....	4
I.1.4.1. ROLES PHYSIOLOGIQUES	5
I.1.4.2. ROLES PATHOLOGIQUES	5
I.2. STRESS OXYDANT.....	5
I.2.1. PRINCIPALES CIBLES BIOLOGIQUES.....	5
I.2.1.1. L' ACIDE DESOXYRIBONUCLEIQUE.....	5
I.2.1.2. LES LIPOPROTEINES.....	6
I.2.1.3. LES PROTEINES ET ACIDES AMINES.....	6
I.2.1.4. LES LIPIDES MEMBRANAIRES	6
I.2.2. LA PEROXYDATION LIPIDIQUE.....	7
I.2.2.1. CAUSES DE LA PEROXYDATION LIPIDIQUE	9
I.2.2.2. PATHOLOGIES LIEES A LA PEROXYDATION LIPIDIQUE	9
I.2.2.3. BIO-MARQUEURS DE LA PEROXYDATION LIPIDIQUE	10
I.2.3. LES SYSTEMES ANTIOXYDANTS.....	11
I.2.3.1. LES ANTIOXYDANTS ENZYMATIQUES	12
I.2.3.2. LES ANTIOXYDANTS NON-ENZYMATIQUES	13

Sommaire

CHAPITRE II: MATERIELS ET METHODES

II.1. MATERIEL	16
II.1.1. MATERIEL VEGETAL.....	16
II.1.1.1. DESCRIPTION DES PLANTES.....	16
II.1.1.2.1. <i>PISTACIA LENTISCUS</i>	16
II.1.1.2.2. <i>FRAXINUS ANGUSTIFOLIA</i>	18
II.2. MATERIEL ANIMAL	20
II.2. METHODE.....	20
II.2.1. RECOLTE ET BROyage DES PLANTES	20
II.2.2. EXTRACTION	21
II.2.3. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE	21
II.2.3.1. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANT	22
II.3. ETUDE STATISTIQUE.....	23

CHAPITRES III: RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. POIDS CORPORELS.....	24
III.2. POIDS RELATIFS DES FOIES DE SOURIS.....	25
III.3. TEST DE TBA.....	27
CONCLUSION.....	32
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	33

ANNEXES

Liste des abréviations

ADN : Adénosine Désoxyribonucléique.

AGI : Les acides gras polyinsaturés.

Al: aluminium.

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium.

APP : Amyloid Protein Precursor (Précurseur de la Protéines Amyloïdes).

AQ : anthraquinone

Aβ : β Amyloïde.

CAT : Catalase.

CMC : carboxymethyle cellulose.

DXR : la doxorubicine

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

ERN: espèces réactives azotées

Fe²⁺ : Ion ferreux.

Fe³⁺ : Ion ferriques.

GSH : Glutathion réduit.

GSSH : Glutathion oxydé.

GPx : Glutathion peroxydase.

H⁺ : Proton d'hydrogène.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

HOONO : peroxydite.

4-HNE : 4-hydroxy-2-nonènal.

LDL : Low density lipoprotein (Lipoprotéine de faible densité)

MA : maladie d'Alzheimer

MDA : Malondialdéhyde.

NADPH oxydase : Nicotinamide adénine dinucleotide phosphate.

NO: Radical nitrique.

O₂⁻ : Anion superoxyde.

OH[•]: Radical hydroxyde.

ONOO⁻ : Ion peroxydite.

RL: radicaux libres

RO[•] :alkoxyde.

ROO[•]: radical peroxyde.

ROOH : lipides peroxydés.

SOD : Superoxyde dismutase.

TBA : Acide Thiobarbiturique.

TBARs : substances réagissent avec l'acide thiobarbiturique.

TEMP : la tomographie par émission monophotonique.

TEP : Tomographie à émission de positon.

TEP-FDG : la tomographie par émission de positons.

TSH: thyroestimuline hypophysaire.

XO : La xanthine oxydase.

Liste des figures

Figure 1: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène..	3
Figure2 : Mutations de l'ADN formées par attaque radicalaire	5
Figure 3 : Initiation de la peroxydation lipidique	6
Figure 4 : La propagation de la peroxydation lipidique à d'autres AGPI	7
Figure 5 : Produits terminaux de la peroxydation lipidique	7
Figure 6: arbuste de <i>Pistacia lentiscus</i>	15
Figure 7: Arbuste de <i>Fraxinus angustifolia</i>	17
Figure8 : Représentation de l'administration intragastrique.....	21
Figure 9: Evolution des poids corporels des souris pendant la période de traitement.....	23
Figure 10 : Evolution des poids corporels des souris pendant la période traitement.....	24
Figure11 : Evolution des poids relatifs des foies de souris.....	25
Figure12 : Taux des MDA (nmoles/mg de protéines) après intoxication avec l' AlCl_3 chez les souris traitées par les feuilles de <i>P. lentiscus</i>	27
Figure13: Taux de MDA (nmoles/mg prot) après intoxication avec l' AlCl_3 chez les souris traitées par les feuilles et écorce de <i>F. angustifolia</i>	27

Liste des tableaux

	Titre de tableaux	Page
Tableau I	classification scientifique de <i>P. lentiscus</i>	16
Tableau II	classification scientifique de <i>F. angustifolia</i>	18
Tableau III	Les différentes classes de composés phénoliques	14

Introduction

Le stress oxydant est un déséquilibre entre les systèmes oxydant et antioxydant lié à une production accrue des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et une diminution de la capacité de défenses antioxydantes aboutissant à une attaque des composés cellulaires (**Chow et al., 2007**).

La peroxydation lipidique est un processus qui se produit lors de la présence de l'oxygène comme conséquence du stress oxydant, les acides gras étant sa cible, les plus sensibles étant les acides gras polyinsaturés (**Cillard et Cillard, 2006**). Ce processus de dégradation des composés naturels est lié, chez les mammifères, à des lésions et des inflammations dans les organes riches en lipides, comme le foie. Les lipides de la membrane cellulaire, dégradés, mènent à des changements de la perméabilité membranaire conduisant à son ultime destruction et à l'apoptose (**Guéraud, 2010**).

Les pathologies liées à la peroxydation lipidique sont nombreuses les plus importantes sont l'athérosclérose et la maladie d'Alzheimer (**Negre-Salvayre et al., 2010**) Les traitements par la médecine moderne de ces maladies est limité, ce qui a incité la recherche de nouvelles molécules d'origine naturelle pour la prévention et le traitement de ces maladies. Beaucoup de plantes médicinales contiennent un large spectre de substances phytochimiques qui sont des sources d'antioxydants naturels tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins. Ces composés possèdent, en plus de leur activité antioxydante, d'autres propriétés biologiques, notamment anti-inflammatoires et antimicrobiennes (**Li et al., 2008**). Ces diverses propriétés sont responsables de leur large utilisation en médecine traditionnelle.

Pistacia lentiscus et *Fraxinus angustifolia* sont deux plantes locales largement utilisées dans le traitement de plusieurs maladies. *P. lentiscus* possède des propriétés anti-radicalaire, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydante (**Atmani et al., 2009**) alors que *F. angustifolia* est doué d'activités diurétique, hépatoprotectrice, antimicrobienne et anti oxydant. Ces propriétés thérapeutiques ont été mises en évidence dans plusieurs études de recherches (**Atmani et al., 2009; Moulaoui et al., 2014; Remila et al., 2015**) et correspondent à leur richesse en métabolites secondaires tels que les composés phénoliques.

L'objectif de ce travail a été d'évaluer l'effet hépatoprotecteur des extraits éthanoliques des feuilles de *P. lentiscus* et feuilles et écorce de *F. angustifolia* contre la peroxydation lipidique induite par le trichlorure d'aluminium (AlCl₃).

Chapitre I : Revue

bibliographique

Le stress oxydant est caractérisé par la présence en excès de radicaux libre.

I.1. Les radicaux libres

I.1.1. DEFINITION

Un radical libre (RL) peut être défini comme une espèce chimique, atome ou molécule, qui contient un ou plusieurs électrons non appariés. Cet électron célibataire confère aux RL une certaine instabilité, qui stimule des attaques par les radicaux libres de molécules biologiques afin de les oxyder. En présence de l'oxygène, la production des RL est permanente au sein de la matière vivante ce qui nécessite leur neutralisation par des molécules appelés antioxydants (**Amar, 2010; Berger, 2006**). L'oxygène, indispensable à la vie, génère dans la cellule des espèces réactives oxygénées (ERO) qui peuvent provoquer de nombreux effets délétères et qui peuvent réagir avec de nombreuses molécules et de provoquer des dégâts cellulaires (**Pincemail et al., 2009**).

I.1.2. NATURE DES RADICAUX LIBRES

Les radicaux libres peuvent provenir de l'oxygène, généralement appelés espèces réactives oxygénées (ERO). On en cite les radicaux hydroxyl (OH^\cdot), le superoxyde (O_2^\cdot) et l'oxygène singulet (O). Ils peuvent provenir aussi de l'azote appelés espèces réactives azotées (ERN). Les monoxydes d'azote (NO^\cdot) et le peroxydinitrite ONOO^\cdot sont des exemples. (**Reimund, 2002**)

I.1.3. LES PRINCIPALES SOURCES DES ERO

Deux sources principales sont à l'origine de la formation des ERO

I.1.3.1. LES SOURCES ENDOGENES

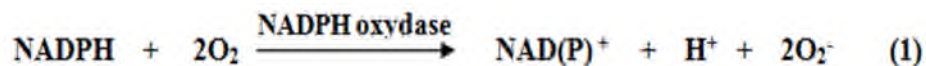
-LA MITOCHONDRIE

Les dérivés réactifs de l'oxygène sont produits au cours de la chaîne respiratoire où l'oxygène moléculaire est réduit en eau. En effet, dans les cellules non phagocytaires, 80 % de l'anion superoxyde dans la cellule provient du fonctionnement de la chaîne respiratoire, localisée dans la membrane interne de la mitochondrie (**Carrière et al., 2006**). Cependant, une proportion significative de l'oxygène (2 à 3 %) échappe à la réduction complète en H_2O et subit une réduction mono-électronique au niveau des complexes I et III de la chaîne respiratoire pour donner naissance à l'anion superoxyde (O_2^\cdot) (**Gardès -Albert et al., 2003**).

Ce dernier est le précurseur des ERO car il est transformé sous l'action du superoxyde dismutase (SOD) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Figure 1). Par addition de nouveaux électrons, le H_2O_2 donne naissance au radical hydroxyle (OH^\cdot) par la réaction de Fenton. Ce dernier, hautement réactif, peut s'attaquer à la plupart des macromolécules (protéines, acides nucléiques et lipides), désorganisant leur structure chimique et altérant leurs fonctions biologiques (**Babior, 2000**). D'autres réactions chimiques conduisent à la formation d'acide hypochloreux et d'oxygène singulet (Figure 1), Le monoxyde d'azote, quant à lui, est produit sous l'action de la NO synthase (NOS) (**Reimund, 2002**)

-LA NADPH OXYDASE

La NADPH oxydase est une enzyme localisée au niveau de la membrane cytoplasmique et dans les cellules phagocytaires. La NADPH utilise le NADH ou le NADPH intracellulaire comme donneurs d'électrons pour catalyser la réduction mono-électronique de l'oxygène en O_2^- (réaction 1) (**Beaudeau et al., 2006 ; Favier, 2003**).



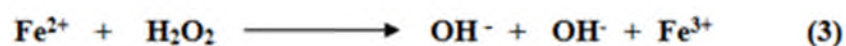
-LA XANTHINE OXYDASE

La Xanthine oxydase (XO) est une enzyme cytosolique qui catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine et la réduction d' O_2 en O_2^- (réaction 2)(**Montalbini, 2000**).



-LES METAUX DE TRANSITION

Les ions métalliques comme le fer et le cuivre sont de remarquables promoteurs de processus radicalaires *in vitro*, transforment le H_2O_2 en radical hydroxyl (OH^\cdot) par la réaction de Fenton (réaction 3). Ce dernier, étant encore plus toxique, accélère la peroxydation lipidique (**Fontaine et al., 2002**).



I.1.3.2. LES SOURCES EXOGENES

Les sources exogènes sont majoritairement des prooxydants environnementaux tels que les pesticides, la fumée de cigarettes, les xénobiotiques, et les rayonnement électromagnétiques (radiation ionisante, lumière ultraviolette) (Buonocore *et al.*, 2010).

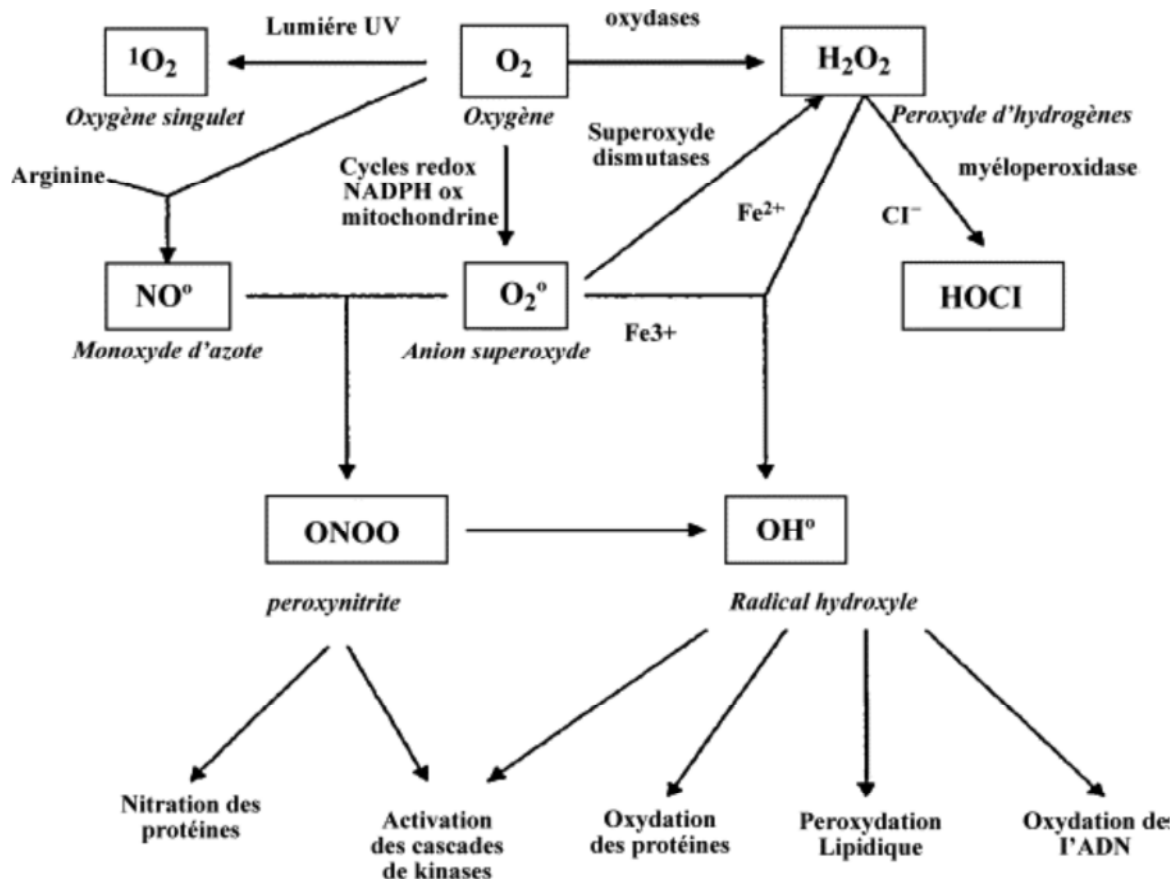


Figure 1: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène (Hazout *et al.*, 2008).

