

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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie physico-chimique
Spécialité Pharmaco-toxicologie



Réf :.....

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

MASTER

Thème

**Evaluation de la toxicité aiguë et effet gastro
protecteur de *Crataegus laciniata***

Présenté par : **Touahria Cherifa et Zoulikha Hayet**

Soutenu le : 10 Septembre 2023

Devant le jury composé de :

Mr. AMIROUCHE.A	MCA	Président
Mme. CHAHER-BAZIZI.N	MCA	Encadreur
Mme . BOUBELOUTA.H	MAA	Examinatrice
Melle Saidene.N	Doctorante	Invitée
Melle Kadi.R		

Année universitaire : 2022 /2023

Remerciement

*Avant tout, nous remercions **Dieu** le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage, la volonté et la patience d'achever ce modeste travail.*

*On voudrait tout d'abord remercier notre promotrice **Mme CHAHER-BAZIZI N.** pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils tout au long de ce parcours.*

*Toutes nos gratitude s'adressent aussi aux membres de jury : **Mr AMIROUCHE A.** qui nous a fait l'honneur d'évaluer ce travail et de présider le jury, **Mme BOUBELOUTA H.** pour avoir accepté d'examiner ce mémoire
Comme on tient à remercier tout le personnel du laboratoire de génétique pour leurs soutiens constants et consistants, **Mme SAIDENE et KADI** en particulier pour leur disponibilité et leurs Précieux conseils.*

Enfin, nous tenons aussi à remercier toutes les personnes ayant contribué de prêt ou de loin dans l'élaboration de ce travail.

Dédicace

Grace à dieu tout puissant et en signe de reconnaissances à tous les sacrifices consentis pour notre réussite et la volonté pour mener à bien ce modeste qu'on dédie :

A mes chers parents pour leurs sacrifices, leur confiance, eux qui m'ont doté d'une éducation digne.

A mes frères et mes sœurs et surtout RIAD. Je vous souhaite une bonne continuation dans votre vie.

A toute ma famille,

A tous mes amis,

A mes collègues de la promotion

CHERIFA

Dédicace

A la mémoire de ma grand-mère « Hada »

Avant tout, j'adresse ma plus profonde gratitude et tout mon amour à ma très chère mère, qui a su me faire confiance et me soutenir en toutes circonstances, qui n'a pas cessée de m'encourager durant toutes mes années d'études et en prodiguant de ses précieux conseils, les mots ne suffiront pas et n'exprimeront pas tout ce que j'aimerai te dire. J'espère pouvoir te rendre une petite partie de ton amour, tu es la personne la plus chère du monde.

J'aimerai dédier aussi ce travail à mon cher père, qui a été toujours à mes cotés. Sans ta confiance, ta compréhension, ton soutien et surtout la bonne éducation que tu nous as donnée, je ne serais ce que je suis aujourd'hui, Trouve à travers ce modeste travail tout mon respect et mon affection.

Aux meilleurs sœurs du monde : Fatima, Meriem, Rabia, Sara, Kahina et Hakima qui toujours cru en moi même dans les moments de doute.

A toute ma famille et ma belle famille.

A toute la promotion de pharmacotoxicologie 2023.

Hayet.Z

Liste des figures

Figure 01 : Administration intra péritonéale à une souris	5
Figure 02 : Administration orale à une souris	6
Figure 03 : Organisation structurale du lobule hépatique	7
Figure 04 : Organisation structural du néphron.....	9
Figure 05 : Photographie montrant les feuilles, fleurs, fruits et l'arbre de <i>crataegus laciniata</i>	11
Figure 06 : Deux grandes classes des polyphénols	15
Figure 07 : Structures de base des principaux flavonoïdes	16
Figure 08 : Structure de tannins hydrolysables	17
Figure 09 : Structure de tannins condensés	17
Figure 10 : Différents isomères du bêta-carotène	18
Figure 11 : Schéma des effets thérapeutiques du genre <i>Crataegus</i>	19
Figure 12 : Différences couches tissulaires de l'estomac.....	21
Figure 13 : Anatomie générale de l'estomac.....	21
Figure 14 : Représente les feuilles et les fruits de <i>Crataegus Laciniata</i>	24
Figure 15 : Protocole de dosage des polyphénols totaux dans des extraits de <i>Crataegus Laciniata</i>	25
Figure 16 : Protocole suivi durant l'étude de la toxicité aigüe.....	27
Figure 17 : Protocole suivi durant l'étude de l'effet gastro-protecteur	28
Figure 18 : Effet des extraits de feuilles (HL), et de fruits (HF) de <i>Crataegus laciniata</i> sur le taux d'ALAT, d'ASAT et de phosphatase alcaline	34
Figure 19 : Effet des extraits de feuilles (HL), et de fruits (HF) de <i>Crataegus laciniata</i> sur taux de Bilirubine totale, Bilirubine directe et Bilirubine indirecte	36
Figure 20 : Effet des extraits de feuilles (HL), et de fruits (HF) de <i>Crataegus laciniata</i> sur le taux d'Urée et de Créatinine.....	37
Figure 21 : Photographies originales des coupes histologiques du parenchyme hépatique des souris	38
Figure 22 : Photographies originales des coupes histologiques du parenchyme néphrotique des souris	39
Figure 23 : Effet de feuilles HL et fruits HF sur l'activité de la MPO dans l'ulcère induit par l'éthanol absolu (0,2 ml/souris).....	40

Liste des tableaux

Tableau I : Classification botanique de <i>Crataegus Laciniata</i>	12
Tableau II : Classe des métabolites des espèces du genre <i>Crataegus</i>	14
Tableau III: Conditions d'extraction des composés phénoliques	24
Tableau IV: Résultats du dosage des polyphénols totaux des extraits des feuilles et des fruits de <i>C. laciniata</i>	31
Tableau V: Taux de mortalité après une dose unique des extraits éthanoliques de feuilles et du fruit	32
Tableau VI: Symptômes de toxicité	32

Liste des abréviations

ASAT ou TGO : Aspartate Transaminase ou La Glutamate –Oxaloacetate-Transaminase.

ALAT ou TGP: Alanine Amino Transférase ou La Glutamate –Pyruvate Transaminase.

CAT : Catalase.

CEE : Communauté Economique Européenne.

CMT : Complexe Molybdène –Tungstène.

DMSO : Diméthyl Sulfoxyde.

DL₅₀ : Dose Létale Médiane.

DGKG : Diacylglycérol Kinase gamma.

EE : Extraits Ethanoliques.

EPA : Etablissement public administratif.

GSH : Glutathion.

IPP : Inhibiteurs de la Pompe à Protons.

LHF : Lot Hawthorn Fruit.

LHL : Lot Hawthorn Leaves.

LT : lot Témoin.

MPO : Myéloperoxydase.

NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide.

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economiques.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PAL : Phosphatase alcaline.

PP : Polyphénols.

SOD : Superoxyde Dismutase.

SOMMAIRE

Introduction	1
--------------------	---

Chapitre I: Synthèse bibliographique

I.1. Toxicité.....	3
I.1.1. Définition	3
I.1.2. Types de la toxicité	3
I.1.2.1. Toxicité aiguë	3
I.1.2.2. Toxicité subaiguë.....	4
I.1.2.3. Toxicité sub-chronique	4
I.1.2.4. Toxicité chronique	4
I.1.3. Voies d'administration appliquées expérimentalement	5
I.1.3.1. Injection intra péritonéale	5
I.1.3.2. Injection orale	5
I.1.4. Manifestations de la toxicité et les tissus cibles.....	6
I.1.4.1. Hépatotoxicité.....	6
I.1.4.2. Néphrotoxicité	8
I.1.4.3. Neurotoxicité	9
I.1.4.4. Hématotoxicité.....	10
I.2. <i>Crataegus Laciniata</i>	11
I.2.1. Généralités sur <i>Crataegus Laciniata</i>	11
I.2.1.1. Description botanique.....	11
I.2.1.2. Classification botanique.....	12
I.2.1.3. Localisation géographique et nom vernaculaire	12
I.2.1.4. Utilisations traditionnelles	13
I.2.2. Composition en métabolites des espèces du genre <i>Crataegus</i>	13
I.2.2.1. Composés phénoliques	14
I.2.2.2. Terpénoïdes.....	17
I.2.3. Effets pharmacologiques.....	18
I.2.4. Toxicité de la plante	19
I.3. Effet gastro protecteur (Estomac)	20
I.3.1. Généralités	20
I.3.2. Anatomie	20
I.3.3. Histologie et physiologie gastrique	21

I.3.4. Ulcère gastrique et les facteurs d'agression de la muqueuse	22
I.3.5. Traitement des ulcères par des substances biologiques	22

Chapitre II: Matériel et Méthodes

II.1. Matériel végétale.....	24
II.2. Procédure d'extraction	24
II.3. Dosage des polyphénols.....	25
II.4. Matériel animal	26
II.5. Etude de la toxicité aigüe et effet gastroprotecteur.....	26
II.5.1. Bilan biochimique sanguin	28
II.5.2. Etudes histopathologiques	28
II.5.3. Effet gastroprotecteur	30

Chapitre III : Resultats et Discussions

III.1. Teneur en polyphénols totaux.....	31
III.2. Evaluation de la toxicité aigüe.....	31
III.2.1. Paramètres biochimiques.....	33
III.2.1.1. Paramètres hépatiques	33
III.2.1.2. Paramètres néphrétiques	36
III.2.2. Etude histopathologique	37
III.2.2.1. Histologie hépatique	37
III.2.2.2. Histologie rénale.....	38
III.3. Evaluation du gastroprotecteur	40
III.3.1. Evaluation de dosage de la MPO	40
Conclusion et perspectives	42
Références bibliographiques.....	36
Résumé	

Introduction

Introduction

Au fil des siècles, l'humanité a toujours compté sur les plantes pour répondre à une grande partie de ses besoins fondamentaux, tels que la nourriture, la confection de vêtements, même pour satisfaire ses besoins médicaux (Svoloda et *al.*, 2000). Malheureusement, cette utilisation des plantes n'a pas toujours été encadrée de manière rigoureuse, négligeant ainsi les risques potentiels de la toxicité associés à certains d'entre elles (Svoloda et *al.*, 2000).

Les plantes médicinales possèdent des propriétés thérapeutiques importantes, car elles sont utilisées pour traiter de nombreuses pathologies (Svoloda et *al.*, 2000). Nous citons parmi ces pathologies le cancer, le diabète, la grippe (Rocchetti et *al.*, 2019). Elles constituent une source précieuse d'une grande variété de substances bioactives, principalement liées aux produits du métabolisme secondaire, tels que les polyphénols, les alcaloïdes, les terpènes et les coumarines. Certains métabolites secondaires, présents en faibles ou fortes concentrations dans les plantes, présentent des propriétés anti oxydantes, anti inflammatoires (Mohr, 1982 ; Juan, 1984 ; Raghav et *al.*, 2006) et antibactériennes (Dih et *al.*, 2017). Les polyphénols, en particulier, jouent un rôle intéressant dans la lutte contre les cancers et en tant que modulateurs des maladies cardiovasculaires en prévenant la peroxydation lipidique (Jean et *al.*, 2009).

L'objectif principal des études pharmacologiques est de découvrir les principes actifs naturels extraits des plantes (Macheix et *al.*, 2005). Leurs propriétés sont utilisées dans l'industrie alimentaire en tant qu'ingrédients et additifs en cosmétologie (Bahorun et *al.*, 1996), en phytothérapie et dans la médecine allopathique moderne (Bourgoud et *al.*, 2001 ; Kar, 2007). Malgré les nombreux avantages thérapeutiques des plantes médicinales, certaines substances chimiques présentes parmi leurs composants se sont révélées potentiellement toxiques, mutagènes, cancérigènes. Cela soulève des préoccupations concernant les effets toxiques possibles résultant de l'utilisation à court et à long terme de ces plantes médicinales (Zeggwagh et *al.*, 2013). L'évaluation de la toxicité de tout extrait végétal destiné à être utilisé chez l'Homme et l'animal revêt une importance primordiale dans les recherches phytopharmacologiques, certaines espèces du genre *Crataegus* présentent une certaine toxicité sur différents modèles d'expérimentation, cette toxicité due à la présence des métabolite secondaire (Shama et *al.*, 2014).

Dans notre étude, nous avons cherché à évaluer la toxicité aiguë et l'effet gastro protecteur de deux parties de la plante *Crataegus laciniata*, à savoir les feuilles et les fruits, chez des souris albinos. Nos objectifs étaient les suivants :

- Effectuer l'extraction des métabolites secondaires des feuilles et des fruits de la plante *Crataegus laciniata* en utilisant de l'éthanol ;
- Quantifier la teneur en polyphénols totaux des extraits des feuilles et des fruits de *Crataegus laciniata* ;
- Étudier la toxicité aiguë des deux extraits éthanoliques à une dose de 2 g/kg en observant les signes de toxicité, la mortalité, les analyses biochimiques, l'étude histopathologique, ainsi que l'effet gastro protecteur suivit de l'activité de la myéloperoxydase ;

Nous avons réalisé ces investigations afin de mieux comprendre les effets potentiels de la plante *Crataegus laciniata* sur la santé et la protection gastro-intestinale.

Chapitre I:

Synthèse bibliographique

I.1. Toxicité

I.1.1. Définition

Les toxiques ne présentent pas tous le même degré de toxicité. Il existe des différences entre la structure chimique des substances. Ces différences peuvent affecter la capacité des substances à perturber le fonctionnement normal d'un organisme vivant, ce qui est considérée comme une substance toxique. Cette dernière peut entraîner l'apparition de quelques symptômes. En confirmant l'exposition de cet organisme à un toxique, elle peut provoquer ainsi sa mortalité (Gilles, 2004).

Parmi les organismes internationaux de réglementation des études de toxicité (OCDE, GSH, EPA, CEE, etc.) déterminent les dangers et les risques potentiels des substances sur l'être humain en comparant les effets toxiques dose-dépendants qui se produisent dans les modèles animaux (Lewis et *al.*, 2002). Les études de toxicité utilisant des modèles animaux offrent plusieurs avantages dont la durée d'exposition contrôlée, l'examen facile de tous les tissus et l'estimation de divers marqueurs biochimiques et pathologiques (Arome et Chinedu, 2013). En causant plusieurs formes de toxicité qui sont, en fonction de la durée et de la fréquence d'exposition, la toxicité suraiguë, aiguë, subaiguë, chronique et la sub-chronique (Bismuth, 1987).

Les tests *in vivo* ne sont pas les seuls qui doivent être réalisés pour l'évaluation des effets toxiques d'une substance. De nombreux autres aspects pharmacotoxicologiques doivent être abordés pour déceler un impact éventuel : Effet sur le foie, sur les reins, sur la peau et sur les cellules de sang (Glomot, 1986).

I.1.2. Types de la toxicité

I.1.2.1. Toxicité aiguë

La toxicité aiguë résulte d'une pénétration ou d'une administration d'une substance toxique, une seule fois, ce qui peut provoquer la mort de l'individu ou l'apparition de très graves troubles physiologiques après un court terme. En effet, l'étude de la toxicité aiguë induite par différentes doses de cette substance, nous permet de déterminer la dose létale (DL₅₀) qui provoque une mortalité de 50% de la population d'animaux, dans des conditions expérimentales bien définies (Laigneau, 2000).

I.1.2.2. Toxicité subaiguë

Cette toxicité concerne les effets nocifs dus à la répartition de dose qui ne produisent pas d'effets toxiques immédiats. Des effets tardifs peuvent survenir à cause de l'accumulation du produit dans les tissus ou à cause d'autres mécanismes (Guillaume gilbert, 1979). Pendant une période assez prolongée mais à condition de ne pas constituer une partie significative de la vie de l'espèce examinée. Dans les essais de la toxicité suraiguë, l'administration orale entre 28 et 90 jours chez le rat (ou bien la souris) ou le chien, respectivement, serait typique (Hodgson and Cunny, 2010).

I.1.2.3. Toxicité sub-chronique

Certains produits chimiques ont un mécanisme de toxicité différent selon qu'ils sont administrés à dose unitaire élevée ou de manière répétée à dose plus faible quoique toxique. Lorsqu'on donne une forte dose unitaire, le sujet peut ne plus être en mesure de détoxifier et d'excréter le produit chimique et réagir différemment que si on lui administrait des doses répétées plus faibles (Watanabe, 2000). Toxicité réitérée pendant plus de 28 jours et moins de 90 jours (Lauwerys et *al.*, 2007).

