

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane Mira de Béjaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physico-chimique

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliquée



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Activité antioxydante et antiulcéreuse de
l'extrait éthanolique de *Clematis flammula***

Présenté par :

YOUSFI Tiziri & MAHMOUDI Sabrina

Soutenu le : 09 Juillet 2024

Devant le jury composé de:

Mme. H. AOUDIA	Présidente	MCB
Mme. M. BENLOUKIL	Encadrante	MAA
Mme. S. REMILA	Examinatrice	MCB

Année universitaire : 2023/2024

Remerciement

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers notre promotrice, Mme

BENLOUKIL

Pour son encadrement de qualité, ses conseils avisés, son orientation précieuse,
et la confiance qu'elle nous a accordée.

Nos vifs remerciements vont également à Mme ATMANI.

Nous lui sommes très reconnaissantes d'avoir mis toute sa compétence à notre
disposition, pour sa patience, et son suivi régulier tout au long de l'élaboration
de ce travail

Nous remercions chaleureusement Mme RAHMANI pour son aide inestimable
et ses précieux conseils dans le laboratoire durant la période expérimentale.

Nos remerciements les plus sincères vont également à Mme YOUS pour son
aide précieuse et son orientation éclairée.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude à Mme KAROU pour son
accompagnement et pour avoir mis toute sa compétence à notre disposition.

Nos sincères considérations et remerciements vont également aux membres du
jury. Mme AOUDIA H., pour l'honneur qu'elle nous fait par sa présence en
qualité de présidente du jury, et Mme REMILA S., pour l'honneur qu'elle nous
fait en acceptant d'examiner ce modeste travail.

Un grand merci à tous

Dédicace

A l'aide de dieu tout puissant, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

A mes très chers parents, qui m'ont toujours soutenu et encouragé pour leurs sacrifices et soutiens qui m'ont donné confiance, courage et sécurité

Pour vous je prie dieu de vous garder en bonne santé

A mes très chères frères et sœur

A toute ma famille et mes proches

À mes amis(es) très chers, merci d'avoir toujours été à mes côtés.

À tous mes amis(es) et camarades de promotion.

A tous ceux ou celles que j'aime, que je n'ai pas mentionné mais que je n'ai pas oublié.

Tiziri

Dédicace

Au nom de dieu le clément et le miséricordieux.

Louange à dieu qui m'a aidé durant des années et m'a ouvert les portes du savoir.

Avec émotion je dédie ce mémoire à mes chers parents et ma sœur unique,

Mes chères amies et mes collègues de promotion.

A la fin je remercie très chaleureusement tous les enseignants de l'Université A-

Rahman mira Bejaia faculté science de la nature et de la vie.

Sabrina

Liste des abréviations

CF : *Clematis flammula*

Cellule G : Cellule gastrique

H. pylori : *Helicobacter pylori*

NH₃: Ammoniaque

CO₂ : Dioxyde de carbone

ERO: Espèce réactif d'oxygène

MDA: Malodialdéhyde

AINS: Anti-inflammatoires non stéroïdiens

COX: Cyclo-oxygénase

SOD: Super oxyde dismutase

CAT: Catalase

GPx: Glutathion peroxydase

MICI : Maladies inflammatoire chroniques d'intestin

ROS : Reactive oxygen species

JAK/STAT : Kinases Janus / Signal Transducers and Activators of Transcription

STAT3 : Signal transducer and activator of transcription 3

AICI : Chlorure d'aluminium

NaOH : Hydroxide de sodium

NaOCl : Hypochlorite de sodium

AGPI : Acide gras polyinsaturés

PGG₂ : Prostaglandine G₂

PGH₂ : Prostaglandine H₂

IPP : Inhibiteur de la pompe à protons

H₂-RA : Antihistamine H₂

• **HO** : Radical hydroxyl

ROO• : Radical peroxy

LOOH : Hydroperoxyde lipidique

GR : Globule rouge

-OH : Groupe hydroxyle

ALCL3 : trichlorure d'aluminium

AGPI : Acide gras polyinsaturé

NaOCL : Hypochlorite de sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

PGG2 : Prostaglandine G2

PGH2 : Prostaglandine H2

TBA : Hydroxyde de tétrabutylammonium

TCA : Acide trichloracétique

FeSO4 : Sulfate ferreux

CMC : Carboxyméthylcellulose

NaCL : Chlorure de sodium

HCL : Chlorure d'hydrogène

TBARS : Thiobarbituric acid reactive substances

CI50 : Concentration inhibitrice médiane

H⁺, K⁺ -ATPase : Pompe à protons

TLR4 : Toll-like 4

LPS : Lipopolysaccharide

NF-KB : Kappa B

MICI : Maladie inflammatoire chronique de l'intestin

UVI-VIS : Ultraviolet-visible

Liste des figures

Figure 1 : Anatomie de l'estomac	3
Figure 2 : Histologie de l'estomac	4
Figure 3 : Diagramme du mécanisme d'induction des ulcères gastro-intestinaux par les AINS	7
Figure 4 : Photographie de <i>Clematis flammula</i>	14
Figure 5 : Photographie originale des rats dans des cages adaptées	16
Figure 6 : Photographie originale du cavage	20
Figure 7 : Effet inhibiteur de la quercétine et rutine sur l'activité enzymatique de l'uréase	24
Figure 8 : Effet inhibiteur de l'extrait éthanolique de <i>CF</i> sur l'activité enzymatique de l'uréase	25
Figure 9 : Concentration inhibitrice médiane (IC50) de l'extrait sur l'activité de l'uréase	26
Figure 10 : Concentration inhibitrice médiane (IC50) de (A) Rutine ; (B) Quercétine ; (C) Rutine et extrait et (D) Quercétine et extrait sur l'activité de l'uréase	27
Figure 11 : Effet inhibiteur de l'extrait <i>CF</i> sur l'activité de COX	29
Figure 12 : Effet inhibiteur de l'acide ascorbique sur les taux de MDA	30
Figure 13 : Effet inhibiteur de l'extrait <i>CF</i> sur les taux de MDA	31
Figure 14 : Photographie des estomacs (grossissement 0.8x10) des groupe témoin positif, témoin négatif, traité par l'extrait de <i>CF</i> et traité par le médicament	33
Figure 15 : Effet de l'administration orale du véhicule (CMC 0,8%), d'oméprazole et de l'extrait éthanolique de <i>CF</i> sur l'ulcère induit par le diclofénac chez les rats	34
Figure 16 : Niveaux des MDA gastriques (nmol MDA/mg de tissu) chez les groupes expérimentaux. T+ (témoin positif), T- (témoin négatif), O (oméprazole) et E (extrait de <i>CF</i>)	35
Figure 17 : Pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique chez les groupes expérimentaux (oméprazole et extrait)	36

Liste des tableaux

Tableau I : Différentes sécrétions gastriques	5
Tableau II : Catégorie de traitement gastrique et mécanisme d'action.	12
Tableau III : Répartition des différents lots selon le type du traitement administré	21
Tableau IV : Estimation des concentrations en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait de <i>CF</i>	23

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1 Anatomie et physiologie de l'estomac2

I.1.1 Généralité2

I.1.2 Anatomie de l'estomac2

I.1.3 Histologie de l'estomac3

I.1.4 Physiologie de l'estomac4

I.2 Mécanisme de formation des ulcères gastriques.....5

I.2.1 Définition d'ulcère gastrique5

I.2.2 Facteurs étiologiques des ulcères gastriques6

I.2.2.1 Infection par *Helicobacter pylori*.....6

I.2.2.2 Stress oxydant6

I.2.2.3 Peroxydation lipidique6

I.2.2.4 Anti-inflammatoires non-stéroïdiens AINS 7

I.3 Antioxydants dans la protection contre les ulcères gastriques.....8

I.3.1 Définition des antioxydants8

I.3.2 Neutralisation des radicaux libres et des ROS 8

I.3.3 Antioxydants enzymatiques8

I.3.4 Antioxydants non-enzymatiques9

I.3.5 Composés phénoliques et polyphénoliques10

I.3.5.1 Activité antioxydante et anti-inflammatoire sur l'ulcère gastrique10

I.3.5.2 Activité gastroprotectrice.....11

I.4 Traitement anti-ulcère12

I.4.1 Traitement médical12

I.4.2 Phytothérapie12

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1 Matériel14

II.1.1 Matière végétale	14
II.1.1.1 Taxonomie	14
II.1.1.2 Description de la plante	14
II.1.1.3 Composition chimique	15
II.1.2 Animaux et conditions d'élevage	15
II.2 Méthodes	16
II.2.1 Préparation d'extrait de feuilles de <i>CF</i>	16
II.2.2 Dosage des composés phénoliques	16
II.2.2.1 Dosage des polyphénols	16
II.2.2.2 Dosage des flavonoïdes	17
II.2.3 Mesure de l'activité inhibitrice de l'uréase <i>in vitro</i>	17
II.2.4 Mesure de l'activité inhibitrice de la cyclooxygénase <i>in vitro</i>	18
II.2.5 Mesure de la peroxydation lipidique <i>in vitro</i>	19
II.2.6 Traitement des animaux et induction d'ulcère par de diclofénac	19
II.2.7 Evaluation des pourcentages d'ulcérations	21
II.2.8 Préparation des homogénats	21
II.2.9 Détermination des taux de MDA <i>in vivo</i>	22
II.2.10 Analyses statistiques	22
Chapitre III : Résultats et discussion	
III.1 Extraction	23
III.2 Teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes	23
III.3 Effet inhibiteur de l'uréase <i>in vitro</i>	24
III.3.1 Evaluation de l'activité inhibitrice des molécules de référence, quercétine et rutine, sur l'activité enzymatique de l'uréase, <i>in vitro</i>	24
III.3.2 Evaluation de l'activité inhibitrice des extraits de <i>CF</i> sur l'activité enzymatique de l'uréase <i>in vitro</i>	25
III.3.3 Détermination des CI50	26
III.4 Effet inhibiteur de la cyclooxygénase <i>in vitro</i>	28
III.5 Evaluation des taux de MDA <i>in vitro</i>	30
III.6 Evaluation des pourcentages d'ulcérations.....	32
III.7 Evaluations des effets de l'extrait sur les taux gastriques de MDA <i>in vivo</i>	35
Conclusion	38
Références bibliographiques	39

Introduction

Introduction

Un ulcère gastrique est une lésion qui traverse la paroi de l'estomac, atteignant la couche musculaire et la sous-muqueuse ou des couches encore plus profondes. (**Dimaline et Varro, 2007**). L'incidence varie en fonction de l'âge, du sexe, et est associée à des complications graves, notamment des hémorragies, des perforations, une obstruction gastro-intestinale et une malignité. Ainsi, cette condition clinique représente un problème de santé mondial en raison de sa morbidité, de sa mortalité et de ses pertes économiques élevées (**Brown et Wilson, 1999**).

Cette maladie a différentes étiologies, parmi lesquels les plus importants sont la sécrétion acide, la bactérie *Helicobacter pylori* et ces produits, les médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens, les espèces réactives de l'oxygène, ainsi que différents composés chimiques. Leurs effets sur la barrière gastrique représentent des mécanismes importants de la pathogenèse des ulcères gastriques, souvent générés par un déséquilibre entre les facteurs agressifs et défensifs de la muqueuse (**Wallace, 2000**).

Le traitement doit viser à augmenter la défense de la muqueuse tout en s'efforçant de diminuer les causes locales d'irritation grâce au H₂-RA, aux médicaments antiacides et aux antibiotiques pour l'éradication de *H. pylori*, ainsi qu'à l'arrêt des AINS. Cependant, plusieurs études ont montré que, dans le processus de guérison des ulcères, l'inhibition de l'acide ou l'éradication de *H. pylori* est insuffisante pour une guérison complète puisque la diminution des prostaglandines et l'augmentation des radicaux libres d'oxygène conduisent à une qualité variable de la guérison et sont intimement liées à l'ulcère et sa récurrence (**Tarnawski et al., 1990**).

Depuis des millénaires un vaste éventail de plantes médicinales a été reconnu comme une source riche en molécules primaires qui sont les précurseurs potentiels de métabolites secondaires. Ces métabolites secondaires présentent une diversité remarquable de structures chimiques et offrent un vaste champ d'activités biologiques et pharmacologique (**Jean, 2009**).

Dans ce travail nous nous sommes intéressés à étudier une plante médicinale nommée *Clematis flammula* appartenant à la famille Renonculacées, elle est utilisée dans la médecine traditionnelle comme un traitement des maladies liées à l'inflammation tels que l'ulcère gastrique. Le but du travail consiste à évaluer le potentiel antiulcéreux de l'extrait éthanolique des feuilles de *C. flammula* pour prévenir des lésions provoquées par les anti-inflammatoires non-stéroïdiens (diclofénac) au niveau des couches de la muqueuse gastrique chez les rats de laboratoire (*Rattus norvegicus albinus*) utilisé comme modèle animal.

Chapitre I
Synthèse Bibliographique

I.1 Anatomie et physiologie de l'estomac

I.1.1 Généralité

Le rat de laboratoire (*Rattus norvegicus albinus*) est utilisé depuis longtemps comme modèle pour les recherches médicales, biologiques et moléculaires. Il est intéressant de noter qu'il n'existe pas de descriptions détaillées de l'anatomie générale du système digestif (Mahadevan, 2014).

Les fonctions digestives et absorbantes du tractus gastro-intestinal sont orchestrées par plusieurs processus. Ces derniers incluent l'assouplissement de la nourriture, sa propulsion à travers le système, son mélange avec la bile et l'ajout d'enzymes digestives sécrétées par les glandes auxiliaires. En outre, certains processus impliquent des réflexes associés à des neurones présents dans l'intestin ou provenant du système nerveux central, ainsi que les effets paracrines des produits chimiques messagers et des hormones gastro-intestinaux (Greaves, 2012).

I.1.2 Anatomie de l'estomac

L'estomac, situé entre l'œsophage et le duodénum, est une grande glande digestive en forme de poche. Il occupe la loge sous-phrénique gauche et l'épigastre, entouré par le foie, la rate, le diaphragme et le côlon transverse (Kamina et Di Marino, 1993). La partie gauche, appelée fundus, est logée dans la coupole diaphragmatique et se situe plus haut que la partie droite, le pylore, qui se prolonge par le duodénum.

La grande courbure de l'estomac est le point d'attache du grand omentum et est en relation avec la rate et le côlon. La petite courbure, caractérisée par l'incisure angulaire, est le lieu d'insertion du ligament hépato-gastrique, ou petit omentum (Gogny, 1994).

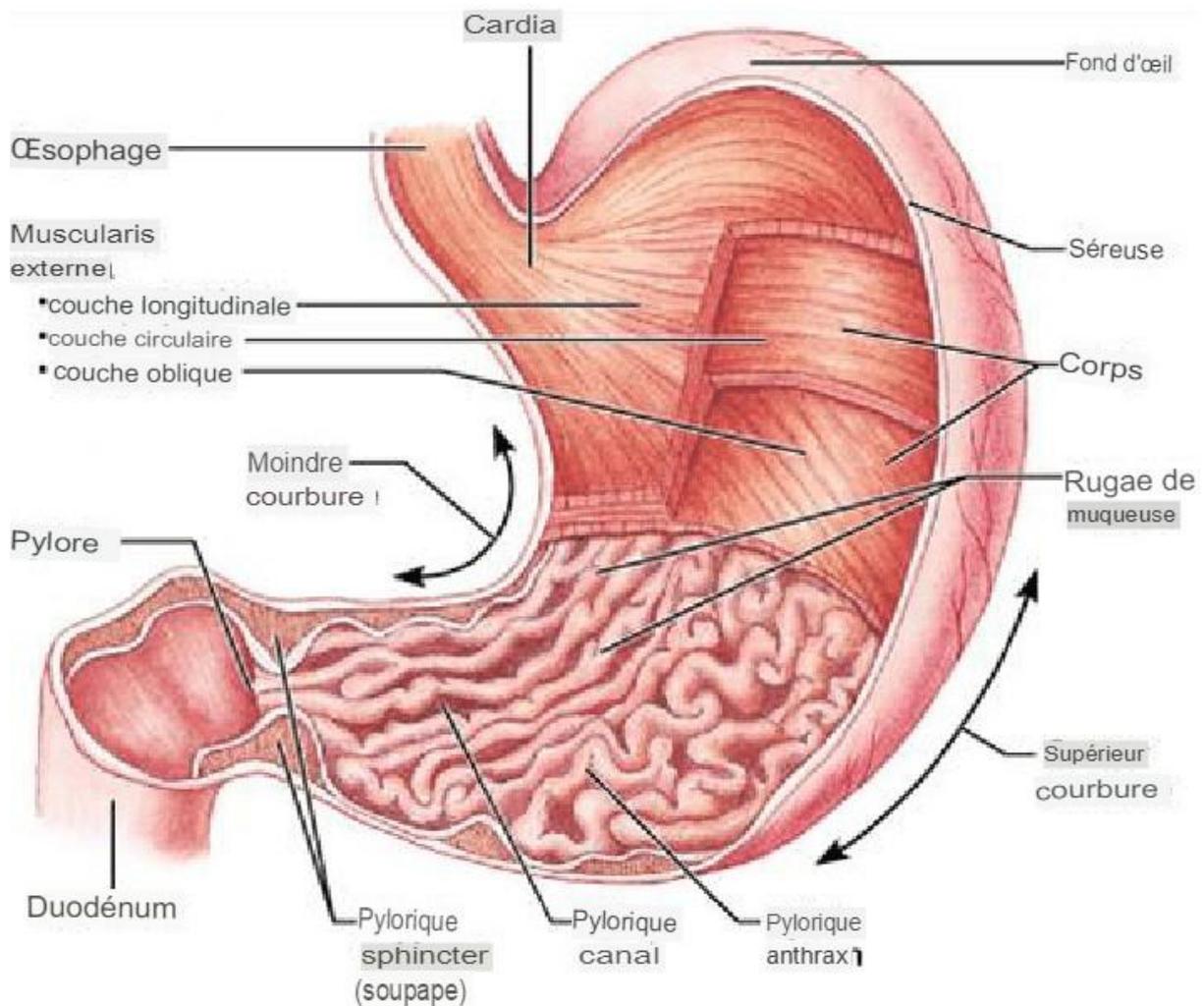


Figure 1 : Anatomie de l'estomac (Mineur et al., 2012).