I.1.4. ROLES DES RADICAUX LIBRES

Le rôle des RL est très complexe car ils peuvent assumer une fonction physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration. A l'état physiologique, il existe un équilibre entre la production des radicaux libres dérivés de l'oxygène (ERO) et les systèmes antioxydants. Par contre, une production exagérée d'ERO provoqué essentiellement par un

déséquilibre des défenses antioxydants peut aboutir à des pathologies telles les maladies dégénératives et le cancer (**Baudin, 2006**).

I.1.4.1. ROLES PHYSIOLOGIQUES

Les radicaux libres remplissent de très nombreuses fonctions utiles. Ils participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes (**Favier, 2003**). Ils sont aussi impliqués dans la destruction des cellules tumorales par apoptose, le cycle cellulaire et la différenciation cellulaire (**Favier, 2003**). Ils peuvent aussi jouer un rôle de messagers secondaires ou activateurs des facteurs de transcription (**Haleng et al., 2007**).

I.1.4.2. ROLES PATHOLOGIQUES

En excès, les RL deviennent pathologiques, par activation de l'expression des gènes codant pour des cytokines proinflammatoires ou des protéines d'adhésion. En outre, leur nature instable les rend très réactifs vis-à-vis de substrats biologiques et capables d'induire des modifications oxydatives délétères potentiellement impliquées dans l'apparition de plusieurs pathologies comme le cancer et les maladies neurodégénérative (**Haleng et al., 2007**).

I.2. STRESS OXYDANT

Un stress oxydant est produit lorsqu'il y a un déséquilibre profond entre antioxydants et prooxydants en faveur de ces derniers. Cette situation peut résulter d'un dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale, d'une activation de systèmes enzymatiques (xanthine oxydase, NADPH oxydase, monoamine oxydase), d'une libération de fer libre à partir des protéines chélatrices (ferritine) ou d'une oxydation de certaines molécules (glucose, hémoglobine, catécholamines). Enfin, une mauvaise alimentation pauvre en antioxydants contribuera également à l'apparition d'un stress oxydant (**Pincemail et al., 2002**).

I.2.1. PRINCIPALES CIBLES BIOLOGIQUES

I.2.1.1. L'ACIDE DESOXYRIBONUCLEIQUE :

L'ADN est une cible privilégiée des ERO. La guanine, par exemple, peut réagir avec le OH[•] pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) qui, en s'appariant avec l'adénine, entraîne des mutations au sein de l'ADN (Figure2) qui peut aboutir au déclenchement du cancer (**Haleng et al., 2007**).

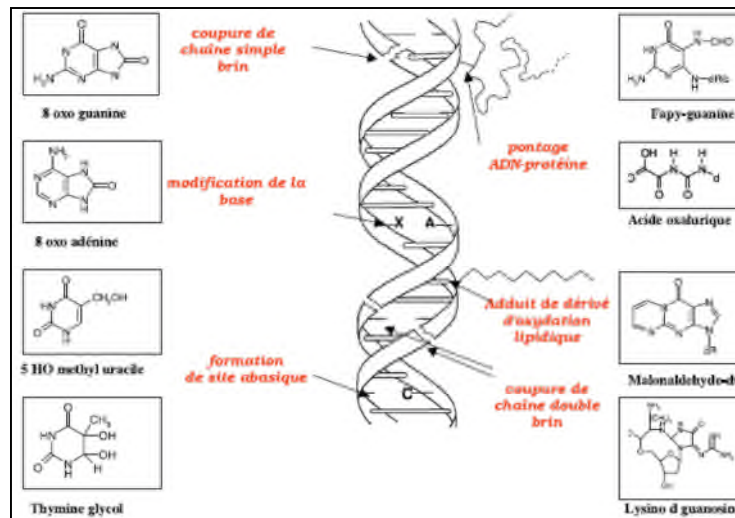


Figure2 : Exemple de Mutations de l'ADN formées par attaque radicalaire (Favier,2003).

I.2.1.2. LES LIPOPROTEINES :

L'attaque radicalaire des lipoprotéines circulantes aboutit à la formation de LDL oxydées, qui seront captées par des récepteurs spécifiques des macrophages. L'activité de ces récepteurs n'étant pas régulée par la concentration intracellulaire en cholestérol, les macrophages se transforment petit à petit en cellules spumeuses (rôle important dans les premières étapes de l'athérosclérose) (Nakajima, 2006).

I.2.1.3. LES PROTEINES ET ACIDES AMINES

Les modifications des structures primaires, secondaires et tertiaires des protéines par les ERO sont à la base de la formation de dérivés protéiques carbonylés (Pincemil et al., 2009). Les acides aminés les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire provoque des dommages qui sont, pour la plupart irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (non reconnaissance d'un récepteur par un ligand et perte d'activité enzymatique) (Haleng et al., 2007).

I.2.1.4. LES LIPIDES MEMBRANAIRES :

Le mécanisme d'attaque oxydante des RL sur la membrane cellulaire est appelé la peroxydation lipidique (Baudin, 2006). Il est discuté dans la section suivante.

I.2.2. LA PEROXYDATION LIPIDIQUE

La peroxydation lipidique est engendrée par des attaques radicalaires sur les composés les plus sensibles de la membrane cellulaire qui sont les acides gras polyinsaturés (AGPI), dont l'oxydation est d'autant plus importante que le nombre de doubles liaisons est élevé (**Acar et Lecert, 2007**). Le dommage oxydatif des lipides membranaires (phospholipides, cholestérols), modifie la perméabilité et la fluidité de la membrane et altère son intégrité cellulaire (**Guéraud et al., 2010**). Ce processus est constitué d'une réaction en chaîne divisée en trois étapes:

-L'INITIATION

Le radical hydroxyle arrache un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons d'un acide gras polyinsaturé (AGPI), pour former un radical diène conjugué, qui en présence d'oxygène va être oxydé en radical peroxyde (Figure 3) (**Hennebelle et al., 2004**).

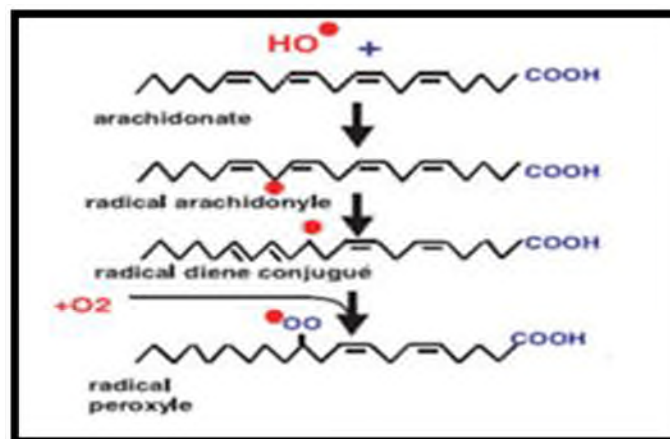


Figure 3 : Initiation de la peroxydation lipidique (**Favier, 2003**).

-LA PROPAGATION

Le radical peroxyde (ROO•) formé dans la première phase est suffisamment réactif pour arracher un H⁺ à un (AGPI) voisin provoquant ainsi la propagation de la réaction (Figure 4) (**Atkin et al., 2005**).

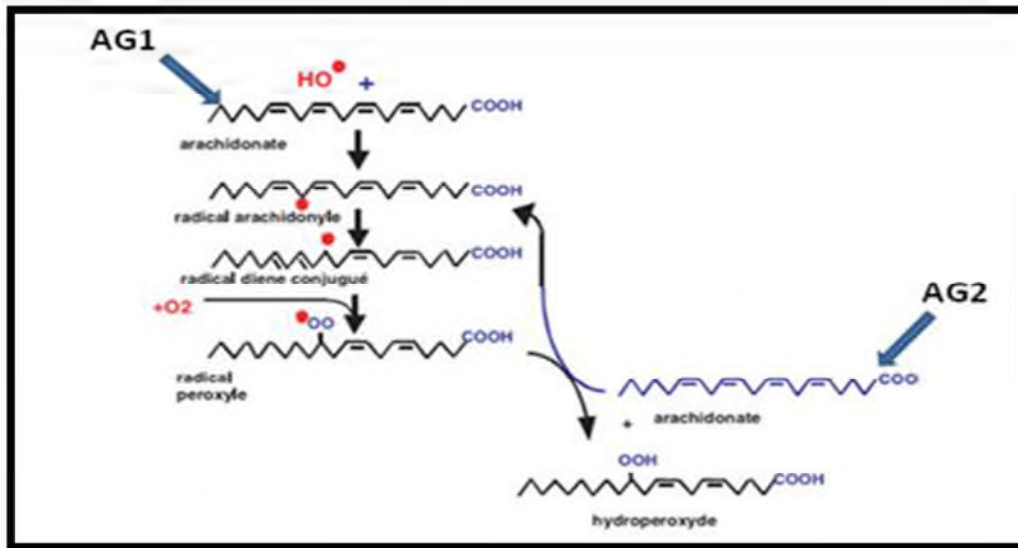


Figure 4 : La propagation de la peroxydation lipidique à d'autres AGPI (Favier, 2003).

-LA TERMINAISON

Cette phase consiste à la recombinaison des deux peroxyde pour former un peroxyde relativement stable ($RO_2^- + RO_2^- \rightarrow ROOR + O_2$). La décomposition des peroxydes libère de nombreux produits tels que des aldéhydes (malondialdéhyde, 4-hydroxynonéol) à partir de la plupart des AGPI, et des isoprostanes à partir de l'acide arachidonique (Figure 5) (Baudin, 2006).

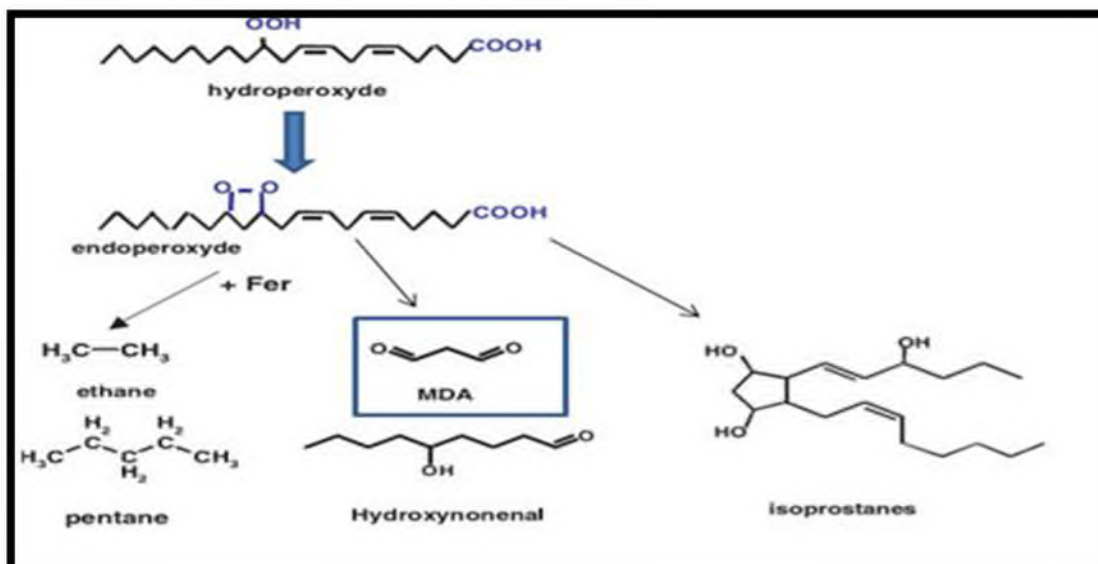


Figure 5 : Produits terminaux de la peroxydation lipidique (Favier, 2003).

I.2.2.1. CAUSES DE LA PEROXYDATION LIPIDIQUE

Les métaux semblent jouer un rôle important dans l'induction de la peroxydation lipidique; parmi ces métaux citons l'aluminium (Al) et le fer (Fe).

Le fer joue un rôle important dans l'initiation et la propagation des réactions radicalaires. Quand il se retrouve dans le sang sous une forme libre, il engendre la formation de radicaux hydroxyles (OH^\cdot) par la réaction de Fenton, et catalyse ainsi l'initiation de la peroxydation lipidique expliquée ci-dessus (**Pincemail *et al.*, 1999**).

L'aluminium n'est pas un métal de transition et ne peut pas initier la peroxydation lipidique. Cependant, plusieurs études montrent une corrélation entre l'accumulation de l'aluminium et les dommages oxydatifs dans le cerveau. Des études *in vitro* ont montré que l'aluminium accélère significativement la peroxydation lipidique initiée par le fer en rentrant en compétition avec ce dernier par sa liaison à la transferrine. Donc, le Fe se retrouve sous une forme libre et permet la formation de radicaux hydroxyles (OH^\cdot) (**Shati *et al.*, 2011**).

I.2.2.2. PATHOLOGIES LIEES A LA PEROXYDATION LIPIDIQUE

La neurotoxicité de l'aluminium (Al) et le fer (Fe) a été considérée pendant plusieurs années comme l'une des causes de déséquilibre lié à la maladie d'Alzheimer. D'autres pathologies comme l'athérosclérose est aussi liée étroitement à la peroxydation lipidique (**Negre-Salvayre *et al.*, 2010**).