I.1.2.4. Toxicité chronique

Cette toxicité à long terme se fait par une exposition répétée à très faible concentration d'une substance à long terme. Le produit est administré quotidiennement, une à deux fois par jour pendant 18 à 24 mois (Laroche, 2001).

I.1.3. Voies d'administration appliquées expérimentalement

La pénétration d'une substance toxique dans un organisme vivant peut se faire selon différentes modalités (Labaune, 1993). Pour évaluer la toxicité d'un composé chez les animaux, diverses voies peuvent être utilisées mais les deux modes d'administration les plus couramment utilisés pour les études animales sont l'injection intra péritonéale ou la voie orale (Poole and Leslie, 1989).

I.1.3.1. Administration intra péritonéale

C'est l'une des méthodes de dosage, qui peut parfois fournir des informations sur la toxicité locale et systémique (Waynforth., 1980). L'injection se fait dans le quadrant abdominal inférieur droit de l'animal en regard de la cuisse (figure 1) avec un angle de 15 à 20° (Bouchoux, 2004).



Figure 1 : Administration intra péritonéale à une souris (Bouchoux, 2004).

I.1.3.2. Injection orale

A côté de la voie orale, dite le plus souvent digestive, par apport le passage de la substance toxique au la barrière gastro intestinale. L'administration orale est la forme d'administration impliquant le tractus gastro intestinale (figure 2), qui peut être considéré comme un tube traverse le corps, commençant à la bouche et se terminant à l'anus, ces substances chimiques passent ensuite dans le sang vers les organes cibles sans transformation au niveau du foie ou les poumons (Waynforth, 1980 ; Loomis et Hayes, 1996).



Figure 2 : Injection orale à une souris (Bouchoux, 2004).

I.1.4. Manifestations de la toxicité et les tissus cibles

Pendant l'étude toxicologique, la substance à tester est capable d'affecter le comportement général de l'animal, La mesure dans laquelle un organe est sensible à la toxicité varie d'un tissu à l'autre. Par exemple, les reins et le foie sont plus fortement vascularisés, ce qui les rend plus sensibles à la toxicité que les tissus osseux (Viala and Botta, 2007).

I.1.4.1. Hépatotoxicité

Le foie est le plus grand organe interne du corps par le ligament falciforme en deux lobes : un grand lobe droit et un plus petit lobe gauche. Chaque lobe est ensuite divisé en lobules qui sont les unités fonctionnelles du foie. Il y'a environ un million de lobules dans le foie remplis d'hépatocytes. Les hépatocytes sont responsables de la sécrétion de la bile et remplissent également diverses fonctions métaboliques. Entre chaque rangée d'hépatocytes se trouvent de petites cavités appelées sinusoides. Les principales fonctions des sinusoides sont de détruire les globules rouges anciens ou défectueux, d'éliminer les bactéries et les particules étrangères du sang et de détoxifier les toxines et autres substances nocives (Silverthorn, 2007). (figure 3).

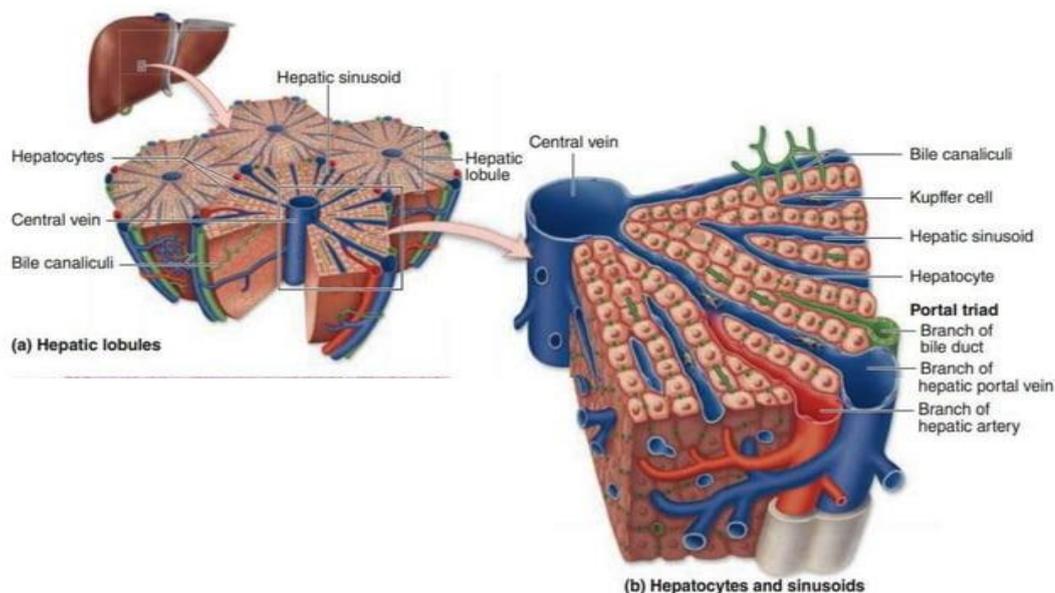


Figure 3 : Organisation structurale du lobule hépatique (Silverthorn, 2007).

Le foie est l'organe cible des lésions d'origine chimique. Plusieurs facteurs importants sont connus pour contribuer à la susceptibilité du foie. Premièrement, les composés absorbés dans le tractus intestinal sont transportés par la veine porte hépatique vers le foie. Ainsi, le foie est le premier organe perfusé par les produits chimiques absorbés dans l'intestin. Un deuxième facteur est la forte concentration dans le foie d'enzymes métabolisant les xénobiotiques. Le foie reçoit 25% de l'apport sanguin du cœur. Les substances toxiques absorbées par l'intestin sont transportées directement vers le foie qui est donc le première organe cible exposé après l'intestin lui-même. Les hépatocytes sont des cellules qui constituent la majeure partie de la structure du foie et qui sont très actives sur le plan métabolique. Notamment, ils sont impliqués dans de nombreux processus biochimiques essentiels, tels que l'élimination de l'azote sous forme d'urée, la synthèse de glycogène en tant que réserve de glucose et le métabolisme des lipides. De nombreuses substances toxiques inhibent la synthèse des protéines en raison de leur action au niveau du foie a également un rôle clé dans l'élimination des poisons (xénobiotiques) (Baker, 2012).

Plusieurs extraits de plantes ont été examinés pour une utilisation dans une grande variété de troubles hépatiques. De nombreuses études ont déjà conduit à la caractérisation de plus de 170 constituants isolés de 110 plantes appartenant à 55 familles ont été rapportés pour traiter cinq maladies et stimuler les fonctions hépatiques. Alors que d'autres ont été signalés comme causant des lésions au foie, comprennent une évaluation des enzymes hépatiques élevées. Hépatite aiguë ou chronique, cholestase, nécrose hépatique ou fibreuse, cirrhose, insuffisance hépatique et maladie veino-occlusive hépatique (Abdualmjid et Sergi, 2013).

I.1.4.2. Néphrotoxicité

Les reins sont une partie essentielle du système urinaire responsable de la production et de l'excrétion de l'urine dans un uretère et remplissent des fonctions homéostatiques telles que la régulation des électrolytes.

Ils servent au corps de filtre naturel du sang et éliminent les déchets qui sont détournés vers la vessie. En produisant de l'urine, les reins excrètent des déchets tels que l'urée et l'ammoniaque ; les reins sont également responsables de la réabsorption d'eau, glucose et acides aminés. La capsule rénale est la peau externe du rein. La partie externe du rein est constituée du cortex et de la moelle contenant des millions de minuscules structures appelées néphrons. Les néphrons sont responsables de la filtration de l'eau hors de la circulation sanguine. Le néphron est composé de deux parties principales : le corpuscule rénal et le tubule rénal. À l'intérieur du corpuscule rénal se trouve le glomérule, un réseau de capillaires sanguins qui est entouré, d'abord, par une double membrane (la membrane capsulaire glomérulaire) et est ensuite entouré par la capsule de Bowman. Le tubule rénal comprend le tubule proximal, l'anse de Henle et le tubule distal (qui mène éventuellement aux tubules collecteurs) (Silverthorn, 2007).

Souvent, l'exposition à de grandes quantités d'un produit chimique peut provoquer des effets sur les reins qui ne sont pas observés à des expositions moindres. Les effets des lésions rénales sont fréquemment évalués en termes non spécifiques tels que les modifications du poids des reins (augmentations et diminutions) ou les augmentations de la teneur en protéines de l'urine (protéinurie) ou les modifications du volume de l'urine. L'insuffisance rénale aiguë est l'une des réponses les plus courantes du rein aux substances toxiques. L'insuffisance rénale aiguë se caractérise par une baisse rapide du taux de filtration glomérulaire et une augmentation de la concentration des composés azotés dans le sang. Composés qui provoquent des troubles rénaux, la vasoconstriction réduit la quantité de sang qui atteint le glomérule (Baker, 2012).

En plus de la réponse au niveau des organes du rein, de nombreuses substances toxiques affectent des régions spécifiques du néphron. Ils peuvent endommager le glomérule, le tubule proximal ou d'autres éléments tubulaires tels que l'anse de Henle, le tubule distal ou le canal collecteur. Le site de blessure le plus courant pour les substances toxiques est les tubules proximaux (Abdualmjid et Sergi, 2013) (figure4).

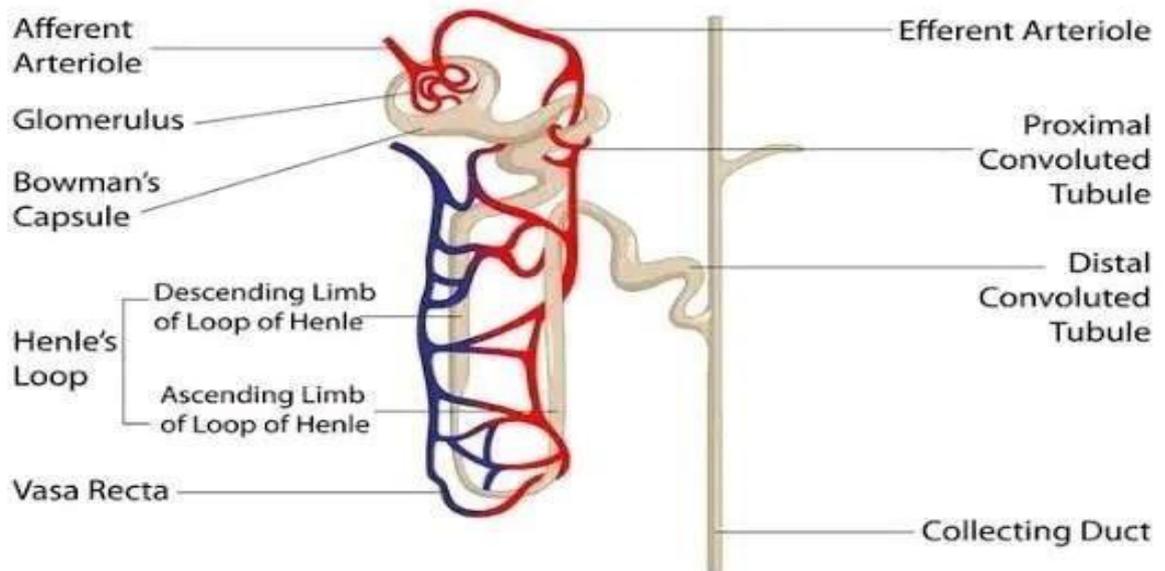


Figure 4 : Organisation structural du néphron (Jacquelyn et Maher, 1997).

I.1.4.3. Neurotoxicité

Le cerveau est un ensemble complexe de neurones regroupés pour contrôler les fonctions motrices, sensorielles, posturales et cognitives supérieures. Le tronc cérébral contrôle une grande partie de l'activité physiologique essentielle. La neurotoxicologie est l'étude des effets néfastes des agents chimiques, biologiques et de certains agents physiques sur le système nerveux et/ou le comportement au cours du développement et de la maturité (Harry et *al.*, 1998).

Comme les autres toxicités organiques, la neurotoxicité peut résulter de différents types d'exposition à une substance. Les principales voies d'exposition sont orales, cutanées ou par inhalation. Une neurotoxicité peut être observée après une dose unique (aiguë) ou après des doses répétées (chroniques). Les neurotoxiques endommagent les parties distales des axons sans trop d'effet sur le reste de la cellule, certains produisent une mort cellulaire pure et simple, tandis que d'autres affectent les processus de signalisation dans le système nerveux sans causer de dommages structuraux. Les neurones peuvent également être secondairement affectés par des neurotoxiques qui ciblent d'autres cellules du système nerveux, altérant la fonction homéostatique normale et causant des dommages structurels ou fonctionnelles (Blake, 2010).

I.1.4.4. Hématotoxicité

Le sang qui constitue le principal moyen de transport dans le corps est un tissu très important. Il sert à transporter de nombreux médicaments et xénobiotiques. Comme tous les composés étrangers sont distribués via la circulation sanguine, les différents composants, cellulaires et non cellulaires, sont initialement exposés à des concentrations importantes de composés toxiques (Timbrel, 2009).

Les lésions toxiques des cellules sanguines et des tissus hématopoïétiques sont appelées hématotoxicités. Chez l'homme, la moelle osseuse constitue le principal tissu hématopoïétique. La bonne moelle produit des cellules souches qui sont des précurseurs des globules blancs et des plaquettes. Les globules blancs ont un rôle essentiel dans la fonction inflammatoire, de coagulation et immunitaire. Les globules rouges fournissent principalement de l'oxygène à toutes les cellules du corps et éliminent le dioxyde de carbone de ces cellules (Baker, 2012).

La moelle osseuse est une cible majeure pour de nombreuses substances toxiques. En raison de l'échec de la génération de nouvelles cellules, il peut y avoir une défaillance du système des globules rouges (anémie) et une défaillance du système des globules blancs, provoquant à la fois une infection massive due à l'absence de granulocytes et une défaillance du système immunitaire à partir d'une réduction totale. Sur la crise des globules blancs (Baker, 2012).

Certaines matières végétales, lorsqu'elles sont ingérées à l'état brut ou sous forme d'extrait, ont été signalées comme provoquant une anémie pouvant résulter de la séquestration des globules rouges dans la rate, d'une production altérée de globules rouges ou d'un dysfonctionnement primaire de la moelle osseuse (Cheeke, 1998).

L'endommagement et la destruction des cellules sanguines entraînent diverses conséquences telles qu'une réduction de la capacité de transport d'oxygène du sang si les cellules affectées sont les globules rouges. L'évaluation du sang est pertinente pour l'évaluation des risques car le système hématologique a une valeur prédictive plus élevée de la toxicité chez l'homme (Olson et *al.*, 2000).

I.2. Crataegus Laciniata

I.2.1. Généralités sur Crataegus Laciniata

I.2.1.1. Description botanique

Crataegus est le nom scientifique de l'aubépine qui est un grand genre d'arbres et d'arbustes de la famille des « Rosaceae ». Cette dernière est constituée de 100 genres dont 200 espèces de Crataegus (Bouزيد, 2009).

Une des espèces les plus répandues de cette famille en Algérie est le *Crataegus laciniata*, ce nom est généralement appliqué à une espèce caractérisée par la présence ou absence de rameaux, feuilles, inflorescences, hypatie et fruits (Kashyap et al.,2012.; Calvo et al .,2015).

Crataegus laciniata est un arbuste aromatique épineux, volumineux, d'une hauteur de 7m. Ces feuilles de forme caduques de couleur verte, possèdent de 5 à 9 lobes insérées isolement sur un axe à différents niveaux, leurs fleurs de couleur blanche sur un seul plan porté par des tiges de fleurs de longueurs inégales. Les fruits charnus, de couleur rougeâtre, 8 à 14 mm de diamètre et de 1,5 à 2 cm de long (Bellakhdar, 1997 ; Bachiri et al., 2015 ; Calvo et al. , 2015) (figure 5).



Figure 5 : Photographie montrant les feuilles, fleurs, fruits et l'arbre de *crataegus laciniata* (Bachiri et al.,2015).

I.2.1.2. Classification botanique

La classification botanique de la *Crataegus laciniata* est représentée dans le Tableau II.

Tableau I : Classification botanique de *Crataegus Laciniata* (Bouzid, 2009).

