

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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique
Spécialité : Génétique Fondamentale et Appliquée



جامعة بجاية
Tasdawit n Bgayet
Université de Béjaïa

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

Thème

**Evaluation de l'activité gastro-protectrice
d'un extrait de feuilles de *Clematis flammula*
chez les rats**

Présenté par :

BAKLI Lydia & BOUZIDI Imene

Soutenu le : 03 juillet 2024

Devant le jury composé de :

Mme BAHLOUL-CHERAFT N.

MCB

Président

Mme ATMANI D.

Professeur

Encadreur

Mme OUAHMED-BOUDAUD H.

MCB

Examineur

Année universitaire : 2023 / 2024

Remerciements

El hamdoulillah, nous remercions Dieu, le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience de mener à terme ce travail.

Notre respectueuse gratitude et nos sincères remerciements vont tout d'abord à notre promotrice **Mme ATMANI D**, pour son encadrement de qualité, sa disponibilité, et pour la confiance qu'elle nous a accordée, nous la remercions ainsi pour ses pertinents conseils et ses orientations, de nous avoir transmis tout son savoir, de nous avoir prodigué un enseignement de qualité, ce fut un plaisir de travailler avec elle. Un grand merci pour son dévouement.

Nos remerciements vont également à **Mme CHERAFT N**, pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury qui va juger ce travail.

Nos vifs remerciements s'adressent également à **Mme OUHMED H**, pour avoir accepté d'examiner notre travail

Nous tenons aussi à remercier toute l'équipe du laboratoire de génétique pour nous avoir apportés leur aide, en particulier **M^{lle}Karou Lydia** pour tout le temps et l'attention qu'elle nous a consacré

Nous adressons nos vifs remerciements à nos profs de la spécialité GFA pour leur dévouement, qui a éveillé en nous une passion ardente pour cette spécialité.

Leur soutien et expertise ont enrichi notre formation et inspiré notre parcours, et sans oublier nos collègues étudiants de notre promotion.

Enfin, nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail et dont les noms ne sont pas cités.

Dédicaces

Avant d'arriver à la fin de mon parcours, je tiens à exprimer ma gratitude et à dédier ce modeste mémoire à ceux qui ont été des piliers inébranlables dans ma vie :

À la mémoire de mon père. Puisse ce geste humble être un témoignage de mon amour et de ma reconnaissance, profondément ancrés dans mon cœur.

À ma mère, dont l'amour inconditionnel est au-delà des mots. Aucun discours ne saurait exprimer l'étendue de mes sentiments envers elle.

À ma sœur Mamel et mon frère Fafa, pour leur soutien indéfectible, et pour leurs encouragements constants tout au long de mon parcours.

À mes neveux, Aymen et Alice, que j'aime profondément.

À ma famille, tant paternelle que maternelle, ainsi qu'à mes chers cousins et cousines, pour leur contribution, de près ou de loin, à la personne que je suis devenue.

À ma chère cousine Ikram, avec qui j'ai partagé tant de moments précieux depuis notre parcours scolaire.

À ma binôme Imen, et mes chères camarades Alicia et Leticia pour leur inestimable soutien.

And last



DYLIA

Dédicaces

﴿إني جزيتهم اليوم بما صبروا إنهم هم الفائزون﴾

A ceux qui ont illuminé ma vie par leur présence et leur amour, même après leur départ, votre souvenir reste gravé dans mon coeur, merci d'avoir enrichi ma vie de votre lumière éternelle.

A mes parents pour leur soutien et leurs sacrifices, merci pour tout ce que vous avez fait et continuez de faire pour moi

A mes frères ishak, adem, siraj et ma sœur rayenne et toute ma famille

A ma binôme dylia et mes amies alyssia, leticia, assala

A tous mes enseignants de la spécialité GFA pour leur guidance précieuse

A moi-même, pour avoir cru en moi et surmonté les obstacles et avoir continué et jamais abandonner et persévéré jusqu'au bout, ce travail est le témoignage de ma détermination et de ma volonté.

IMENE

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre I Synthèse Bibliographique

I.1. Estomac..... 2

I.1.1. Anatomie de l'estomac2

I.1.2. Histologie de l'estomac2

I.1.3. Physiologie de l'estomac3

I.2. Ulcère gastrique 6

I.2.1. Physiopathologie de l'ulcère.....6

I.2.2. Facteurs d'agression de la muqueuse gastrique6

I.2.3. Inflammation causée par l'ulcère9

I.2.4. Thérapeutique de l'ulcère 11

I.3. Polyphénols 13

I.3.1. Classification des polyphénols..... 13

I.3.2. Activités biologiques des polyphénols 14

Chapitre II Matériel et méthodes

II.1. Matériel 17

II.1.1. Matériel végétal 17

II.1.2. Espèce animal et conditions d'élevage..... 19

II.2. Méthodes..... 19

II.2.1. Préparation de l'extrait et dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes..... 19