-LA MALADIE D'ALZHEIMER

Le système nerveux central (SNC) est une cible très sensible aux dommages de la peroxydation lipidique en raison de la présence d'un niveau élevé de lipides polyinsaturés dans les membranes cellulaires neuronales, le taux élevé en métaux de transition et en oxygène en plus de sa pauvreté en systèmes de défense antioxydants (**Negre-Salvayre *et al.*, 2010**). Comme le cerveau appartient à l'ensemble des tissus et organes dans lesquels le renouvellement cellulaire est quasiment absent, on observe une tendance à accumuler de grandes quantités de produits de la peroxydation lipidique.

Les cellules neuronales possèdent un récepteur de haute affinité et spécificité pour la transferrine, ce récepteur est un point d'accès pour le fer dans le cerveau à travers la circulation (**Singh *et al.*, 2014**). L'Al peut se lier aussi à la transferrine et l'utilise comme véhicule pour la pénétration dans le cerveau (**El-Sayed *et al.*, 2011**). La maladie d'Alzheimer

est associée au processus de vieillissement du cerveau. Elle débute habituellement à partir de 50 ans (début précoce) mais le plus souvent, le début se situe après 65 ans (**Derouesné et al., 2000**). La maladie d'Alzheimer est une affection neuro-dégénérative chronique (**Eustache et al., 1993**), avec des lésions anatomopathologiques et biochimiques importantes. Ces dernières aboutissent à un état démentiel entraînant la disparition progressive des neurones et conduisant à une altération intellectuelle irréversible des facultés cognitives (mémoire, langage, raisonnement) (**Petit et al., 2000; Anaes, 2000**). Ces lésions envahissent progressivement les différentes zones du cortex cérébral, qui se manifestent d'une manière de plus en plus visible.

-L'ATHEROSCLEROSE

L'athérosclérose est une pathologie inflammatoire de la paroi artérielle qui résulte d'une agression initiale de l'endothélium vasculaire (**Duriez, 2004**). Cette agression est issue d'un stress oxydant qui joue un rôle important dans l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL). Ces derniers circulant dans le sang ; ils sont riches en acides gras polyinsaturés subissent des changements dans leur structure en induisant une fragmentation de leur apolipoprotéine qui serait en partie responsable de leur athérogénicité (**Demuth et al., 2000**). Ces LDL modifiés seront reconnues par les macrophages au sein desquels elles s'accumulent formant ainsi des cellules spumeuses qui s'installent dans l'espace interstitiel et contribuent au développement de l'athérosclérose (**Pincemail et al., 1999**).

I.2.2.3. BIO-MARQUEURS DE LA PEROXYDATION LIPIDIQUE

Les marqueurs de la peroxydation lipidique sont nombreux et peuvent être des indicateurs de plusieurs pathologies. Parmi ces marqueurs, on peut citer des produits primaires comme les hydroperoxydes, ou des produits secondaires terminaux comme le malondialdéhyde (MDA), le 4-hydroxynonéal (4-HNE) et les isoprostanes. La difficulté est de choisir tel ou tel marqueur pour apprécier son importance *in vivo* à cause des problèmes analytiques de spécificité et de sensibilité. (**Michel et al., 2008**).

-LES DIENES CONJUGUES

Ils sont facilement mesurables à 234 nm. Leur détection, peu spécifique et peu sensible, a surtout une valeur indicative mais présente l'avantage d'une détermination cinétique. (Guichardant *et al.*, 2006)

-LE DIALDEHYDE MALONIQUE (MDA)

C'est sans doute le plus connu et le plus utilisé. Il résulte de la dégradation des hydroperoxydes formés au cours de la peroxydation des acides gras polyinsaturés. Cependant, il peut aussi être formé lors de l'activation de la voie de la cyclooxygénase. De plus, sa formation n'est pas spécifique des lipides. Il peut aussi apparaître lors de l'interaction du radical hydroxyle avec la vitamine C ou avec le désoxyglucose. Il est généralement détecté par spectrophotométrie à 532 nm après sa dérivation sous la forme d'un complexe avec l'acide thiobarbiturique ou avec l'acide diéthylthiobarbiturique (Guichardant *et al.*, 2006)

-LES ISOPROSTANES

Les isoprostanes résultent de l'oxydation de l'acide arachidonique et sont constitués de cinq types regroupant chacun huit régions isomères, Le 8-épi-PGF_{2a} est l'isomère majoritaire (Morrow *et al.*, 1990). Il peut être mesuré notamment dans les urines et est considéré actuellement comme le marqueur de référence de la peroxydation lipidique *in vivo* (Greco *et Minghetti*, 2004).

-LES 4-HYDROXY-ALKENALS

Ils dérivent comme pour le MDA de la scission des hydroperoxydes formés au cours de la peroxydation lipidique. Ces hydroxyl-alkénals ont en commun une double liaison entre les carbones 2 et 3. Ils sont caractérisés par la présence d'un groupement aldéhydique porté par le carbone 1 et par un groupement hydroxyle sur le carbone 2. Ils ne diffèrent que par la longueur de leur chaîne carbonée. (Guichardant *et al.*, 2006).

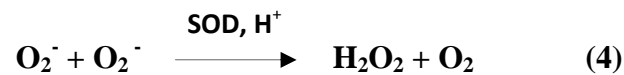
I.2.3.LES SYSTEMES ANTIOXYDANTS

On distingue deux types de systèmes de défense antioxydants: les antioxydants enzymatiques comme la catalase, la glutathion peroxydase (GSH-Px) et la SOD, et les antioxydants non-enzymatiques comme la vitamine E, en particulier la forme α -tocophérol, la vitamine C, et la glutathione cellulaire (Reimund, 2002).

I.2.3.1. LES ANTIOXYDANTS ENZYMATIQUES

- LA SUPEROXYDE DISMUTASE (SOD)

La famille des SOD est formée de plusieurs métalloprotéines (**Haleng *et al.*, 2007**), qui permettent l'élimination des anions superoxydes (O_2^-) par dismutation en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et en une molécule d'oxygène (O_2) (réaction 4) (**Gardès-Albert, 2003**).



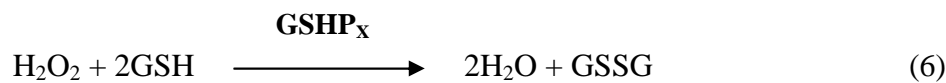
-LA CATALASE (CAT)

La catalase est une enzyme qui contient du fer. Elle est concentrée dans le foie et les érythrocytes (**Tessier *et Marconnet*, 1995**). Elle réduit le peroxyde d'hydrogène en libérant de l'oxygène et de l'eau (réaction 5) et son rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier (**Goudable *et Favier.*, 1997**).



-LA GLUTATHIONE PEROXYDASE (GSHPX) :

La GSH-Px est localisée dans les milieux extracellulaires, le cytosol et les mitochondries (**Ruch *et al.*, 2003**). Ces enzymes réduisent le peroxyde d'hydrogène (réaction 6) et les hydroperoxydes lipidiques (réaction 7) en utilisant le glutathion réduit (GSH) sur lequel elles transfèrent l'oxygène, le transformant en glutathion oxydé (GSSG) (**Goudable *et al.*, 1997**).



I.2.3.2. LES ANTIOXYDANTS NON-ENZYMATIQUE

-LA VITAMINE C

La vitamine C (l'acide ascorbique) est un excellent piègeur des ERO (HO^\cdot ou O_2^\cdot). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques. Ses fonctions sont nombreuses: contribution au bon fonctionnement du système immunitaire, implication dans la synthèse du collagène et des globules rouges ainsi que dans les mécanismes de métabolisation du fer (**Pincemail *et al.*, 2009; Haleng *et al.*, 2007**).

-LA VITAMINE E

La vitamine E est un puissant inhibiteur de la peroxydation lipidique, elle se dose sous la forme de ses deux isomères (α et γ -tocophérol). Son caractère hydrophobe lui permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxydes (ROO^\cdot) pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique. (**Gill et Tutéja, 2010**).

-LES COMPOSES PHENOLIQUES

Durant ces dernières années, plusieurs chercheurs se sont intéressés aux composants phénoliques à cause de leur pouvoir à piéger les radicaux libres et les bienfaits potentiels de leur consommation sur la santé humaine (**Manach *et al.*, 2004**). Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent tous un point en commun: la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (**Hennebelle *et al.*, 2004**).

Les composés phénoliques diffèrent dans leur structure selon le nombre et la position des hydroxylations et méthylations du cycle aromatique (**Bourgou *et al.*, 2008**).

-LES TANINS

Les tanins sont un groupe diversifié de métabolites secondaires des plantes qui ont deux caractéristiques communes : tous sont des polyphénols et tous ont la capacité de fixer les protéines. Les tanins inhibent la peroxydation lipidique des mitochondries du foie et des microsomes. Lors de la peroxydation, les tanins donnent des protons face aux radicaux libres, et ainsi, des radicaux tanniques stables sont formés, ce qui permet de stopper la réaction en chaîne de l'auto-oxydation lipidique (**Ekoumou, 2003**).

-LES QUINONES

Les quinones sont des composés intéressants qui ont des caractéristiques uniques et plusieurs rôles importants. Ils sont largement distribués dans la nature, y compris dans les tissus animaux et végétaux. Les quinones ont été utilisées dans une grande variété de pratique clinique.

Par exemple, la doxorubicine (DXR) est une anthraquinone (AQ) antibiotique qui a été utilisée cliniquement dans le traitement des tumeurs malignes (**Naoya et Naotaka, 2014**). Les quinones sont attachées aux composés phénoliques simples. Certaines quinones plus complexes, où la partie aromatique est liée à une chaîne latérale isoprénique, assurent souvent des fonctions biologiques essentielles chez les êtres vivants, en particulier, le transfert des électrons dans les mitochondries et les chloroplastes (**Macheix et al., 2005**).

-LES COUMARINES


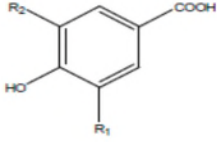
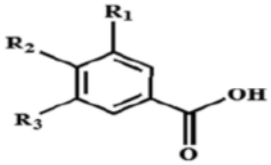
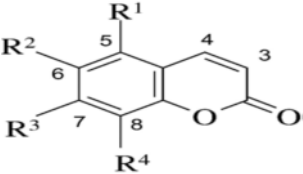
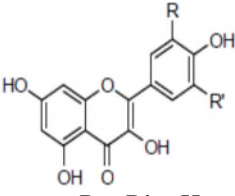
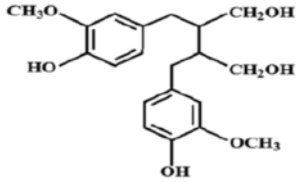
Les coumarines et leurs dérivés sont des produits naturels qui sont largement utilisés pour des fins pharmaceutiques, agricoles et cosmétiques (**Moussaoui et Bensalem., 2007**). Ils ont des activités anti-thrombotiques, anti-inflammatoires et vasodilatatrices (**Cowan, 1999**). Ils ont la capacité de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes, et peroxydes. Ils préviennent également la peroxydation des lipides membranaires (**Anderson et al., 1996**).

-LES FLAVONOÏDES

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus large des composés polyphénoliques. Ils sont classés en flavonols, flavones, flavanones, chalcones, flavanes, isoflavones, flavanols et anthocyanes (**Derbel et Ghedira, 2005**). Du fait de leurs propriétés antioxydantes, liées à leur structure polyphénolique, les flavonoïdes ingérés avec nos aliments sont réputés pour protéger l'organisme contre les effets délétères des apports environnementaux oxydants

(Stoclet et Schini-Kerth, 2011). Les différentes classes des composés phénoliques sont résumées dans le tableau en-dessous.

Tableau III : Les différentes classes de composés phénoliques (Kostova et Iossifova., 2007 ; Bruneton., 2009; Nkhili., 2009; Pandey et Rizvi., 2009).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Structure chimique
C6	Phénols simples	Hydroquinone	
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	Acide gallique	 R ₁ = R ₂ = OH
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques.	Acide caféique	
	Coumarines	Fraxine	 R ₁ = H; R ₂ = OMe; R ₃ = OH; R ₄ = OGlc
C6-C3-C6	Flavonoïdes, isoflavonoïdes	Kaempférol	 R = R' = H
(C6-C3) ₂	lignanes	Medioresinol	
(C6-C3-C6) _n	Tanins condensés	Procyanidol	

Chapitre II :
Matériels et méthodes

II.1.MATERIEL

II.1.1.MATERIEL VEGETAL

Le matériel végétal est composé des extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus* et ceux des feuilles et écorce de *Fraxinus angustifolia*. Le choix des plantes n'était pas arbitraire mais basé sur l'utilisation de ces plantes en médecine traditionnelle pour le traitement des maladies causées par le stress oxydatif.

II.1.1.1. DESCRIPTION DES PLANTES

II.1.1.2.1. *Pistacia lentiscus*

-DESCRIPTION BOTANIQUE

Le pistachier lentisque « *Pistacia Lentiscus L.* », de la famille des Anacardiaceae, est un arbuste vivace ramifié de 1 à 3 mètres de hauteur, à odeur résineuse prononcée, et petites feuilles généralement paripennées, d'un vert foncé, luisantes et persistantes (**Bammou et al., 1997; Fennane et al., 2007**) (figure 6A). Le fruit est une baie globuleuse de 2 à 3 mm, d'abord rouge, il devient brunâtre à sa maturité en automne (figure 6B). L'incision du tronc de cet arbuste fait écouler un suc résineux irritant non coloré nommé le mastic qui, une fois distillée, fournit une essence employée en parfumerie (**Iserin, 2001**).