Range taxonomique	Nomenclature
Règne	Planta (Pante)
Sous règne	Tracheobionta (Plantes vasculaires)
Embranchement	Spermaphyta (Spermaphytes)
Sous Embranchement	Angiospermes
Classe	Magnoliophyta (Dicotylédones)
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Rosales
Famille	Rosaceae (Rosacées)
Genre	Crataegus
Espèce	<i>Crataegus Laciniata</i>

I.2.1.3. Localisation géographique et nom vernaculaire

On rencontre cette plante au niveau des forêts-rocailles, matorrals et pelouses des montagnes calcaires et siliceuses supérieures à 1300 m d'altitude, ainsi que sur les sols riches en microéléments. Cet arbuste peuple Haut-Atlas, Moyen-Atlas, Rif, Maroc Oriental (Emberger, 1938). Elle possède plusieurs noms vernaculaires en fonction des pays et des régions.

Nom arabe : Tabgha (Bachir et *al.*, 2015)

Nom Berbère : Admam (Bachir et *al.*, 2015)

Nom français : Epine blanche, Epine de mai, valériane de cœur, cenellier (Fabre et *al.*, 1992)

Nom anglais : Hawthorn, Quickthorn (Zhang et *al.*, 2002)

Nom Indien : Vansaangli (Kashyap et *al.*, 2012)

Nom Kabyle : Admam (Bachiri et *al.*, 2015)

Nom Latin : *Crataegus Laciniata* (Bellakhdar, 1997).

I.2.1.4. Utilisations traditionnelles

En plus d'un usage alimentaire, *Crataegus* est également une plante médicinale populaire utilisée pour diverses fins thérapeutiques pendant de nombreux siècles.

En médecine populaire arabe, une décoction de feuilles et de fruits non murs de *Crataegus* est utilisée pour traiter les maladies cardiovasculaires, le cancer, le diabète et la faiblesse sexuelle (Rocchetti et al., 2019).

Les fruits et feuilles d'aubépine ont une valeur médicale avec des effets thérapeutiques favorables (Qin et al., 2019).

Dans la médecine traditionnelle chinoise, les fruits de l'aubépine sont utilisés pour stimuler la digestion et la fonction de l'estomac, l'amélioration de la circulation sanguine et l'élimination de la stase des sangs. Ainsi, ils sont utilisés dans les prescriptions pour traiter l'indigestion avec distension épigastrique, diarrhée, aménorrhée, hypertension et l'hyperlipidémie (Hamdaoui, 2018).

En Algérie et au Maroc la fleur de *Crataegus laciniata* est employée en usage interne sous forme d'infusion comme remède contre les palpitations et les diarrhées. Par contre le fruit en Algérie est employé dans le massif des aurès comme aliment de misère et au Maroc et dans le Moyen Atlas, les fruits murs sont consommés par les bergers (Mohand, 2006).

En Turquie, la feuille, la fleur et la racine de l'espèce *Crataegus* ont été utilisés en médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies telles que la toux, la grippe, l'asthme, les maux d'estomac, les douleurs rhumatismales, la néphrite et les hémorroïdes (Caliskan., 2015).

I.2.2. Composition en métabolites des espèces du genre *Crataegus*

Plusieurs groupes de composés représentant les métabolites primaires et secondaires ont été reportée dans différentes parties des aubépines. Dans les fruits, les sucres sont les métabolites primaires les plus abondants (Urbonaviciute et al., 2006) alors que les métabolites secondaires majeurs sont les composés phénoliques. Par rapport à ces derniers, les oligomères procyanidines et leurs glycosides sont les principaux composés majeurs, tandis que les flavonoïdes dominant dans les feuilles (Liu et al., 2011).

Les deux classes sont représentées dans le tableau ci-dessous :

Tableau II : Classes des métabolites des espèces du genre *Crataegus* (Liu et al., 2011).

Métabolites primaires		Métabolites secondaires	
Sucres	Autres métabolites primaires	Composés phénoliques	Autres métabolites Secondaires
Polysaccharides	Amines	Tannins	Alcaloïdes
Glucose	Cardiotoniques	(Hydrolysables, et	Caroténoïdes
Saccharose	Triméthylamines	condensés)	Terpénodes
Fructose	Phénylalanines	Flavonoïdes	
Xylose	Tyramines	Acides phénoliques	
Sucres alcooliques	Acides	Acides ascorbiques	
(Sorbitol,	Tricarboxyliques		
Myoinositol)	Protéines		
	Acides nucléiques		

I.2.2.1. Composés phénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires qui sont des molécules biologiques actives possédant un ou plusieurs cycles benzéniques portant un ou plusieurs fonctions hydroxyles. Ils sont retrouvés principalement dans les espèces végétales : les fruits, les légumes, le thé, le vin, le café, et sont responsables des caractéristiques organoleptiques des aliments végétaux (Alara et Ukaegbu, 2021).

Ces composés sont synthétisés par les plantes aussi bien au cours du développement normale que dans les conditions du stress. Chez la plante, ils contribuent dans le développement, la reproduction, la croissance cellulaire, la différenciation, l'organogenèse, la floraison et la lignification. En plus, le contenu des végétaux en polyphénols est très variable en fonction de nombreux paramètres génétique, physiologique et environnementaux (Rejeb et Boly, 2008).

Ces polyphénols regroupent plusieurs milliers de molécules réparties dans deux grandes sous-familles : les non flavonoïdes et les flavonoïdes (Figure 6), qui regroupent à leur tour des sous-familles (Gawel, 1998 ; Sarni-Manchado et Cheynier, 2006). (Figure 6).

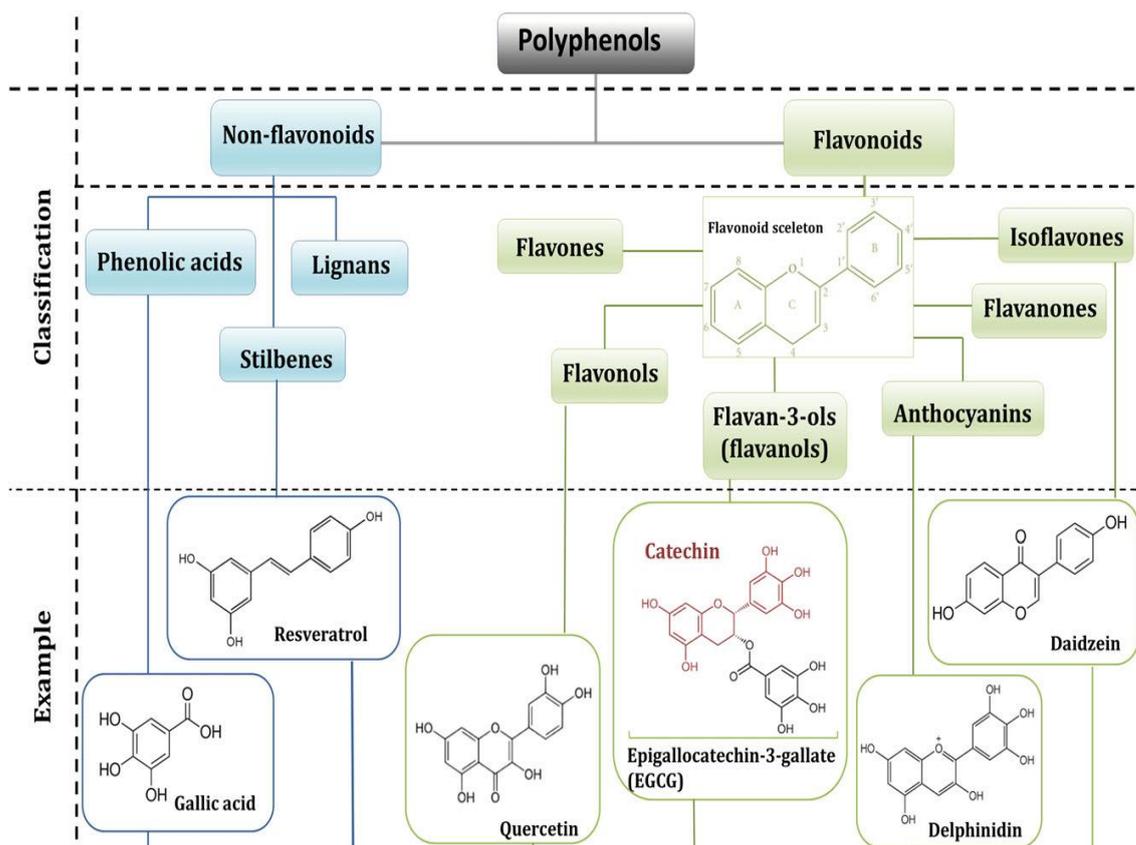


Figure 6 : Deux grandes classes des polyphénols (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

A. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont rencontrés dans les plantes sous forme libre comme glycosides et peuvent être intégrés dans des molécules plus grandes sous une forme ester, on cite par exemple : l'acide caféique, coumarique, ferulique, gallique, et siringique.

En raison de la présence d'un nombre élevé de groupes hydroxyle et d'un fragment carboxyle, leurs propriétés antioxydants sont très prononcées (Rice-Evans et *al.*,1996 ; Sroka,2005).

B. Flavonoïdes

Les flavonoïdes comprennent 15 atomes de carbone formant une structure C6-C3-C6, soit deux noyaux aromatiques (benzo-gamma-pyrone) reliés par un pont de 3 carbones. La structure en C6-C3-C6 est le produit des deux voies de synthèse des composés phénoliques, le noyau B et le pont carboné constituant une unité phénylpropanoïde synthétisée à partir de la phénylalanine provenant de la voie de l'acide malonique (Bruneton et *al.*, 1999).

Au sens strict ils sont des composés dont la substitution par un noyau benzénique se fait en position 2. Les composés présentant une substitution en position 3 sont indiqués par le terme iso flavonoïdes (Bruneton, 1999 ; Erlund,2004) (figure 7).

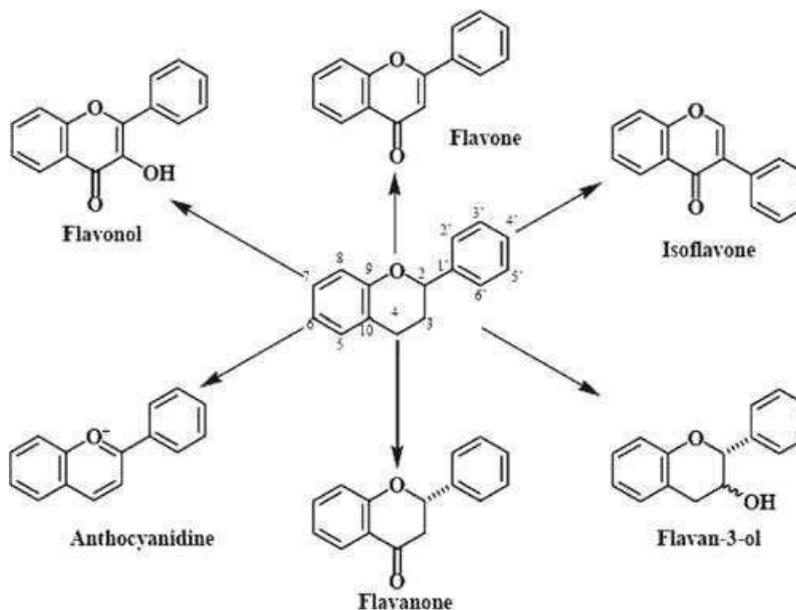


Figure 7 : Structures de base des principaux flavonoïdes (Chira et al.,2008).

C. Tannins

Les tannins sont répartis dans toutes les parties de la plante et qui diffèrent des flavonoïdes par leur poids moléculaires élevé (entre 500 et 3000) (Rejeb, 2008).

Elles sont des molécules fortement hydroxylées et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines, et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments (Salah Eddine, 2014). IL existe deux groupes de tannins (Gori, 2014).

➤ Tannins hydrolysables

Ce sont des esters du D- glucose et d'acides phénols (figure 4) qui sont :

Soit d'acide gallique, pour le groupe de tannins galliques (gallotannins), soit d'acide ellagique, pour le groupe de tannins ellagiques (ellagitannins) (Azzi,2016), représentés sur la (figure 8).

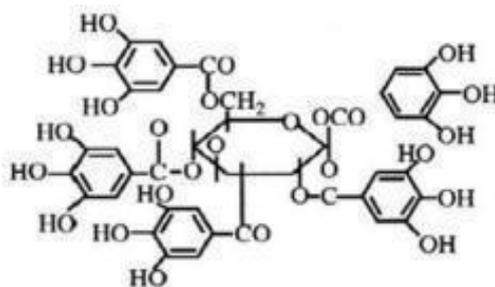


Figure 8 : Structure de tannins hydrolysables (Azzi, 2016).

➤ Tannins condensés

Appelés aussi pro anthocyanidines, ce sont des polymères de flavonoïdes (Lepoldini et *al.*, 2011) (figure 9).

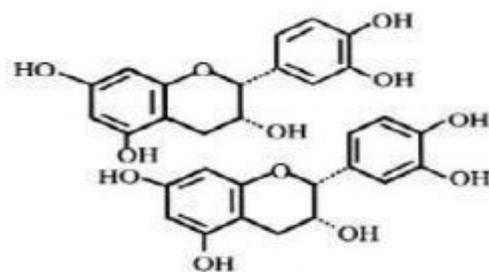


Figure 9 : Structure de tannins condensés (Azzi, 2016).

I.2.2.2. Terpénoïdes

Les terpénoïdes sont une classe importante de métabolites secondaires qui proviennent du même précurseur biosynthétiques, l'acide mévalonique. Chaque classe de terpènes est issue du couplage « tête-à-queue » d'unités isopréniques. La première étape de leur biosynthèse commence toujours par condensation de deux dérivés phosphorylés de l'acide mévalonique, l'isopentényl pyrophosphate et le diméthyle –allyl-pyrophosphate (Bruneton, 1999).

A. Triterpènes

Les triterpènes « 4000 composés construits sur plus de squelettes différents » sont des composés en C₃₀, issus de la cyclisation du squalène. Ils sont très souvent hydroxylés et présentent une très forte unité structurale. Cette dernière est marquée chez les stéroïdes : des composés aussi différents quant à leurs propriétés que les phytostérols, les saponosides, les ecdystéroïdes, les glucides cardiotonique ou les alcalines stéroïdiques ont tous le même squelette de base (Bruneton, 1999).

B. Caroténoïdes

Ils sont synthétisés par les plantes et les micro-organismes photosynthétiques. Six cents caroténoïdes sont actuellement identifiés, dont une soixantaine possède une activité pro vitaminique A, notamment, l'alpha, la beta, et le gamma-carotène ainsi que la crypto xanthine.

La structure caroténoïde aide de nombreuses variations : isomérisation cis-trans, particularités chirales. Ainsi, le beta-carotène existe dans les milieux naturels sous forme tout-trans, mais aussi 9-cis, 13-cis, 15-cis, (figure 6). Ils peuvent subir des conversions sous l'action de la lumière (à laquelle les caroténoïdes sont très sensibles), de l'énergie chimique ou thermique, ou encore sous l'influence d'enzymes. Ils font partie du système de défense cellulaire contre les formes agressives de l'oxygène et les radicaux libres (Bertram, 1999).

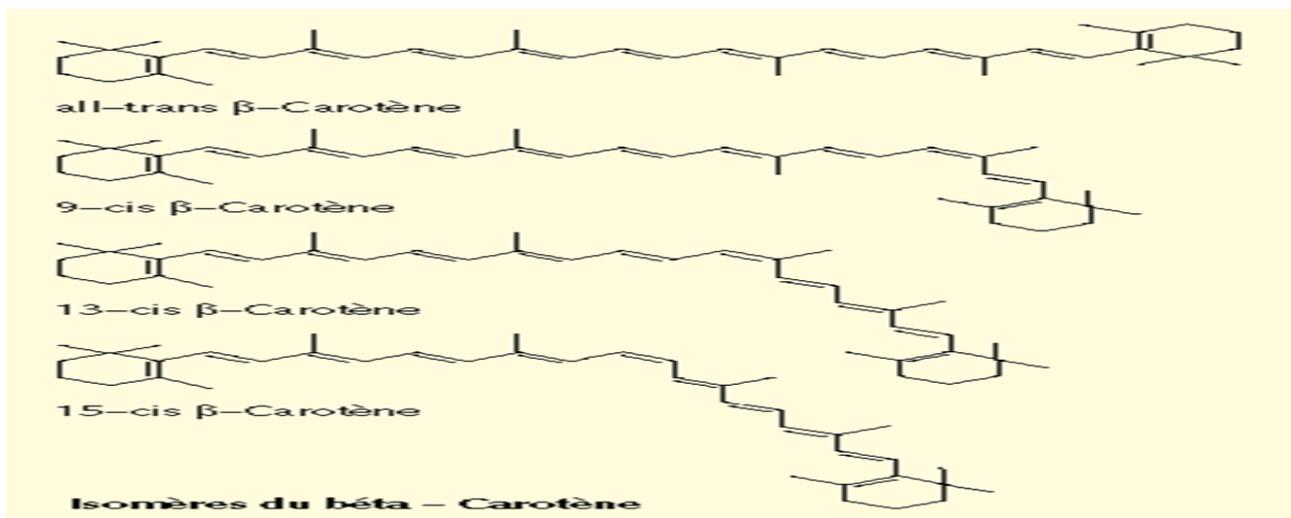


Figure 10 : Différents isomères du bêta-carotène (Bertram, 1999).