I.1.3 Histologie de l'estomac

L'estomac est formé de cinq enveloppes qui sont de l'extérieur vers l'intérieur

- La tunique séreuse : elle correspond au péritoine viscéral gastrique.
- La sous-séreuse : elle est constituée par du tissu conjonctive lâche, contenant de petits vaisseaux et nerfs.
- La musculuse : très puissante, elle assure la fonction de brassage des aliments par l'estomac. Elle comporte trois couches de fibres musculaires lisses.
- La sous-muqueuse : c'est un tissu aréolaire lâche. A son niveau cheminent les vaisseaux sanguins et lymphatiques, ainsi que les nerfs destinés à la muqueuse.
- La muqueuse : épaisse et résistante, elle présente des plis dont le nombre et la hauteur dépendent du degré de distension de l'estomac. C'est un épithélium de type

Prismatique simple qui repose sur une lamina propria riche en glandes, de caractère différent selon les régions (Dembélé *et al.*, 2013).

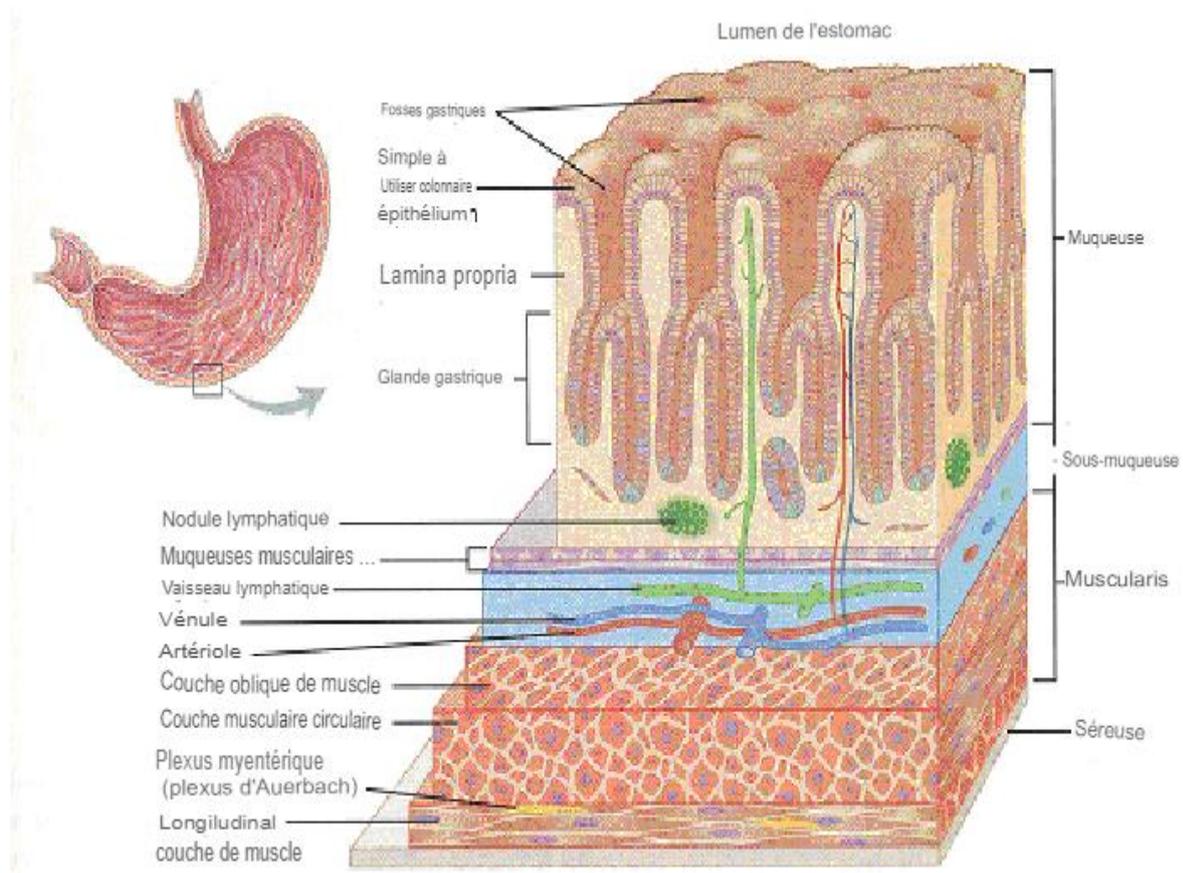


Figure 2 : Histologie de l'estomac (Mineur *et al.*, 2012).

I.1.4 Physiologies de l'estomac

La sécrétion gastrique est un liquide incolore et légèrement visqueux, produit par la muqueuse gastrique et sécrété par les glandes situées dans les cryptes de l'estomac. Le suc gastrique est composé de substances minérales et protéiques. Les glandes de l'estomac se divisent en deux types : les glandes gastriques et les glandes pyloriques. Ces glandes sont étroitement agencées dans un épithélium cylindrique. (Yanez *et al.*, 2009). Les glandes gastriques, constituant entre 70 et 80 % du total, sont responsables de la sécrétion de mucus, de pepsinogène, d'acide chlorhydrique et de facteur intrinsèque (Ader *et al.*, 2003). Ces glandes gastriques comprennent plusieurs types cellulaires : les cellules pariétales, également appelées oxyntiques, sécrètent l'acide chlorhydrique et le facteur intrinsèque ; les cellules principales, ou cellules gastriques, produisent le pepsinogène ; enfin, les cellules endocrines de l'antra libèrent la gastrine et l'hydroxytryptamine (Yanez *et al.*, 2009) voir le tableau I.

Tableau I : Différentes sécrétions gastriques

Les sécrétions	Les cellules sécrétoires	Le rôle	Références
Le mucus gastrique	Cellules à mucus	Protection physique et chimique	Stevens et al.,2002
Pepsine	Cellules principales	La digestion	Boughellout et Zidoune, 2007
L'acide chlorhydrique	Les cellules pariétales oxyntique	Stérilisation du bol alimentaire Commence la digestion des protéines alimentaires	Brooker, 1993
Pepsinogène	Les cellules principales	Précurseurs de la pepsine, une enzyme essentielle pour la digestion des protéines dans l'estomac.	Boughellout et Zidoune, 2007
Les facteur intrinsèque vitamine B12	Cellules pariétales	Intervient dans l'absorbance de la vitamine B12	Wright, 1980
La gastrine	Les cellule G	Stimule la sécrétion d'acide La sécrétion de la pepsine	Wright, 1980
Histamine acétylcholine et sécrétine	Les basophile et mastocyte	Augmentation de la sécrétion d'HCL	Brooker, 1993

I.2 Mécanisme de formation des ulcères gastriques

I.2.1 Définition d'ulcère gastrique

L'ulcère est une lésion cutanée au muqueuse caractérisée par la perte de substances du revêtement épithélial, entraînant des dommages plus ou moins profonds sur les tissus sous-jacents. Ces lésions peuvent rendre la circulation sanguine difficile dans la zone affectée.

Cette condition se manifeste par une altération de la muqueuse et de la musculuse, accompagnée de lésions vasculaires et d'une augmentation de la sensibilité nerveuse (**Labayle et al., 2001**).

Les ulcères gastroduodénaux se développent en raison d'un déséquilibre entre les mécanismes de protection de la muqueuse gastrique (comme le mucus, les bicarbonates et le

flux sanguin muqueux) et les facteurs agressifs chlorhydropeptiques de l'estomac (acide chlorhydrique, pepsine, gastrine) (Gimenez et al., 2000).

I.2.2 Facteurs étiologiques des ulcères gastriques

L'ulcère gastrique est une maladie complexe, influencée par plusieurs facteurs :

I.2.2.1 Infection par *Helicobacter pylori*

Une bactérie Gram négative qui colonise la muqueuse gastrique. Cette bactérie produit des toxines qui entraînent une inflammation persistante, aboutissant à une gastrite chronique superficielle. Grâce à ses flagelles, *H. pylori* érode et creuse la muqueuse gastrique, créant un environnement favorable à l'attaque des sécrétions acides et pepsiques. Cela fragilise la barrière muqueuse, rendant la muqueuse susceptible de rupture entre les cellules épithéliales. Cette fragilisation permet à l'ulcère gastrique de se former. De plus, *H. Pylori* produit une enzyme appelée uréase, qui transforme l'urée en ammoniac (NH₃) et en CO₂. L'ammoniac, en tant que tampon, neutralise l'acide gastrique dans l'entourage de *H. pylori*, facilitant ainsi la progression de la maladie (Sherwood, 2006).

I.2.2.2 Stress oxydant

Le stress oxydant est considéré comme un facteur clé dans l'apparition des ulcères gastriques, Suzuki et ses collaborateurs (2009) ont démontré que le stress psychologique peut entraîner un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les capacités antioxydantes de l'organisme. Ce déséquilibre peut résulter soit d'une production accrue d'ERO, soit d'une diminution des facteurs de défense anti-oxydants. Le stress oxydant joue un rôle important dans la pathogénie de l'inflammation gastrique. Il est également impliqué dans le développement de plusieurs maladies liées au mode de vie, notamment l'athérosclérose, l'hypertension, le diabète, les cardiopathies et les tumeurs malignes.

I.2.2.3 peroxydation lipidique

Un processus radicalaire en chaîne qui se produit sur les acides gras polyinsaturés situés sur les membranes cellulaires. Elle commence avec l'amorçage par le radical hydroxyle (•OH), qui arrache un atome d'hydrogène d'un acide gras, formant ainsi un radical lipidique. Ce radical lipidique est ensuite converti en diène conjugué. Puis, l'addition d'oxygène forme un radical peroxy (ROO•), qui est hautement réactif et attaque d'autres acides gras, formant des hydroperoxydes lipidiques (LOOH) et un nouveau radical (Lovell et al., 1995).

La propagation de la peroxydation lipidique, créant un cycle de réaction qui produit des composés tels que les alcanes, le malondialdéhyde (MDA) et les isoprostanes. Ces composés

sont utilisés comme marqueurs dans les tests de la peroxydation lipidique et ont été quantifiés dans de nombreuses maladies, notamment les maladies neurodégénératives, les lésions d'ischémie-reperfusion et le diabète (Lovell *et al.*, 1995).

I.2.2.4 Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

La troisième cause ulcérogénique est représentée par les AINS, qui sont largement utilisés dans les syndromes aigus et les affections chroniques. Les AINS sont une cause fréquente d'ulcérations, d'hémorragies et de perforations digestives, ce qui en fait l'une des pathologies iatrogènes les plus courantes. Ils agissent en inhibant la synthèse des prostaglandines sécrétées par la muqueuse gastrique, qui sont essentielles pour la protection de cette dernière (Dubois *et al.*, 1998).

Les prostaglandines stimulent la sécrétion de mucus et de bicarbonates et diminuent la sécrétion acide, ce qui contribue à la protection de la muqueuse gastrique. Cependant, les AINS inhibent l'enzyme cyclo-oxygénase (COX), qui est le point de départ de la synthèse des prostaglandines. Cette inhibition entraîne une diminution de la production des prostaglandines, ce qui peut entraîner une augmentation de la sécrétion d'acide gastrique et une diminution de la sécrétion de mucus, ce qui peut contribuer à l'ulcère (Dubois *et al.*, 1998).

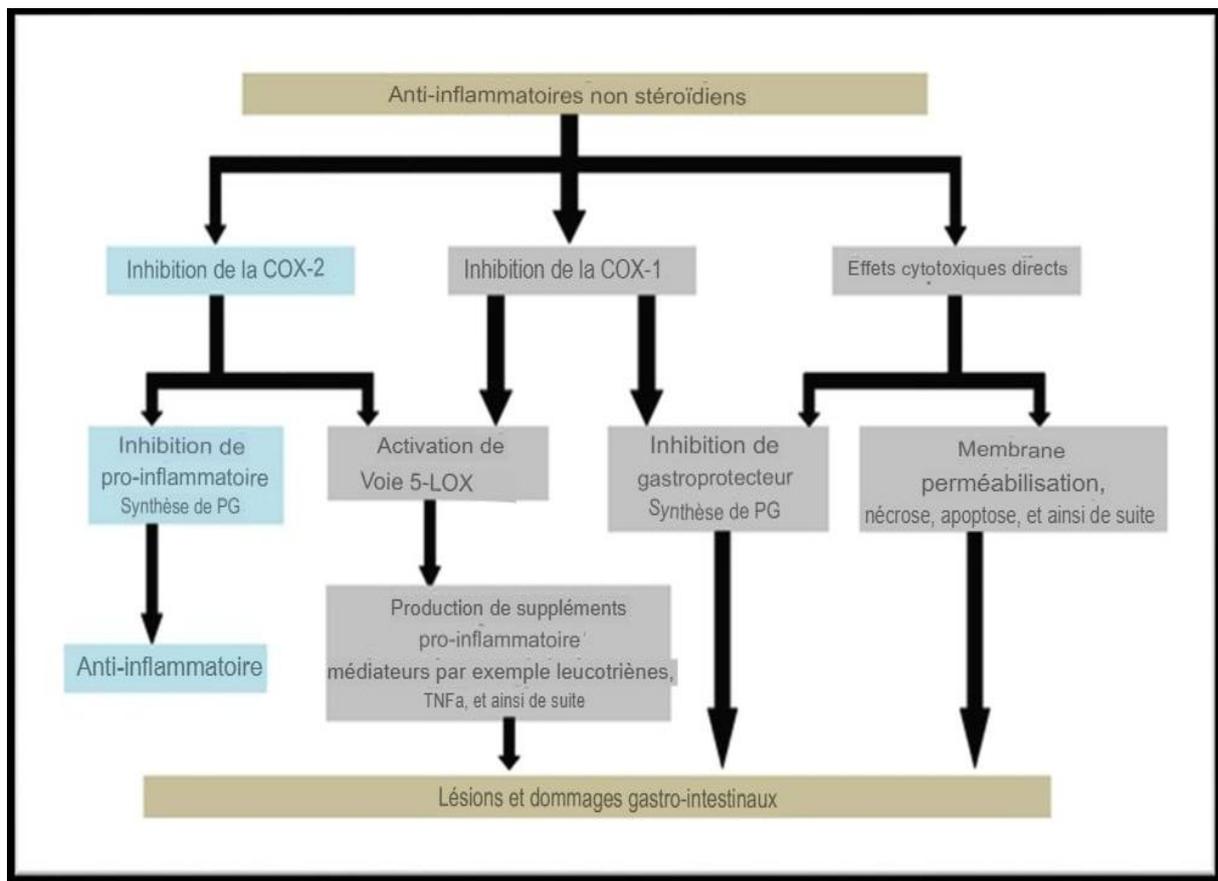


Figure 3 : Diagramme du mécanisme d'induction des ulcères gastro-intestinaux par les AINS (Sinha *et al.*, 2013).