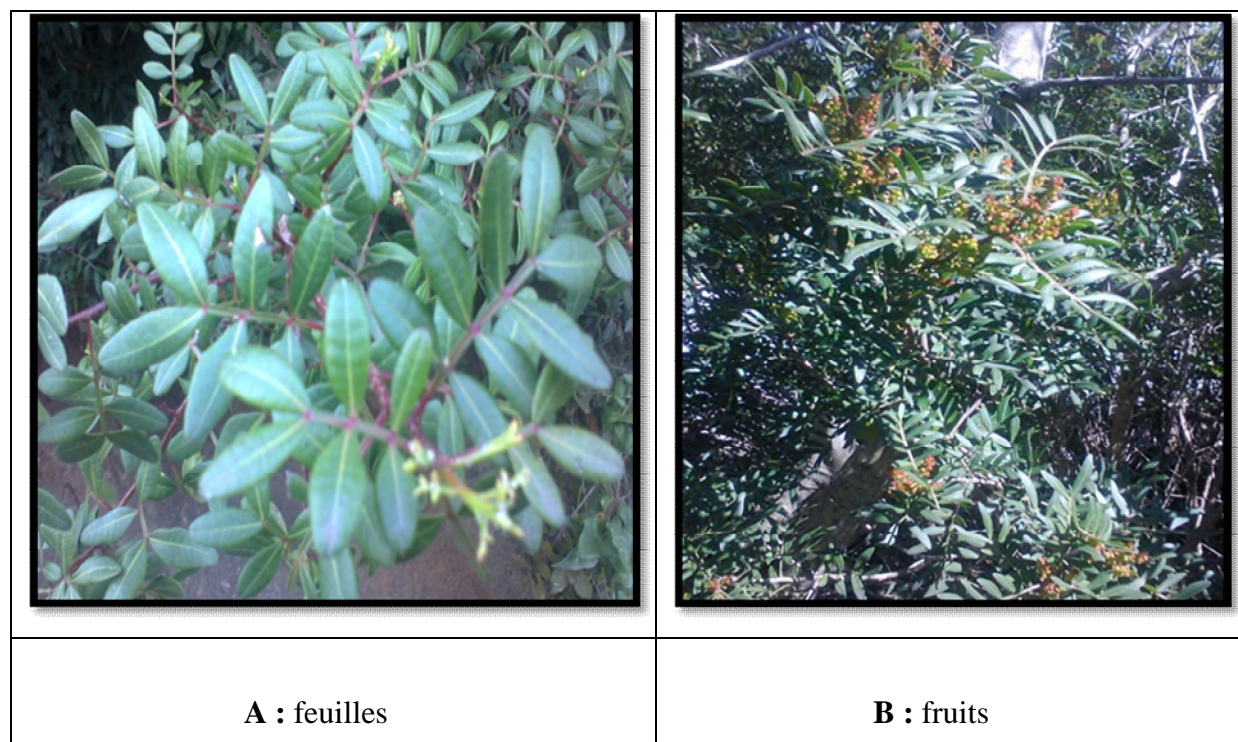


Figure 6: arbuste de *Pistacia lentiscus*.

-**CLASSIFICATION:** représentée dans le (tableau I) ci-dessous.

Tableau I : classification scientifique de *P. lentiscus* (Ansari et al., 2012).

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Sapindales
Famille	Anacardiaceae
Genre	Pistacia
Espèce	<i>Pistacia lentiscus</i>

REPARTITION GEOGRAPHIQUE

L'espèce *Pistacia lentiscus* se trouve généralement dans la région méditerranéenne de l'Europe et de l'Afrique jusqu'au canaries, et qui se développe sur tous types de sols, dans les zones subhumides et semi-arides (Arab et al., 2014). Cette plante est très répandue sur le littoral et joue un rôle fondamental dans l'entretien des écosystèmes par sa forte résistance aux changements climatiques (Hamlat et al., 2008).

-PROPRIETES THERAPEUTIQUES

Pistacia lentiscus possède des propriétés anti-radicalaires (Atmani et al., 2009; Remila et al., 2015) anti-ulcéreuses, antifongiques et antibactériennes (Bammou et al., 1997). Elle est utilisée en médecine traditionnelle grâce à ses propriétés thérapeutiques hépatiques, gastro-intestinales, et comme antiseptique, contre les infections urinaires et respiratoires (Bozorgi et al., 2013).

-PRINCIPES ACTIFS

La composition chimique des feuilles de *P. lentiscus* est caractérisée par la présence d'une forte teneur en anthocyanines (delphinidine 3-O-glucoside et cyanidine 3-O glucoside) (Ansari et al., 2012), en tanins, comme la catéchine (Vaya et al., 2000 ;Romain et al., 2002) et le D-Gallicatéchine (Hou et al., 2000), et en flavonoïdes comme la quercétine-glucoside et

myricetine glucoside (Arab *et al.*, 2014 ; Remila *et al.*, 2015). La plante est aussi riche en acides phénoliques tels que le β -Glucogalline (Niemetz *et al.*, 2001) et l'acide gallique (Rodriguez *et al.*, 2013; Remila *et al.*, 2015).

II.1.1.2.2. *Fraxinus angustifolia* :

-DESCRIPTION BOTANIQUE

Fraxinus angustifolia est un arbre d'une taille maximale de 25m (Brosse, 2000), à feuilles adultes grandes de 12 à 25 cm (Figure7A) (Beloued, 2009). L'écorce est lisse et grise, plus rugueuse avec l'âge (Figure 7B) (Schauenberg et Ferdinand, 2013).

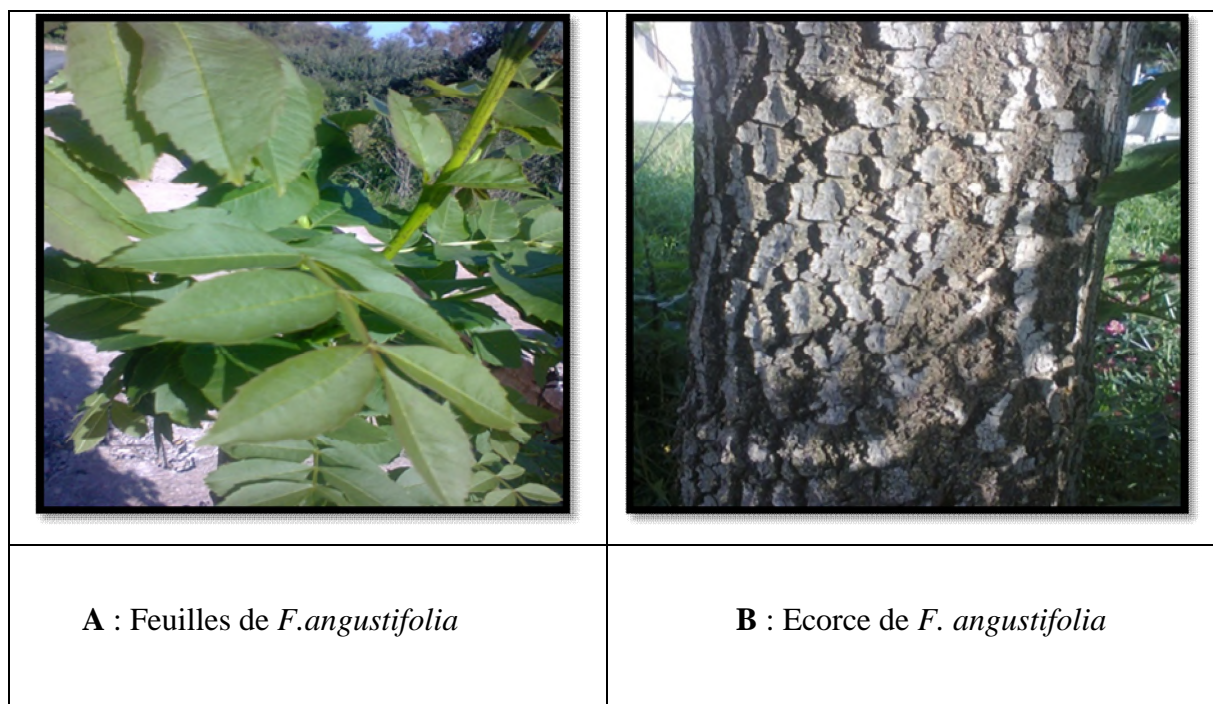


Figure 7 : Arbuste de *Fraxinus angustifolia*.

-CLASSIFICATION : elle est représentée dans le tableau II suivant :

Tableau II : Classification scientifique de *F. angustifolia* (Goussen *et al.*, 1982)

Règne	Plantae
Ordre	Lamiales
Famille	Oleaceae
Genre	Fraxinus
Espèce	<i>Fraxinus angustifolia</i>

-REPARTITION GEOGRAPHIQUE

Fraxinus angustifolia se trouve dans l'ensemble du méridional et de l'Europe de l'Est. Sa distribution s'étend de l'Espagne et du Portugal dans l'ouest, au nord en Slovaquie et en Moravie méridionale, et vers l'est en Turquie, Syrie, Caucase, Iran et Russie méridionale (**Boshier *et al.*, 2005**).

-PROPRIETES THERAPEUTIQUES

Les espèces *Fraxinus* ont été utilisées en médecine traditionnelle en raison de leurs propriétés diurétiques, anti-inflammatoires, antioxydantes, hépato-protectrice, antimicrobiennes et antiallergiques. Elles sont utilisées aussi pour le traitement de la constipation, l'arthrite, les douleurs rhumatismales et la cystite (**Kostova *et al.*, 2007**). Les feuilles possèdent des capacités efficaces pour la régulation des selles et contre les parasites intestinaux alors que l'écorce est utilisée contre les hémorragies, la goutte et surtout contre les fièvres intermittentes (**Beloued, 2001**).

-PRINCIPES ACTIFS

La présence des coumarines, des secoiridoides et des phénylétanoïdes est caractéristique des espèces *Fraxinus* (**Kostova, 2001**).

Les feuilles de *F. angustifolia* contiennent des secoiridoides synthétisés principalement sous forme de glucosides et quelques flavonoïdes (**Calis *et al.*, 1993**). Elles contiennent également

une faible quantité de coumarines, des acides organiques et des tanins. Les coumarines se trouvent soit sous forme libre ou sous forme de glucosides.

D'autre part, l'écorce contient un glucoside, la fraxine, des principes amers (Beloued, 2001), une teneur élevée en tanins mais une faible teneur en flavonoïdes (Atmani *et al.*, 2009). L'écorce contient aussi des lignanes et des composés phénoliques simples (Kostova *et al.*, 2007).

II.2. ANIMAUX DE LABORATOIRE

Pour l'évaluation de l'activité hépatoprotectrice *in vivo*, de l'extrait éthanolique des feuilles de *P. lentiscus* et feuilles et écorce de *F. angustifolia*, des souris albinos mâles (22-25 g) avec une moyenne d'âge de 6 semaines ont été utilisées. Ces animaux proviennent des centres d'élevage de l'institut Pasteur d'Alger et l'expérimentation a été réalisée au niveau du laboratoire d'expérimentation animale de l'université de Bejaia.

Pour respecter leur cycle biologique, les animaux ont été mis sous des conditions de température ambiante (25-27°C) et d'humidité (60-70%). Le laboratoire est soumis à un éclairage artificiel 12h/12h de lumière et d'obscurité. Les souris ont été nourries à volonté avec l'aliment à bouchon et l'eau de robinet.

II.2.1. METHODE

II.2.1.1. RECOLTE ET BROYAGE DES PLANTES

Les feuilles de *P. lentiscus* ont été récoltées en juillet 2013, dans la forêt d'Azru-n-Bechar à Amizour située à l'est de Bejaia alors que les feuilles et écorces de *F. angustifolia* ont été échantillonnées en août 2013. Les parties de plantes ont été séchées à température ambiante et dans un espace ombragé suivi par un séchage final dans une étuve (37°C) afin d'éliminer toute trace d'humidité. A l'aide d'un broyeur électrique, les parties de plantes ont été broyées et tamisées, jusqu'à l'obtention d'une poudre fine (63µm), qui a été stockée à l'abri de la lumière et à -90°C.

II.2.1.2. EXTRACTION

Une extraction a été menée de la façon suivante:

- 400g de poudre ont été macérés dans de l'éthanol avec un rapport de 1:4 (p/v) pendant 24h.

- Le mélange a été laissé sous agitation pendant 24h après décantation le surnageant a été centrifugé puis séché à l'air libre et à une température ambiante, jusqu'à la stabilisation complète du poids.

II.2.2.ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

-PRINCIPE

L'activité antioxydante de l'extrait éthanolique des feuilles de *P. lentiscus* et les feuilles et écorce de *F. angustifolia* a été déterminée par l'évaluation de leur effet hépatoprotecteur. La peroxydation lipidique a été provoquée par l'injection intra-gastrique de l' AlCl_3 (figure 8) chez 64 souris réparties en 08 groupes (n=8).

La méthode d'induction de la peroxydation lipidique par l' AlCl_3 a été inspirée du protocole de (Prakash et Kumar 2012).

Groupe I (control négatif): a reçu de l'eau distillée une heure avant l'administration d'une solution de carboxyméthyle-cellulose (CMC) à 0,8 %.

Groupe II (control positif): a reçu une solution d' AlCl_3 (100mg/kg) une heure avant l'administration d'une solution de CMC (0,8 %).

Groupes III, IV (test): a reçu des extraits de feuilles de *P. lentiscus* à des concentrations de 150 et 300 mg/kg, respectivement.

Groupes V et VI (test): a reçu des extraits de feuilles de *F. angustifolia* à des concentrations de 150 et 300mg/kg, respectivement.

Groupes VII et VIII (test): a reçu des extraits d'écorce de *F. angustifolia* à des concentrations de 150 et 300mg/kg respectivement.

Les groupes III, IV, V et VI ont été administrés une solution d' AlCl_3 (100mg/kg), une heure avant qu'ils ne reçoivent les solutions tests (extraits) tous les jours et pendant deux mois avant d'être sacrifiées. Les souris ont été privées de nourriture et d'eau pendant une heure avant les gavages successifs.



Figure 8 : Représentation de l'administration intra-gastrique

II.2.2.1.EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANT

-POIDS DES SOURIS

Les souris ont été pesées une fois par semaine durant toute la période de traitement.

-POIDS RELATIFS DES FOIES

Les foies des souris ont été pesés après leurs excision et les poids relatifs des foies (poids du foie/poids de la souris déterminé une journée avant le sacrifice) ont été calculés afin de révéler si le traitement avec l' AlCl_3 a causé une inflammation ou une nécrose de ces foies.

-DETERMINATION DE LA PEROXYDATION LIPIDIQUE

La technique utilisée est celle décrite par **Ohkawa et al. (1979)** avec des modifications. Après leur excision, les foies ont été lavés dans du KCl (0,9%), coupés en petits morceaux et homogénéisés dans une solution de KCl (0,15 M) + EDTA (1mM) à 10% (p/v); 0,2 ml d'homogénat a été ajouté à 0,2 ml de SDS (8,1%) et 600 μl d'eau distillée. Une solution de 1,5ml de solution de TBA (1%) dissous dans de l'acide acétique (20%) et dont le pH a été ajusté à 3,62 a été ensuite ajoutée.