I.2.2.3. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés organiques naturels (le plus souvent d'origine végétales), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, des structures moléculaires complexes plus ou moins basiques et douées de propriétés physiologiques même à faibles doses (Bruneton, 1999 ;Zenk et Juenger, 2007).Ils constituent un des plus grands groupes de métabolites secondaires avec près de 10 000 à 12 000 différentes structures (Roberts et Wink, 1999 ; Stockigt, 2002).

I.2.3. Effets pharmacologiques

Les effets thérapeutiques de la *crataegus laciniata* sont représentés dans la figure 11.

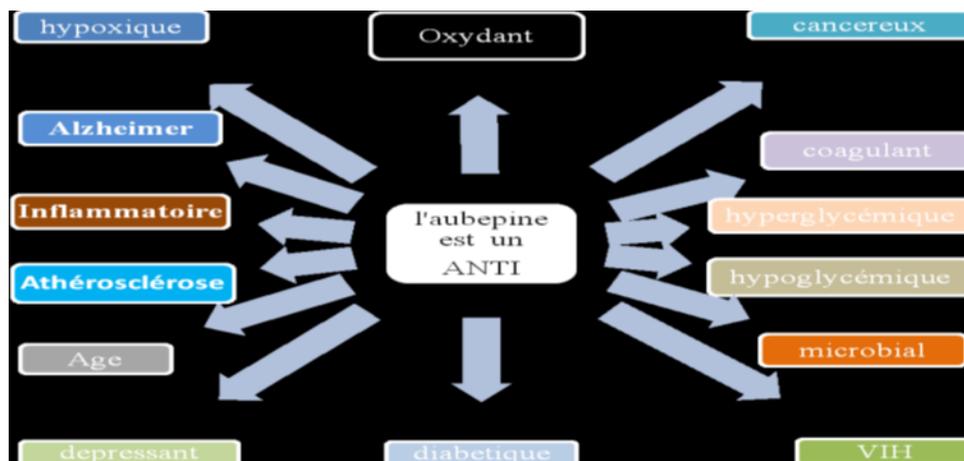


Figure 11 : Schéma des effets thérapeutiques du genre *Crataegus* (Amirhossein, 2020).

Crataegus possède une longue histoire comme une plante médicinale utilisée pour traiter les calculs rénaux, les troubles digestifs, la dyspnée et les troubles cardiovasculaires en raison de sa capacité à réduire les facteurs de risque important tels que l'inflammation, l'hypertension et la thrombose (Rigelsky et Sweet ,2002). La littérature montre qu'il existe des preuves substantielles de l'utilisation de *Crataegus* dans l'insuffisance cardiaque congestive chronique (Dahmer et Scott, 2010). Les flavonoïdes de *Crataegus Laciniata* détendent et dilatent les artères, en particulier les artères coronaires. Cela augmente le flux sanguin du muscle cardiaque et réduit les symptômes de l'angine et contractions du muscle cardiaque. Les flavonoïdes sont également fortement antioxydants, aidant à réduire la dégénérescence des vaisseaux sanguins (Pittler et *al.*,2003 ; Tabah et *al.*,2009). En général toutes les espèces du genre *Crataegus* ont les mêmes effets thérapeutiques.

I.2.4. Toxicité de la plante

L'espèce *Crataegus Laciniata* est une plante à action faible et doit être utilisée au minimum 4 à 8 semaines pour en bénéficier pleinement. Le dosage dépend du type de préparation et la partie de la plante utilisée. Les doses testées dans les études cliniques européennes ont varié de 160 à 900 mg par jour de *Crataegus Laciniata* normalisé pour contenir 2,2% de flavonoïdes ou 18 ,75% de pro anthocyanidines oligomères. Dans les deux premières semaines de la supplémentation de *Crataegus Laciniata*, des effets positifs seront observés. *Crataegus Laciniata* est sûre et ses effets secondaires sont minimaux lorsqu'elle est consommée en posologie recommandée (Kim et *al.*,2000).

I.3. Effet gastro protecteur (Estomac)

Les ulcères gastriques sont un problème de santé mondial courant (Boeing et *al.*, 2022). L'ulcère gastrique se caractérise par l'ulcération de la muqueuse gastrique et est l'une des maladies courantes du système digestif qui affecte de nombreux humains. Les patients atteints d'ulcère gastrique souffrent souvent d'inconfort abdominal, de douleurs intenses, de nausées et d'une sensation de brûlure dans l'estomac. Les facteurs agressifs tels que l'acide chlorhydrique, la pepsine et les sels biliaires entraînent des lésions de la muqueuse gastrique, mais les couches de mucus bicarbonate servent à protéger la muqueuse contre ces facteurs agressifs (Chen et *al.*, 2016).

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), plus de 80% de la population mondiale se repose sur le système de médecine traditionnelle pour ses problèmes de santé (OMS, 2003).

I.3.1. Généralités

L'estomac est un organe creux dont le rôle principal stocké les aliments, d'amorcer leur digestion et de les délivrer progressivement au duodénum. La production d'acide chlorhydrique est spécifique de l'estomac. En raison de sa situation anatomique, l'estomac est aisément accessible à l'endoscopie, une technique médicale permettant d'observer l'intérieur de l'estomac à l'aide d'un endoscope (Elsevier, 2014).

I.3.2. Anatomie

L'estomac est un segment dilaté du tube digestif, s'étend de l'œsophage au duodénum situé entièrement dans l'abdomen entre le foie, la rate, le diaphragme et le colon transverse (Allen et *al.*, 2012). Classiquement il a la forme d'un "j" divisé en quatre parties :

- ▶ un orifice supérieur d'abouchement l'œsophage " le cardia ".
- ▶ Une portion supérieure délatée " le fundus ".
- ▶ Une région centrale " le corps ".
- ▶ Un orifice inferieur " le pylore " qui est l'extrémité de l'antra (Bessede, 2012) (figure 12, 13).

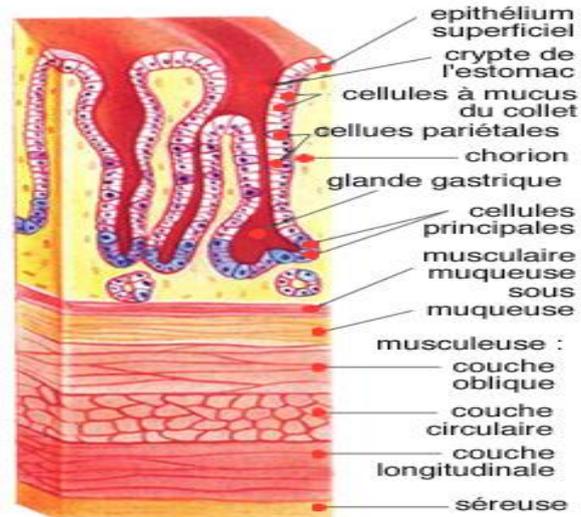


Figure 12 : Différences couches tissulaires de l'estomac (Tortora et Derrickson, 2010).

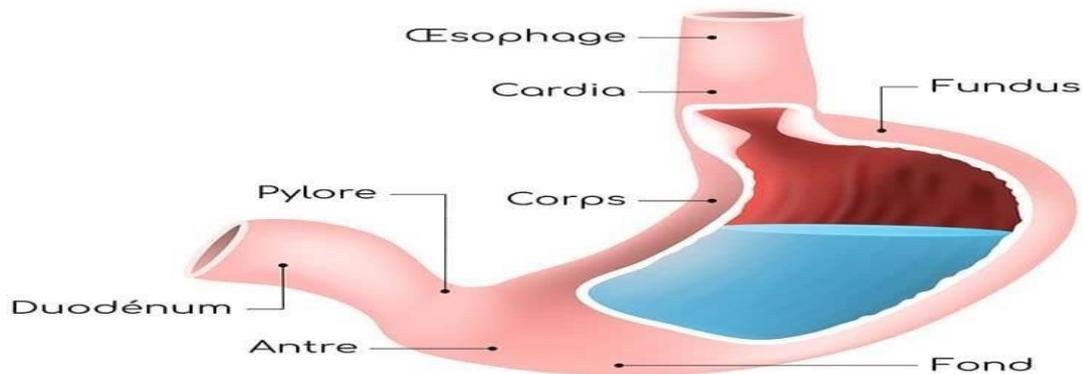


Figure 13 : Anatomie générale de l'estomac (Sherwood, 2015).

I.3.3. Histologie et physiologie gastrique

La paroi gastrique présente quatre couches fonctionnelles distinctes, représentées de l'intérieur vers l'extérieur par : la muqueuse, la sous-muqueuse, la musculature et la séreuse (péritoine viscéral).

► **La muqueuse** : Une couche profonde, épaisse de 0,3 à 1 mm, elle comporte un revêtement épithélial soutenu par un tissu conjonctif appelé chorion. Cette couche possède quatre types cellulaires différents : les cellules principales qui produisent le pepsinogène et la lipase gastrique, de l'acide chlorhydrique et le facteur intrinsèque, les cellules à mucus (cellules de collet), qui ont le rôle de protection de la surface de l'estomac contre l'agressivité de l'acide chlorhydrique et les cellules neuroendocrines gastriques (cellules "G"), qui sécrètent la gastrine sous la stimulation du système parasympathique et des peptides gastriques (Heath et al., 2008).

► **La sous-muqueuse** : constituée d'un tissu conjonctif assez dense, riche en plasmocytes, mastocytes, lymphocytes isolés et polynucléaires. Elle contient des vaisseaux sanguins, des neurofibres et follicules lymphatiques (Mariaeb et Hoehn, 2010).

► **La musculuse** : Elle contribue au processus de brassage et de progression du bol alimentaire. Elle comporte trois types de fibres musculaires lisses, longitudinales externes, circulaires moyennes et obliques internes (Lacour et Belon, 2015).

► **La séreuse** : Enfin, la tunique externe ou la séreuse, est formée de tissu conjonctif lâche recouvrant d'une seule couche de cellules aplaties et composant le péritoine viscéral (Mariab et Hoehn, 2010).

I.3.4. Ulcère gastrique et les facteurs d'agression de la muqueuse

L'ulcère de l'estomac connu sous le nom d'ulcère gastrique, est défini comme une lésion de la paroi digestive avec destruction des cellules protectrices de mucus (Chaibi 2009).

La muqueuse gastrique est continuellement exposée à des facteurs d'agression : Alcool, Acide chlorhydrique (HCl) et le stress (Martins et *al.*, 2014), infection bactérienne à *Helicobacter pylori* (Dinat et *al.*, 2022).

I.3.5. Traitement des ulcères par des substances biologiques

Le traitement de l'ulcère gastrique repose sur différentes approches. Dans la plupart des cas, une combinaison de médicaments est utilisée pour réduire la production d'acide gastrique et favoriser la guérison de la muqueuse gastrique. Les inhibiteurs de la pompe à protons (IPP) sont couramment prescrits pour réduire la production d'acide, tandis que les antiacides peuvent soulager les symptômes. Les antibiotiques sont prescrits lorsque l'infection bactérienne à *Helicobacter pylori* est détectée (Boeing et *al.*, 2023). Cependant, la plupart de ces médicaments peuvent entraîner des effets secondaires indésirables tels que des allergies, des arythmies cardiaques et des dysfonctionnements hématopoïétiques. Par conséquent, la recherche et l'utilisation de médicaments naturels présentant une faible toxicité et une bonne activité biologique pour prévenir les ulcères gastriques sont progressivement devenues le centre d'intérêt des chercheurs (Wang et *al.*, 2023).

Le traitement médicamenteux des ulcères gastriques par les substances chimiques peut être remplacé par la phytothérapie, l'art de traiter par les plantes médicinales. La phytothérapie a considérablement évolué ces dernières années notamment dans les pays en voie de

développement, vue la sécurité présumée qu'il offre par rapport au traitement par les médicaments classiques (John-Africa et *al.*, 2014).

Chapitre II:

Matériel et Méthodes

II .1. Matériel végétal

La présente étude a été réalisée sur les feuilles et les fruits de *Crataegus laciniata*. Les feuilles ont été nettoyées de toute poussière ou contaminant, elles ont été séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière, puis transférées à l'étuve à 37°C pour affiner le séchage et obtenir un meilleur broyage ainsi qu'une extraction optimale. Après le séchage, les feuilles sont broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre. Ensuite, cette poudre est tamisée pour obtenir des particules de 63µm de diamètre.

Les fruits ont été lavés avec de l'eau distillée, coupés en petits morceaux après élimination du noyau, puis congelés à -20°C. Ensuite, ils ont été lyophilisés. Après lyophilisation, on a procédé au broyage et au tamisage afin d'obtenir une poudre d'un diamètre de 63µm (figure 14).



Figure14 : Feuilles et les fruits de *crataegus laciniata* (veer et al. , 2000).

II.2. Procédure d'extraction

La poudre de chaque partie de plante (feuilles, fruits) a subi une extraction par ultrasons dans un volume d'éthanol. Cette extraction par ultrason a été effectuée dans les conditions optimales suivantes (Tableau III).

Tableau III : Les conditions d'extraction des composées phénoliques.

	% Ethanol	Température	Temps (min)
Feuilles	50	35	50
Fruit	80	70	25

Après l'extraction, le mélange a été filtré sur papier Wattman afin de récupérer l'éthanol contient les polyphénols extraits. Ensuite, l'éthanol a été évaporé à l'aide de l'évaporateur rotatif, puis les extraits ont été lyophilisés pour être finalement récupérés.

II.3. Dosage des polyphénols

Le dosage de polyphénols et la détermination de leur teneur ont été réalisés par la méthode utilisant le réactif de Folin Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965), conformément à la méthode de dosage sur microplaque décrite par (Muller et *al.*, 2010).

✚ Principe

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation en milieu basique des composés phénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu, le complexe de l'acide phosphotungstique et l'acide phosphomolybdique de couleur jaune. Il indique ses propriétés colorimétriques modifiées lorsqu'il est complexé à certaines molécules. Il réagit avec la fonction -OH des phénols (Catalano et *al.*, 1999). Ce dernier permet la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleue qui absorbe à 760 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Ribéreau-Gayon, 1968). (Figure 15).