I.3 Antioxydants dans la protection contre les ulcères gastriques

I.3.1 Définition des antioxydants

Les antioxydants englobent une variété de composés capables d'interférer avec les cycles d'oxydation pour prévenir ou ralentir les dommages oxydatifs des biomolécules. Les principales classes de composés ayant une activité antioxydante comprennent les vitamines telles que la vitamine C et la vitamine E, les caroténoïdes comme les carotènes et les xanthophylles, ainsi que les polyphénols tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes (**Oroian et Escriche, 2015**). De plus, les composés contenant du soufre comme le glutathion et la thiorédoxine (**Mukwevho et al., 2014**), l'acide alpha-lipoïque et quelques enzymes endogènes spécifiques telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion réductase (GR) et la glutathion peroxydase (GPx) sont également reconnus pour leur activité antioxydante (**Smaga et al., 2015**).

I.3.2 Neutralisation des radicaux libres et des ROS

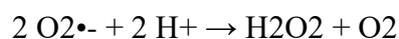
Les radicaux libres peuvent être définis comme des molécules ou des fragments moléculaires contenant un ou plusieurs électrons non appariés dans des orbitales atomiques ou moléculaires. L'exposition aux radicaux libres provenant de diverses sources a conduit les organismes à développer une série de mécanismes de défense (**Cadenas, 1997**).

Les mécanismes de défense contre le stress oxydatif induit par les radicaux libres impliquent :

I.3.3 Antioxydants enzymatiques

- La superoxyde dismutase (SOD)

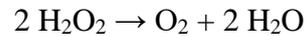
La SOD est une enzyme qui catalyse la conversion de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et dioxygène (**Sunagawa et al., 2009**).



Trois types de superoxyde dismutases peuvent être rencontrés dans les tissus des mammifères : la SOD à cuivre-zinc (Cu-Zn SOD) : Présente dans le cytoplasme, les mitochondries et le noyau des cellules. La SOD à manganèse (Mn SOD), l'enzyme est principalement trouvée dans les mitochondries, SOD à fer (Fe SOD) : Présente dans certaines bactéries, algues et archées. Ces différentes formes de superoxyde dismutase travaillent ensemble pour maintenir l'équilibre redox dans les cellules, protégeant ainsi les structures cellulaires et les macromolécules contre les dommages oxydatifs associés au stress environnemental et au vieillissement (**Sunagawa et al., 2009**).

- La catalase (CAT)

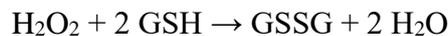
La CAT est une enzyme contenant de l'hème, présente de manière ubiquitaire chez la plupart des organismes aérobies. Bien que la gamme complète des fonctions biologiques de la catalase reste encore floue, sa principale fonction est la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau et en oxygène (**Pisoschi et Pop, 2015**).



L'enzyme est exprimée dans la majorité des cellules, des tissus et des organes, et à des concentrations élevées dans le foie et les érythrocytes (**Pisoschi et Pop, 2015**).

- Glutathion Peroxidase (GPx)

La GPx est une enzyme contenant du sélénium qui protège les tissus contre les dommages oxydatifs en éliminant les peroxydes produits par l'action des radicaux libres (**Barbati et Zachar, 2016**).



La réaction catalytique de la GPx se produit au niveau d'un seul centre redox, avec la sélénocystéine comme résidu actif. Elle préserve les lipides membranaires et l'hémoglobine contre l'oxydation par les peroxydes (**Pisoschi et Pop, 2015**).

I.3.4 Antioxydants non enzymatique

Les antioxydants non enzymatiques sont des molécules qui protègent les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres, ces antioxydants incluent des vitamines comme la vitamine C et E, des oligo-éléments comme le sélénium et le zinc, ainsi que des molécules organiques telles que le glutathion et les flavonoïdes. Ils sont essentiels pour maintenir l'équilibre redox cellulaire et prévenir les lésions tissulaires (**Durand et al., 2024**).

I.3.4.1 Vitamines

Les vitamines sont des composés organiques essentiels qui agissent comme antioxydants en protégeant les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres. Les vitamines A, et E sont particulièrement reconnues pour leurs propriétés antioxydantes (**Du et al., 2012**).

- Vitamine C

Également connue sous le nom d'acide ascorbique, est un antioxydant hydrosoluble vital qui joue un rôle particulièrement efficace dans la neutralisation des anions superoxydes, des radicaux hydroxyles, du peroxyde d'hydrogène, des espèces réactives de l'azote et de l'oxygène singulet (**Du et al., 2012**).

En outre, la vitamine C contribue à la protection des phospholipides membranaires contre la peroxydation, un processus qui peut altérer la fonction et l'intégrité des membranes cellulaires (**Oroian et al., 2015**).

- Vitamine E

Connue sous le nom d'alpha-tocophérol, est un antioxydant liposoluble qui joue un rôle crucial dans la protection des membranes cellulaires contre l'oxydation. Elle est capable de piéger les radicaux pyroxyles, empêchant ainsi la propagation de la réaction de peroxydation lipidique qui peut endommager les cellules.

La vitamine E se compose de huit composés chimiquement distincts : quatre tocophérols (alpha, bêta, gamma et delta) et quatre tocotriénols (alpha, bêta, gamma et delta), chacun ayant des propriétés antioxydantes uniques et contribuant à la fonction globale de la vitamine E comme antioxydant (**Lecerf et al., 1994**).

I.3.5 Composés phénoliques et polyphénoliques

En plus des métabolites primaires traditionnels (glucides, protéines, lipides, acides nucléiques), les plantes ont tendance à stocker des métabolites secondaires (tels que les alcaloïdes, les terpènes, les composés phénoliques...). Leur rôle physiologique n'est pas toujours clair, cependant, ils constituent une source significative de molécules qui peuvent être exploitées par l'homme dans des secteurs tels que la pharmacologie et l'industrie agroalimentaire (**Macheix et al., 2005**).

Les composés phénoliques, caractérisés par leurs groupements hydroxyyles (-OH) liés à un ou plusieurs noyaux benzéniques. Ces molécules varient de structures simples comme les acides phénoliques à des polymères complexes tels que les tannins, illustrant ainsi la diversité chimique de ces composés (**Lugasi et al., 2003**). Avec environ 8000 structures identifiées, réparties en une dizaine de classes chimiques, les composés phénoliques jouent un rôle prépondérant dans la chimie des plantes (**Harborne, 1989**). Parmi eux, les acides phénoliques, les flavonoïdes simples et les proanthocyanidines représentent les groupes phytochimiques les plus significatifs, contribuant à une multitude de fonctions biologiques et écologiques (**Macheix et al., 2005**).

I.3.5.1 Activité antioxydants et anti-inflammatoire

La capacité de transfert des atomes H des polyphénols est une propriété biologique importante, en lien avec l'aptitude de ces antioxydants à convertir les ERO en espèces non toxiques pour l'organisme (**Achat, 2013**). Les recherches suggèrent de plus en plus que ces polyphénols naturels peuvent réduire l'intensité de l'inflammation intestinale et du stress oxydatif dans les phases initiales des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI).

Une alimentation riche en polyphénols pourrait contribuer à améliorer la pathologie des conditions où un excès de production de ROS est un facteur clé dans la progression de la maladie en inhibant l'activation du récepteur Toll-like 4 (TLR4), peuvent diminuer l'activité des lipopolysaccharides (LPS), réduisant ainsi l'expression de la cyclo-oxygénase-2 (COX-2), du facteur nucléaire kappa B (NF-kB) et des cytokines pro-inflammatoires (**Serafim et al., 2020**).

Des études ont confirmé l'efficacité des phytochimiques contre l'inflammation induite par TLR4. Des flavonoïdes comme la quercétine, la catéchine et la silymarine ont démontré leur potentiel thérapeutique dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), agissant comme des antioxydants puissants et modulant les voies de signalisation des protéines kinases et des lipides kinases impliquées dans l'inflammation intestinale chronique. On observe également une activité accrue de la voie JAK/STAT, marquée par la présence de STAT3 phosphorylé (pSTAT3) (**Serafim et al., 2020**).

Les composés phytochimique présentent de nombreuses activités pharmacologiques, notamment des effets cardioprotecteurs, neuroprotecteurs et anti-inflammatoires. De plus, il a été rapporté que ces composés agissent dans le tractus gastro-intestinal, exerçant des effets antispasmodiques, anti-diarrhéiques, antisécrétoires et antiulcéreux, ainsi qu'une action anti-inflammatoire intestinale (**Serafim et al., 2020**).

I.3.5.2 Activité gastroprotectrice

Les polyphénols sont reconnus pour leur forte bioactivité, se traduisant par une large gamme de propriétés biologiques, telles que des effets anti-acide/anti-peptique, gastroprotecteurs et/ou anti-ulcères. Le principal mécanisme d'action des flavonoïdes responsable de leur activité anti-ulcère est leurs propriétés antioxydantes (par exemple, le garcinol, la rutine et la quercétine). Ces propriétés incluent la réduction des radicaux libres, la chélation des ions et des métaux de transition, l'inhibition des enzymes d'oxydation, l'augmentation des antioxydants protéiques et non protéiques, ainsi que la réduction de la peroxydation lipidique (**Borrelli et Izzo, 2000**).

De plus, les flavonoïdes protègent la muqueuse gastro-intestinale contre les lésions causées par divers modèles expérimentaux d'ulcères et différents agents nécrotiques. La quercétine, en particulier, a montré des mécanismes anti-sécrétoires d'acide gastrique, des propriétés antihistaminiques, la capacité de bloquer la pompe à protons H⁺/K⁺, et d'inhiber la croissance de *H. pylori* (**Dryden et al., 2006**).

I.4 Traitement anti-ulcère

I.6.1 Traitement médical

Le traitement médical de l'ulcère gastrique peut être curatif lorsque l'affection est déjà diagnostiquée, ou préventif dans le cas contraire. Différents traitements sont utilisés dans la prise en charge de l'ulcère gastrique, y compris les antisécrétoires et les protecteurs de la muqueuse. Une antibiothérapie est également indiquée en cas d'infection par *H. pylori* (Aparicio et al., 2003).

Les traitements antiulcéreux se divisent en plusieurs catégories en fonction de leur mode d'action sur l'estomac ou la muqueuse gastrique tableau II :

Tableau II : Catégorie de traitement gastrique et mécanisme d'action

Catégorie	Mécanisme d'action	Référence
Inhibiteur de pompe à protons (IPP)	Inhibe le fonctionnement du transport actif qui transfère les ions H ⁺ de la cellule épithéliale dans l'estomac.	Macheix, 2005
Antihistaminique H2	Diminue la sécrétion acide gastrique en bloquant les récepteurs de l'histamine au niveau de la cellule pariétale	Macheix, 2005
Prostaglandines (PGE)	Freine la sécrétion gastrique acide par action directe au niveau de la Cellule pariétale provoquer une sécrétion de mucus protecteur et d'ions bicarbonates neutralisants	Macheix, 2005
Anti-gastrines	Réactifs pharmacologiques qui ne sont guère représentées que par le proglumide qui bloque les récepteurs de la gastrine	Macheix, 2005
Antiacide	Poudres alcalines qui neutralisent la sécrétion acide dans la lumière gastrique. C'est le traitement traditionnel des brûlures d'estomac	Gimenez et al., 2000
Pensement gastrique	Agit par effet mécanique en formant un gel venant tapisser la surface du contenu de l'estomac	Gimenez et al., 2000
Antimicrobien et antibiotique	Exerce un effet bactériostatique et bactéricide	Gimenez et al., 2000

I.4.2 Phytothérapie

Le terme de phytothérapie provient du grec phytos "plante" et therapeia "traitement". Elle se définit donc comme l'utilisation des plantes pour soigner les maladies cette pratique

existe depuis les premières civilisations. Les hommes ont toujours utilisé les plantes pour se soigner empiriquement (**Ferreira et al., 2014**).

De nombreuses études ont porté sur les extraits de plantes et ont rapporté plusieurs effets bénéfiques de celle-ci à savoir les effets anti inflammatoires et antiulcéreux. Dans les traditions, diverses plantes sont utilisées comme remèdes contre l'ulcère. Comme :

- *Marrubium vulgare. L* (Marriouth), utilisé comme anti-inflammatoire, antimicrobien, Antispasmodique, antioxydant et antifongique (**Edziri et al., 2007**).
- *Origanum vulgare.L* (origan) cette herbe est répandue comme une épice et est également utilisée pour ses activités antifongiques et antibactériennes, antioxydante, antiseptique, antispasmodique, antiulcéreuse (**Khan et al., 2011**).
- *Clematis flammula* originaire d'Europe méridionale et d'Afrique du Nord autrefois utilisées comme un remède contre les maladies vénériennes, les rhumatismes et les troubles osseux. Les feuilles étaient également employées comme antipaludéen et pour soulager la douleur et la fièvre (**Yesilada et Kup eli, 2006**).

Chapitre II
Matériel et Méthodes

II.1 Matériel

II.1.1 Matière végétale

Nous nous sommes intéressées par l'étude d'extrait éthanolique de la plante médicinale *CF* qui est connu dans la région par ses vertus médicinales divers. Le matériel végétal utilisé est présenté par des feuilles de *CF* récoltées au mois d'avril dans la région de Amizour Bejaïa (Figure 4).



Figure 4 : Photographie de *Clematis flammula* prise en période de floraison (Avril 2024)

II.1.1.1 Taxonomie

- Règne : Végétal
- Division : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Ordre : Ranunculales
- Famille : Ranunculacées
- Genre : *Clematis*
- Espèce : *Clematis flammula*

(Keener, et Dennis, 1982)

II.1.1.2 Description de la plante

La Clématite flammette (*C. flammula*) est une plante grimpante originaire d'Europe méridionale et d'Afrique du Nord. Sa tige est sarmenteuse, grimpante, grêle et presque glabre. Ses feuilles sont bipennées, composées de 3 à 7 folioles assez petites, ovales ou lancéolées, entières ou rarement trilobées, et elles ont une saveur brûlante. Les fleurs de la clématite sont blanches, regroupées en panicules lâches. Les sépales sont pubescents à l'extérieur et glabres à

l'intérieur, tandis que les pétales sont absents. Les anthères sont grandes, égalant le filet. Le réceptacle est glabre, et les carpelles sont très comprimés, avec une arête brumeuse assez courte (Grey-Wilson, 2000).

Cette plante, la *Clematis flammula*, prospère principalement dans les régions méditerranéennes d'Algérie. Elle est souvent observée dans les maquis, les bois clairs et les broussailles le long des côtes méditerranéennes ainsi que dans les régions montagneuses telles que la Kabylie et l'Atlas Tellien. Sa floraison, qui se déroule de juin à août, est marquée par de nombreuses fleurs au parfum suave. Parfois cultivée pour agrémenter des treillis, elle est appréciée pour sa beauté et sa fragrance (Julve, 2021).

II.1.1.3 Composition chimique

Les extraits bruts de différentes parties de la plante ont démontré diverses activités microbiologiques comme antifongique, antibactérienne, et anti-gonorrhéique (Al-Taweel, 2007).

L'étude phytochimique réalisée par Belkhir et ses collaborateurs (2024) a mis en évidence une concentration significative de composés phénoliques, incluant les phénols totaux et les flavonoïdes à l'origine des propriétés précédemment cités. De manière mécanique, Les fractions de *CF* ont des effets anti-inflammatoires et antibactériens en inhibant l'activité de la COX et de la trypsine, ainsi qu'en altérant l'intégrité de la paroi cellulaire bactérienne. Cela laisse entendre que le *CF* peut être utilisé pour traiter l'inflammation et les infections bactériennes.

II.1.2 Animaux et conditions d'élevage

Des rats males Albinos (*Rattus norvegicus albinus*), Provenant de l'Institut Pasteur d'Alger, dont le poids corporel varie entre 270g et 340g ont été utilisés pour l'évaluation de l'effet préventif sur l'ulcère gastrique, de l'extrait éthanolique de feuilles de *CF*, les rats ont été gardés au niveau de l'animalerie de l'université A. Mira de Bejaia et ont été hébergés dans des cages individuelles en polypropylène par deux à 30°C, avec une humidité relative et sous un cycle photo de 12 heures d'obscurité/12 heures de lumière. Les animaux ont été nourris avec une alimentation commerciale standard (Compagnie Nationale d'Alimentation du Bétail, Cheraga, Algérie) et de l'eau à volonté (figure 5).



Figure 5 : Photographie original des rats dans des cages adaptées.

II.2 Méthodes

II.2.1 Préparation des extraits de feuilles de *CF*

- Récolte

Les feuilles *CF* ont été récoltées début avril 2023, à Amizour, wilaya de Bejaia.

- Nettoyage et séchage

Les feuilles ont été nettoyées à la main et séchées à température ambiante (25 à 28°C) et laissées à l'ombre.

- Broyage et tamisage

Les feuilles, ont été broyées avec un broyeur électrique (KIKA labortechnik M20), et Tamisés (<64 μm) pour donner une poudre très fine à partir de laquelle l'extraction a été réalisée.