Après agitation et incubation à 95° C pendant 90 minutes, les tubes contenant les solutions ont été refroidies, et centrifugés à 4000 rpm pendant 10 min. Le surnageant de couleur rose a été prélevé et son absorbance a été mesurée à 532 nm.

Le taux de MDA est exprimé en termes de nmoles/mg de protéines par l'utilisation du coefficient d'extinction molaire du MDA ($1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) et la concentration de l'homogénat en protéines est calculée avec la méthode de Bradford (**Bradford, 1976**).

Les pourcentages d'inhibition ont été calculés selon la formule suivante :

$[1 - (\text{taux MDA}_{c+} - \text{taux MDA}_{\text{test}}) / \text{taux MDA}_{c+} - \text{taux MDA}_{c-}] * 100$ où

MDA_{c+} : est la moyenne de taux des MDA des souris traitées par l'AlCl₃.

MDA_{c-} : est le taux des MDA des souris non traitées par l'AlCl₃ (ont reçu de l'eau distillée).

MDA_{test} : est la moyenne de taux des MDA des souris traitées par l'extrait de plante.

II.3. ETUDE STATISTIQUE

Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm SEM. Les données expérimentales ont été analysées par le logiciel Graph Pad Prism 5.3; l'analyse des variations a été effectuée par le test one-way ANOVA, P < 0,05 a été considéré comme statistiquement significatif.

Chapitre III :
Résultats et discussion

L'effet hépatoprotecteur des extraits de *P. lentiscus* et *F. angustifolia* a été évalué en mesurant l'inhibition de la peroxydation lipidique accompagné par des observations des poids des souris et les poids relatifs de leur foie.

III.1.POIDS CORPORELS

La prise du poids corporel des souris a été réalisée une fois par semaine pendant toute la période de l'expérimentation.

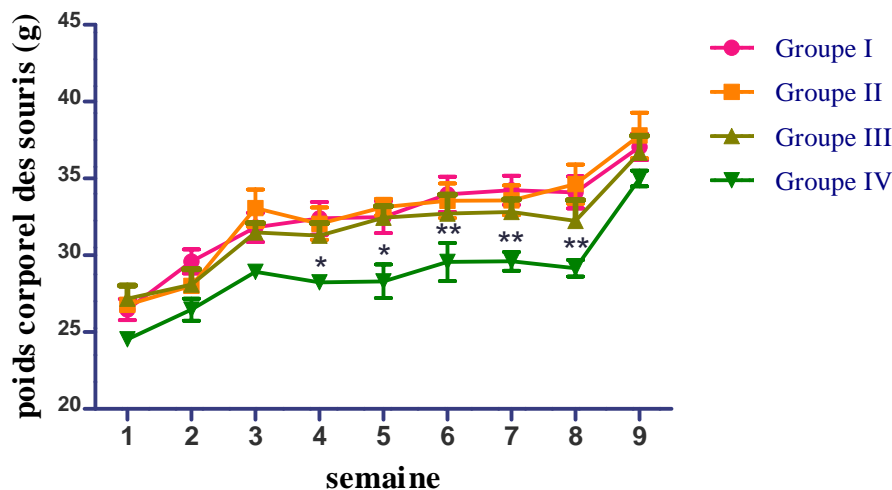


Figure 09: Evolution des poids corporels des souris pendant la période de traitement. Groupe I (contrôle négatif), Groupe II (contrôle positif), Groupe III (*P. lentiscus* 150mg/kg), (*P. lentiscus* 300mg/kg). Toutes les valeurs sont des moyennes \pm SEM. Les résultats ont été analysés par la méthode two way ANOVA et le test appliqué est Bonferroni. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ tout les groupes comparés au groupe témoin.

Les résultats représentés dans la (figure 09) ont montré que le Groupe II (contrôle positif) traité par l' $AlCl_3$ et le groupe III traité par l'extrait éthanolique des feuilles de *P. lentiscus* à une concentration de 150mg/kg ne présentent aucune différence significative des poids corporels par rapport au groupe I (contrôle négatif) qui n'a reçu que l'eau distillée. D'autre part, une baisse significative ($p < 0,05$) du poids corporel a été observée à partir de la troisième semaine pour le groupe IV traité par l'extrait éthanolique des feuilles de *P. lentiscus* (300mg/kg).

Les résultats de la (figure 10) ne révèlent aucun changement significatif dans les poids corporels des souris traitées par les extraits des feuilles et écorce de *F. angustifolia* comparé aux souris du Groupe I témoin (contrôle négatif) et cela tout au long de la période de traitement.

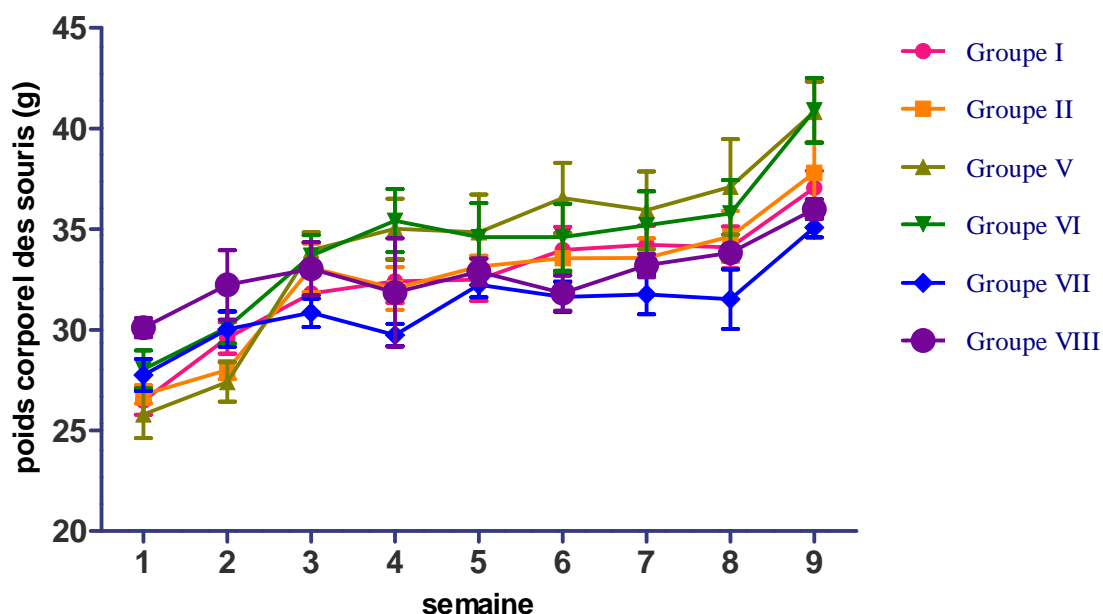


Figure 10 : Evolution des poids corporels des souris pendant la période de traitement. Groupe I (control négatif), Groupe II (control positif), Groupe V (*F. angustifolia* feuilles 150mg/kg), Groupe VI (*F. angustifolia* feuilles 300mg/kg), Groupe VII (*F. angustifolia* écorce 150mg/kg), Groupe VIII (*F. angustifolia* écorce 300mg/kg). Toutes les valeurs ont été exprimés en tant que moyennes \pm SEM. Les résultats ont été analysés par la méthode two way ANOVA et le test appliqué est Bonferroni. * $P < 0,05$, tout les groupes comparés au groupe témoin.

La perte de poids étant un critère de toxicité, les résultats de la présente étude indiquent que les extraits éthanoliques de *P. lentiscus* (150 mg/kg) et *F. angustifolia* (150 et 300mg/kg) ne présentent aucun effet néfaste sur la santé des souris. Cependant, l'extrait éthanolique de *P. lentiscus* à 300 mg/kg a provoqué une perte de poids, qui peut être expliqué par l'effet laxatif de cette plante (Imtiyaz *et al.*, 2013). D'autre part, la richesse des feuilles de *P. lentiscus* en tanins (Atmani *et al.*, 2009) qui provoquent la complexation des protéines et empêchent leur absorption pourrait avoir causé la perte de poids observée (Kumar and Vaithyanathan, 1990).

III.2.POIDS RELATIFS DES FOIES DE SOURIS

Les foies des souris ont été pesés après leur excision pour vérifier s'il ya une augmentation ou une diminution de leur taille due à une inflammation ou une nécrose, respectivement. Les poids relatifs des foies ont été ensuite calculés et sont représentés dans la (figure 11).

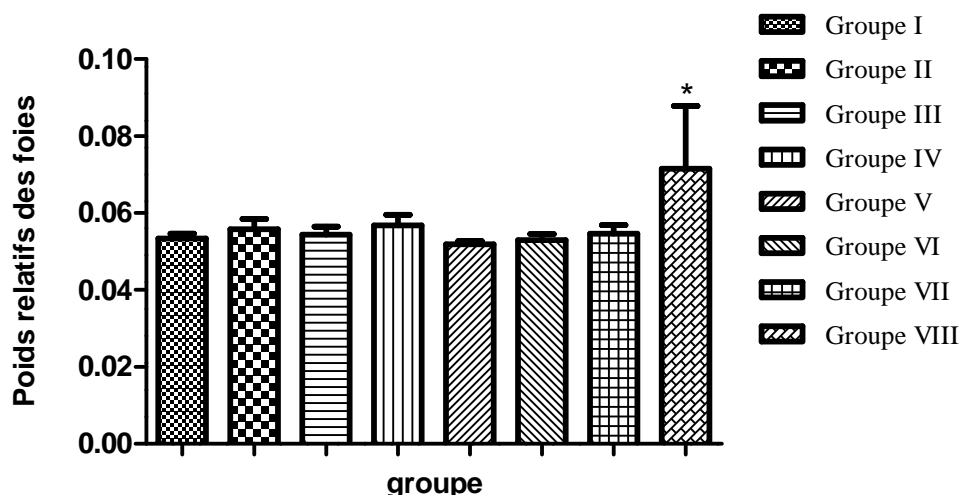


Figure11: Evolution des poids relatifs des foies de souris. Groupe I (control négatif), Groupe II (control positif), Groupe III (*P. lentiscus* 150mg/kg), Groupe IV (*P. lentiscus* 300mg/kg), Groupe V (*F. angustifolia* feuilles 150mg/kg), Groupe VI (*F. angustifolia* feuilles 300mg/kg), Groupe VII (*F. angustifolia* écorce 150mg/kg), Groupe VIII (*F. angustifolia* écorce 300mg/kg). Toutes les valeurs ont été exprimés en tant que moyennes \pm SEM. Les résultats ont été analysés par la méthode one way ANOVA et le test appliqué est Dunnett. * différence significative à $p < 0,05$, tout les groupes comparé au groupe témoin.

La (Figure 11) montre qu'il n'existe aucune différence significative entre les poids relatifs des foies de toutes les souris traitées par l' $AlCl_3$ (Groupe II), l'extrait éthanolique des feuilles de *P. lentiscus* et de *F. angustifolia* aux concentrations de 150mg/kg et 300mg/kg par rapport au groupe témoin (Groupe I), suggérant que le poids du foie a été proportionnel à celui de la souris. Ceci veut dire que l' $AlCl_3$ n'a pas causé des lésions significatives aux foies des souris. L'observation à l'œil nu a confirmé l'absence de modifications dans la taille des foies des souris chez les groupes mentionnés ci-dessus. Par contre, on a noté une augmentation significative ($p < 0,01$) des poids relatifs des foies des souris traitées par l'extrait éthanolique de l'écorce de *F. angustifolia* à la concentration de 300mg/kg (Groupe VIII). Cette différence indique que l'extrait de l'écorce à une concentration élevée (300mg/kg) aurait pu causer une légère inflammation du foie. L'observation à l'œil nu a confirmé cette supposition dans le cas de la souris 1 du groupe VIII traité par l'extrait éthanolique de l'écorce de *F. angustifolia* à la concentration de 300mg/kg. En effet, on a remarqué un gonflement du foie de cette souris par rapport aux foies des souris de ce groupe. Ce gonflement est révélateur d'une inflammation plus accrue du foie de cette souris par rapport aux autres du même groupe.

III.3. TEST DE TBA

Le foie est le plus grand organe glandulaire du corps qui joue un rôle essentiel dans le métabolisme des glucides, lipides, protéines et détoxification des xénobiotiques et médicaments. Ainsi, le foie est la cible fréquente des substances toxiques (**Eswar Kumar et al., 2013 ; Bhawna et Kumar, 2010**). Le trichlorure d'aluminium (AlCl_3) est souvent utilisé dans les études sur des animaux pour induire la peroxydation lipidique (**Yokel et Mcnamara, 2001**). L'un des mécanismes par lequel l'aluminium peut perturber le métabolisme cellulaire est l'induction du stress oxydatif en réprimant les systèmes enzymatiques et non enzymatiques antioxydants de la cellule. En effet, l'administration de l'aluminium diminue le taux de glutathione réduit total ($\text{GSH}_{\text{total}}$) et le rapport GSH/GSSG qui sont des marqueurs de l'activité antioxydant, dans le surnageant post-mitochondrial du foie, et altère l'intégrité des cellules hépatiques (**Viezeliene et al., 2011**). En outre, cette substance hépatotoxique cible le foie en causant des lésions hépatiques et une nécrose car elle provoque une diminution de l'activité de la catalase et la glutathione peroxydase (GPx). Cette diminution se traduit par l'accumulation de H_2O_2 et conduit à la formation de radicaux libres comme le superoxyde qui déclenchent une cascade de réactions conduisant à la formation de plus de radicaux libres. Une peroxydation lipidique dans les cellules hépatiques s'en suit formant ainsi les malondialdéhyde (MDA) qui sont les produits finaux de la peroxydation lipidique (**Kakkar et al., 1997 ; El-Sayed et al., 2011**). La quantification des MDA, qui sont les marqueurs les plus utilisés de la peroxydation lipidique a été l'objectif de notre étude pour évaluer le potentiel hépatoprotecteur des extraits de *P. lentiscus* et *F. angustifolia*.

Les résultats illustrés dans la (figure 12) montrent que les foies des souris du groupe II (control positif) traités par l' AlCl_3 contiennent un taux de MDA de $3,50 \pm 0,36$ nmoles/mg prot significativement ($p < 0,05$) plus élevé que celui du groupe I (control négatif) ($1,99 \pm 0,14$ nmoles/mg prot). Ces résultats indiquent une augmentation de la peroxydation lipidique, qui est en accord avec les résultats d'études précédentes (**El Sayed et al., 2011**).