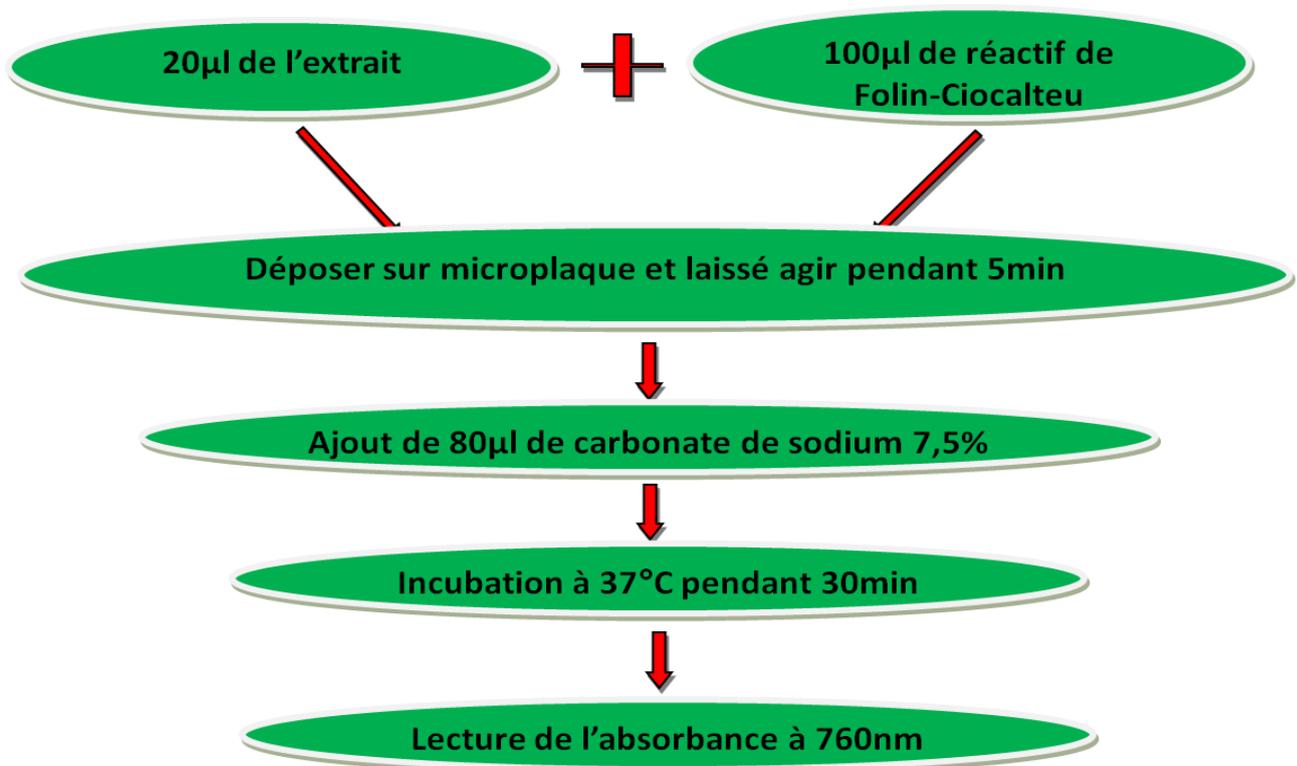


Figure 15 : Protocole de dosage des polyphénols dans des extraits de *Crataegus Laciniata* selon (Muller et *al.*, 2010).

Les teneurs en polyphénols dans nos extraits ont été déterminées en fonction d'une courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalents d'acide gallique par gramme (mg EqAG/ g d'extrait).

II.4. Matériel animal

L'étude de toxicité aigüe a été menée sur des souris Balb C, femelles et mâles pesant entre 25 et 30 g, provenant des centres d'élevage de l'institut Pasteur d'Alger. Les animaux ont été hébergés dans une salle d'élevage bien ventilée, maintenue à une température comprise entre 23 et 25 °C, avec une humidité de 60 à 70%. Le cycle lumière-obscurité était de 12 heures d'éclairage et de 12 heures d'obscurité. Les souris ont été placées dans des cages en polycarbonate, avec une occupation de 4 à 5 souris par cage. Elles ont été nourries avec des granulés alimentaires et de l'eau du robinet.

II.5. Etude de la toxicité aigüe et effet gastro-protecteur

Afin d'étudier les effets toxiques possibles ainsi que les changements du comportement normal et la mortalité, les essais de toxicité aigüe permettent d'évaluer les effets toxiques qui apparaissent dans un court laps de temps (de 1 à 14 jours) après l'administration des extraits. Tandis que l'effet gastro-protecteur de nos extraits a été évalué selon un modèle d'ulcère provoqué par l'éthanol.

Des groupes de sept souris (femelles et mâles) chacun ont été utilisés dans nos expériences. Pour la toxicité, un groupe témoin a reçu une solution de carboxyméthylcellulose (CMC), tandis que les groupes d'essai ont reçu une dose de 2g d'extrait /kg.

L'administration du CMC et des extraits a été effectuée par gavage à l'aide d'une sonde gastrique orale. Les souris ont été privées de nourriture pendant 16 heures avant l'essai et ont été pesées au début de l'expérience (figure 16).

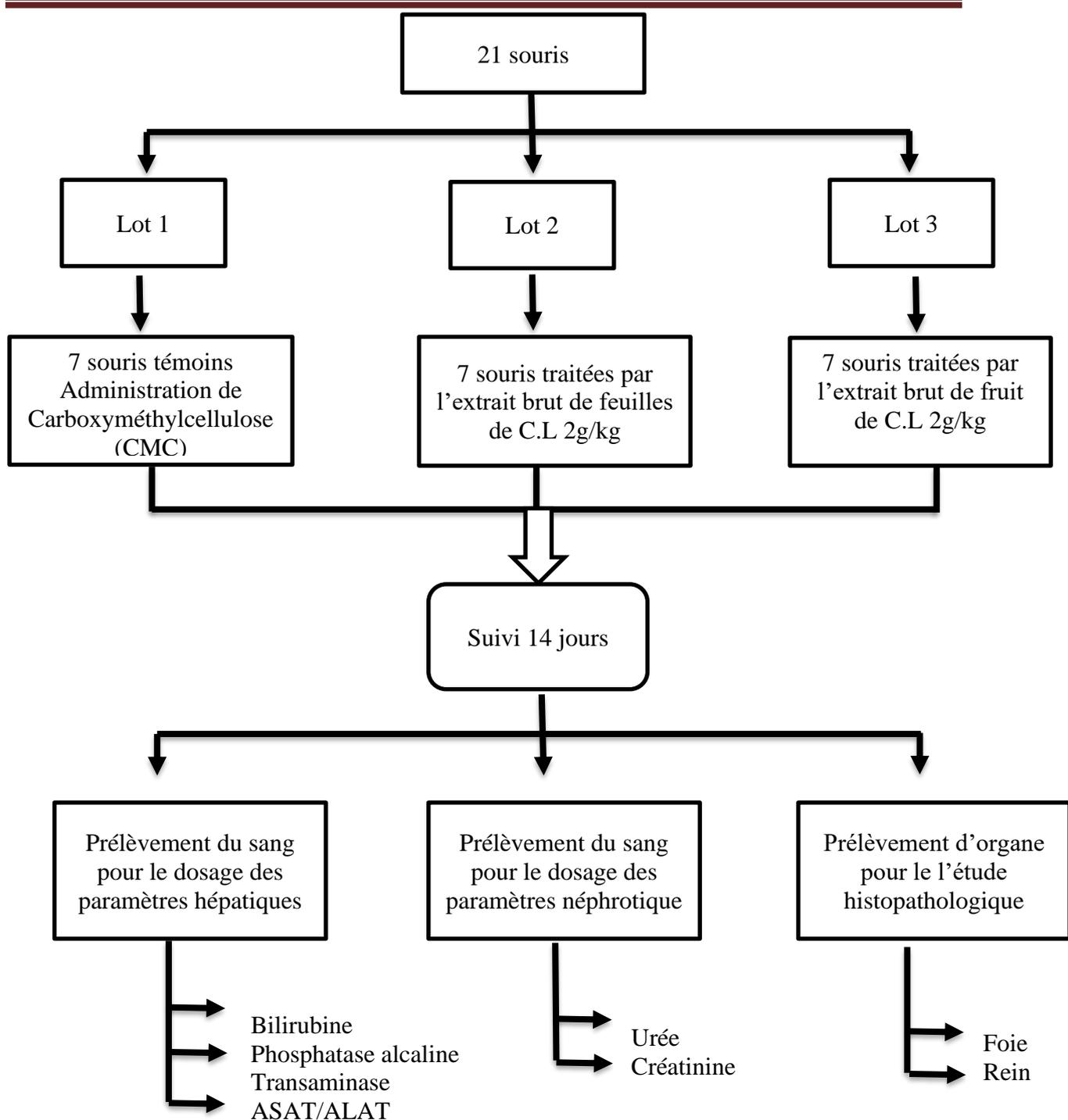


Figure 16 : Protocole suivi durant l'étude de la toxicité aigüe.

Pour le gastro-protecteur, et 14 heures avant le test, les souris ont été privées de nourriture, suivies d'une privation d'eau pendant 2 heures avant tout traitement. Elles ont ensuite été réparties en 9 groupes (n=6) comme la figure suivante : (Figure 17).

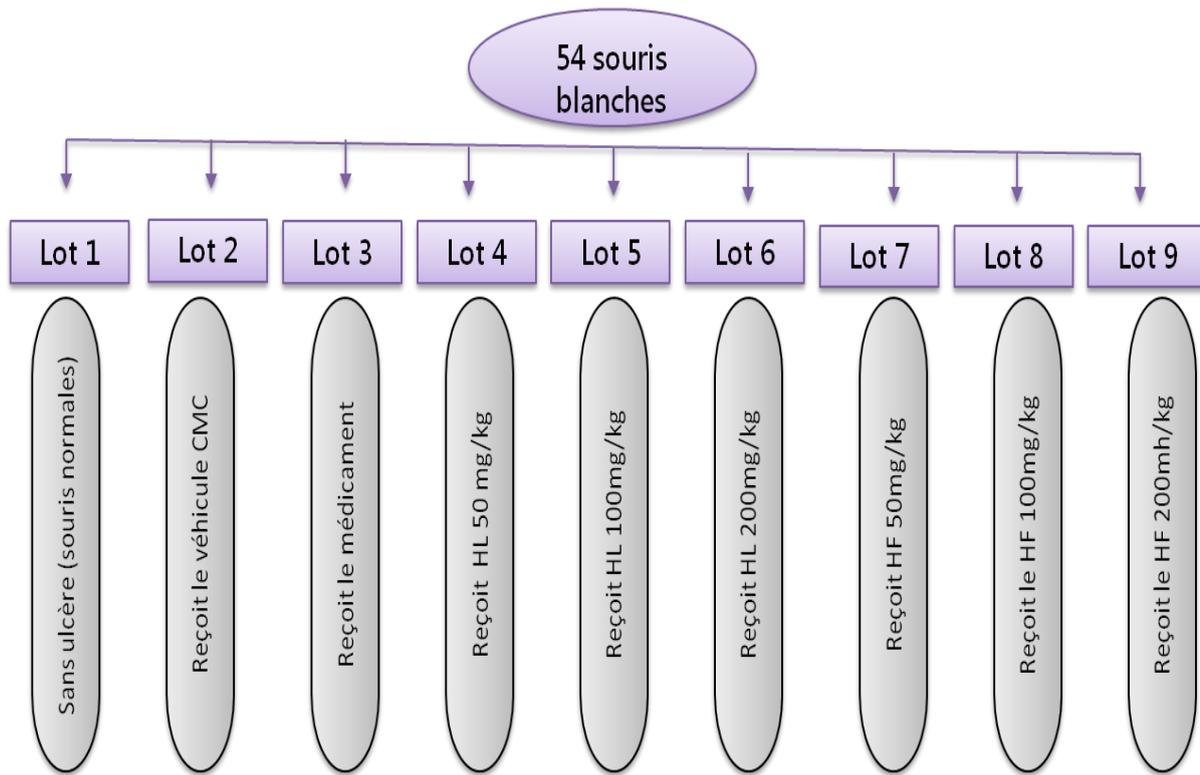


Figure 17 : Protocole suivi durant l'étude de l'effet gastro-protecteur.

II.5.1. Bilan biochimique sanguin

Au 14^e jour de l'étude, les souris ont été sacrifiées et des prélèvements sanguins ont été réalisés au niveau de la veine jugulaire. Le sang a été recueilli dans des tubes héparinés lors de chaque prélèvement. Les tubes héparinés ont été centrifugés à 3000 tours par minute pendant 5 minutes. Le plasma obtenu a ensuite été dosé pour les paramètres biochimiques suivants : urée, créatinine, aspartate transaminase (ASAT), alanine aminotransférase (ALAT), phosphatases alcalines et bilirubines. Les dosages ont été effectués dans un laboratoire d'analyse privé.

II.5.2. Etudes histopathologiques

Après la dissection des souris, le foie et les reins sont prélevés rapidement placés sur la glace. Ils sont préalablement pesés puis immergés dans du formol pour réaliser des coupes histologiques au niveau du laboratoire d'histologie de la faculté de médecine de l'université de Bejaia.

A. Macroscopique

Consiste à mettre l'échantillon dans des cassettes.

B. Déshydratation

Le processus consiste à mettre les cassettes dans un automate de circulation à 12 bains :

8 bains de l'éthanol pendant 45 minutes chaque chacun.

2 bains de xylène pendant 30 minutes chacun.

2 bains de paraffine pendant 1h30minutes chacun

Pendant cette étape les organes sont totalement déshydratés avant d'être inclus dans la paraffine, les trois étapes de déshydratation, d'inclusion et de découpage sont réalisées sur un automate, utilisant respectivement l'inclusion et le microtome. Le xylène est utilisé à des fins de nettoyage, tandis que la paraffine joue un rôle dans la solidification. Les cassettes passent une heure dans chaque bac.

C. Enrobage

L'échantillon est placé dans des moules avec une petite quantité de paraffine. Ensuite, l'échantillon est disposé horizontalement et laissé refroidir légèrement avant d'être recouvert avec sa cassette. Ensuite, la cassette est remplie avec de paraffine et laissée refroidir.

D. Dégrossissement

Cette étape permet d'éliminer l'excès de paraffine sans les moules.

E. Coupe histologique

L'échantillon sera coupé par un microtome afin d'obtenir des coupes histologiques de 2,5µm d'épaisseur. Si non, les couches de tissu se superposent. On dépose la coupe d'échantillon sur la lame préalablement humidifiée avec de l'eau distillée. Ensuite, on la place sur une plaque chauffante contenant de l'eau tiède pour y appliquer fine couche de paraffine, fixant ainsi la coupe d'échantillon à la lame. Après solidification de la paraffine, la lame est disposée sur un porte lame approprié en vue de faciliter l'observation microscopique. Enfin, les lames sont placées dans l'étuve pour une nuit.

F. Coloration

Après la coloration directe, la lamelle est fixée sur une lame à l'aide de l'Eukit pour le montage, puis elle est plongée dans le xylène et laissée sécher l'air.

G. Observation

Les lames sont désormais prêtes à être observées au microscope optique.

II.5.3. Effet gastro-protecteur

II.5.3.1. Détermination du taux de la MPO

Les niveaux de la MPO, une enzyme impliquée dans le processus inflammatoire ont été évalués dans le but de déterminer l'effet des deux extraits sur ce marqueur d'inflammation.

Ainsi, le dosage de la MPO a été réalisé par le protocole suivant :

Dans une microplaque de 96 puits, le surnageant de chaque échantillon (10 μ l) est additionné à un volume H₂O₂ (200 μ l), suivi de l'ajout tampon phosphate (10 μ l) contient le O-Dianisidine dihydrochloride, lequel est le substrat de l'enzyme. La cinétique enzymatique de la MPO a été suivie à 450nm pendant 5 minutes à l'aide d'un lecteur de microplaque.

II.6. Analyses statistiques

Les résultats de l'ensemble des tests réalisés sont exprimés en moyennes \pm SEM (n=6). Les analyses ont été réalisées en utilisant le logiciel GraphPad Prism 9.0. Le test Anova univarié (one-way Anova) afin de comparer les valeurs des groupes traités aux valeurs du groupe contrôle négatif, les différences ont été considérées comme significations ; *différence significative ($0,05 \geq p > 0,01$), **différences hautement significatives ($0,01 \geq p > 0,001$), ***différence très hautement significative ($p \leq 0,001$), **** différence très hautement significative ($p \leq 0,0001$) et une différence non significative ($p > 0,05$) par rapport au contrôle négatif.

Chapitre III :

Résultats et Discussions

III.1. Teneur en phénol totaux

L'extraction des composés phénoliques est influencée par le type de solvant, la température, le temps, le rapport solide-liquide, le pH du milieu (Nazck and Shahidi, 2006 ; Falleh et *al.*, 2008).

Une optimisation de la méthode d'extraction a été ultérieurement réalisée afin d'obtenir un extrait riche en polyphénols, en vue d'améliorer l'activité biologique des fruits et des feuilles de la CL. L'éthanol/eau a été utilisé comme un solvant d'extraction pour permettre d'extraire le maximum de métabolites secondaires de nos feuilles et fruit de CL.

Le tableau IV, illustre les résultats du dosage des polyphénols des feuilles et du fruit de CL.

Tableau IV : Résultats du dosage des polyphénols totaux des extraits des feuilles et des fruits de *Crataegus laciniata*.

La plante	Les extraits	La moyennemg EqAG/g
<i>Crataegus Laciniata</i>	HF	100,44 ± 1,67
	HL	301,75 ± 10,96

Le résultat du dosage des phénols totaux a révélé une forte richesse en composés phénoliques dans les feuilles et les fruits de *Crataegus laciniata* avec des valeurs de 301,75± 10,96 mg EqAG/g d'extrait pour les feuilles et 100,44 ± 1,67 mg EqAG/g d'extrait pour le fruit. La teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes dans les plantes peut varier en fonction de l'espèce, du type et de la quantité des composants chimiques, ainsi que des facteurs environnementaux tels que la teneur en minéraux dans le lieu de croissance et l'origine géographique (Tungmunnithum et *al.* (2018).