- Extraction

L'extraction d'extraits brut a été réalisée en utilisant l'éthanol à 25% avec une proportion de 1 mg de poudre dans 60 ml de solvant, en suite le tout a été macéré pendant 20min à une température de 45°C puis décanté à l'abri de la lumière durant 24h. Le surnageant a été récupéré dans des cristalloirs et laissé sécher à l'air libre jusqu'à obtention d'un résidu sec de poids stable. L'extraits a été conservé dans des flacons en verre hermétique à - 4°C afin de préserver tous les principes actifs de la plante.

II.2.2 Dosage des composés phénoliques

II.2.2.1 Dosage des polyphénols totaux

La teneur totale en polyphénols a été dosée par la méthode décrite par Singleton et Rossi (1965) en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu. Ce dernier est un acide de couleur jaune réagit

avec les résidus phénoliques et conduit à la formation d'un complexe coloré en bleu dont l'intensité de la coloration est proportionnelle avec la concentration des polyphénols dans l'extrait.

Pour cela 20 µl de l'extrait méthanolique de *CF* est mélangé avec 0,5 ml d'eau distillée et 100 µl de réactif de Folin-Ciocalteu dilué à 10X. Après 2-3 min d'incubation nous avons ajouté 80 µl de Na₂CO₃ (7%) et le volume final est ensuite ajusté avec de l'eau distillée à 3 ml. Après 30 min d'incubation à 25°C, l'absorbance a été lue à 760 nm. La teneur en composés phénoliques dans l'extrait a été déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage préparée avec la quercétine.

II.2.2.2 Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été mesurée selon la méthode décrite par Djéridane et ses collaborateurs (2006). La technique est basée sur la formation d'un complexe jaune entre les flavonoïdes et le trichlorure d'aluminium AlCl₃ flavonoïde-aluminium, ayant le maximum d'absorbance à 430 nm, pour cela 1 ml d'extrait est mélangé avec 1 ml de solution méthanolique de AlCl₃ à 2%. Après 15 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée à 430 nm avec un spectrophotomètre UV-Vis. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme équivalent de quercétine par gramme de l'extrait, en utilisant la courbe d'étalonnage de la quercétine.

II.2.3 Mesure de l'activité inhibitrice sur l'uréase *in vitro*

- Principe

Les ulcères gastriques et duodénaux sont également causés par *H. pylori*, qui survit et se développe en milieu acide (Zahid et al., 2015). L'uréase produite par la bactérie catalyse l'hydrolyse de l'urée pour produire de l'ammoniac et du carbamate. Ce dernier composé se décompose spontanément pour donner une autre molécule d'ammoniac et d'acide carbonique.



L'uréase joue un rôle central dans le métabolisme et la virulence de *H. pylori*. Cette enzyme est essentielle pour sa colonisation de la muqueuse gastrique. Il a été démontré que l'inhibition de l'uréase empêche efficacement la colonisation de *H. pylori*, ce qui réduit l'induction de la gastrite. Par conséquent, l'inhibition de l'activité de l'uréase a été proposée comme une stratégie efficace pour éradiquer l'organisme dans le corps (Mobley et al., 2001).

- Protocole

Pour l'évaluation de l'activité inhibitrice d'extrait éthanolique des feuilles de *CF* nous avons utilisé le protocole de Zahid et ses collaborateurs (2015) avec quelque modification.

Pour ce teste nous avons injecte 25 µl d'uréase (2 U), préalablement dessous dans de l'eau distillée sur une microplaque à 96 puits. Et 15 µl des d'extraits de *CF*, à différentes concentrations (10 ; 8 ; 4 ; 2 ; 1 ; 0,5 ; 0,23 ; mg/ml), sont par la suite ajoutés à l'enzyme et le tout est incubé à 30°C, pendant 15 min. Une fois le temps d'incubation est écoulé, on ajoute 40 µl d'urée (100 mM) et on réincube à 30°C, pendant 30 min. Par la suite, on ajoute 50 µl de phénol (1% de phénol + 0,005% de nitroprusside de sodium), puis 70 µl du réactif alcalin à 5% (0.01% de NaOH + 0.1% de NaOCl) au mélange réactionnel et on incube à 30°C, pendant 50 min et on lance la cinétique enzymatique. L'absorbance est mesurée à 630 nm chaque 5 min, pendant toute la durée d'incubation.

Chaque concentration d'extrait a été testé trois fois, et leur pourcentage d'inhibition a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{\text{absorbance du control positif} - \text{absorbance de l'extrait}}{\text{absorbance du control positif}} \times 100$$

II.2.4 Mesure de l'activité inhibitrice de la cyclooxygénase *in vitro*

- Principe

Au niveau cellulaire, les acides gras polyinsaturés (AGPI) libérés par les phospholipides membranaires sont les substrats des enzymes COX et les métabolites qui en résultent, à savoir la prostaglandine. Le diclofénac cible l'inhibition de ces enzymes deviennent donc un attrait majeur dans le contrôle de plusieurs maladies inflammatoires (**Shishodia et al., 2004**).

- Protocole

Les activités enzymatiques de la COX a été mesurées selon la méthode de Reddy et ses collaborateurs (2009) en utilisant un test chromogénique basé sur l'oxydation de la N,N,N,N,-tétraméthyl-p-phénylène diamine (TMPD) lors de la réduction de PGG2 en PGH2.

Dans une microplaque de 96 puits nous avons injectés le mélange de test qui contenait par puit 110 µl du tampon Tris – HCl (100 mM, pH 8,0), 10 µl de l'hémin (15 µM), 10 µl de l'enzyme (de 200 U de la COX) et 40 µl de l'extrait éthanolique de *CF* a différentes concentrations (20 ; 10 ; 5 ; 2,5 ; 1,25 mg/ ml). Le mélange a été pré-incubé à 25°C pendant 10 min puis la réaction a été initiée par l'ajout de 20 µl d'acide arachidonique et de 20 µl TMPP, dans un volume total de 210 µl par puit le mélange est incubé a nouveaux 2 à 5 min. L'activité

enzymatique a été déterminée en estimant le taux d'oxydation du TMPD pendant les 25 min de la réaction en suivant l'augmentation de l'absorbance à 603 nm.

Chaque concentration d'extrait a été testé trois fois, et leur pourcentage d'inhibition a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{\text{absorbance du control positif} - \text{absorbance de l'extrait}}{\text{absorbance du control positif}} \times 100$$

II.2.5 Mesure des taux de MDA *in vitro*

- Principe

Un essai d'espèces réactives à l'acide thiobarbiturique modifié (TBARS) a été utilisé pour mesurer le peroxyde lipidique formé, en utilisant le jaune d'œuf comme milieu riche en lipides. La MDA, produit secondaire de l'oxydation des acides gras polyinsaturés, réagit avec deux molécules de TBA, produisant un chromogène rouge rose avec une absorption maximale à 532 nm (**Ruberto et al., 2000**).

- Protocole

Le protocole suivit est celui décrit par Upadhyay et ses collaborateurs (2014) avec l'ajout de quelques modifications.

L'homogénat d'œuf (250 µl, 10 % en eau distillée, v/v) et 50 µl de concentrations variables d'extrait (50 ; 25 ; 12,5 ; 6,25 ; 3,125 mg) ont été mélangés dans des tubes d'essai et le volume a été atteint à 500 µl en ajoutant de l'eau distillée. Enfin, 25 µl de (FeSO₄ 0,07 M) ont été ajoutés au mélange et incubés pendant 30 min à l'abri de la lumière, pour induire la peroxydation des lipides. Ensuite, 750 µl d'acide acétique à 20 % (pH 3,5) et 750 µl de TBA à 0,8 % (v/v) et 25 µl de TCA à 20%, ont été ajoutés, vortexés, puis chauffés dans un bain d'eau bouillante pendant 15 min. Après refroidissement, les tubes sont centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 min. L'absorption de la couche supérieure organique a été mesurée à 532 nm.

II.2.6 Traitement des animaux et induction d'ulcère par le diclofénac

- Principe

Pour mettre en évidence l'effet préventif de l'extrait éthanolique de *CF* le model expérimental d'ulcère gastrique induit par l'administration intra gastrique de dose toxiques d'AINS le diclofénac a été sélectionné c'est un inhibiteur de la synthèse des prostaglandines sécrétées par la muqueuse gastrique. En inhibant la COX, enzyme qui commence la synthèse des prostaglandines, ce qui mène à une diminution de la gastro-protection, une augmentation de la sécrétion acide, et l'exacerbation des ulcères chez les animaux d'expérience (**Oliveira et al., 2014**).

La prévention de la toxicité digestive des AINS repose sur la coadministration ou l'utilisation des inhibiteurs de la COX de type 2 (anti-cox2) ou des IPP comme l'oméprazole. Cette attitude est d'ailleurs recommandée par l'institut Américain de Rhumatologie chez les malades à risque élevé d'ulcère (**Oliveira et al., 2014**).

- Protocole

L'expérimentation s'est déroulée selon le protocole décrit par Yous et ses collaborateurs (2018) avec quelques changements apportés.

Les animaux ont été répartis en 4 lots de 6 rats chacun marquée avant toute administration. Les rats ont été privés de nourriture pendant 12 heures avant l'expérimentation. L'extrait de CF et l'oméprazole ont été dissous dans de la carboxyméthylcellulose (CMC) à 0,8%, avec des doses de 25 mg/kg et 30 mg/kg respectivement (**Yous et al., 2018**), les solutions ont été administré par voie intra-gastrique une heure avant le traitement avec le diclofénac dissous dans l'eau physiologique (NaCl à 0,9 %) et administré par voie intra-gastrique (Figure 6 ; Tableau III) à raison de 150 mg/Kg (**Saiah et al., 2018**).



Figure 6 : Technique de gavage (photographie originale)

Tableau III : Répartition des différents lots selon le type du traitement administré

Lots	Traitement
Control négatif (rats sains)	Eau physiologique (NaCl à 0,9 %)
Control positif (rats ulcéreux)	Diclofénac + eau physiologique (NaCl à 0,9 %)
Extrait éthanolique	Extrait + CMC 0,8%
	Diclofénac + eau physiologique (NaCl à 0,9 %)
Médicament (Oméprazole)	Oméprazole + eau physiologique (NaCl à 0,9%)
	Diclofénac + eau physiologique (NaCl à 0,9 %)

Après six heures de traitement les rats ont été sacrifiés par dislocation cervicale sous anesthésie. Les estomacs ont été prélevés après une dissection ventro-médiane, puis ouverts le long de la grande courbure et lavés à l'eau physiologique froide. Ensuite, ils ont été étalés sur un verre de montre pour une meilleure observation des lésions formées. Les observations ont été effectuées à l'œil nu et à l'aide d'une loupe binoculaire avec un agrandissement de 10X0.8. Des photographies des estomacs ont été prises, ensuite conservés à -20°C jusqu'à leur utilisation.

II.2.7 Evaluation des pourcentages d'ulcération

Les échantillons d'estomacs sont enregistrés sur ordinateur pour être analysés par le logiciel image J (1.53v) pour évaluer l'action inhibitrice de l'extrait sur les ulcérations provoquées par le diclofénac chez les rats, en mesurant les surfaces des zones lésées (Yous et al., 2018).

La superficie des lésions de chaque estomac a permis de calculer le pourcentage d'ulcération selon la formule suivante :

$$\% d'ulcération = \frac{\text{surface totale des lésion}}{\text{surface totale de l'estomac}} \times 100$$

II.2.8 Préparation des homogénats

Afin de déterminer le niveau de MDA. Les tissus des estomacs ont été homogénéisés dans un tampon phosphate 0,1 M (10%, p/v) à pH 7,4 (homogénéisateur : Heidolph, Silent Crusher S, Allemagne) et centrifugés (Sigma, 2-16 PK, Allemagne) à 1 000 × g pendant 1 min à 4 °C, pour obtenir un surnageant qui a été utilisé pour la détermination des marqueurs de dommages oxydatifs MDA (Yous et al., 2018).

II.2.9 Détermination des taux de MDA *in vivo*

- Principe

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont très réactifs et attaquent à proximité diverses classes de biomolécules, notamment les acides gras polyinsaturés qui sont peroxydé pour former le MDA. Cette réaction particulière des ROS est connue sous le nom de « peroxydation lipidique » (Tsikas, 2017).

La MDA est un des biomarqueurs largement acceptés du stress oxydatif La méthode phare du dosage de MDA consiste par sa réactivité à l'acide thiobarbiturique (TBARS) pour l'évaluation par spectrophotométrie. Dans des conditions acides (par exemple, l'acide acétique ou l'acide sulfurique) et des températures élevées (par exemple, 95°C) une molécule de MDA réagit avec deux molécules de TBA pour former un composé de couleur rose, dérivé absorbant la lumière fortement visible λ_{max} , 532 nm (Gutteridge et Halliwell, 1990).

- Protocole

Le protocole suivi est basé sur celui décrit par Guzmán-Gómez et ses collaborateurs (2018), avec quelques modifications apportées.

Après broyage des estomacs et leur centrifugation, la teneur en MDA a été déterminée dans chacun des surnageants par le test des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS), à 100 μ l d'homogénats de muqueuse gastrique, on a ajouté 200 μ l de mélange réactif contenant 0,375 % de TBA et 15 % d'acide trichloracétique (TCA) dans 0,20 N de HCl. Après 30 min d'incubation dans de l'eau bouillante, les échantillons ont été refroidis broyer en suite centrifugés à 4 000 tr/min pendant 10 min à 4°C. L'absorbance du surnageant a été mesurée à 532 nm et la concentration de MDA a été calculée avec un coefficient d'extinction de 155 mM⁻¹ cm⁻¹.

II.2.10 Analyses statistiques

L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel GraphPad Prism 10 (GraphPad Software, Inc.). Les données sont exprimées en tant que moyennes \pm écart-type (SD) et les différences statistiques entre les groupes ont été calculées par une analyse de la variance à sens unique (ANOVA). Les différences ont été considérées significatives à partir de * ($p < 0.05$).

Chapitre III
Résultats et discussion

I.1 Rendement d'extraction

Il a été rapporté que l'efficacité de l'extraction dépend de nombreux paramètres, y compris le diamètre de la poudre le volume et le type des solvants utilisés (Escribano-Bailon et al., 2003). En outre, l'extraction à base de solvants multiples plutôt que d'un solvant unique s'est avéré plus efficace, ce qui a conduit à des extraits ayant une activité antioxydante considérablement plus élevée (Spigno et coll., 2007). En revanche les travaux de Atmani et ses collaborateurs (2011) montre clairement que l'extrait d'éthanol brut de *CF* présente le rendement d'extraction les plus élevés.

I.2 Teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes

La méthode utilisée pour le dosage de polyphénols totaux est celle utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, alors que le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé par la méthode colorimétrique au Chlorure d'aluminium (AlCl₃).

Les teneurs ont été rapportées en (mg) équivalent de quercétine /mg d'extrait sec. Les résultats obtenus au cours du dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux dans l'extrait sont représentés dans le tableau IV.

Tableau IV : Estimation des concentrations en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait de *CF*

Extrait	Polyphénols totaux (µg EQ quercétine/mg d'extrait sec)	Flavonoïdes Totaux (µg EQ Acide gallique/mg d'extrait sec)
Extrait éthanolique de <i>CF</i>	373,7	184,2

Les résultats obtenus ont révélés une teneur en polyphénols totaux plus élevée (373,7 µg EQ quercétine/mg d'extrait sec) que celle des flavonoïdes (184,2 µg EQ quercétine/mg d'extrait sec) dans l'extrait éthanolique des feuilles de *CF*. Nous avons constaté que la teneur en flavonoïdes représente une fraction d'environ 1/2 par rapport aux polyphénols, ces derniers semblent jouer un rôle important dans l'activité biologique de la plante (Yous et al., 2018).

En comparant nos résultats avec ceux de l'étude de Yous et ses collaborateurs (2018), nous constatons que la valeur des polyphénols totaux est moins élevée dans leur étude, avec 271,11 µg EQ acide gallique/mg d'extrait sec, tandis que notre mesure indique une valeur de 373,7 µg EQ acide gallique/mg d'extrait sec. En revanche, la mesure des flavonoïdes dans l'étude de Yous et ses collaborateurs (2018) est supérieure à celle obtenue dans notre recherche, avec respectivement 274,28 µg EQ quercétine/mg d'extrait sec contre 184,2 µg EQ quercétine/mg d'extrait sec dans notre étude.

La solubilité des composés phénoliques dépend de la polarité des solvants d'extraction (Babbar *et al.* 2014), ce qui indique que l'extrait éthanolique est une source riche de composés polaires, comme flavonoïdes, (polaires en raison de leurs nombreux groupes hydroxyles. Phénols) et polyphénols (Polaires, car ils contiennent des groupes hydroxyles (-OH) attachés à des anneaux aromatiques).