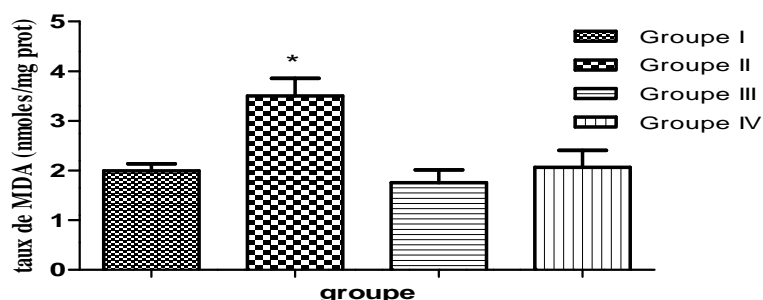


Figure12 : Taux des MDA (nmol/mg de protéines) après intoxication avec l' AlCl_3 chez les souris traitées par les feuilles de *P. lentiscus*. Groupe I : control négatif, Groupe II : control positif, Groupe III : *P. lentiscus* (150mg/kg), Groupe IV : *P. lentiscus* (300mg/kg). Toutes les valeurs sont exprimées en tant que moyennes \pm SEM. Les résultats ont été analysés par la méthode one way ANOVA et le test appliqué est Dunnett. * différence significative à $p < 0,05$, tout les groupes comparé au groupe II.

D'autre part, le traitement avec les extraits éthanoliques des feuilles de *P. lentiscus* aux doses de 150 et 300 mg/kg a induit une réduction significative ($p < 0,05$) des MDA, ($1,75 \pm 0,26$ et $2,06 \pm 0,34$ nmol/mg prot, respectivement) comparé au contrôle positif révélant ainsi un effet hepatoprotecteur comparable et considérable pour les deux doses de la plante.

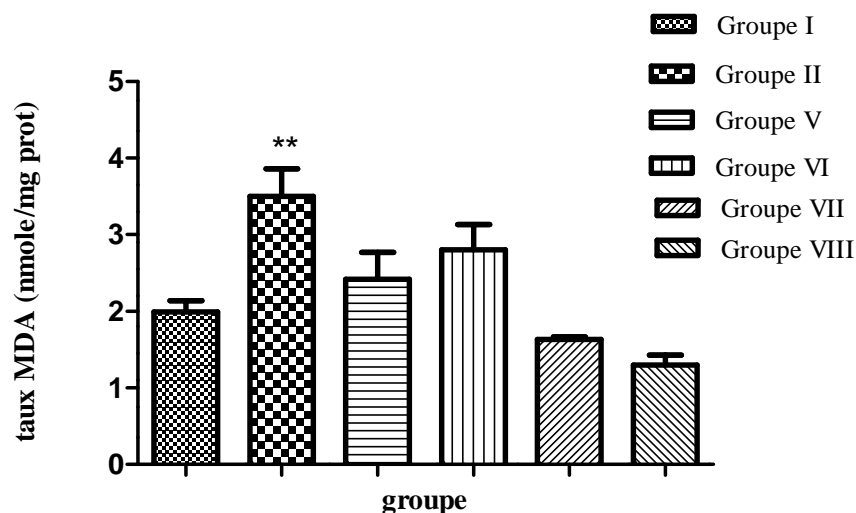


Figure13: Taux de MDA (nmol/mg prot) après intoxication avec l' AlCl_3 chez les souris traitées par les feuilles et écorce de *F. angustifolia*. Groupe I (control négatif), Groupe II (control positif), Groupe V (*F. angustifolia* feuilles 150mg/kg), Groupe VI (*F. angustifolia* feuilles 300mg/kg), Groupe VII (*F. angustifolia* écorce 150mg/kg), Groupe VIII (*F. angustifolia* écorce 300mg/kg). Toutes les valeurs sont exprimées en tant que moyennes \pm SEM, Les résultats ont été analysés par la méthode one way ANOVA et le test appliqué est Dunnett. ** différence significative à $p < 0,01$, tout les groupes comparé au groupe II.

La (figure13) montre que les groupes traités par les extraits éthanoliques des feuilles de *F. angustifolia* (groupes V et VI) aux doses respectives de 150 et 300 mg/kg présentent des taux de MDA significativement réduits ($p < 0,05$) ($2,41 \pm 0,35$ et $2,80 \pm 0,33$ nmoles/mg prot, respectivement) par rapport au taux de MDA du groupe II (contrôle positif). Cette réduction signifie que les deux doses de la plante ont atténué l'hépatotoxicité de l'aluminium de façon similaire, la dose de 150mg/kg étant la dose maximale pour induire l'effet hépatoprotecteur.

Concernant les groupes traités par les deux doses des extraits éthanoliques de l'écorce de *F. angustifolia* (groupes VII et VIII), une diminution hautement significative des taux de MDA ($p < 0,001$) comparé au groupe II a été notée, démontrant ainsi un effet hépatoprotecteur remarquable. En effet, on a observé une baisse des taux de MDA de $3,50 \pm 0,36$ nmoles/mg prot chez le groupe II à $1,63 \pm 0,3$ et $1,29 \pm 0,12$ nmoles/mg prot chez les groupes traités par l'écorce de *F. angustifolia* à 150 et 300 mg/kg, respectivement.

L'analyse statistique des résultats montrent que les extraits éthanoliques des feuilles de *P. lentiscus* et les feuilles et écorce de *F. angustifolia* ont présenté une activité hépatoprotectrice complète et équitable en rétablissant l'état redox du foie à son état normal. La richesse en composés phénoliques des extraits éthanoliques de *P. lentiscus* et *F. angustifolia* qui sont dotés d'une activité antioxydante a été prouvée par les travaux effectués *in vitro* (Atmani et al., 2009). Cette étude a démontré que les extraits éthanoliques des feuilles de *P. lentiscus* et d'écorce de *F. angustifolia* possèdent une efficacité modérée pour l'inhibition de H_2O_2 , avec des pourcentages respectifs d'inhibition de 50 et 54 % pour *F. angustifolia* et *P. lentiscus*. La détermination de la composition chimique en tannins, flavonoïdes et composés phénoliques totaux a montré une forte corrélation entre les constituants phénoliques et le pouvoir antioxydant des deux plantes. En plus d'une capacité pour la réduction du H_2O_2 , une forte inhibition de la peroxydation lipidique (acide linoléique) *in vitro* a été trouvée avec des pourcentages d'inhibition de 97% pour l'écorce de *F. angustifolia* et 94% pour les feuilles de *P. lentiscus*.

L'expérience actuelle nous a permis de vérifier *in vivo* l'effet hépatoprotecteur des extraits éthanoliques brut des deux plantes médicinales. L'importance des expériences *in vivo* se base sur plusieurs critères scientifiques, ceux de l'absorption des extraits par le système digestif, et l'observation des comportements des animaux pour tester leur toxicité.

L'augmentation du taux de MDA dans le foie des groupes traités par l' AlCl_3 est le résultat du stress oxydatif et de la peroxydation lipidique (**Özkaya et al., 2010**). Certains auteurs ont remarqué un gonflement de la majorité des mitochondries des hépatocytes après intoxication par l'aluminium (**El-Sayed et al., 2011**). Ce gonflement a été expliqué par une augmentation de la perméabilité membranaire qui contribue aux changements du statut redox de la mitochondrie. Ces dommages significatifs aux cellules du parenchyme hépatique peuvent expliquer l'augmentation du niveau de MDA en comparaison avec les souris du groupe témoin (groupe I). Le potentiel antioxydant des extraits des plantes étudiées (**Atmani et al., 2009**) contribue à baisser le niveau des radicaux libres générés dans la mitochondrie.

D'autres auteurs ont attribué la hausse du niveau de la peroxydation lipidique à celle du niveau de fer libre dans la cellule. Le fer, généralement stocké et transporté par la transferrine peut être remplacé par l'aluminium sur cette protéine, ce dernier ayant le même rayon ionique que le Fe^{2+} (**Moris et al., 1990**). La libération du fer dans la cellule provoque la formation du radical OH^\cdot par la réaction de Fenton, causant ainsi l'augmentation de la peroxydation des lipides membranaires (**Nehre et al., 2005**). L'activité chélatrices des métaux des extraits de plantes médicinales (**Candan et Tuzmen, 2008**) peut contrecarrer les effets néfastes de la réaction de Fenton. Cette activité n'a pas été confirmée dans des études précédentes pour les deux plantes mais le taux élevé des flavonoïdes et tannins des deux plantes peut être responsable d'une activité chélatrices du fer et baisser la peroxydation lipidique.

L'aluminium peut inhiber l'activité d'enzymes génératrices du NADPH, qui est un coenzyme nécessaire pour la régénération du GSH, ce dernier étant un antioxydant important pour la cellule, qui assure la protection contre les espèces réactives de l'oxygène (**Florin et al., 2014**). Les travaux d'une étude ont montré que la présence de la quercétine cause une augmentation significative de la GSH et diminution de la NADP-H, cette activité protectrice est liée d'un côté à ses propriétés antioxydants et à l'induction de la GSH qui est un antioxydant endogène (**Özkaya et al., 2010**). Vu que la présence de la quercétine dans les extraits de feuilles de *P. lentiscus* a été démontrée (**Remila et al., 2015**), l'activité hépatoprotectrice de cette plante peut être justifiée.

Les travaux effectués par (**Turgut et al., 2006**) ont confirmé la liaison étroite entre l'augmentation des taux de MDA et la déplétion du GSH causé par l'intoxication par l'aluminium.

Bai et al., (2012) ont prouvé dans une étude menée sur l'effet de l'exposition subchronique à l' AlCl_3 sur les fonctions hépatiques des rats, que le niveau de MDA augmentait significativement avec la dose d'aluminium administrée.

La peroxydation lipidique induite par le stress oxydatif provoqué par l'Aluminium qui a conduit par conséquent à la diminution des activités des enzymes antioxydantes (GSH-Px, SOD, CAT), a été inhibé par les extraits de *Pistacia lentiscus* et *Fraxinus angustifolia*. Cette inhibition peut être due, comme il est rapporté par (**Newairy et al., 2009**), qui ont testé l'effet hépatoprotecteur de Propolis contre le stress oxydatif induit par l' AlCl_3 , à la présence des flavonoïdes et des composés phénoliques dans ces extraits. Ces composés exercent une activité antioxydant grâce à leur capacité à chélater les ions métalliques, piéger le radical hydroxyle, l'anion superoxyde et l'oxygène singulet, de plus, les flavonoïdes réduisent le niveau des radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène.

De même, **Mayo et al., (2012)** ont rapporté dans leur étude *in vitro* sur l'activité antioxydante et les activités enzymatiques du foie des extraits des feuilles de *Moringa oleifera*, que les phénols, les flavonoïdes, sont capables de piéger les radicaux libres, cette activité peut être due à leurs propriétés antioxydantes, la présence des structures conjuguées et au groupement carboxylique qui a été considéré comme inhibiteur de la peroxydation lipidique.

Les expériences *in vitro* de **Abdelwahed et al. (2007)**, rapporté par **Ansari et al. (2012)**, ont montré que l'activité antioxydante des feuilles de *Pistacia lentiscus* peut être due à sa teneur en acide gallique qui est capable de piéger le radical ABTS, d'inhiber la peroxydation lipidique induite par H_2O_2 et la xanthine oxydase (XO) impliquée dans la génération des radicaux libres. Donc l'efficacité inhibitrice des extraits éthanoliques de *Pistacia lentiscus* peut être liée à la présence de ce composé.

D'après les résultats obtenus, la perte du poids corporel enregistré chez les souris traitées par l'extrait éthanolique des feuilles de *P. lentiscus* (300mg/kg) et l'augmentation des poids relatifs des foies chez les souris traitées par les extraits de l'écorce de *F. angustifolia* (300mg/kg) ne sont pas dues à la hausse de la peroxydation lipidique du foie, puisque le taux de MDA a été réduit aux valeurs normales par les extraits de ces plante

Conclusion et perspectives

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'activité antioxydante des extraits éthanoliques de *Pistacia lentiscus* et *Fraxinus angustifolia* contre la peroxydation lipidique chez des souris intoxiquées par l'aluminium a été évaluée à des concentrations de 150 et 300 mg/kg. Les résultats obtenus ont démontré une augmentation du taux de MDA $3,5\pm 0,36$ nmoles/mg protéines chez les souris traitées par l' AlCl_3 par rapport aux souris témoins $1,99\pm 0,14$ nmoles/mg protéines indiquant ainsi une induction de la peroxydation lipidique. D'autre part les valeurs de MDA ont été significativement réduites chez les souris traitées par les extraits éthanoliques des feuilles de *P. lentiscus* ($1,75\pm 0,26$ et $2,06\pm 0,34$ nmoles/mg protéines) et par les feuilles ($2,41\pm 0,35$ et $2,80\pm 0,33$ nmoles/mg protéines) et écorce ($1,63\pm 0,03$ et $1,29\pm 0,12$ nmoles/mg protéines) de *F. angustifolia* ce qui révèle que ces extraits exercent une inhibition très importante contre la peroxydation lipidique, confirmant ainsi les résultats d'études précédentes menées *in vitro*.

Les extraits éthanoliques de *P. lentiscus* et *F. angustifolia* représentent une source importante de composés phénoliques doués d'activités antioxydantes. L'effet hépatoprotecteur des extraits peut être donc attribué à la richesse des plantes en composés phénoliques, ce qui justifie leur utilisation en médecine traditionnelle contre les maladies liées à la peroxydation lipidique.

Le progrès du secteur pharmacologique dépend sur la découverte de nouvelles molécules d'origine naturelle qui présentent plus d'efficacité et moins d'effets secondaires que les médicaments synthétiques. Dans cette perspective, il serait intéressant de faire de nouvelles recherches scientifiques approfondies, pour isoler et identifier les différents composés actifs issues des plantes médicinales étudiées (*P. lentiscus* et *F. angustifolia*). Ces composés peuvent être utilisés dans le développement de nouveaux médicaments dirigés pour le traitement des maladies liées à des pathologies hépatiques.

Références bibliographiques

A

Acar, N. et Lecerf, J.M. (2007). Peroxydation *in vivo* et *in vitro* des acides gras polyinsaturés. *Médecine et nutrition*, 42 (5): 260-265.