Le résultats des teneurs en polyphénols obtenus par la méthode d'extraction sont élevés dans les feuilles par rapport aux fruits.

III.2. Evaluation de la toxicité aigue

La toxicité aiguë *in vivo* fait référence aux effets toxiques observés rapidement après une seule exposition à une substance chez des animaux de laboratoire pour évaluer sa toxicité. Les animaux sont exposés à la substance sont surveillés pour détecter des signes de toxicité tels

que des changements comportementaux ou des problèmes de santé (Flambard-Héricher et *al.* 2018).

Les observations faites au cours de notre évaluation révèlent que la dose utilisée, 2000 mg/kg ,a été bien tolérée par les souris, aucun cas de mortalité liée à nos extraits n'a été observée à cette dose (tableau V).

Tableau V : Taux de mortalité après une dose unique des extraits éthanoliques de feuilles et du fruit.

Dose (mg/Kg)	Mortalité	Latence de mortalité
0	0/6	0
2000 mg/Kg (les feuilles)	0/6	0
2000 mg/Kg (les fruits)	0/6	0

La dose utilisée n'a pas provoqué de décès chez les souris, ce qui suggère une faible toxicité aiguë de nos extraits.

De plus, aucun signe de toxicité n'a été observée pendant les 14 jours qui ont suivi le traitement par les doses orales (tableau VI).

Tableau VI : Suivi des symptômes de toxicité.

Symptômes	Lot témoin		Lot traité avec l'extrait des feuilles		Lot traité avec l'extrait de fruit	
	4h	Chaque jour	4h	Chaque jour	4h	Chaque jour
Peau et fourrure	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
Yeux	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
Somnolence	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal

La surveillance rigoureuse des animaux traités a permis de recueillir des informations précieuses sur d'éventuels effets indésirables. Cependant, aucun symptôme de toxicité n'a été relevé, ce qui indique que les doses orales utilisées n'ont pas entraîné de réactions néfastes visibles pendant la période de suivi.

Ces résultats sont encourageants et suggèrent que les doses administrées ne présentent pas de toxicité évidente à court terme.

III.2.1. Paramètres biochimiques

Suite au traitement oral de l'extrait des feuilles et des fruits de *Crataegus laciniata* sur les groupes expérimentaux (Lot 1 "LHL", Lot 2 "LHF") et en comparaison au groupe Témoin "LT », des profils de paramètres biochimiques sériques ont été établis. Ces profils ont été réalisés après une période de 14 jours.

Au bout des 14 jours, des prélèvements sanguins ont été effectués sur les souris de chaque groupe pour évaluer les paramètres biochimiques sériques. Cette approche permet d'obtenir des informations sur les éventuels changements dans les niveaux de diverses substances biologiques présentes dans le sang, qui pourraient être liés au traitement par l'extrait.

Ces analyses fournissent une évaluation objective des effets du traitement sur la physiologie générale des souris, en permettant de détecter d'éventuelles perturbations dans les marqueurs biochimiques clés. Cela peut aider à identifier tout effet potentiel sur la fonction hépatique et rénale.

Les échantillons ont été analysés au laboratoire d'analyses médicales LALAOUI pour déterminer les taux d'urée, de créatinine, de phosphatases alcalines, de bilirubines, ainsi que les activités des transaminases ASAT et ALAT.

III.2.1.1. Paramètres hépatiques

Les différents paramètres biochimiques hépatiques ont été mesurés afin d'évaluer la fonction hépatique. Les transaminases sont des enzymes présentes à l'intérieur des cellules, en particulier au niveau du foie et des muscles. Elles interviennent dans une multitude de réactions biologiques. Les ASAT (aspartate aminotransférases) sont surtout présentes dans le foie, les muscles, le cœur, les reins, le cerveau et le pancréas, tandis que les ALAT (alanine aminotransférases) sont relativement spécifique du foie (Tungmannithum et *al.* (2018).

Les résultats obtenus pour chaque paramètre sont les suivants et sont illustrés dans la figure 18 :

- **Transaminases ALAT (Alanine Aminotransférase) 1** : L'ALAT est une enzyme présente dans les cellules hépatiques, et des niveaux élevés peuvent indiquer une altération de la fonction hépatique.
- **Transaminases ASAT (Aspartate Aminotransférase) 2** : L'ASAT est une autre enzyme présente dans les cellules hépatiques, et son augmentation peut être associée à des dommages hépatiques.
- **Phosphatase alcaline 3** : La phosphatase alcaline est une enzyme présente dans les cellules hépatiques et peut être utilisée comme indicateur de la fonction hépatique. Un taux élevé de phosphatase alcaline peut être un signe de dysfonctionnement hépatique.

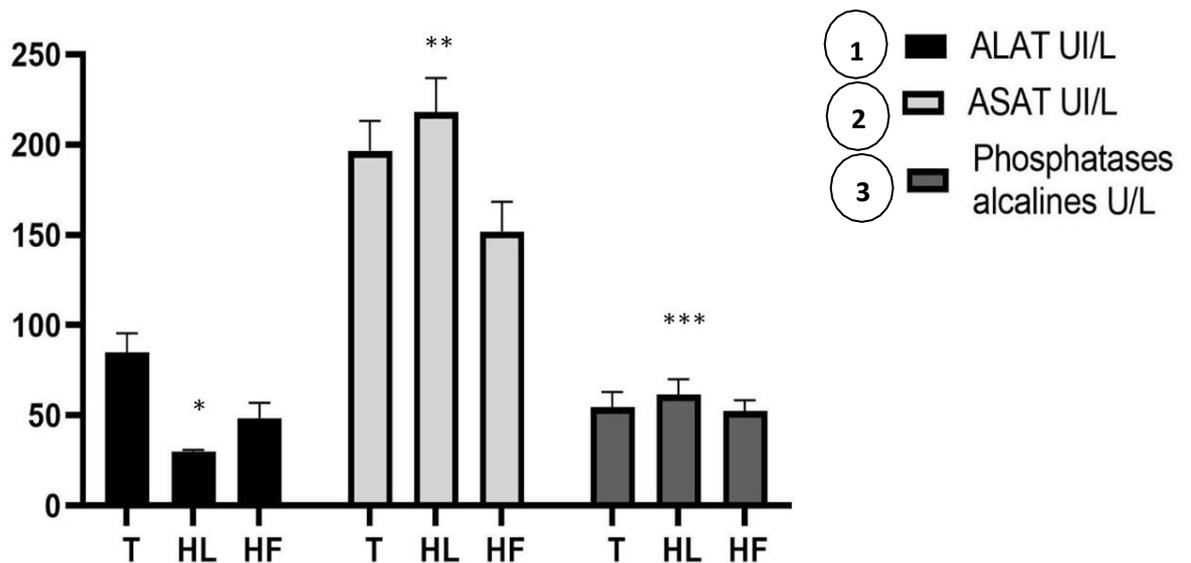


Figure 18 : Effet des extraits de feuilles (HL), et de fruits (HF) de *Crataegus laciniata* sur le taux d'ALAT, d'ASAT et de phosphatase alcaline, les résultats sont exprimés en UI/L, représentés par la moyenne \pm SEM pour n=6 ; *différence significative ($0,05 \geq p > 0,01$), ** différences hautement significatives ($0,01 \geq p > 0,001$), *** différence très hautement significative ($p \leq 0,001$), **** différence très hautement significative ($p \leq 0,0001$) et une différence non significative ($p > 0,05$) par rapport au témoin.

Les résultats obtenus ne montrent aucune différence significative dans les taux d'ALAT, d'ASAT et de phosphatase alcaline entre les groupes traités avec les extraits de feuilles et de fruits et le groupe témoin, à l'exception de l'extrait de feuilles qui présente une différence peu significative par rapport au groupe témoin. Ces résultats suggèrent que nos extraits n'ont pas

affecté la fonction hépatique et qu'à la dose de 2000mg/kg, ces extraits peuvent être considérés comme non toxiques pour le foie.

- **Bilirubine** : La bilirubine est un pigment jaune résultant de la dégradation des globules rouges dans le corps. Elle circule dans le sang sous différentes formes : la bilirubine totale, la bilirubine directe (conjuguée) et la bilirubine indirecte (non conjuguée). Chacune de ces formes de bilirubine fournit des informations spécifiques sur la fonction hépatique (figure 19).
- **Bilirubine totale** : La bilirubine totale représente la quantité totale de bilirubine présente dans le sang. Elle est composée à la fois de la bilirubine directe et de la bilirubine indirecte. Le dosage de la bilirubine totale permet d'évaluer la capacité du foie à métaboliser et à éliminer la bilirubine de manière adéquate.
- **Bilirubine directe (conjuguée)** : La bilirubine directe est le produit de la bilirubine qui a été conjuguée (liée à une molécule de glucuronide) dans le foie. Elle est soluble dans l'eau et peut être excrétée dans la bile pour être éliminée du corps. Un niveau élevé de bilirubine directe peut indiquer une obstruction des voies biliaires ou un dysfonctionnement du foie qui empêche l'élimination normale de la bilirubine.
- **Bilirubine indirecte (non conjuguée)** : La bilirubine indirecte est le produit de la bilirubine qui n'a pas encore été conjuguée dans le foie. Elle est insoluble dans l'eau et doit être transformée en bilirubine directe pour pouvoir être excrétée. La bilirubine indirecte est transportée vers le foie, où elle est conjuguée avant d'être éliminée. Des niveaux élevés de bilirubine indirecte peuvent indiquer une augmentation de la production de bilirubine (par exemple, en cas de destruction accrue des globules rouges) ou une capacité réduite du foie à la conjuguer.

Ces mesures biochimiques permettent de compléter les résultats obtenus pour les enzymes ALAT, ASAT et Phosphatase alcaline, afin de fournir des informations précises sur l'état de la fonction hépatique, en identifiant d'éventuels déséquilibres ou anomalies. Les résultats obtenus pour chaque paramètre sont essentiels pour évaluer la santé hépatique globale.

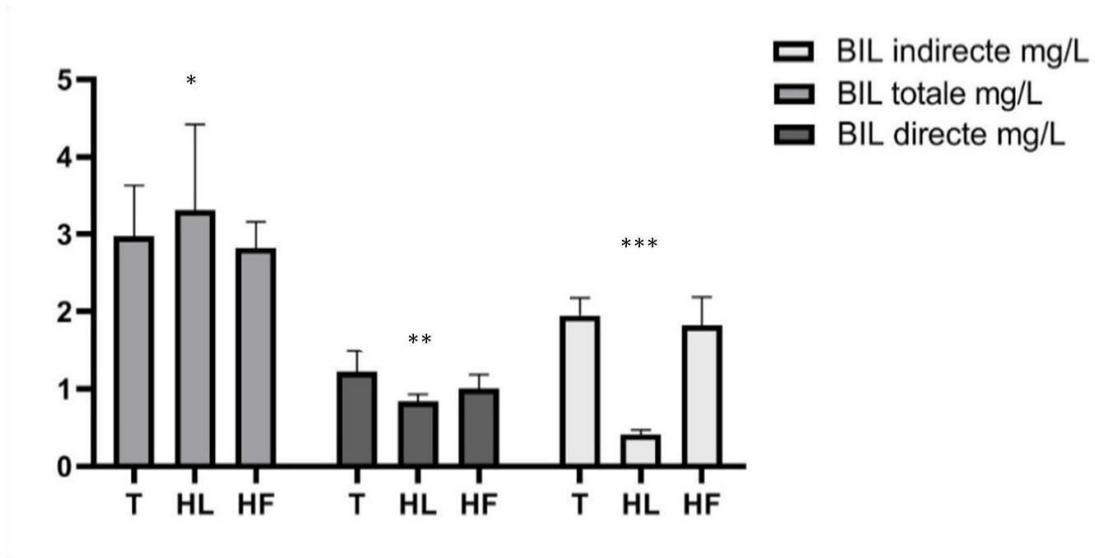


Figure 19 : Effet des extraits de feuilles (HL), et de fruits (HF) de *Crataegus laciniata* sur le taux de Bilirubine totale, Bilirubine directe et Bilirubine indirecte. Les résultats sont exprimés en mg/L, représentées par la moyenne \pm SEM pour n=6 ; *différence significative ($0,05 \geq p > 0,01$), ** différences hautement significatives ($0,01 \geq p > 0,001$), *** différence très hautement significative ($p \leq 0,001$), **** différence très hautement significative ($p \leq 0,0001$) et une différence non significative ($p > 0,05$) par rapport au témoin.

Les résultats obtenus pour les taux de bilirubine totale, bilirubine directe et bilirubine indirecte dans les groupes de souris traitées avec les extraits de feuilles et de fruits à une dose de 2000mg/kg ne montrent aucune différence significative par rapport au groupe témoin qui n'a pas été traité. Ces résultats suggèrent et confirment l'absence d'altération de la fonction hépatique après le traitement, renforçant ainsi la conclusion selon laquelle nos extraits ne présentent pas de toxicité aiguë pour le foie.

III.2.1.2. Paramètres néphrotiques

Les niveaux des paramètres biochimiques néphrétiques, tels que l'urée et la créatinine, ont été mesurés et les résultats obtenus sont les suivants :

- **Urée :** L'urée est un produit du métabolisme des protéines et son taux sanguin est généralement utilisé comme indicateur de la fonction rénale.
- **Créatinine :** La créatinine est une substance produite par les muscles et éliminée par les reins. Elle est également utilisée pour évaluer la fonction rénale.

Les résultats des analyses de l'urée et de la créatinine pour chaque groupe sont illustrés dans la figure suivante :

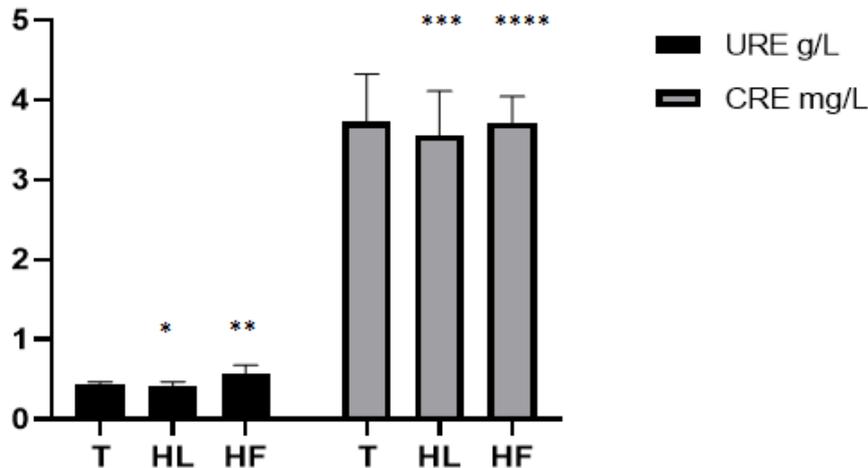


Figure 20 : Effet des extraits de feuilles (HL), et de fruits (HF) de *Crataegus laciniata* sur le taux d'Urée et de Créatinine. Les résultats sont exprimés en UI/L, représentées par la moyenne \pm SEM pour n=6 ; *différence significative ($0,05 \geq p > 0,01$), ** différences hautement significatives ($0,01 \geq p > 0,001$), *** différence très hautement significative ($p \leq 0,001$), **** différence très hautement significative ($p \leq 0,0001$) et une différence non significative ($p > 0,05$) par rapport au témoin.

Les mesures de l'urée et de la créatinine fournissent des informations précieuses sur la fonction rénale et peuvent aider à détecter d'éventuels dysfonctionnements rénaux. Ces résultats sont essentiels pour évaluer l'effet de la toxicité de nos extraits sur les reins.

Les résultats obtenus pour les taux d'urée et de créatinine dans les groupes de souris traitées avec des extraits de feuilles et de fruits à une dose de 2000 mg/kg ne montrent aucune différence significative par rapport aux résultats du groupe témoin non traité.

Ces résultats suggèrent que la fonction rénale n'a pas été altérée par le traitement, ce qui nous permet de conclure que nos extraits ne présentent pas de toxicité aiguë pour les reins à la dose de 2000mg/kg.