Les travaux de Belkhir et ses collaborateurs (2024) ont indiqués que le rendement d'extraction est plus influencé par le type de résidu végétal que par le système de solvant. En outre, les résidus végétaux peuvent être affectés par des variations géographiques et climatiques et saisonnière, qui pourraient être responsables de la divergence avec les études précédentes qui ont observé une plus haute teneur en flavonoïdes (Atmani *et al.*, 2009 ; Yous *et al.*, 2018).

III.3 Effet inhibiteur de l'uréase

III.3.1 Evaluation de l'activité inhibitrice des molécules de référence, quercétine et rutine, sur l'activité enzymatique de l'uréase, *in vitro*

L'effet inhibiteur de la quercétine et rutine sur l'activité de l'uréase, à différentes concentrations (7,5 ; 15 ; 30 ; 60 ; 120 µg dans le milieu réactionnel), est illustré dans les histogrammes ci-dessous (Figure 7). Cet effet inhibiteur est calculé par rapport à un contrôle de l'enzyme uréase, effectué au préalable à chaque lancement du test et où une activité enzymatique maximale et reproductible a été constatée lors de l'incubation, ce qui a servi comme référence pour le calcul des pourcentages d'inhibition. De plus, ce contrôle d'enzyme nous confirme que l'enzyme est fonctionnelle et dotée d'une bonne activité catalytique.

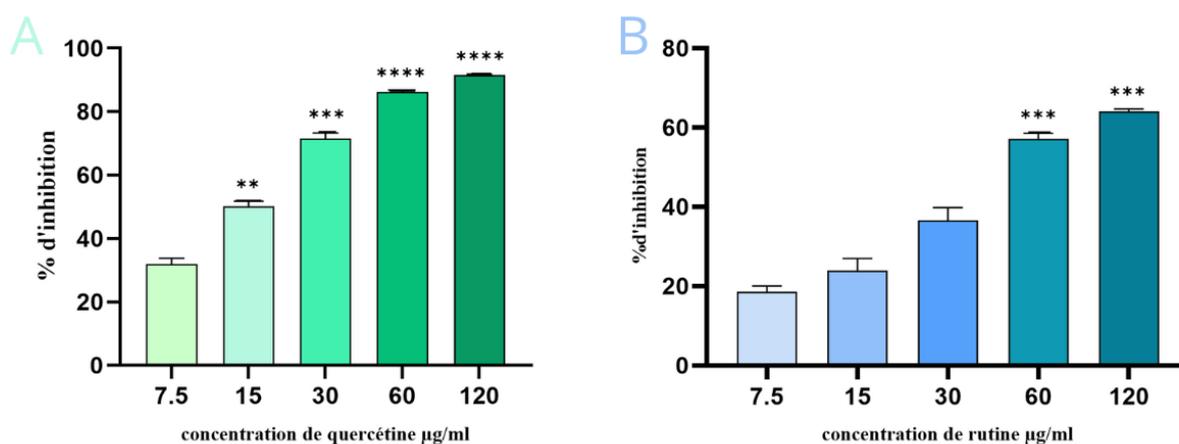


Figure 7 : Effet inhibiteur de la quercétine (A) et rutine (B) sur l'activité enzymatique de l'uréase. Les valeurs sont exprimées en moyennes exprimé en moyenne \pm SEM. (n=3). Les valeurs sont considérées significatives à * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; **** $P < 0.0001$.

D'après les résultats obtenus, l'activité inhibitrice de la quercétine et rutine sont dépendantes à la concentration. En effet, on observe une augmentation significative ($P <$

0.01) du pourcentage d'inhibition de quercétine à partir d'une concentration de 15 µg/ml (50.20%) l'activité maximal est très hautement significative ($P < 0.0001$) à 120µg/ml avec un pourcentage de 91.36%. En revanche le pourcentage d'inhibition de la rutine indique une augmentation significative ($P < 0.01$) à partir d'une concentration de 60 µg/ml (57.16%). Le pourcentage maximal, atteignant 64,04 %, est significatif à un niveau très élevé ($P < 0,001$) à une concentration de 120 µg/ml.

III.3.2 Evaluation de l'activité inhibitrice des extraits de CF sur l'activité enzymatique de l'uréase *in vitro*

L'effet anti-uréase *in vitro* de l'extrait éthanolique des feuilles de CF, à des concentrations variables (18 ; 37 ; 75 ; 150 ; 300 ; 600 ; 750 µg/ml dans le milieu réactionnel). Les valeurs sont illustrées dans un histogramme, et les pourcentages d'inhibition sont calculés en comparant les absorbances obtenues à un contrôle enzymatique ayant une bonne activité catalytique (figure 8).

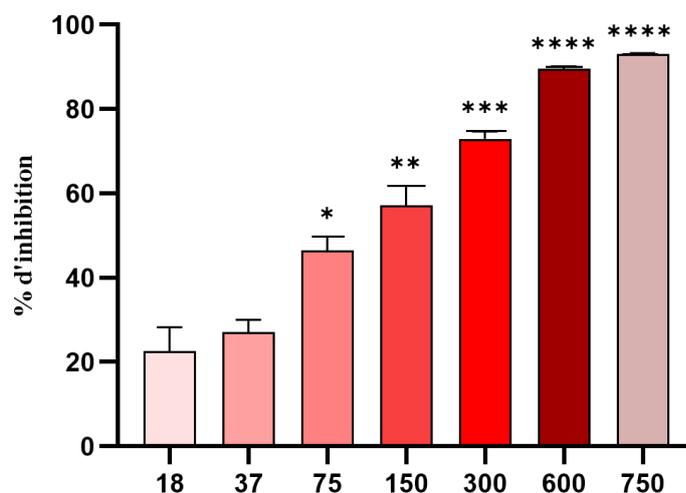


Figure 8 : Effet inhibiteur de l'extrait éthanolique des feuilles de CF sur l'activité enzymatique de l'uréase. Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM. (n=3). Les valeurs sont considérées significatives à * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; **** $P < 0.0001$.

D'après les résultats obtenus, l'activité inhibitrice de l'extrait est dépendante à la concentration. En effet, on observe une augmentation significative ($P < 0.01$) du pourcentage d'inhibition à partir d'une concentration de 75 µg dans le milieu réactionnel (46.54%) l'activité maximal est très hautement significative ($P < 0.0001$) à 750 µg dans le milieu réactionnel avec un pourcentage de 93.04%. Par ailleurs, les concentrations (150 ; 300 et 600 µg) exhibent des pourcentages respectifs de 57.23 ; 72.94 et 89.54%.

III.3.3 Détermination des CI50

La concentration inhibitrice médiane ou CI50 est la mesure de l'efficacité des composés pour inhiber 50% de l'activité de l'enzyme de l'uréase. C'est une mesure quantitative indiquant la quantité d'extrait nécessaire pour inhiber à moitié l'activité de l'enzyme, et pour comparer les résultats, les CI50 de la quercétine et rutine ont été également déterminées. Les résultats sont illustrés dans la figure 9 et 10 ci-dessous.

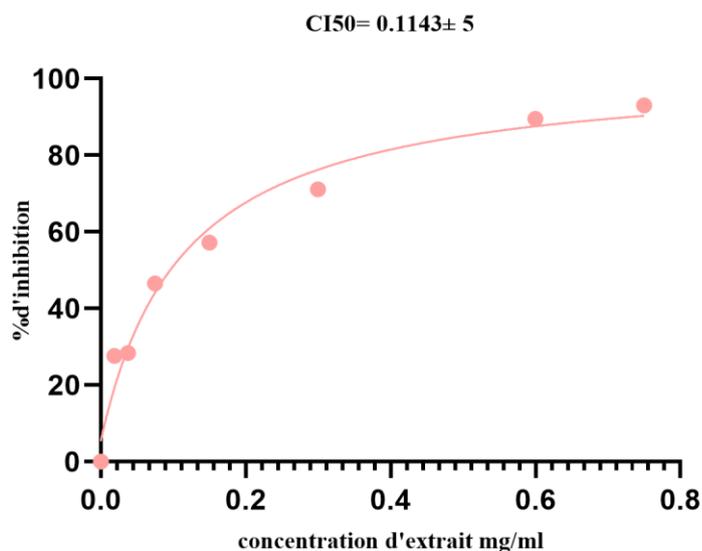


Figure 9 : Concentration inhibitrice médiane (CI50) de l'extrait de *CF* sur l'activité de l'uréase *in vitro*. Les valeurs sont exprimées en moyennes \pm S.D ($n=5$)

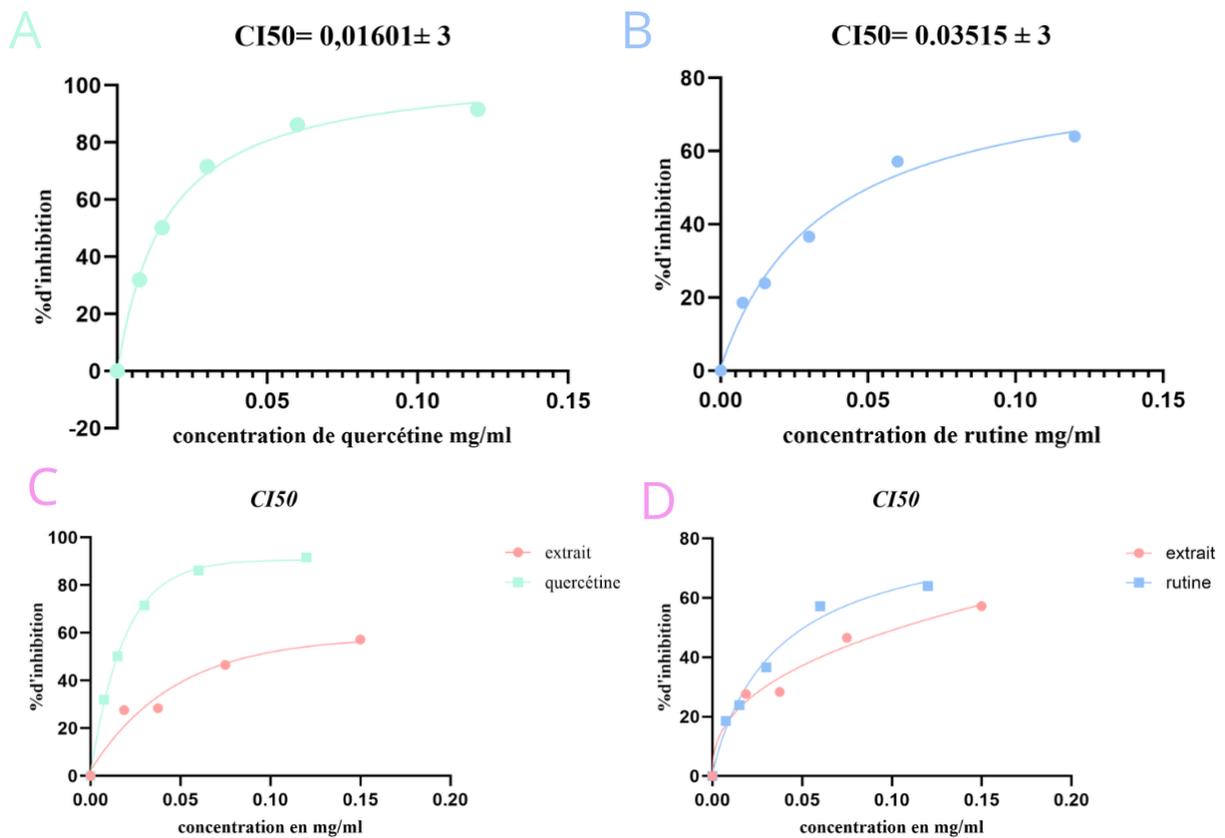


Figure 10 : La concentration inhibitrice médiane (CI_{50}) de (A) Rutine ; (B) Quercétine ; (C) Rutine et extrait et (D) Quercétine et extrait sur l'activité de l'uréase. Les valeurs sont exprimées en moyennes \pm S.D ($n=3$).

D'après les résultats obtenus, l' CI_{50} de l'extrait est de 114,3 $\mu\text{g/ml}$, tandis que ceux de la quercétine et de la rutine sont beaucoup plus faibles, avec respectivement 16,013 $\mu\text{g/ml}$ et 35,153 $\mu\text{g/ml}$. On remarque également que la quercétine révèle une inhibition de 50 % de l'activité enzymatique à une concentration modeste de seulement 16,013 $\mu\text{g/ml}$, comparée à la rutine, dont l' CI_{50} est plus de deux fois supérieur, à 35,153 $\mu\text{g/ml}$.

Dans le graphe comparatif de l' CI_{50} de l'extrait et de celui de la quercétine, on observe une nette différence : la courbe de la quercétine se situe au-dessus de celle de l'extrait, et l' CI_{50} de ce dernier est 9 fois plus élevé. En ce qui concerne la comparaison entre l' CI_{50} de la rutine et celui de l'extrait, bien que la concentration d'inhibition médiane de l'extrait reste plus importante, l'écart se réduit à un facteur de 4.

La découverte de *H. pylori* par Marshall (2001) a bouleversé la conception de l'ulcère gastroduodéal et est devenu une affection essentiellement infectieuse. Parmi tous les facteurs de virulence de cette bactérie, l'uréase est considérée comme une caractéristique biologique et

un déterminant de virulence important (**Bommelaer et Stef.,2009**). La tolérance de *H. pylori* à l'acide dépend en grande partie de l'activité de l'uréase, une enzyme cytoplasmique. De ce fait, cette dernière est une cible idéale pour le traitement des affections à *H. pylori*.

Actuellement l'extrait éthanolique de *CF* utilisé traditionnellement présente une perspective prometteuse pour le traitement naturel d'ulcère gastrique et l'irradiation de *H. Pylori* certainement ces plantes contiennent des composés phytochimiques qui ont des capacités antibactériennes anti-inflammatoires et antioxydantes.

La quercétine et la rutine, ont été identifiées dans les fractions éthanolique de *CF* (**belkhir et al., 2024**). L'activité anti-uréase est testé *in vitro* et comparé à la quercétine et rutine pure afin de valider son efficacité d'inhibition, l'effet de la quercétine pourrait être attribué à ses activités antioxydantes et antihistaminiques. De même, il a été démontré que la quercétine-3-rutinoside (rutine) avait un effet gastro protecteur contre l'ulcérrogènes induite par *H. pylori* en réduisant l'activité de l'uréase (**Abdel- Raheem, 2010**).

Les résultats indiquent que l'extrait éthanolique de *CF* a montré une activité inhibitrice plus modeste par rapport aux deux molécules standards. L'extrait éthanolique présente une CI50 de 1,14 µg/ml, tandis que la quercétine et la rutine ont des CI50 respectives de 16,013 µg/ml et 35,153 µg/ml. Cela pourrait indiquer que la concentration des deux molécules contenues dans l'extrait éthanolique des feuilles de *CF* est inférieur aux concentrations utilisées dans le test. De plus, il est suggéré que ce résultat pourrait être attribué à un type de synergie entre la quercétine et la rutine lorsqu'elles sont présentes ensemble dans l'extrait. Un effet compétitif entre ces molécules pourrait réduire leur efficacité d'inhibition.

En revanche, Zahid et ses collaborateurs (2015) ont conclu que l'activité inhibitrice de l'uréase par l'extrait de la plante *Mimusops elengi Linn* a présenté un CI50 de 62,1±1,20 µg/ml. Ces valeurs sont inférieures et l'efficacité d'inhibition est supérieure à celles exhibées par l'extrait de *CF* qui a une CI50 de 144,3 µg/ml.

Le développement croissant de la résistance aux antibiotiques à l'égard des médicaments synthétiques est une préoccupation mondiale. L'utilisation des plantes médicinales et de leurs constituants chimiques peut avoir des avantages potentiels en tant qu'agent inhibiteur de *H. pylori* pour résoudre de tels problèmes (**Yamaoka et al., 1999**).

II.3 Effet inhibiteur de la cyclooxygénase *in vitro*

Le test consiste à examiner le pouvoir inhibiteur de l'extrait *CF* sur la COX à différentes concentrations de milieu réactionnel (3,82 ; 1,94 ; 0,95 ; 0,47 mg/ml dans le milieu réactionnel) nous avons calculer le pourcentage d'inhibition par rapport à un control d'enzyme.

Les résultats obtenus sont présentés sous forme d'un histogramme illustré dans la figure 11 ci-dessous.