Alfrey, A.C. (1993). Aluminum toxicity in patients with chronic renal failure. *Ther Drug Monit*, 15 (6): 593-700.

Amar, C. (2010). Stress oxydatif, calcium et thermalisme. *Press Therm Climat*, 147 (2):121-138.

Anaes. (2000). Recommandations pratique pour le diagnostic de la maladie d'Alzheimer. Paris. Anaes .

Anderson, C.M., Hallberg, A., Hogberg, T. (1996). Advances in development of pharmaceutical antioxidants, *Adv. Drug. Res*, 28: 65-180.

Ansari, N., Siddiqui., S.H., Siddiqui, A.N. (2012). *Pistacia lentiscus*: A review on phytochemistry and pharmacological properties. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4 (4): 16-20.

Arab, K., Bouchenak, O., Yahiaoui, K. (2014). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle et des composés phénoliques du pistachier lentisque (*pistacia lentiscus* l.). *J Fundment Appl Sci*, 6 (1): 79-93.

Atkin, M.A., Gasper, A., Ullegaddi, R. (2005) Oxidative susceptibility of unfractionated serum or plasma : response to antioxidants *in vitro* and to antioxidants supplementation. *Clin Chem*, 51: 2138-2144.

Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., Atmani, D. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants, *Food Chem*, 112: 303-309.

B

Babior, B.M. (2000). Phagocytes and oxidative stress. *Journal Medecine*, 109 : 33–44.

Bai, C., Wang, F., Zhao, H., Li, Y.F. (2012). Effects of Subchronic Aluminum Exposure on Liver Function in Rats. *Journal of Northeast Agricultural University*, 12 (2) :62-65.

Bammou, M., Daoudi, A., Slimani, I., Najem, M., Bouiamrine, E.H., Ibjibijen, J. et Nassiri, L. (1997). Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus* L.»:Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Applied Biosciences*, 86 : 7966– 7975.

- Baudin, B. (2006). Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *maladie cardiovascular*, 2 (1) : 43-52.
- Beaudeau, J.L., Delattre, J., Therond, P., Bonnefont-Rousselot, D., Legrand, A., Peynet, J. (2006). Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*, 21:144-150.
- Beloued, A. (2001). Plantes médicinales d'Algérie. 5^{ème} Edition. Algérie: Office des publications Universitaires.284p.
- Berger, M.M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant :état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20: 48–53.
- Bhawna, S. et Kumar, S.U. (2010). Hepatoprotective activity of some indigenous plants. *Pharmacoly Technology*, 2 (1) : 568-572.
- Bonnefont-Rousselot, D., Peynet, J., Beaudeau, J.L., Théron, P., Legrand, A., Delattre, J. (2002). Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16 : 260–267.
- Boshier, D., Cordero, J., Harris, S., Pannell, J., Rendell, S., Savill, P., Cundall, J.S.N., Hubert, J. et al. (2005). *Fraxinus angustifolia* (narrow-leaved ash). In: *biological characteristics and practical guidelines for sustainable use*. Oxford: Fraxigenf. 128 p.
- Bourgou, S., Ksouri, R., Bellila, A., Skandrani, I., Falleh, H., Marzouk, B. (2008). Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. *shoots and roots*. *C. R. Biologies*, 48-55.
- Bozorgi, M., Memariani, Z., Mobli, M., Salehi Surmaghi, M.H., Shams-Ardekani, M.R. et Rahimi, R. (2013). Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): A Review of Their Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. *ScientificWorld Journal*, 2013: 1-33.
- Buonocore, G., Perrone, S., Tatarino, M.L. (2010). Oxygen toxicity chemistry and biology of reactive oxygen species. *Sem in Fet & Neon Med*, 15: 186-190.
- Bradford, M.M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram quantities of protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal Bioch*, 72:248-254.
- Brosse, J. (2000). *Larousse des arbres*. Paris : Jean-Marie Pelt.199p.
- Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales.Lavoisier. EC & DOC. Paris. 1269p.

C

- Cillard, J. et Cillard, P. (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *Oilseeds & fats Crops and Lipids*, 13 (1): 24-29.
- Calis, I., Hosny, M., Khalifa, T., Nishibe, S. (1993). Secoiridoids from *fraxinus angustifolia*. *Phytochemistry*, 33 (6): 1453-1456.
- Candan, N. Tuzmen, N. (2008). Very rapid quantification of malondialdehyde (MDA) in rat brain exposed to lead, aluminium and phenolic antioxidants by high-performance liquid chromatography-fluorescence detection. *NeuroToxicology*, 29: 709-713.
- Chow, S.E., Hshu, Y.C., Wang, J.S., Chen, J.K. (2007). Resveratrol attenuates ox LDL-stimulated NADPH oxidase activity and protects endothelial cells from oxidative functional damages. *J Appl Physiol*, 102: 1520–1527.
- Carriere, A., Galinier, A., Fernandez, Y., Carmona, M.C., Penicaud, L., Casteilla, L. (2006). Les espèces actives de l'oxygène: le yin et le yang de la mitochondrie. *Médecine Science*, 22 : 47-53.
- Cowan, M.M. (1999) . Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbial*, 12 (4) : 564-582.

D

- Demuth, K., Drunat, S., Paul, J.L., Moatti, N. (2000). Hyperhomocystéinémie et athérosclérose. *médecine/sciences*, 16 : 1081-1090.
- Derbel, S., Ghedira, k. (2005). Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie et nutrition*, 1 : 28-34.
- Derouesne, C., Lagha-Pierucci, S., Thibault, S., Baudouin, M. V., Lacomblez, L. (2000). Apraxic disturbances in patients with mild to moderate Alzheimer's disease. *Neuropsychologia*, 38 : 1760-69.
- Duriez , P. (2004). Mécanismes de formation de la plaque d'athérome. *La Revue de Médecine Interne*, 25 : S3–S6.
- Dracheman, D.A., Leavitt, J. (1974). Human memory and the cholinergic system. relationship to aging. *Archives of Neurology*, 30 : 113-121.

E

Ekoumou, C. (2003). *Etude phytochimique et pharmacologique de cinq recettes traditionnelle utilisés dans le traitement des infections Urinaire et la Cystite*. Thèse Pharmacie, Bamako, 145.

El-Sayed, W.M., Al-Kahtania, M.A., Abdel-Moneima, A.M. (2008). Prophylactic and therapeutic effects of taurine against aluminum-induced acute hepatotoxicity in mice. *Journal of Hazardous Materials*, 198 : 880-886.

Eswar Kumar, K., Harsha, K.N., Sudheer, V., Giri babu, N. (2013). *In vitro* antioxidant activity and *in vivo* hepatoprotective activity of aqueous extract of *Allium cepa* bulb in ethanol induced liver damage in Wistar rats. *Food Science and Human Wellness*, 2 : 132–138.

Eustache, F., Agniel, A., Dary, H., Viellad, G., Puel, M., Demonet, F.J. (1993). sériation chronologique des symptômes comportementaux et instrumentaux dans les démences de type Alzheimer. *Revue de neuropsychologie*, 3 : 37-61.

Exley, C. (2014). pourquoi la propagande industrielle et l'ingerence politique ne peuvent dissimuler le rôle indéniable joué par l'exposition humaine à l'aluminium dans les maladies. *frontiers in neurology*, 31 :2

F

Favier, A. (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique . *l'actualité chimique*, 108-115.

Fennane, M., Ibn Tattou M., Ouyahya A., El Oualidi J. (2007). Flore Pratique du Maroc: Manuel de Détermination des Plantes Vasculaires. *Travaux de l'Institut Scientifique, Rabat, série botanique*, 2 (38) : 250.

Florin, M., Alexandra, T., Gabriela, S.L., Romeo, C.T., Corina, G., Ioan, M. and Eugenia, D. (2014). Protective Effects of Aqueous Extract of *Sempervivum tectorum* L (*Crassulaceae*) on Aluminium-Induced Oxidative Stress in Rat Blood. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research February*, 13 (2): 179-184.

Fontaine, E., Barnoud, D., Schwebel, C., Leverage, X. (2002). Place des anti-oxydants dans la nutrition du patient septique. *Réan*, 11: 402-411.

G

Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z. et Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. *Mécanisme Biochimiques*, 91-95.

Gill, S.S. et Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48: 909-930.

Goudable, J. et Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr Clin Mdtabol*, 11: 115-20.

Goussen, H., Leroy, J.F. et Ozenda, P. (1982). *Précis de Botanique. Les végétaux Supérieurs*. Paris : Masson. 579p.

Greco, A et Minghetti, L. (2004). Isoprostanes as biomarkers and mediators of oxidative injury in infant and adult central nervous system diseases. *Curr Neurovasc Res*, 1 : 341-54.

Guéraud, F., Atalay, M., Bresgen, N., Cipak, A., Eckl, P. M., Huc, L., Jouanin, I., Siems, W. et Uchida, K. (2010). Chemistry and biochemistry of lipid peroxidation products. *Free Radical Research*, 44 (10): 1098–1124.

Guichardant, M., Bacot, S., Molière, P., Lagarde, M. (2006). Les biomarqueurs de la peroxydation lipidique. *Oilseeds & fats Crops and Lipids*, 13 (1) : 31-34.

H

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Harlier, HaPelle, J.P. (2007). Le stress oxydant. *Med Liege*, 62 (10) : 628-638.

Hamlat, N., Hassani, A., Ouafi, S. (2008). Analyse des polyphénols extraits des feuilles du *Pistacia lentiscus* Etude de l'activité antibactérienne. *Revue des régions arides*, 1 (21) : 306-316.

Hazout, A., Menezo, Y., Madelenat, P., Yazbeck, C., Selva, J. et Cohen-Bacrie, P. (2008). Causes et implications cliniques des altérations de l'ADN des spermatozoïdes. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 36 : 1109–1117.

Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothér*, 1 : 3-6.

Hou, A.J., Peng, L.Y., Liu, Y.Z., Lin, Z.W., Sun, H.D. (2000). Gallotannins and related polyphenols from *Pistacia weinmannifolia*. *Planta Med*, 66 : 624–626.

I

Imtiyaz, S., Tariq, M., Ali, S.J., Chaudhary, S.S., Baig, M.G. (2013). *Pistacia lentiscus* Linn.: Gum with immense medicinal potential. *Medicinal potential of Pistacia lentiscus*, 3 (2) :69-73.

Iserin P. (2001). *Larousse des plantes médicinales* . Larousse Paris. 335p.

K

Kakkar, R., Mantha, S., Radhi, J., Prasad, K., Karla, J. (1997). Antioxidant defense system in diabetic kidney. *Life Science*, 60 : 667–679.

Karine Demuth Séverine Drunat Jean-Louis Paul. Hyperhomocystéïnémie et athérosclérose. (2000). *médecine/sciences*, 16 (10) : 1081-1090.

Kumar, A.P.A. (2012). Mitoprotective effect of *Centella asiatica* against aluminum-induced neurotoxicity in rats: possible relevance to its anti-oxidant and anti-apoptosis mechanism. *Neurol Sci*,

Kumar, R. et Vaithyanathan, S. (1990). Occurrence, nutritional significance and effect on animal productivity of tannins in tree leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 30 : 21-38.

Kostova, I. (2001). *Fraxinus ornus* L. *Fitoterapia*, 72: 471-480.

Kostova, I. et Iossifova, T. (2007). Chemical components of *Fraxinus* species. *Fitoterapia*, 78 : 85–106.

L

Li, H.D. Wong, C.C., Cheng, K.W., Cheng, F. (2008). Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extract from medicinal plants. *L.W.T*, 385-390.

M

Macheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. (2005). Les Composés Phénoliques Des Végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Collection biologie*, 10-11.

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Jimenez, L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79 :727-747.

Meyer, J.W. et Schmitt, M.E. (2000). A central role for the endothelial NADPH oxidase in atherosclerosis. *FEBS let*, 472 : 1–4.

Michel, F., Bonnefont-Rousselot, D., Mas, E., Draï, J., Thérond, P. (2008). Biomarqueurs de la peroxydation lipidique : aspects analytiques. *Ann Biol Clin*, 66 (6) : 605-20.

Montalbini, P. (2000). Xanthine Dehydrogenase from Leaves of Leguminous PLANTS: Purification, Characterization and Properties of the Enzyme. *J.P.L Physiol*, 156: 3-16.

Moris, C.M., Candy, J.M., Blexham, C.A., Edwardson. (1990). Brain transferrin receptor and distribution of cytochrome oxidase. *Biochem Soc trans*, 18: 647- 648.

Morrow, J.D., Harris, T.M., Roberts, L.J. (1990). Non cyclooxygenase oxidative formation of a series of novel prostaglandins : Analytical ramifications for measurement of eicosanoids. *Anal Biochem*, 19 (181) : 1-10.

Moulaoui, K., Caddeo, C., Manca, M.L., Castangia, I., Valenti, D., Escribano, E., Atmani, D., Fadda, A.M., Manconi, M. (2015). Identification and nanoentrapment of polyphenolic phytoextract from *Fraxinus angustifolia*: In vitro and in vivo wound healing potential. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 89:179-188

Moussaoui, Y. et Bensalem, Ridha. (2007). Catalyzed Knoevenagel reactions on inorganic solid supports: Application to the synthesis of coumarine compounds. *C. R. Chimie*, 10: 1162 -1169.

Moyo, B., Oyedemi, S., Masika, P.J., Muchenje, V. (2012). Polyphenolic content and antioxidant properties of *Moringa oleifera* leaf extracts and enzymatic activity of liver from goats supplemented with *Moringa oleifera* leaves/sunflower seed cake. *Meat Science*, 91: 441–447.

N

Nakajima, K., Nakano, T., Tanaka, A. (2006). The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis : The comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clin Chim Acta*, 367: 36-47.

Naoya, K. et Naotaka, K. Analytical techniques for the determination of biologically active quinones in biological and environmental samples. *Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 87 (18): 261–270.

Negre-Salvayre, A., Auge, N., Ayala, V., Basaga, H., Boada, J., Brenke, R., Chapple, S., Cohen, G., Feher, J. et al. (2010). Pathological aspects of lipid peroxidation. *Free Radical Research*, 44 (10): 1125–1171.

Nehru, B., Anand, P.(2005).OXIDATIVE DAMAGE following chronic aluminium exposure in adult and pup rate brains, *J. TRACE, elem.med.biol*, 19 : 203-208.