III.2.2. Etude histopathologique

III.2.2.1. Histologie hépatique

Afin de confirmer les résultats biochimiques obtenus pour les paramètres biochimiques sériques, une étude histologique a été réalisée sur les foies et les reins prélevés afin d'évaluer plus précisément l'effet toxique des extraits éthanoliques des feuilles et des fruits de *C. laciniata* par rapport au groupe témoin. Les résultats des analyses histologiques du foie et des reins des différents groupes de souris, observées au microscope optique relié à une caméra, sont présentés dans la figure 21.

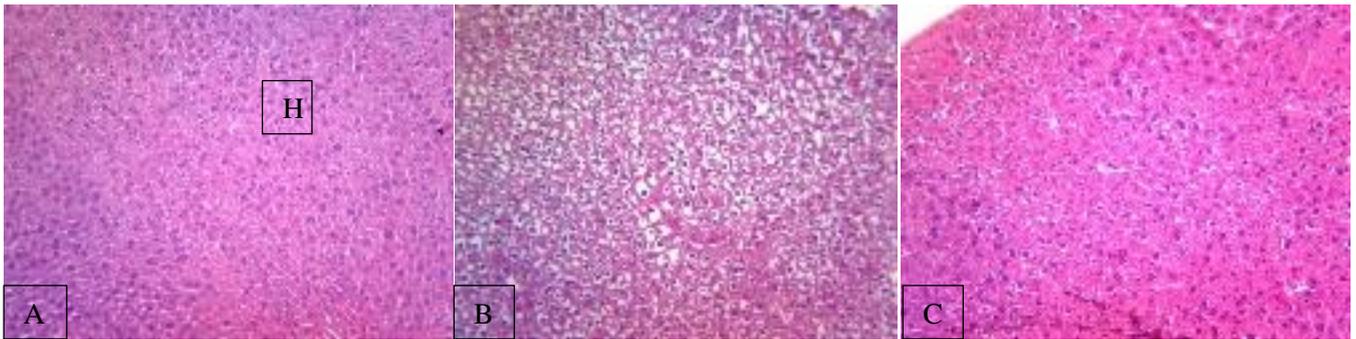


Figure 21: Photographies originales des coupes histologiques des parenchyme hépatique des souris ;A : Témoins, B : des souris traitées avec l'extrait des fruit de *C.laciniata*HF, C : des souris traitées avec l'extrait des feuilles de *C.laciniata* HL. Observées sous microscope optique. (G : x 10), réalisées à 2 μ m. S : Sinusoïde, TH : Travées hépatocytaires de Remak, V : Veine entrolobulaire, H : Hépatocytes

Le foie des souris du groupe témoin présente un aspect normal sans modifications hépatiques, avec une architecture lobée du parenchyme. Chaque lobe est composé d'hépatocytes disposés en travées de Ramek entourant une veine centrale appelée veine centrolobulaire, qui reçoit le sang provenant du parenchyme hépatique à travers les sinusoides. Les travées de Ramek sont constituées d'hépatocytes empilés en couches épithéliales d'une seule cellule d'épaisseur, tandis que les sinusoides occupent les espaces entre les travées. Cet aspect normal représente une apparence saine observée dans le groupe témoin.

L'examen microscopique des foies des souris traitées avec les extraits éthanoliques des fruits et des feuilles (HF et HL) de *Crataegus laciniata* à une dose de 2000mg/kg n'a révélé aucun changement significatif. Les coupes histologiques des deux extraits présentent une architecture normale et un parenchyme hépatique normal par rapport aux souris du groupe témoin, ce qui confirme que les résultats du profil biochimiques des sérums récoltés sur ces souris et ne présentent aucune anomalie hépatique. Cela confirme également la non-toxicité de ces extraits pour le foie.

III.2.2.2. Histologie rénale

Une coupe histologique normale des reins révèle une structure organisée comprenant les glomérules, les tubules rénaux et les vaisseaux sanguins. Les glomérules sont entourés de podocytes et jouent un rôle dans la filtration du sang. Les tubules rénaux assurent différentes fonctions rénales, tandis que les vaisseaux sanguins fournissent l'oxygène nécessaire. Dans une coupe histologique normale, ces structures sont présentes et en bonne santé, ce qui suggère un fonctionnement normal des reins et une absence de toxicité des extraits étudiés.

La figure 22 englobe les coupes histologiques qui illustrent la structure du parenchyme rénal des différents groupes de souris. Nous observons que les reins des souris témoins présentent une architecture normale, avec une capsule conjonctivo-adipeuse. Dans la zone corticale, on peut distinguer de petites masses sphériques appelées glomérules, entourées d'une capsule connue sous le nom de capsule de Bowman. Ces glomérules sont responsables de la filtration glomérulaire du sang, permettant le passage de l'eau et de composés de faible poids moléculaire dans le tubule urinifère, tandis qu'une grande partie de ces substances est réabsorbée, le reste formant l'urine.

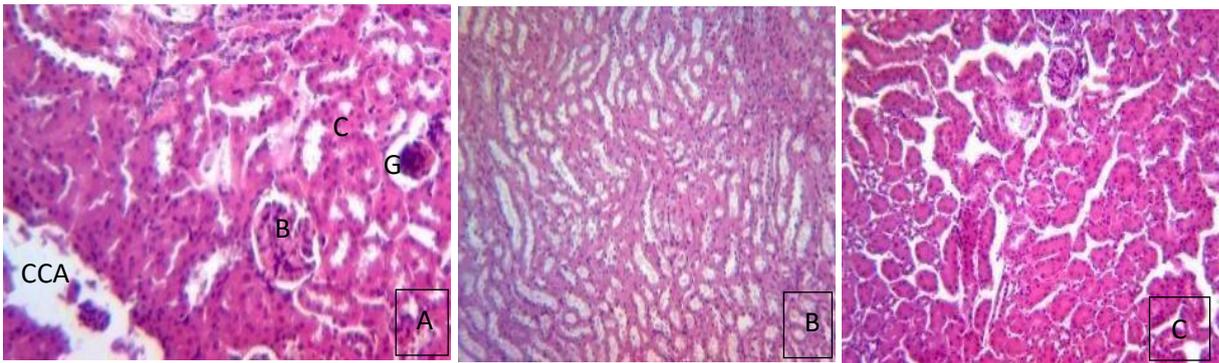


Figure 22 : Photographies originales des coupes histologiques des parenchymes hépatique des souris ; A : Témoins, B : des souris traitées avec l'extrait des fruits de *C.laciniata* HF, C : des souris traitées avec l'extrait des feuilles de *C.laciniata* HL. Observées sous microscope optique. (G : x 10), réalisées à 2 μ m. C : Cellules de parenchyme rénale, G: Glomérule rénal, B : Capsule de Bowman,, CCA : Capsule Conjonctivo-Adipeuse.

Les reins des souris traitées avec les extraits éthanoliques des fruits et des feuilles de *Crataegus laciniata* à une dose de 2000 mg/kg ne présentent pas de modifications majeures au niveau du parenchyme rénal par rapport aux souris témoins. De plus, aucune altération n'a été observée au niveau de la capsule conjonctivo-adipeuse, des cellules du parenchyme rénal, des glomérules et des tubules rénaux, ce qui confirme que les souris sont en bonne santé et ne présentent aucune anomalie néphrétique.

Ces structures rénales conservent une apparence saine, sans signes évidents de lésions ou de perturbations majeures de leur architecture. Cela indique un fonctionnement adéquat du système rénal et suggère que les extraits étudiés n'ont pas provoqué de toxicité observable dans les reins des souris, ce qui est corroboré par les résultats biochimiques des sérums.

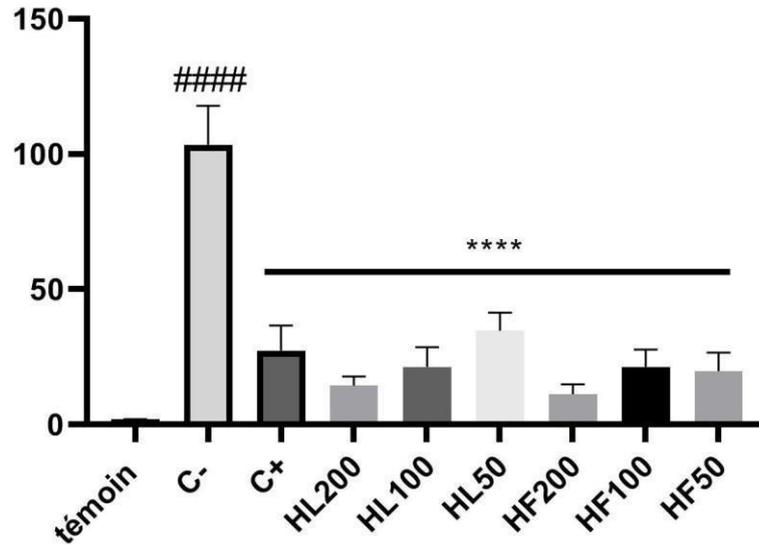
En conclure, les observations histologiques et les résultats biochimiques confirment que les extraits éthanoliques des fruits et des feuilles de *Crataegus laciniata* à la dose de 2000 mg/kg

n'ont pas induit de toxicité rénale chez les souris testées. Les reins des souris traitées présentaient une structure normale, témoignant de leur bon fonctionnement.

III.3. Evaluation de l'effet gastro-protecteur

III.3.1. Evaluation de dosage de la MPO

La myéloperoxydase (MPO) est une enzyme peroxydase contenant du fer hème qui est



principalement exprimée dans les neutrophiles. Elle est un médiateur des dommages tissulaires (Aratani, 2018). La MPO est également une enzyme d'inflammation cruciale et une cible thérapeutique qui déclenche à la fois le stress oxydatif (Khan *et al.*, 2018) (Figure23)

Figure 23 : Effet de feuilles HL et fruits HF sur l'activité de la MPO dans l'ulcère induit par l'éthanol absolu (0,2 ml/souris). Les traitements ont été administrés 1h avant l'induction de l'ulcère avec HF et HL à des concentration (50, 100 et 200 mg/kg) et l'oméprazole (20 mg/kg). L'activité de la MPO a été mesurée à 450 nm. Toutes les valeurs ont été exprimées comme moyenne \pm SEM (n=8). One-way ANOVA suivi par le test de Dunnett à comparaison multiple. *** $p < 0,001$ en comparaison au groupe éthanol absolu, ##### $p < 0,001$ en comparaison au groupe témoin. MPO : myéloperoxydase. $< 0,001$.

Les résultats présentés dans la Figure 23, montrent une augmentation significative ($P < 0,001$) de l'activité de la MPO ($103 \pm 14,28$ U/g de tissu) dans la muqueuse gastrique du groupe exposé à l'éthanol par rapport au groupe témoin ($1,76 \pm 0,22$ U/g de tissu). Le prétraitement avec HF et HL à des concentration (50, 100 et 200 mg/kg), ainsi que l'Oméprazole à 20mg/kg, a entraîné une réduction significative ($P < 0,001$) de l'activité de la MPO, avec des valeurs optimums de $14,26 \pm 3,37$ U/g de tissu pour les HL et $11,20 \pm 3,61$ U/g de tissu pour HF à la concentration 200 mg/kg (figure 23).

L'estomac est un organe essentiel pour les êtres vivants, jouant un rôle crucial dans la digestion et fournissant les nutriments essentiels à toutes les cellules de notre corps. Cependant, il peut parfois être perturbé dans son fonctionnement en raison de diverses pathologies (Guyton et *al.*, 2000).

L'ulcère gastrique est un problème courant qui affecte le système gastro-intestinal. Sa cause est souvent liée à un déséquilibre entre les éléments qui protègent l'estomac (comme le système antioxydant, le mucus et le flux sanguin) et ceux qui peuvent l'agresser (comme l'alcool, le stress et l'acide chlorhydrique) (Saliva junior et *al.*, 2016).

L'éthanol est couramment utilisé dans les études expérimentales comme modèle pour induire des ulcères gastriques (Li et *al.*, 2015). Selon les résultats de ces recherches, l'éthanol peut entraîner une diminution des mécanismes gastro-protecteurs, tels que la réduction des sécrétions de la muqueuse gastrique et du flux sanguin, ainsi qu'une augmentation de l'acidité de l'estomac, ce qui peut déclencher une réaction inflammatoire (Shams et Eissa , 2022).

Cette inflammation est associée à une augmentation de l'hydrogène peroxyde (H₂O₂), favorisant ainsi la peroxydation lipidique (Asia et *al.*, 2011 ; Almasaudi et *al.*, 2015 ; Saliva junior et *al.*, 2016).

Pour évaluer le degré d'inflammation induit par l'éthanol, la myéloperoxydase (MPO) est utilisée comme marqueur de l'infiltration des neutrophiles, qui sont les premières cellules à arriver sur le site hémorragique. La dégranulation de ces cellules libère la MPO, qui catalyse la formation de l'acide hypochloreux (HOCl), favorisant la peroxydation des lipides qui amplifie la réaction inflammatoire (Khan et *al.*, 2018).

L'inhibition de la MPO peut réduire la production de composés oxydants et atténuer ainsi les dommages causés aux tissus lors d'une inflammation excessive (Chen et *al.*, 2020).

Crataegus laciniata, également connu sous le nom d'aubépine à feuilles lobées, est une plante appartenant à la famille des Rosacées et largement utilisée en phytothérapie pour ses propriétés médicinales (Tuoping Li. et *al.* , 2022).

Les résultats de notre étude ont indiqué que les extraits éthanoliques des feuilles et des fruits de *Crataegus laciniata* ont réduit le taux de myéloperoxydase (MPO) dans l'homogénat de l'estomac.

De plus, les propriétés anti-inflammatoires de l'extrait peuvent être attribuées à la présence de deux composés actifs, à savoir l'acide chlorogénique et l'épicatéchine (-), qui se trouvent dans le genre *Crataegus* (Nguyen et *al.*, 2021).

Conclusion et perspectives

Crataegus laciniata est une plante médicinale connue pour ses nombreuses vertus thérapeutiques. Ses activités pharmacologiques sont attribuées à ses différents métabolites secondaires, tels que les polyphénols et les flavonoïdes. Cependant, peu de travaux ont été réalisés sur cette plante.

La méthode d'extraction utilisant les ultrasons nous a permis d'obtenir deux extraits contenant des composés phénoliques ce qui est confirmé par l'analyse phytochimique. Les résultats obtenus à partir de l'extrait éthanolique des feuilles et des fruits de *Crataegus laciniata* ont montré que les feuilles sont beaucoup plus riches en polyphénols que les fruits.

L'étude de la toxicité aiguë des extraits éthanoliques des feuilles et des fruits de *Crataegus laciniata*. Administrés par voie orale à une dose de 2 g/kg, n'a révélé aucun symptôme de toxicité. De plus, les niveaux des paramètres hépatiques sanguins tels que les transaminases ALAT et ASAT, la phosphatase alcaline, la bilirubine totale, directe et indirecte, ainsi que les paramètres rénaux tels que l'urée et la créatinine sont restés dans les valeurs normales par rapport au groupe témoin.

Cette étude a démontré que les extraits étudiés n'ont pas induit d'effets indésirables sur la fonction hépatique, comme en témoigne le maintien des taux normaux des transaminases, de la phosphatase alcaline et des marqueurs de la bilirubine. De plus, il n'y a pas eu d'altérations significatives au niveau des paramètres rénaux tels que l'urée et la créatinine. Les organes hépatiques et rénaux ont maintenu leur fonctionnalité normale, ce qui suggère que les extraits n'ont pas affecté ces organes, indiquant ainsi l'absence de toxicité aiguë des extraits éthanoliques de *Crataegus laciniata* à la dose testée.

Les résultats biochimiques des sérums sont soutenus par l'étude histopathologique du foie et des reins, laquelle n'a révélé aucun changement histologique au niveau de ces deux organes.

L'étude de l'effet gastro-protecteur, évaluée par l'activité de la myéloperoxydase (MPO), a révélé une diminution significative de celle-ci chez les souris traitées avec les extraits des feuilles et des fruits de *crataegus laciniata* à différentes concentrations (50, 100, 200 mg/kg) par rapport au groupe ulcéré.

La comparaison des résultats obtenus pour les paramètres du bilan hépatique, du bilan néphrétique, de l'étude histopathologique et de l'activité de la MPO indique que l'administration orale des extraits éthanoliques des feuilles et des fruits de *Crataegus laciniata* à une dose de 2 g/kg n'entraîne pas d'effets toxiques graves sur les deux organes

étudiés. De plus, ces extraits présentent des effets gastro-protecteurs.