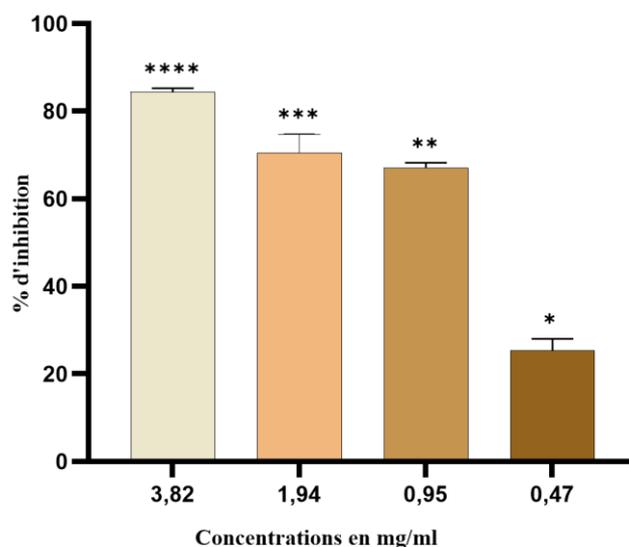


Figure 11 : Effet inhibiteur de l'extrait *CF* sur l'activité de COX, présenté en pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations dans le milieu réactionnel. Les valeurs sont exprimées en moyennes \pm SEM. (n=3) les valeurs sont significatives à * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$.

Le graphique montre que le pourcentage d'inhibition le plus élevé, est de 84,39% d'une valeur très hautement significative ($P < 0.0001$), observé à la concentration maximale de 20 mg. On constate également que le pourcentage d'inhibition diminue progressivement avec la diminution des concentrations (25,30% à $C=0,47$ mg) et le moins significatif ($P < 0.05$).

Dans cette étude sur l'effet inhibiteur de l'extrait de *CF* sur la COX *in vitro*, les résultats indiquent une inhibition très significative ($P < 0,0001$) à une concentration de 20 mg (3,82 mg). Nous avons comparé notre CI50 de 720 $\mu\text{g/ml}$ avec celle rapportée par Bharat et ses collaborateurs (2009) pour un extrait éthanolique de fruits de *Terminalia chebula Retz*, qui était de 90 $\mu\text{g/ml}$, ainsi qu'avec l'étude de Belkhir et ses collaborateurs (2024) sur *Clematis flammula*, montrant une CI50 de 223,26 $\mu\text{g/ml}$. Bien que l'extrait de *CF* à 20 mg montre une inhibition significative de la COX, il est moins efficace que les extraits mentionnés. Cette différence d'efficacité peut être attribuée à plusieurs facteurs, notamment la composition chimique, la méthode d'extraction, la source des plantes, la stabilité des composés et leurs interactions mutuelles. Le choix de l'éthanol comme solvant dépend des composés spécifiques présents dans la plante et des objectifs de l'étude.

La COX est une enzyme essentielle dans la biosynthèse des prostaglandines à partir des acides gras polyinsaturés, jouant un rôle crucial dans de nombreux processus

physiologiques. Son inhibition est une stratégie thérapeutique majeure pour traiter l'inflammation et les ulcères (Dubois et al., 1998). L'extrait a démontré son potentiel dans cette étude en inhibant efficacement la COX, ce qui pourrait contribuer à ses effets bénéfiques potentiels dans le traitement des conditions inflammatoires et ulcéreuses.

III.4 Evaluation des taux de MDA *in vitro*

Pour l'évaluation des taux de MDA *in vitro*, nous avons effectué une série de mesure à différentes concentrations d'extrait éthanolique de *CF* (50 ; 25 ; 12,5 ; 6,25 ; 3,12 mg/ml), nous avons effectué le même teste en utilisant l'acide ascorbique comme standard à différentes concentrations (30 ; 15 ; 7,5 ; 3,75 ; 1,87 mg/ml), et où on a mesuré notre test par les concentrations de milieu réactionnel (0,56 ; 0,28 ; 0,14 ; 0,07 ; 0,034 mg/ml dans le milieu réactionnel). Afin de comparer l'CI50 de chacun des deux. Les résultats sont illustrés sous forme d'un histogramme dans la figure 12 :

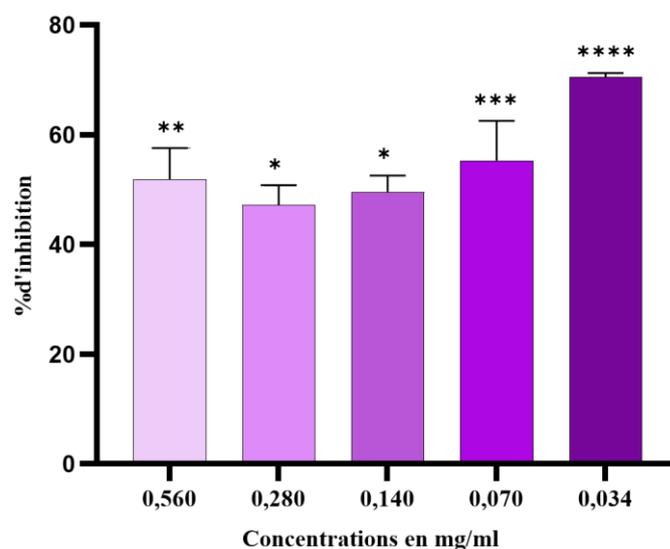


Figure 12 : Effet inhibiteur de l'acide ascorbique sur les taux de MDA. Les valeurs sont exprimées en moyennes \pm SEM. (n=3). Les valeurs sont considérées significatives à * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; **** $P < 0.0001$.

D'après cet histogramme, on observe que le pourcentage d'inhibition est plus élevé à la plus faible concentration de milieu (C= 0,03 mg/ml ; 71,03 % et 69,39 %) d'une valeur très hautement significative ($p < 0.0001$) par rapport aux autres concentrations dont les pourcentages d'inhibition sont assez proches.

L'évaluation des taux de MDA avec l'acide ascorbique comme standard est suivit de l'utilisation de l'extrait éthanolique de *CF* à différentes concentrations de milieu réactionnel

(0,05 ; 0,11 ; 0,23 ; 0,46 ; 0,93 mg/ml dans le milieu réactionnel). Les résultats de l'analyse statistique sont présentés dans la figure 13 ci-dessous.

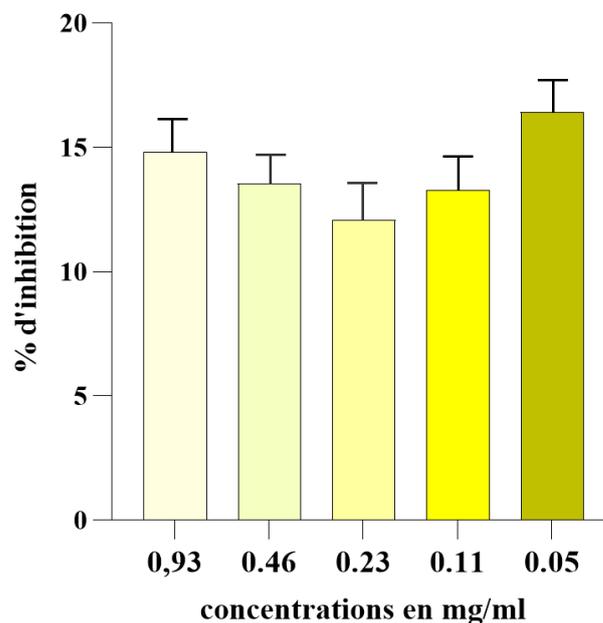


Figure 13 : Pourcentage d'inhibition de l'extrait *CF* sur les taux de MDA en fonction des concentrations dans le milieu réactionnel. Les valeurs sont exprimées en moyennes \pm SEM. (n=3).

Le graphique montre que la concentration la plus faible, 0,05 mg, présente le plus grand effet d'inhibition (16,42 %), comparativement aux autres concentrations qui affichent des pourcentages presque identiques.

Le test de peroxydation lipidique *in vitro* consiste à étudier une réaction en chaîne oxydative initiée par des radicaux libres, où chaque molécule lipidique est successivement oxydée jusqu'à ce que son potentiel maximal soit atteint. Dans cette étude, une méthode non enzymatique a été utilisée à différentes concentrations à partir de 30 mg, avec des dilutions variées, afin de déterminer la concentration optimale à laquelle notre substrat réagit avec les lipides d'œuf, entraînant une inhibition observable par une coloration rose.

Cette approche a permis de caractériser l'effet inhibiteur de l'échantillon sur la peroxydation lipidique, démontrant son potentiel à neutraliser les radicaux libres et à protéger les lipides d'œuf contre l'oxydation, ce qui pourrait avoir des implications importantes dans divers contextes biologiques et médicaux.

En comparaison avec les résultats de l'étude effectuée par Upadhyay et ses collaborateurs (2014) sur l'inhibition des taux de MDA par l'extrait éthanolique de la plante

Phyllanthus fraternus à différentes concentrations (0,5 ; 1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 6 mg/ml), l'CI50 obtenu est de 1522 µg/ml. Les concentrations utilisées sont relativement plus faibles, ce qui peut indiquer que l'absence d'activité inhibitrice significative de la MDA par *CF* est causée par l'encombrement stérique.

Les résultats rapportent que l'inhibition la plus importante, de 16,42 %, est attribuée à la concentration la plus faible d'extrait. Cela peut suggérer qu'une augmentation des concentrations entraîne un encombrement stérique entre les différentes molécules phytochimiques présentes dans l'extrait, ce qui réduit l'efficacité de l'inhibition. L'absence de relation dose-dépendante et de CI50 est aussi probablement due à la présence d'éthanol dans l'extrait. En effet, l'éthanol peut empêcher les molécules polaires de l'extrait d'interagir avec les lipides de l'œuf.

III.5 Evaluation des pourcentages d'ulcérations

L'estimation des surfaces lésées et des surfaces totales, à l'aide de logiciel Image J a permis d'évaluer l'effet gastro-protecteur de l'extrait éthanolique contre les lésions induites par Le diclofénac. La figure 14 illustre l'activité antiulcéreuse de l'extrait à une concentration de 25 mg/Kg, ainsi que le médicament de référence (oméprazole) Les comparaisons ont été effectuées à la fois avec les tissus gastriques (estomac) des groupes témoin négatif (sain) et témoin positif (traité par le diclofénac à une dose de 150 mg/kg).

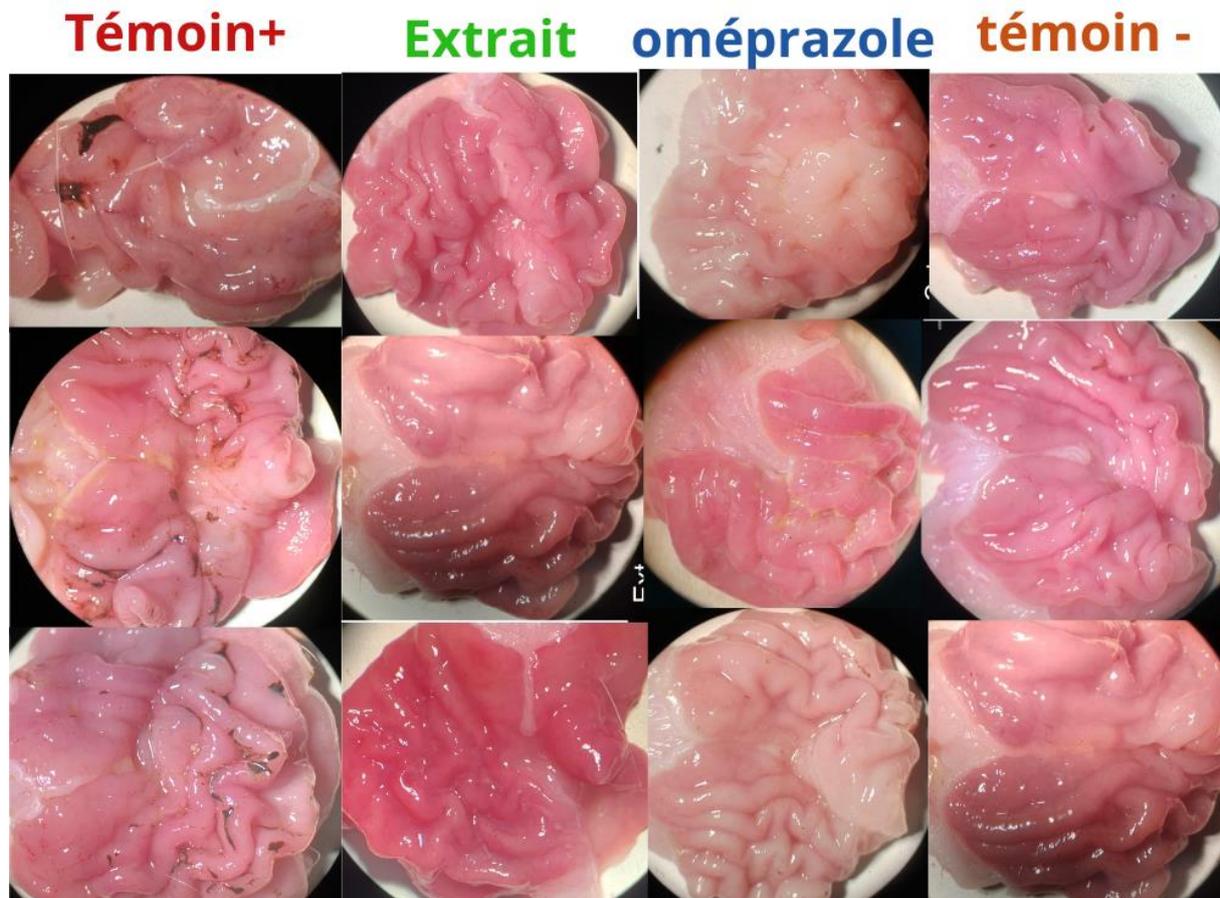


Figure 14 : Photographie des estomacs (grossissement 0.8x10) des groupe témoin positif, témoin négatif, traité par l'extrait de *CF* et traité par le médicament.

Dans ces photographies, nous avons détecté à la loupe (grossissement 0.8x10) la présence de rougeurs et d'ulcérations dans les échantillons du groupe témoin positif, traités uniquement avec le diclofénac. En revanche, on constate l'absence de signes d'ulcération dans les échantillons du groupe témoin négatif, ainsi que dans ceux qui ont reçus un prétraitement par l'extrait éthanolique (25 mg/Kg) et par le médicament de référence (oméprazole à 30 mg/Kg).

Nous avons calculé les pourcentages d'ulcération pour chaque groupe, et les résultats sont présentés sous forme d'histogramme dans la figure 15 ci-dessous.

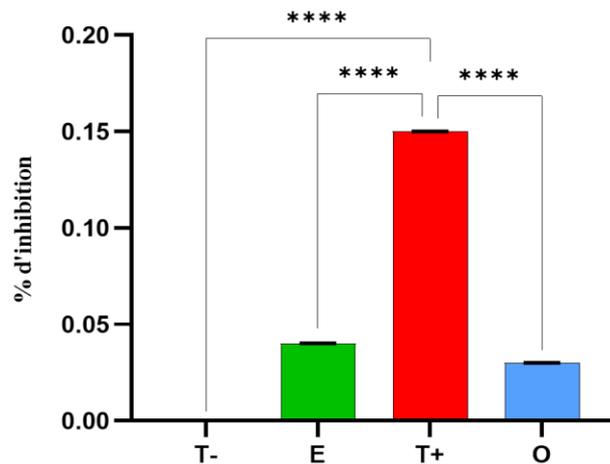


Figure 15 : Effet de l'administration orale du véhicule (CMC 0,8%), d'oméprazole et de l'extrait éthanolique de *CF* sur l'ulcère induit par le diclofénac chez les rats. Les valeurs sont exprimées en moyennes \pm SEM. (n=3). Les valeurs sont significatives* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

T- : Control ; E : Extrait ; T+ : Ulcère ; O : Oméprazole

Les résultats montrent que le pourcentage d'ulcérations est significativement élevé ($P < 0.01$) dans les échantillons traités avec le diclofénac à 150 mg/kg (T+). En revanche, le groupe ayant reçu un prétraitement par l'extrait à 25 mg/kg (E) et le médicament (O) présente un pourcentage d'ulcérations significatif ($P < 0.05$), mais nettement inférieur à celui observé avec le diclofénac.

Cette expérimentation vise à évaluer l'effet gastroprotecteur de la plante *CF* contre les ulcères gastriques induits par les AINS (diclofénac).

Tout d'abord, nous avons constaté que le diclofénac, un anti-inflammatoire non stéroïdien, peut provoquer des ulcérations gastriques à certaines doses en raison de ses effets secondaires. En comparant l'extrait d'une dose de 25 mg à un témoin d'une dose de 30 mg/Kg, nous avons conclu que l'extrait éthanolique de *CF* possède un pouvoir gastroprotecteur.

Les résultats des travaux de Yous et ses collaborateurs (2018), utilisant l'indométacine comme agent ulcérogène, ont montré un taux d'ulcère plus élevé par rapport au diclofénac à différentes concentrations d'extrait éthanolique de *CF* (25, 50, 100, 200 mg/kg). La concentration ayant offert la meilleure gastroprotection est de 100 mg/kg. D'après cela, nous suggérons que l'extrait éthanolique a un effet gastroprotecteur plus efficace lorsqu'il est administré à des doses plus élevées que 25 mg/kg, en particulier à 100 mg/kg.