Newairy, A.S.A., Salama, A.F., Hussien, H.M., Yousef, M.I. (2009). Propolis alleviates aluminium-induced lipid peroxidation and biochemical parameters in male rats. *Food and Chemical Toxicology*, 47:1093–1098.

Niemetz, R., Gross, G.G. (2001). Gallotannin biosynthesis : glucogallin: hexagalloyl 3-O-galloyltransferase from *Rhus typhina* leaves, *Phytochemistry* 58 : 657–661.

Nkhili, E. (2009). *Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant*. Thèse en vue d'obtention de Doctorat en Science des Aliments, Université CADI Ayyad, SEMLALIA -ARRAKECH, 320 p.

O

Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, Kunio. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95 (2) :351-358.

Özkaya, A., Çelik, S., Yüce, A., Şahin, Z., Yılmaz, Ö. (2010). The Effects of Ellagic Acid on Some Biochemical Parameters in the Liver of Rats Against Oxidative Stress Induced by Aluminum. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (2): 823-830.

P

Pandey, K.B., Rizvi, S.I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid Med Cell Longev*, 2 (5) : 270-278.

Perry, E.K., Gibson, P.H., Blessed, G. (1977). Neurotransmitter enzyme abnormalities in senile dementia. Choline acetyltransferase and glutamic acid decarboxylase activities in necropsy brain tissue . *Journal of Neurological sciences*, 34 : 247-265.

Petit, H., Albarede J.L., Bakchine, S., Bouillat, j., Cogneau, J., Darcourt, G. (2000). Convergences d'un groupe pluridisciplinaire d'experts français sur les modalités diagnostiques et thérapeutiques de la maladie d'Alzheimer au stade démentiel. *Revue de neurologie*, 156 (5) :542-52.

Pincemail, J. Bonjean, K., Cayeux, Karine., Defraigne, J.O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16 : 233-239.

Pincemail, J., Le Goff, C., Charlier, C., Gillion, P., Cheramy-Bien, J.P., Van Honacker, E., Chapelle, J.P. et Defraigne, J.O. (2009). Evaluation biologique du stress oxydant. *Nutrition & Endocrinologie*, 16-31.

Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., Defraigne, J.O. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Cœur, Poumons*, 4 (5):1-7.

Prakash, A.and Kumar, A. (2012). Mitoprotective effect of Centella asiatica against aluminum-induced neurotoxicity in rats: possible relevance to its anti-oxidant and anti-apoptosis mechanism. *Neurology Science*, 34 (8) :1403-1409.

R

Reimund, J.M. (2002). Stress oxydant au cours des syndromes inflammatoires chroniques. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16 : 275–284.

Remila, S., Atmani-Kilania, D., Delemasurec, S., Connat, J.L., Aziba, L., Richard, T., Atmani, D. (2015). Antioxydant, cytoprotective, anti-inflammatoire et anticancer activities of *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) leaf and fruit extracts. *European Journal of Integrative Medicine*, xxx (xxx): 1-13.

Richter, J.A., Perry, E.K., Tomlinson, B.E. (1980). Acetylcholine and choline levels in postmortem human brain tissue: Preliminary observations in Alzheimer's disease. *Life sciences*, 26:1683-1689.

Rinne, J.O., Sako, E., Paljarvi, L., Molsa, P.K., Rinne, U.K. (1988). A comparison of brain choline acetyltransferase activity in Alzheimer's disease, multi-infarct dementia, and combined dementia. *Journal of Neural Transmission*, 73 : 121-128.

Rodriguez-Perez, C., Quirantes-Pine, R., Amessis-Ouchemoukh, N., Madani, K., Segura-Carretero, A., Fernandez-Gutierrez, A. (2013). A metabolite-profiling approach allows the identification of new compounds from *Pistacia lentiscus* leaves. *J Pharm Biomed Anal*, 77:167-74.

Romani, A., Pinelli, P., Galardi, C., Mulinacci, N., Tattini, M. (2002). Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia lentiscus* L. *Phytochem. Anal*, 13: 79–86.

Rossor, M.N., Garrett, N.J., Johnson, A.L., Mountjoy, C.Q., Roth, M., Iversen, L.L. (1982). A post-mortem study of the cholinergic and GABA system in senile dementia, and combined dementia. *Brain*, 105: 313-330.

Ruch, J.W.E., Sandiford, S.D. (2003). Plasma glutathione peroxydase in healthy young adults: influence of gender and physical activity. *Clin Biochem*, 36: 345-351.

S

Schauenberg, P., Ferdinand, P. (2013). *Guide des plantes médicinales*. Paris: Delachaux et Niestlé. 396p.

Schliebs, R., Arendt, T. (2006). The significance of the cholinergic system in the brain during aging and in Alzheimer's disease. *Journal of Neuronal Transmission*, 113: 1625-1644.

Schauenberg, P., Ferdinand, P. (2013). *Guide des plantes médicinales*. Paris: Delachaux et Niestlé. 396p.

Shati, A.A., Elsaid, F.G., Hafez, E.E. (2011). Biochemical and molecular aspects of aluminium chloride-induced neurotoxicity in mice and the protective role of crocus sativus l. extraction and honey syrup. *Neuroscience*, 175: 66–74.

Singh, S., Singh, R., Kushwah, A.S., Gupta, G. (2014). Neuroprotective role of antioxidant and pyranocarboxylic acid derivative against AlCl₃ induced Alzheimer's disease in rats. *Journal of Coastal Life Medicine*, 2 (7): 571-578.

Stoclet, J.C., Schini-Kerth, V. (2011). Dietary flavonoids and human health. *Annales pharmaceutiques Françaises*, 69 : 78–90.

T

Tessier, F. et Marconnet, P. (1995). Radicaux libres, systkmes antioxydants et exercice. *Science & Sports*, 10: 1-13.

Turgut, G., Enli, Y., Kaptanoglu, B., Turgut, S., Genec, O. (2006). Changes in the levels of MDA and GSH in mice serum, liver and spleen after aluminium administration. *Eastern J Med*, 11: 7-12.

V

Vaya, J. et Mahmood, S. (2006). Flavonoid Content in leaf Extracts of The fig (*Ficus carica* L.), Carob (*Ceratonia siliqua* L.) and Pistachio (*Pistacia lentiscus* L.). *Biofactors*, 28 (3-4):169-175.

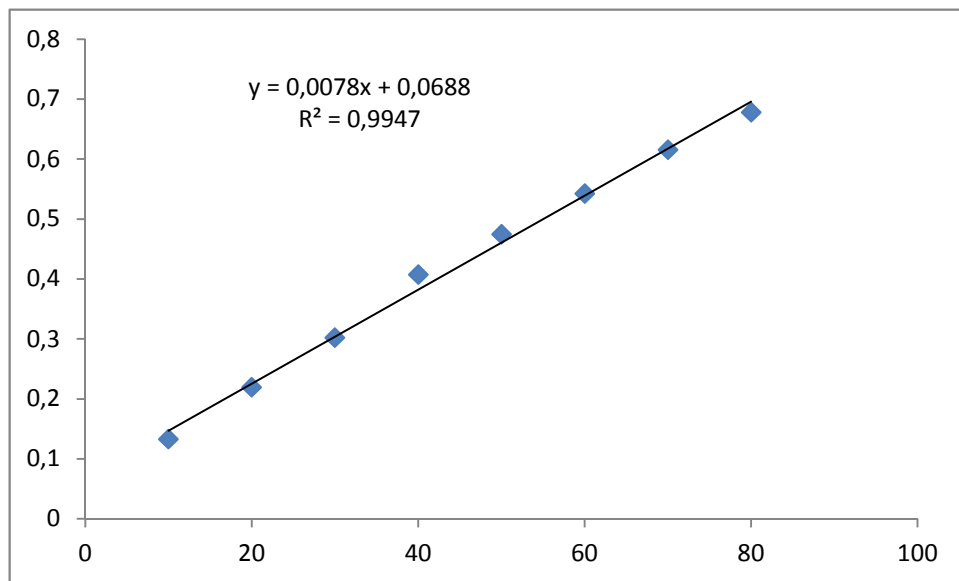
Viezeliene, D., Jansen, E., Rodovicus, H., Kasauskas, A., Ivanov, Leonid. (2011). Protective effect of selenium on aluminium-induced oxidative stress in mouse liver in vivo. *environmental toxicology and pharmacology*, 3 (1) : 302–306.

Y

Yokel, R.A. et Mcnamara, P.J. (2001). Aluminum toxicokinetics: an updated minireview. *Pharmacology & Toxicology*, 88 (4): 159-167.

Annexe

Annexe N° 1 : Courbe d'étalonnage réalisé avec la BSA pour le dosage des protéines.



Résumé

L'objectif de notre travail a été d'évaluer l'activité hépatoprotectrice *in vivo* des extraits éthanoliques de deux plantes médicinales locales, *Pistacia lentiscus* et *Fraxinus angustifolia*.

Les expériences ont été effectuées sur le foie des souris albinos après induction de la peroxydation lipidique par l'administration intragastrique d' $AlCl_3$ à une dose de 100 mg/kg pendant deux mois. Le taux de malondialdéhyde (MDA) en tant que indice de la peroxydation lipidique, a été mesuré par le test de l'acide thiobarbiturique (TBA). Les résultats obtenus ont démontré une augmentation des MDA ($3,5 \pm 0,36$ nmoles/mg protéines) chez les souris intoxiquées par l'aluminium par rapport aux souris témoins ($1,99 \pm 0,14$ nmoles/mg protéines), indiquant ainsi une induction de la peroxydation lipidique. D'autre part, les valeurs de MDA ont été également et significativement réduites chez des souris traitées par les extraits éthanoliques de feuilles de *P. lentiscus* ($1,75 \pm 0,26$ et $2,06 \pm 0,34$ nmoles/mg protéines) et les feuilles ($2,41 \pm 0,35$ et $2,80 \pm 0,33$ nmoles/mg protéines) et écorce ($1,63 \pm 0,03$ et $1,29 \pm 0,12$ nmoles/mg protéines) de *F. angustifolia* aux doses respectives de 150 et 300mg/kg de façon à restaurer le niveau de la peroxydation lipidique normale. Les activités antioxydantes de *P. lentiscus* et *F. angustifolia* sont probablement dues à leurs richesses en composés phénoliques. Cette étude a permis de valider l'utilisation des feuilles de *P. lentiscus* et ceux des feuilles et écorce de *F. angustifolia* en médecine traditionnelle contre les maladies hépatiques et comme source riche en antioxydants naturels.

Mots clés : $AlCl_3$, MDA, *Pistacia lentiscus*, *Fraxinus angustifolia*, antioxydants, peroxydation lipidique.

Abstract

The aim of our study was to evaluate the *in vivo* hepatoprotective activity of the ethanol extracts of two local medicinal plants, *Pistacia lentiscus* and *Fraxinus angustifolia*.

The experiments were performed on the liver of albino mice after induction of lipid peroxidation by the intragastric administration of $AlCl_3$ at a dose of 100 mg/kg for two months. The malondialdehydes (MDA) level, an index of lipid peroxidation, was measured by the thiobarbituric acid (TBA) test. The results showed an increase in MDA (3.5 ± 0.36 nmoles/mg protein) in mice intoxicated by aluminum compared to control mice (1.99 ± 0.14 nmoles/mg protein), indicating an induction of lipid peroxidation. On the other hand, we observed a comparative and significative reduction in MDA values in mice treated by the leaf ethanolic extracts of *P. lentiscus* (1.75 ± 0.26 and 2.06 ± 0.34 nmoles/mg protein) and leaf and bark ethanolic extracts *F. angustifolia* (2.41 ± 0.35 and 2.80 ± 0.33 nmoles/mg protein, 1.63 ± 0.03 and 1.29 ± 0.12 nmoles/mg protéines) at 150 and 300 mg/kg, respectively, so as to restore the normal level of lipid peroxidation. The antioxidant activities of *P. lentiscus* and *F. angustifolia* are probably due to their richness in phenolic compounds.

This study validated the use of leaves of *P. lentiscus* and the leaves and bark of *F. angustifolia* in traditional medicine against liver diseases and as a rich source of natural antioxidants.

Keywords: $AlCl_3$, MDA, *Pistacia lentiscus*, *Fraxinus angustifolia*, antioxidant, lipid peroxidation.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط الوقائي للكبد في الجسم الحي الممارس من طرف مقتطفات الإيثانول المستخرجة من النباتات الطبية المحلية الدرادر و درو. أجريت التجارب على كبد الفئران البيضاء بعد تحريض بيروكسيد الدهون بجرعة 100 ملغ / كغ من ثلاثي كلوريد الألومينيوم الماخوذة عن طريق المعدة. تم قياس معدل المالونديالدهيد كمؤشر بيروكسيد الدهون باستعمال حمض ثيوباربيتوريك. اظهرت النتائج المحصل عليها ارتفاع قيم المالونديالدهيد في الفئران المسممة بثلاثي كلوريد الألومينيوم (3.5 ± 0.36 نانومول / ملغ من البروتين) بالمقارنة مع الفئران العادية (1.99 ± 0.14 نانومول / ملغ من البروتين)، مما يدل على تحريض بيروكسيد الدهون. من ناحية أخرى، تم تخفيض قيم المالونديالدهيد في الفئران المعالجة بواسطة مستخلصات الإيثانول من أوراق درو (1.75 ± 0.26 و 2.06 ± 0.36 نانومول/ملغ من البروتين) وأوراق ولحاء الدرادر (2.41 ± 0.35 و 2.88 ± 0.33 و 1.63 ± 0.03 و 1.29 ± 0.12 نانومول/ملغ من البروتين) بالتداول بجرعات من 150 و 300 ملغ / كلغ قد خفضت من أجل استعادة مستواه الطبيعي من الدهون المؤكسدة (1.99 ± 0.14 نانومول/ملغ من البروتين). الأنشطة المضادة للأكسدة للدرادر و درو يعود على الأرجح إلى غنى النبتتين بالمركبات الفينولية. هذه الدراسة سمحت بتأكيد صحة استخدام أوراق كلا النبتتين و لحاء الدرادر في الطب التقليدي ضد أمراض الكبد وكمصدر غني بالمواد الطبيعية المضادة للأكسدة.

الكلمات المفتاحية ثلاثي كلوريد الألومينيوم، المالونديالدهيد، بيروكسيد الدهون، الدرادر، درو، مضاد الأكسدة.