Cette étude montre que les extraits éthanoliques des feuilles et des fruits de *Crataegus laciniata*, à différentes concentrations, ont un effet gastro-protecteur en réduisant l'activité de la MPO. De plus, ils n'ont pas provoqué de toxicité significative sur les organes hépatiques et rénaux à la dose testée. Ces résultats suggèrent le potentiel des extraits de *Crataegus laciniata* comme agents protecteurs pour le système gastro-intestinal.

À la lumière des résultats obtenus dans cette étude, il serait pertinent d'approfondir nos recherches et de compléter notre travail en explorant les perspectives suivantes :

1. Etude de la toxicité par :

- Détermination de la DL₅₀ (dose létale médiane) pour évaluer plus précisément la toxicité des extraits ;
- Étude de la toxicité chronique pour évaluer les effets à long terme des extraits.

2. Evaluation de l'effet gastro-protecteur par :

- Suivi de l'activité des enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase (CAT) pour mieux comprendre l'effet gastro-protecteur des extraits.
- Détermination du mécanisme d'action des extraits pour élucider les voies biochimiques et les processus impliqués dans leurs activités gastro-protectrices.

En explorant ces perspectives, nous pourrions obtenir des informations plus approfondies sur la toxicité des extraits et mieux comprendre leurs effets gastro-protecteurs, en fournissant des données supplémentaires sur les mécanismes d'action et les réponses biochimiques induites par ces extraits.

Références bibliographiques

A

- ❖ Abdualmjid, R.J. and Sergi, C. (2013). Plantes hépatotoxiques – une revue systématique fondée sur des preuves. *Journal de pharmacie et des sciences pharmaceutiques*, 16(3) : 376-404.
- ❖ Aït Youssef, M. Brette and Jean-Philippe. (2006). Plantes médicinales de Kabylie. *Éditions Ibis press , Paris, France*, 1(349) : 333-337.

B

- ❖ Bachiri, L., Daoudi, A., Labazi, N., and Nassiri, J. I. L. (2015). Floristic study of Ifrane Valley « Watershed of Oued Tizguit ». *Journal of Animal & Plant Sciences*, 26(1): 3977-4006.
- ❖ Boeing, T., de Souza, J., da Silva, RDCV, Mariano, LNB, da Silva, LM, Gerhardt, GM, ... and de Souza, P. (2023). Gastroprotective effect of *Artemisia absinthium* L. : Medicinal plant used in the treatment of digestive disorders. *Journal of Ethnopharmacology*, (312): 116488.
- ❖ Bertram, JS (1999). Carotenoids and gene regulation. *Nutrition Reviews*, 57(6): 182-191.
- ❖ Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., ... and Pinkas, M. (1996). Recovery activity of oxygen species from phenolic extracts of fresh plant organs of hawthorn and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-forschung*, 46(11): 1086-1089.
- ❖ Boudaoud-Ouahmed, H., Yous, F., Ouaret, N., Schini-Keirth, V., Djebli, N., and Atmani, D. (2015/10/04). Evaluation of gastroprotective, hepatoprotective, and hypotensive activities of *Ulmus campestris* bark extract. *Phytothérapie*, (14) : 10.1007/s10298-015-0982-7.
- ❖ Bidié Alain Dit Philippe , Djyh Bernard Nazaire , Soro Yadé René , Yapi Houphouet Félix , Zirihi Guédé Noël , N'guessan Jean David and Djaman Allico Joseph .(23 November, 2011). Acute ,subacute toxicity and cytotoxicity of *Chrysophyllum perpulchrum* . *Scientific Research and Essays , Academic Journals*, 6 (28) : 5855-5864.

C

- ❖ Chen, P., Shen, Y., Shi, H., Ma, X., Lin, B., Xiao, T., ... et Geng, F. (2016). Effets gastroprotecteurs de la Kangfuxin contre l'ulcère gastrique induit par l'éthanol via l'atténuation du stress oxydatif et du stress ER chez la souris. *Interactions chimico-biologiques*, (26) :75-83.
- ❖ Cheeke, P. R. (1998). Natural toxicants in feeds, forages, and poisonous plants (No. Ed. 2). *Interstate Publishers, Inc*, (50) : 167-200.
- ❖ Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., and Teissèdre, P. L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2) : 75-82.

- ❖ Caliskan, O. (2015). Mediterranean hawthorn fruit (crataegus) species and potential usage. *In the mediterranean diet. Academic press* , : 621-628.
- ❖ Chen, S., Chen, H., Du, Q. et Shen, J. (2020). Cibler le stress oxydatif et l'inflammation médiés par la myéloperoxydase (MPO) pour réduire les lésions ischémiques cérébrales : application potentielle de composés naturels. *Frontières en physiologie*, (11) : 433.

D

- ❖ Dinat, S., Orchard, A., and Van Vuuren, S. (2022). A systematic review of African natural products against gastric ulcers and Helicobacter pylori. *Journal of Ethnopharmacology* , : 115-698.

E

- ❖ Emberger, L. (1938). Contribution to the knowledge of Cedars, particularly Deodar and Atlas Cedar. *Journal of Traditional Agriculture and Applied Botany*, (18) : 198-200.

F

- ❖ Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of Cynara cardunculus L. organs and their biological activities. *Comptes Rendus Biologiques*, 331(5) : 372-379.
- ❖ Flambard-Héricher, A. M., and Blary, F. (Eds.). (2021). Animals and humans : From exploitation to conservation. *Éditions du Comité des Travaux Historiques et Scientifiques*, : 294-330.

G

- ❖ Gawel, R. (1998). Astringency of red wine : A review. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 4(2) : 74-95.
- ❖ Guillaume Gilbert. (1979). L'organisation de Coopération et de Développement Economiques et l'évolution récente de ses moyens d'action. *In : Annuaire français de droit international*, 1(25) : 75-88.

H

- ❖ Harry, G. J., Billingsley, M., Bruinink, A., Campbell, I. L., Classen, W., Dorman, D. C., ... and Tilson, H. A. (1998). In vitro techniques for neurotoxicity assessment. *Environmental Health Perspectives*, 106(1): 131-158.
- ❖ Hodgson, E., and Cunny, H. (2010). Toxicity testing. In A Textbook of Modern Toxicology. 4th ed. John Wiley & Sons, Inc ,P: 409-456.
- ❖ Hayes, A. W., and Loomis, T. A. (1996). Loomis's Essentials of Toxicology. *Elsevier. Academic Press*, P: 205-248.

K

- ❖ Kashyap, C. P., Arya, V., and Thakur, N. (2012). Ethnomedicinal and phytopharmacological potential of *Crataegus oxyacantha* Linn.–A review. *Asia-Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2) : 1194-1199.
- ❖ Kim, S. H., Kang, K. W., Kim, K. W., and Kim, N. D. (2000). Procyanidins in *Crataegus* extract evoke endothelium-dependent vasorelaxation in rat aorta. *Life Sciences*, 67(2) : 121-131.
- ❖ Khan, A. A., Alsahli, M. A., and Rahmani, A. H. (2018). Myeloperoxidase as an active biomarker of disease : Recent biochemical and pathological perspectives. *Medical Sciences*, 6(2) : 33.

L

- ❖ Lauwerys, R., Haufroid, V., Hoet, P., and Lison, D. (2007). Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. *Elsevier Masson SAS (Paris)*, P : 102-513.
- ❖ Lim, A. K. (2020). Tests de la fonction hépatique anormaux associés à une rhabdomyolyse sévère. *Journal mondial de gastroentérologie*, 26(10) : 1020.
- ❖ Launay, A. (2017). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales . cinquième édition . *Journal Bruneton, Éditions Lavoisier Tec and Doc, 2016, 1 488 p, 195, 00€.* *Phytothérapie*, 15(5) : 316.
- ❖ Li, T., Fu, S., Huang, X., Zhang, X., Cui, Y., Zhang, Z., ... and Li, S. (2022). Biological properties and potential application of hawthorn and its major functional components: A review. *Journal of Functional Foods*,(90) : 104-988.

M

- ❖ Maher(1997). Explorer les effets de l'alcool sur la fonction hépatique. *Santé sur l'alcool et monde de la recherche*, 21(1) : 5.
- ❖ Macheix, J. J., Fleuriet, A., and Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *PPUR presses polytechniques*. P : 18-27.

N

- ❖ Nguyen, Q. T. N., Fang, M., Zhang, M., Do, N. Q., Kim, M., Zheng, S. D., Hwang, E., and Yi. T. H. (2021). « *Crataegus laevigata* Suppresses LPS-Induced Oxidative Stress during Inflammatory Response in Human Keratinocytes by Regulating the MAPKs/AP-1, NFκB, and NFAT Signaling Pathways. » *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(4) : 869.
- ❖ Naczka, M. and Shahidi, F. (2006). « Phénoliques dans les céréales, les fruits et les légumes : présence, extraction et analyse. » *Journal d'analyse pharmaceutique et biomédicale*, 41(5) : 1523-1542.

- ❖ Nazhand, A., Lucarini, M., Durazzo, A., Zaccardelli, M., Cristarella, S., Souto, SB, ... et Santini, A. (2020). « Aubépine (*Crataegus* spp.) : Un aperçu mis à jour de ses propriétés bénéfiques. » *Forêts*, 11(5) : 564.

O

- ❖ Olson, H., Betton, G., Robinson, D., Thomas, K., Monro, A., Kolaja, G., ... et Heller, A. (2000). « Concordance de la toxicité des produits pharmaceutiques chez l'homme et chez l'animal. » *Toxicologie réglementaire et pharmacologie*, 32(1) : 56-67.
- ❖ Organisation Mondiale de la Santé. (2003). Stratégie mondiale pour l'alimentation du nourrisson et du jeune enfant. P : 24.

P

- ❖ Pittler, MH, Schmidt, K. and Ernst, E. (2003). « Extrait d'aubépine pour traiter l'insuffisance cardiaque chronique : méta-analyse d'essais randomisés. » *Le journal américain de médecine*, 114(8) : 665-674.
- ❖ Poole, A. and Leslie, GB. (1989). « Une approche pratique des enquêtes toxicologiques. » *La presse de l'Université de Cambridge*, (348) : 122-136.

Q

- ❖ Qin, C., Xia, T., Li, G., Zou, Y., Cheng, Z. and Wang, Q. (2019). « Les flavonoïdes des feuilles d'aubépine préviennent les lésions dues au stress oxydatif des tissus rénaux chez les rats atteints d'insuffisance rénale diabétique en régulant la voie de signalisation p38 MAPK. » *Journal international de pathologie clinique et expérimentale*, 12(9) : 3440.

R

- ❖ Rocchetti, G., Senizza, B., Zengin, G., Mahomodally, MF, Senkardes, I., Lobine, D. and Lucini, L. (2020). « Profilage métabolomique non ciblé de trois espèces de *Crataegus* (aubépine) et leurs activités biologiques in vitro. » *Journal de la science de l'alimentation et de l'agriculture*, 100(5) : 1998-2006.
- ❖ Roberts, M. F., and Wink, M. (1999). « Alkaloids : Biochemistry, Ecology, and Medicinal Applications [Book review]. » *Phytochemistry*, (52) : 1177-1180.
- ❖ Rice-Evans, CA, Miller, NJ et Paganga, G. (1996). Relations structure-activité antioxydante des flavonoïdes et des acides phénoliques. *Biologie et médecine des radicaux libres*, 20 (7) : 933-956.

S

- ❖ Shams, S. G. E., and Eissa, R. G. (2022). « Amélioration of ethanol-induced gastric ulcer in rats by quercetin : implication of Nrf2/HO1 and HMGB1/TLR4/NF-κB pathways. » *Heliyon*, 8(10): 11159.

- ❖ Sadeer, N. B., Rocchetti, G., Senizza, B., Montesano, D., Zengin, G., Uysal, A., ... and Mahomoodally, M. F. (2019). Untargeted metabolomic profiling, multivariate analysis and biological evaluation of the true mangrove (*Rhizophora mucronata* Lam.). *Antioxidants*, 8(10) : 489.

T

- ❖ Tuoping Li, Siyu Fu, Xin Huang, Xiushan Zhang, Yanmin Cui, Zuoyi Zhang, Yue Ma, Xuan Zhang, Qianhui Yu, Shuning Yang and Suhong Li. (2022). « Propriétés biologiques et application potentielle de l'aubépine et de ses principaux composants fonctionnels : une revue. » *Journal des aliments fonctionnels*, (90): 1756 -4646.
- ❖ Tungmunnithum, D., Thongboonyou, A., Pholboon, A., and Yangsabai, A. (2018). « Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects : An Overview. » *Medicines (Basel, Switzerland)*, 5(3): 93.

V

- ❖ Viala, A. and Botta, A. (2007). « Toxicology (2nd ed.). » *Paris: Tec a Doc Lavoisiner* , P : 25-46.

W

- ❖ Waynforth, HB and Flecknell, PA (1980). « Technique expérimentale et chirurgicale chez le rat. » *Londres ,Presse académique* , (127) :17-68.
- ❖ Wang, X., Wang, X., Wen, M. and Li, X. (2023). « Analyse bibliométrique de la littérature sur la prévention et le traitement de l'ulcère gastrique avec des médecines naturelles. » *Journal des aliments du futur*, 3(3) : 225-233.
- ❖ Wu, Q., Li, Y., Li, Y., Zhao, Y., Ge, L., Wang, H. & Wang, D. (2013). « Rôle crucial de la barrière biologique au niveau des principaux organes ciblés dans le contrôle de la translocation et de la toxicité des nanotubes de carbone à parois multiples chez le nématode *Caenorhabditis elegans*. » *À l'échelle nanométrique*, 5(22) : 11166-11178.

Z

- ❖ Zeggwagh, A. A., Lahlou, Y., and Bousliman, Y. (2013). « Enquête sur les aspects toxicologiques de la phytothérapie utilisée par un herboriste à Fès, Maroc. » *The Pan African Medical Journal*, (14) : 125.

Résumé

L'étude est portée sur l'évaluation de la toxicité et de l'effet gastro-protecteur des feuilles et des fruits de *Crategus Laciniata* en médecine traditionnelle algérienne. Les résultats obtenus montrent que les feuilles sont plus riches en polyphénols que les fruits. La plante est classée non toxique avec une DL₅₀ de 2000 mg/kg chez la souris. Les analyses biochimiques et histopathologiques n'ont montré aucune différence significative entre les groupes traités par l'extrait et le groupe témoin en termes de marqueurs hépatiques et rénaux. L'extrait éthanolique maintient une architecture hépatique et rénale normale. Des effets gastro-protecteurs sont observés avec une réduction des taux de MPO dans l'homogénat gastrique à différentes doses.

Mots clés : La toxicité aiguë, effet gastro-protecteur, *crataegus Laciniata*, phénols totaux.

Abstract

The study focuses on the evaluation of the toxicity and gastro-protective effect of the leaves and fruits of *Crategus Laciniata* in traditional Algerian medicine. The results obtained show that the leaves are richer in polyphenols than the fruits. The plant is classified as non-toxic with an LD₅₀ of 2000 mg/kg in mice. Biochemical and histopathological analyzes showed no significant difference between the groups treated with the extract and the control group in terms of hepatic and renal markers. The ethanolic extract maintains normal hepatic and renal architecture. Gastroprotective effects are observed with a reduction in MPO levels in gastric homogenate at different doses.

Key words: Acute toxicity, gastroprotective effect, *crataegus Laciniata*, total phenols.

الملخص

الدراسة تركز على تقييم السمية والتأثير حماية المعدة لأوراق وثمار نبات كراتيغوس لاسينياتا في الطب الجزائري التقليدي. النتائج المنحصلة عليها تظهر أن الأوراق أكثر غنى بالبوليفينولات من الثمار. يتم تصنيف النبات كغير سام بجرعة LD₅₀ تبلغ 2000 مغ/كغ في الفئران. التحاليل الكيميائية والأنسجية لم تظهر فرقا كبيرا بين المجموعات التي تمت معالجتها بالمستخلص والمجموعة الضابطة من حيث المؤشرات الكبدية والكلىوية. المستخلص الإيثانولي يحافظ على البنية الكبدية والكلىوية الطبيعية. يلاحظ تأثير حماية المعدة بتقليل في الهضم المعدي عند جرعات MPO مستويات مختلفة.

الكلمات المفتاحية: السمية الحادة، تأثير حماية المعدة، كراتيغوس لاسينياتا، البوليفينولات الكلية.