Les prostaglandines (PGs) jouent un rôle crucial dans le maintien des processus physiologiques, notamment la circulation sanguine muqueuse, l'angiogenèse, ainsi que la sécrétion de mucus et de bicarbonate. Les PGs sont synthétisées par les isozymes COX-I et

COX-II. Étant donné que le diclofénac est un inhibiteur non spécifique des COX, elle provoque des ulcérations gastriques et aggrave les ulcères gastriques déjà présents chez l'homme et les rongeurs en inhibant la synthèse des PG (Antonisamy *et al.*, 2016).

L'activité antiulcéreuse de l'extrait éthanolique de *CF* pourrait être attribuée à la richesse de la plante en composés bioactifs. En effet, l'analyse phytochimique de l'extrait brut de *CF* a révélé une composition riche en polyphénols, principalement en tannins ($86,33 \pm 10,82$ mg équivalent catéchine/g d'extrait), en phénols simples ($19,65 \pm 3,61$ mg équivalent catéchine/g d'extrait), et pauvre en flavonoïdes ($5,15 \pm 0,10$ mg équivalent catéchine/g d'extrait). Les polyphénols possèdent des propriétés physiques et chimiques responsables de leurs actions physiologiques et pharmacologiques, notamment leur activité antioxydante par le piégeage des radicaux libres, l'amplification du pouvoir antioxydant, et leur capacité à se complexer avec d'autres molécules telles que les protéines et les polysaccharides (Atmani *et al.*, 2009).

III.6 Evaluation des effets de l'extrait sur les taux gastriques de MDA *in vivo*

Les taux de MDA formés ont été mesurés pour chacun des trois groupes (ulcère, control, oméprazole et extrait). Les résultats sont représentés dans la figure 16.

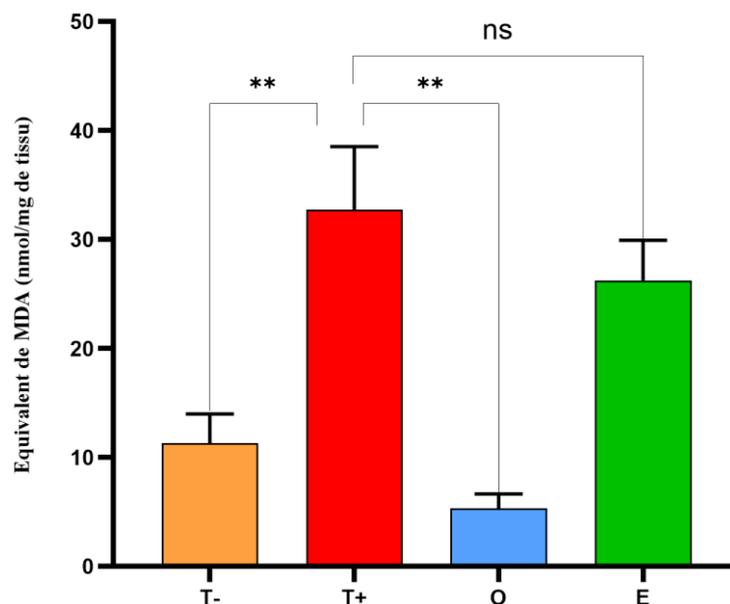


Figure 16 : Niveaux des MDA gastriques (nmol MDA/mg de tissu) chez les groupes expérimentaux. T-(témoin-), T+ (témoin+), O (oméprazole) et E (extrait de *CF*), les valeurs sont représentées par la moyenne \pm SEM (erreur standard sur la moyenne) ; n= 6 pour chaque groupe. ****** $P < 0.01$; ***** $P < 0.05$ significativement par rapport aux différents groupes.

L'analyse statistique des résultats obtenus a révélé une augmentation significative ($p < 0,01$) du taux de MDA chez le groupe témoin positif ($31,69 \pm 5,769$ nmol/mg de tissu) comparativement au groupe control ($10,51 \pm 2,65$ nmol/mg de tissu).

En revanche, chez les groupes traités avec l'extrait éthanolique de *CF* à la dose de 25 mg/kg, une réduction de $-14,93 \pm 5,405$ nmol/mg a été observée par rapport au groupe témoin+. De même, avec l'oméprazole à 30 mg/kg, une réduction du taux de MDA de $-21,41 \pm 5,405$ nmol/mg de tissu a été notée par rapport au groupe témoin+.

Pour mieux comparer les pourcentages d'inhibition de la peroxydation lipidique entre l'extrait et l'oméprazole, un histogramme a été réalisé. Les résultats de cette comparaison sont illustrés dans la Figure 17.

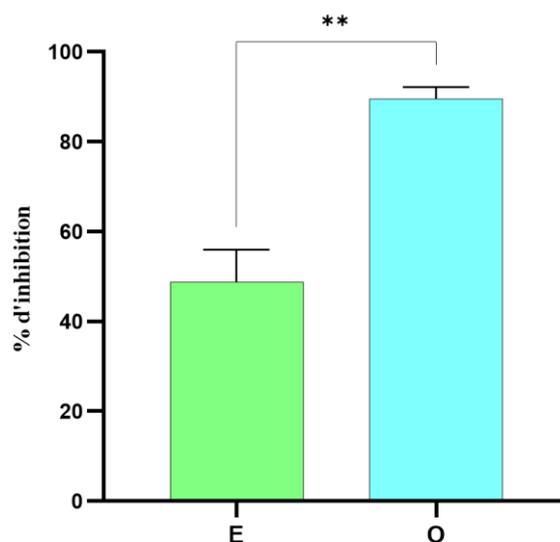


Figure 17 : Pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique chez les groupes expérimentaux O (oméprazole) et E (extrait de *CF*), les valeurs sont représentées par la moyenne \pm SEM (erreur standard sur la moyenne). $**P < 0,01$ significativement.

Le pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique par l'extrait a révélé un effet significativement ($p < 0,01$) inférieur à celui exhibé par l'oméprazole, avec une moyenne d'inhibition de 48,82% pour l'extrait et de 89,60% pour l'oméprazole la différence est estimée à $40,78 \pm 8,401$.

L'effet de l'extrait à la dose indiquée est significativement ($P < 0,01$) moins élevé comparé à celui exhibé par l'oméprazole. En outre, l'oméprazole a réduit les taux de MDA plus que les taux trouvés dans le groupe de contrôle ce qui peut témoigner d'un potentiel effet secondaire du médicament. La diminution des taux de MDA est généralement associée à une

amélioration de la santé cellulaire et tissulaire, à une diminution du stress oxydatif et à une réduction du risque de diverses maladies liées au stress oxydatif (**Modi et al., 2021**).

Les résultats de la mesure des MDA sont en accord avec ceux rapportés par des études antérieures. L'étude de Saiah et ses collaborateurs (2018) a démontré que le prétraitement à la fois par l'oméprazole et l'extrait de la fraction butanol de Zingiber à 100 mg/kg a atténué de manière hautement significative ($P < 0.001$) l'augmentation de la MDA de respectivement 60,25 % et 55 %, et a protégé l'estomac de la déplétion, en revanche la concentration de 25mg/kg n'a pas donné une inhibition significativement comparable à celle d'extrait de *CF*.

D'autre part, les travaux de Yous et ses collaborateurs (2018) ont rapporté que les taux de MDA dans les ulcères induits par l'indométacine étaient de 357.58 ± 33.17 nmol/g de tissu gastrique, comparés à 171,13 et 241,07 nmol/g de tissu gastrique dans les tissus des groupes traités respectivement par l'oméprazole (20 mg/kg) et l'extrait de *CF* (25 mg/kg).

Le présent travail a démontré que l'extrait éthanolique des feuilles de *CF* réduisait les taux de MDA jusqu'à 48,82% par rapport aux taux exhibés par le diclofénac 150 mg/Kg. Ces résultats prouvent que l'extrait a le même profile pharmacologique que celui d'oméprazole, ce dernier en tant qu'un inhibiteur spécifique de la pompe H^+ , K^+ -ATPase ou de la « pompe à protons » dans les cellules pariétales. Ce qui nous laisse suggérer que l'extrait brut agirait en inhibant le degré d'acide gastrique et en régulant la synthèse des prostaglandine (**Awaad et al., 2013 ; Saiah et al., 2018**).

Conclusion

La médecine traditionnelle joue un rôle crucial dans le traitement des maladies, en s'appuyant sur les plantes médicinales, largement reconnues comme une source fiable de principes actifs. L'ulcère, un problème de santé mondial, incite à la recherche de nouvelles molécules capables de prévenir son apparition. Parmi ces sources potentielles, la plante *Clematis flammula* se distingue particulièrement.

L'effet gastro-protecteur a été évalué en deux parties. La première, réalisée *in vitro*, consiste à tester l'effet inhibiteur sur l'uréase, une enzyme clé impliquée dans l'infection à *H. pylori*, et que l'effet inhibiteur sur la COX, principalement induite en réponse à l'inflammation. Enfin, ainsi que la mesure de MDA, produit de la peroxydation lipidique due à un stress oxydant. Ce dernier paramètre a été mesuré à la fois *in vitro* et *in vivo*.

Les résultats du test de l'uréase ont montré un remarquable effet inhibiteur sur l'enzyme avec une CI50 équivalent 114,3 µg/ml l'effet anti-uréasique est proche à ceux des standards (quercétine et rutine). D'autre part le test effectué sur la COX a révélé un effet inhibiteur significatif, une CI50 de 720 µg/ml. En revanche la mesure des MDA *in vitro* n'a pas donner une bonne inhibition cela peut être due l'encombrement stérique. Il a été démontré, que l'extrait testé à un pouvoir inhibiteur, vis-à-vis de l'uréase, et l'inflammation en raison de l'inhibition de la COX. Néanmoins, les mesures de MDA n'ont pas donné une inhibition significative il serait donc intéressant d'élargir les dimensions des concentrations à tester.

Le prétraitement des rats par l'extrait éthanolique de la plante à une doses de 25 mg/kg a réduit de manière significative les taux de MDA et a préservé la structure normale de la muqueuse gastrique après traitement par le diclofénac. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus avec le standard (oméprazole). Les résultats nous ont permis de suggérer que les composés actifs présents dans l'extrait de *CF* ont la capacité d'inhiber et de prévenir la peroxydation lipidique, en réduisant les surfaces d'ulcération.

Des études complémentaires pourront être réalisées dans le but d'évaluer l'effet anti-uréase et anti-cyclooxygénase *in vivo* par la caractérisation et l'identification des composés actifs présents dans les extraits qui sont responsables de l'effet gastroprotecteur et de l'activité antioxydante. Il est essentiel d'entreprendre des recherches approfondies dans le domaine de l'application pharmacologique afin d'évaluer l'efficacité de l'extrait dans la prévention et le traitement des ulcères gastriques induits par les anti-inflammatoires non stéroïdiens. Ces études viseront à établir les mécanismes d'action spécifiques de l'extrait et à confirmer son potentiel thérapeutique dans ce contexte clinique.

Références
Bibliographiques

A

- Abdel-Raheem, I. T. (2010). Gastroprotective effect of rutin against indomethacin-induced ulcers in rats. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 107(3), 742-750.
- Achat, S. (2013). Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques (Université d'Avignon ; Université Abderrahmane Mira-Bejaïa (Bejaïa, Algérie)).
- Ader j L, Carre F, Dinh xhuan at Et AL, 2003, Physiologie Paris Ed.Masson ; 251 -254.
- Al-Radahe, S., Ahmed, K. A. A., Salama, S., Abdulla, M. A., Amin, Z. A., Al-Jassabi, S., & Hashim, H. (2012). Anti-ulcer activity of Swietenia mahagoni leaf extract in ethanol-induced gastric mucosal damage in rats. *J Med Plants Res*, 6(12), 2266-75.
- Al-Taweel, K., Iwaki, T., Yabuta, Y., Shigeoka, S., Murata, N., & Wadano, A. (2007). A bacterial transgene for catalase protects translation of D1 protein during exposure of salt-stressed tobacco leaves to strong light. *Plant physiology*, 145(1), 258-265.
- Antonisamy, P., Arasu, M. V., Dhanasekaran, M., Choi, K. C., Aravinthan, A., Kim, N. S., ... & Kim, J. H. (2016). Protective effects of trigonelline against indomethacin-induced gastric ulcer in rats and potential underlying mechanisms. *Food & function*, 7(1), 398-408.
- Aparicio, R., & Aparicio-Ruíz, R. (2000). Authentication of vegetable oils by chromatographic techniques. *Journal of Chromatography A*, 881(1-2), 93-104.
- Awaad, A. S., El-Meligy, R. M., et Soliman, G. A. (2013). Natural products in treatment of ulcerative colitis and peptic ulcer. *Journal of Saudi chemical society*, 17(1), 101-124.
- Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., ... & Atmani, D. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food chemistry*, 112(2), 303-309.
- Atmani, D., Ruiz-Larrea, M. B., Ruiz-Sanz, J. I., Lizcano, L. J., Bakkali, F., & Atmani, D. (2011). Antioxidant potential, cytotoxic activity and phenolic content of *Clematis flammula* leaf extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(4), 589-598.
- Awaad, A. S., El-Meligy, R. M., & Soliman, G. A. (2013). Natural products in treatment of ulcerative colitis and peptic ulcer. *Journal of Saudi chemical society*, 17(1), 101-124.

B

- Babbar, N., Oberoi, H. S., Sandhu, S. K., & Bhargav, V. K. (2014). Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of antioxidants. *Journal of food science and technology*, 51, 2568-2575.
- Barbati, Z. R. (2016). The role of the selenoprotein glutathione peroxidase-1 in T cell activation and differentiation. Harvard University.
- Belkhir, S., Debbache-Benaid, N., Medjahed, Z., Atia, A., Ayouni, K., Boudjouan, F., ... & Atmani-Kilani, D. (2024). Interaction of *Clematis flammula* extracts with membrane models: characterization of anti-inflammatory and antibacterial activities. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 158(1), 130-141.
- Bharat, C. I., Murray, K., Cripps, E., & Hodkiewicz, M. R. (2018). Methods for displaying and calibration of Cox proportional hazards models. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part O: Journal of Risk and Reliability*, 232(1), 105-115.
- Bommelaer, G., & Stef, A. (2009). Ulcère gastroduodéal : avant et après *Helicobacter pylori*. *Gastroentérologie clinique et biologique*, 33(8-9), 626-634.
- Borrelli, F., & Izzo, A. A. (2000). The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. *Phytotherapy research: An international journal devoted to pharmacological and toxicological evaluation of natural product derivatives*, 14(8), 581-591.
- Boughellout, H., & Zidoune, M. N. (2007). *Coagulation de lait par la pepsine de poulet* (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1).
- Brooker C. (1993). Le corps humain ; étude, structure et fonction. 2eme édition, De boeck Europe. 295-304.
- Brown, L.F. & Wilson, D.E (1999). Gastroduodenal ulcers: causes, diagnosis, prevention and treatment. *Comprehensive Therapy*, 25, (January), 30-38, ISSN 0098-8243.

C

- Cadenas, E. (1997). Basic mechanisms of antioxidant activity. *Biofactors*, 6(4).

D

- Dembélé, B. T., Traoré, A., Togo, A., Kanté, L., Diakité, I., Tounkara, I., ... & Diallo, G. (2013). Peritonites par perforation sur cancers Gastriques au CHU Gabriel Toure. *Mali Medical*, 28(3).
- Dimaline, R. & Varro A. (2007). Attack and defence in the gastric epithelium - a delicate balance. *Experimental Physiology*, Vol.92, No.4 (July), 591-601, ISSN 0958-0670.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4), 654-660.
- Dryden, W., & Still, A. (2006). Historical aspects of mindfulness and self-acceptance in psychotherapy. *Journal of rational-emotive and cognitive-behavior therapy*, 24, 3-28.
- Dubois, R. N., Abramson, S. B., Crofford, L., Gupta, R. A., Simon, L. S., Van De Putte, L. B., & Lipsky, P. E. (1998). Cyclooxygenase in biology and disease. *The FASEB journal*, 12(12), 1063- 1073.
- Du, J., Cullen, J.J., & Buettner, G.R. (2012). 'Ascorbic acid: Chemistry, biology and the treatment of cancer', *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 1826(2), 443-457.
- Durand, P., Berton, A., et Moreau, D. (2024). 'Les antioxydants non enzymatiques et leur rôle dans la protection cellulaire', *Revue de Biochimie Clinique*, 56(2), 112-120.

E

- Edziri, H., Mastouri, M., Ggroh, P., Gutmann, L., & Aouni, M. (2007). Activité antimicrobienne et antifongique des extraits organiques des plantes médicinales. *Revue des régions arides*, 385-388.
- Escribano-Bailón, M. T., Santos-Buelga, C., & Rivas-Gonzalo, J. C. (2004). Anthocyanins in cereals. *Journal of Chromatography A*, 1054(1-2), 129-141.

F

- Ferreira, M., Costa, J., & Reis-Henriques, M. A. (2014). ABC transporters in fish species: a review. *Frontiers in physiology*, 5, 266.

G

- Gimenez F, Brazier M, Calop J, Dine T, Tchiakpé L et Claerbout JF (2000). Traitement de l'ulcère gastro-duodéal dans Pharmacie Clinique et Thérapeutique, Edition Masson, Paris, 1065.
- Greaves, P. (2012). Digestive system. Histopathology of preclinical toxicity studies, 325.
- Grey-Wilson, C. (2000). *Clematis, the genus*. Timber Press.
- Gogny M. (1994). Structure et fonction de l'estomac. Encyclopédie vétérinaire, partie, Gastroenterologie 0600, 5p.
- Gutteridge, J. M., & Halliwell, B. (1990). The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends in biochemical sciences*, 15(4), 129-135.
- Guzmán-Gómez, O., García-Rodríguez, R. V., Quevedo-Corona, L., Pérez-Pastén-Borja, R., Rivero-Ramírez, N. L., Ríos-Castro, E., ... & Chamorro-Cevallos, G. A. (2018). Amelioration of ethanol-induced gastric ulcers in rats pretreated with phycobiliproteins of *Arthrospira* (*Spirulina*) *Maxima*. *Nutrients*, 10(6), 763.

H

- Harborne, J.B. (1989). 'Methods in Plant Biochemistry'. In: Dey, P.M. et Harborne, J.B., Eds., *Plant Phenolics*, Academic Press, London, pp. Lugasi, A., Hóvári, J., Sági, K.V., et Bíró, L. (2003). 'Effect of pre-soaking whole pelagic fish in plant extract on sensory and biochemical changes during subsequent frozen storage', *Acta Alimentaria*, 32(3), 251-262
- Heeba, G. H., Hassan, M. K., & Amin, R. S. (2009). Gastroprotective effect of simvastatin against indomethacin-induced gastric ulcer in rats: role of nitric oxide and prostaglandins. *European journal of pharmacology*, 607(1-3), 188-193.

J

- Jean, B. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)*. Lavoisier.
- Julve, Ph. (2021). Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. Version : 27 avril 2021.

K

- Kamina, P., & Di Marino, V. (1993). Anatomie : Introduction à la clinique. Abdomen. Appareil digestif et rein. Maloine.
- Keener, C. S., & Dennis, W. M. (1982). The subgeneric classification of *Clematis* (Ranunculaceae) in temperate North America north of Mexico. *Taxon*, 31(1), 37-44.
- Khan, M. S. A., Hussain, S. A., Jais, A. M. M., Zakaria, Z. A., & Khan, M. (2011). Anti-ulcer activity of *Ficus religiosa* stem bark ethanolic extract in rats. *J Med Plants Res*, 5(3), 354-359.

L

- Labayle D, Talbert M, Willoquet G. (2001). Guide de Pharmacologie, partie II, III, IV Hépatogastro-entérologie. 4^{ème} Edition Lamarre, Paris, 1820.
- Lecerf, J., Luc, G., & Fruchart, J. (1994). 'Vitamine E, antioxydants et athérosclérose'. *La Revue de Médecine Interne*, 15(10), pp. Lecerf, J., Luc, G., & Fruchart, J. (1994). 'Vitamine E, antioxydants et athérosclérose'. *La Revue de Médecine Interne*, 15(10), 641-6491.
- Liu, P., Li, Y., Wang, R., Ren, F., & Wang, X. (2021). Oxidative stress and antioxidant nanotherapeutic approaches for inflammatory bowel disease. *Biomedicines*, 10(1),
- Lovell, M. A., Ehmann, W. D., Butler, S. M., & Markesbery, W. R. (1995). Elevated thiobarbituric acid-reactive substances and antioxidant enzyme activity in the brain in Alzheimer's disease. *Neurology*, 45(8), 1594-1601.
- Lugasi, A., Hóvári, J., Sági, K.V., et Bíró, L. (2003). Lugasi, A., Hóvári, J., Sági, K.V., et Bíró, L. (2003). 'Effect of pre-soaking whole pelagic fish in plant extract on sensory and biochemical changes during subsequent frozen storage', *Acta Alimentaria*, 32(3), 251-262

M

- Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. EPFL Press.
- Marshall, B. J. (2001). One hundred years of discovery and rediscovery of *Helicobacter pylori* and its association with peptic ulcer disease. *Helicobacter pylori : physiology and genetics*, 19-24.
- Mahadevan, V. (2014). Anatomy of the stomach. *Surgery (Oxford)*, 32(11), 571-574.
- Mineur, Laurent & Jaegle, Enric & Nicolas, Pourel & Robin, Garcia. (2012). Critical Normal Tissue and Radiation Injury: The Stomach. 10.5772/34992.
- Mobley, H.L.T., Mendz, G.L., Hazell, S.L. (2001). *Helicobacter pylori : Physiologie et Génétique*. Washington (DC): ASM Press. *glabra*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012 ;25(1) :99-102.
- Modi, J., Roy, A., Pradhan, A. K., Kumar, A., Talukdar, S., Bhoopathi, P., ... & Fisher, P. B. (2021). Insights into the mechanisms of action of MDA-7/IL-24: A ubiquitous cancer-suppressing protein. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1), 72.
- Mukwehvo, E., Ferreira, Z., & Ayeleso, A. (2014). Potential role of sulfur-containing antioxidant systems in highly oxidative environments. *Molecules*, 19(12), 19376-19389.

O

- Oliveira, F. D. A., Andrade, L. N., De Sousa, É. B. V., & De Sousa, D. P. (2014). Anti-ulcer activity of essential oil constituents. *Molecules*, 19(5), 5717-5747.
- Oroian, M., & Escriche, I. (2015). 'Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis', *Food Research International*, 74, 10-36.

P

- Peng, Y. C., Hsu, C. L., Tung, C. F., Chou, W. K., Huang, L. R., Hung, D. Z., ... & Yang, D. Y. (2008). Chemiluminescence assay of mucosal reactive oxygen species in gastric cancer, ulcer and antral mucosa. *Hepato-gastroenterology*, 55(82-83), 770-773.
- Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 97, 55-74.

R

- Reddy, V. P., Sudheshna, G., Afsar, S. K., Saran, S., Kumar, S. N., Ram, C. R., & Reddy, K. R. (2012). Evaluation of anti-ulcer activity of *Citrullus colocynthis* fruit against pylorus ligation induced ulcers in male wistar rats. *Int J Pharm Pharm Sci*, 4(2), 446-451.

Références bibliographiques

- Ronot, X., Adolphe, M., Kuch, D., Jaffray, P., Lechat, P., & Deysson, G. (1982). Effect of Sodium cis- β -4-Methoxybenzoyl- β -bromacrylate (Cytembena) on Hela Cell Kinetics. *Cancer Research*, 42(8), 3193-3195.
- Ruberto, G. et Baratta, MT. (2000). Activité antioxydante de composants sélectionnés d'huiles essentielles dans deux systèmes modèles lipidiques. *Chimie alimentaire*, 69 (2), 167-174.

S

- Sahoo, D. K., Heilmann, R. M., Paital, B., Patel, A., Yadav, V. K., Wong, D., & Jergens, A. E. (2023). Oxidative stress, hormones, and effects of natural antioxidants on intestinal inflammation in inflammatory bowel disease. *Frontiers in Endocrinology*, 14, 1217165.
- Saiah, W., Halzoune, H., Djaziri, R., Tabani, K., Koceir, E. A., & Omari, N. (2018). Antioxidant and gastroprotective actions of butanol fraction of *Zingiber officinale* against diclofenac sodium-induced gastric damage in rats. *Journal of Food Biochemistry*, 42(1), e12456.
- Serafim, C., Araruna, M. E., Júnior, E. A., Diniz, M., Hiruma-Lima, C., & Batista, L. (2020). "A Review of the Role of Flavonoids in Peptic Ulcer (2010–2020)." *Molecules*, 25(22), 5431.
- Shishodia, S., Koul, D., & Aggarwal, B. B. (2004). Cyclooxygenase (COX)-2 inhibitor celecoxib abrogates TNF-induced NF- κ B activation through inhibition of activation of I κ B α kinase and Akt in human non-small cell lung carcinoma: correlation with suppression of COX-2 synthesis. *The Journal of Immunology*, 173(3), 2011-2022.
- Sherwood L. (2006). *Physiologie humaine. 2ème édition, De Boeck*, Paris. 452-462.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Smaga, I., Niedzielska, E., Gawlik, M., Moniczewski, A., Krzek, J., Przegaliński, E., ... & Filip, M. (2015). Oxidative stress as an etiological factor and a potential treatment target of psychiatric disorders. Part 2. Depression, anxiety, schizophrenia and autism. *Pharmacological Reports*, 67(3), 569-580.
- Spigno, G., Tramelli, L., & De Faveri, D. M. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of food engineering*, 81(1), 200-208.
- Stevens A, Lowe JS & Young B. (2002). *Atlas de wheater : Anatomie pathologique. 4eme édition, Poeck, Bruxelles*. 138-142
- Sunagawa, S., Wilson, E. C., Thaler, M., Smith, M. L., Caruso, C., Pringle, J. R., ... & Schwarz, J. A. (2009). Generation and analysis of transcriptomic resources for a model system on the rise: the sea anemone *Aiptasia pallida* and its dinoflagellate endosymbiont. *BMC genomics*, 10, 1-10.

T

- Tarnawski A, Hollander D, Krause WJ, Dabros W, Stachura J, Gergely H. Les ulcères gastriques expérimentaux « guéris » restent histologiquement et ultrastructuralement anormaux. *J Clin Gastroentérol*. 1990 ; 12 Supplément 1 : S139 à S147.
- Tsikas, D. (2017). Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Analytical biochemistry*, 524, 13-30.

U

- Upadhyay, A., Upadhyaya, I., Kollanoor-Johny, A., & Venkitanarayanan, K. (2014). Combating pathogenic microorganisms using plant-derived antimicrobials: a minireview of the mechanistic basis. *BioMed research international*, 2014(1), 761741.

W

- Wallace, J.L.; McKnight, W.; Reuter, B.K. & Vergnolle N. (2000). NSAID-induced gastric damage in rats: requirement for inhibition of both cyclooxygenase 1 and 2. *Gastroenterology*, Vol.119, No.3 (September). 706–714, ISSN 0016-5085.
- Weatherburn, M. (1967). Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Analytical chemistry*, 39(8), 971-974.
- Wright S. (1980). *Physiologie appliquée à la médecine. 1 er édition, Médecine-science Flammarion*, Paris. 4 79-480.

Y

- Yamaoka, Y., Kodama, T., Gutierrez, O., Kim, J. G., Kashima, K., & Graham, D. Y. (1999). Relationship between *Helicobacter pylori* iceA, cagA, and vacA status and clinical outcome: studies in four different countries. *Journal of clinical microbiology*, 37(7), 2274-2279.
- Yanez, M. A., Barbera, V. M., Soria, E., & Catalán, V. (2009). Quantitative detection of *Helicobacter pylori* in water samples by real-time PCR amplification of the cag pathogenicity island gene, cagE. *Journal of applied microbiology*, 107(2), 416-424.
- Yesilada, E. et Kup eli, E. (2006). *Clematis vitalba* L. aerial part exhibits potent antiinflammatory, antinociceptive and antipyretic effects. *Journal of Ethnopharmacology*, 110 : 504– 515.
- Yous, F., Atmani-Kilani, D., Debbache-Benaida, N., Cheraft, N., Sebaihi, S., Saidene, N., ... & Atmani, D. (2018). Anti-ulcerogenic and proton pump (H⁺, K⁺ ATPase) inhibitory activity of *Clematis flammula* L. extract. *South African journal of botany*, 119, 390-399.

Z

- Zahid, H., Rizwani, G., Kamil, A., Shareef, H., Tasleem, S., & Khan, A. (2015). Anti-urease activity of *Mimusops elengi* Linn (Sapotaceae). *European Journal of Medicinal Plants*, 6(4), 223- 230.

Résumé

Clematis flammula a longtemps été utilisée comme plante médicinale. Cette étude vise à évaluer l'effet gastroprotecteur de l'extrait éthanolique des feuilles de *CF* contre les ulcères induits par les AINS chez les rats, ainsi que ses effets anti-uréase et anti-inflammatoire. Les rats ont été traités avec de l'oméprazole (30 mg/kg) et l'extrait éthanolique (25 mg/kg) avant d'être exposés à des lésions gastriques induites par le diclofénac (150 mg/kg). Une évaluation macroscopique a été réalisée en mesurant les pourcentages de lésions gastriques et les taux de MDA, en plus des tests in vitro sur l'inhibition de l'uréase et de la COX. Les résultats ont montré que les rats traités par l'extrait avaient des taux de MDA significativement ($P < 0.05$) réduits par rapport au groupe prétraité au diclofénac et une inhibition de MDA jusqu'à 48,82%. L'extrait a également montré des inhibitions significatives de l'uréase et de la COX, avec des CI50 respectifs de 114,3 et 720 µg/mg. Ces résultats suggèrent que l'effet préventif de l'extrait éthanolique des feuilles de *CF* contre les ulcères induits par le diclofénac pourrait être lié à la stimulation des prostaglandines médiées par les COX, à son effet antioxydant et à la stimulation de la sécrétion de mucus.

Mots clés : *Clematis flammula*, MDA, gastroprotecteur, uréase, ulcère gastrique, COX.

Abstract

Clematis flammula has long been used as a medicinal plant. This study aims to evaluate the gastroprotective effect of the ethanolic extract of *CF* leaves against NSAID-induced ulcers in rats, as well as its anti-urease and anti-inflammatory effects. Rats were treated with omeprazole (30 mg/kg) and the ethanolic extract (25 mg/kg) before being exposed to gastric lesions induced by diclofenac (150 mg/kg). Macroscopic evaluation was performed by measuring the percentages of gastric lesions and MDA levels, in addition to in vitro tests on urease and COX inhibition. The results showed that rats treated with the extract had significantly ($P < 0.05$) reduced MDA levels compared to the diclofenac-pretreated group, with MDA inhibition up to 48.82%. The extract also exhibited significant inhibitions of urease and COX, with IC50 values of 114.3 and 720 µg/mg, respectively. These results suggest that the preventive effect of the ethanolic extract of *CF* leaves against diclofenac-induced ulcers could be related to the stimulation of prostaglandins mediated by COX, its antioxidant effect, and the stimulation of mucus secretion.

Keywords : *Clematis flammula*, MDA, gastroprotective, urease, gastric ulcer, COX.

الملخص

تم استخدام الياسمين البري باللاتينية (*Clematis flammula*) منذ فترة طويلة كنبات طبي. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم تأثير المستخلص الإيثانولي لأوراق *CF* في حماية المعدة من القرحة الناتجة عن مضادات الالتهاب غير الستيرويدية (AINS) لدى الجرذان، وكذلك تأثيراته المضادة لإنزيم اليوريز والمضادة للالتهابات. تمت معالجة الجرذان بالأوميبرازول (30 ملغم/كغم) والمستخلص الإيثانولي (25 ملغم/كغم) قبل تعريضها للتلف المعدي الناتج عن الديكلوفيناك (150 ملغم/كغم). تم إجراء تقييم عياني من خلال قياس نسبة التلف المعدي ومستويات المألونديالديهيد (MDA)، بالإضافة إلى اختبارات في المختبر على تثبيط إنزيم اليوريز وإنزيم السيكلوأوكسجيناز (COX). أظهرت النتائج أن الجرذان التي تمت معالجتها بالمستخلص كانت لديها مستويات MDA منخفضة بشكل ملحوظ ($P < 0.05$) مقارنة بالمجموعة التي تعرضت للديكلوفيناك فقط، حيث وصل تثبيط MDA إلى 48.82%. كما أظهر المستخلص تثبيطاً ملحوظاً لإنزيم اليوريز وإنزيم COX، مع قيم CI50 بلغت 114.3 و 720 ميكروغرام/ملغم على التوالي. تشير هذه النتائج إلى أن التأثير الوقائي للمستخلص الإيثانولي لأوراق *CF* ضد القرحة الناتجة عن الديكلوفيناك قد يكون مرتبطاً بتحفيز البروستاجلاندينات بواسطة إنزيم COX، تأثيره المضاد للأكسدة، وتحفيز إفراز المخاط.

الكلمات المفتاحية: *Clematis flammula*، (MDA)، حماية المعدة، إنزيم اليوريز، قرحة المعدة، (COX).