II.2.2. Etude de l'activité gastro-protectrice20

II.2.6. Analyse statistique24

Chapitre III Résultats et discussion

III.1. Résultats 25

III.2. Discussion 32

Conclusion et Perspectives..... 41

Références Bibliographiques..... 43

Annexes

Résumé

Liste des abréviations

- **AB** : Alcian blue.
- **AC** : Adénylate cyclase.
- **Ach**: Acetylcholine.
- **ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- **AINS** : Anti-inflammatoires non-stéroïdiens.
- **AMP** : Adénosine monophosphate.
- **AMPc** : Adénosine monophosphate cyclique.
- **Anti H₂** : Anti histaminiques 2.
- **ARNm** : Acide ribonucléique messenger.
- **ASB** : Albumine sérique bovine
- **ATP** : Adénosine triphosphate.
- **ATP ase**:Adénosine triphosphate synthase.
- **CAT** : Catalase.
- **CCK-B** : Cholecystokinin B.
- **CCK-BR**: Cholecystokinin B receptor.
- **CF** : *Clematis flammula*.
- **CMC** : Charboxymethyl cellulose.
- **COX 1,2** : Cyclo-oxygénases 1,2.
- **CTE** : Chaîne de transport d'électrons.
- **DHC** : O-dianisidine-di-hydrochloride.
- **DTNB** : Dithio-bis-nitrobenzoïque.
- **ECL** : Entero-chromaffin-like.
- **EDTA** : Ethyldiamine tetra acetic acid.
- **ERK**: Extracellular signal-regulated kinase.
- **ERO** : Espèces réactives de l'oxygène.
- **GI** : Gastro-intestinale.
- **GSH** : Glutathion réduit.
- **GPx** : Glutathion peroxydase.
- **GR** : Glutathion réductase.
- **GRP** : Gastrin releasing peptide.
- **GSSG** : Disulfure de glutathion.
- **H₂R** : Histamine H₂ recepneur.

- **HO-1:** Heme Oxygenase-1.
- **HTAB :** Hexadecyl-trimethyl-ammonium bromide.
- **ICAM :** Intercellular adhesion molecule.
- **IL-10, 6 :** Interleukine 10, 6.
- **IL-1B :** Interleukine -1B.
- **IPA :** Institut Pasteur d'Alger.
- **IPP :** Inhibiteurs de la pompe à protons.
- **JNK :** Jun N-terminal kinase.
- **KCl :** Chlorure de potassium.
- **MPO :** Myélopéroxydase.
- **MAPK :** Mitogen-activated protein kinase.
- **MR:** Muscarinic receptor.
- **NADP :** Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.
- **NADPH :** Nicotinamide-Adénine-Dinucléotide-Phosphate Hydrogéné.
- **NF-kb :** Nuclear factor Kappa B.
- **NOS :** Nitric oxide synthase.
- **NRF2 :** Nuclear factor erythroid 2-related factor 2.
- **OX :** Oxyntique.
- **O₂^{·-} :** Radical superoxyde.
- **P38K:** Serine/threonine protein kinase.
- **PCT :** protéines de choc thermique
- **PBS :** Phosphate buffer saline.
- **PG :** Prostaglandine.
- **PGE₂ :** Prostaglandine E₂.
- **PH :** Potentiel hydrogène.
- **PI3K:** Phosphatidylinositol-3 kinase
- **PPT :** Polyphénols totaux.
- **PSCA:** Prostate stem cell antigen.
- **R :** Rendement.
- **SEM :** Standard error of the mean
- **SOD :** Superoxyde dismutase.
- **ST-2 :** Somatostatin- 2.
- **TBS:** Tris buffer solution.
- **TGF-β:** Transforming growth factor- beta.

- **TNB** : Thioniytobenzoic 5'-thio2-nitrobenzoic.
- **TNF- α** :Tumor necrosis factor alpha.
- **Tris-HCl** :Tris-hydrochloride.
- **VCAM** : Vascular cellular adhesion molecule

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Anatomie générale de l'estomac | 2 |
| Figure 2 : Sécrétion d'acide chlorhydrique par la cellule oxyntique. | 3 |
| Figure 3 : Mécanismes de stimulation de la sécrétion acide de la cellule oxyntiques..... | 4 |
| Figure 4 : Mécanisme de protection de la muqueuse gastrique contre les lésions chimiques par le mucus-bicarbonate | 5 |
| Figure 5 : Représentation de l'ulcère gastroduodénale..... | 6 |
| Figure 6 : Facteurs d'agression et de protection de la muqueuse gastrique. | 7 |
| Figure 7 : Mécanisme d'action des AINS..... | 8 |
| Figure 8 : Impact du gène PSCA sur le risque de développement de l'ulcère gastrique..... | 9 |
| Figure 9 : Espèces réactives de l'oxygène et inflammation..... | 9 |
| Figure 10 : Réaction d'oxydation et de réduction du glutathion en relation avec la vitamine C et E | 11 |
| Figure 11 : Régulation de l'acidité gastrique et mécanisme d'action des médicaments associés | 12 |
| Figure 12 : Structure chimique de Misoprostol et PGE1 | 12 |
| Figure 13 : Structure chimique du phénol | 13 |
| Figure 14 : Activité antioxydante des flavonoïdes | 14 |
| Figure 15 : Mécanismes cellulaires potentiels des polyphénols en tant que facteurs préventifs ou thérapeutiques dans la gestion de l'ulcère gastrique | 16 |
| Figure 16 : <i>Clematis flammula</i> . A : fleurs, B : feuilles(original). | 17 |
| Figure 17 : Photographie originale représentant les estomacs des rats de chaque lot | 26 |
| Figure 18 : Pourcentages d'ulcérations induites par le diclofénac | 27 |
| Figure 19 : Taux de la myélopéroxydase dans l'ulcère induit par le diclofénac chez tous les lots traités | 28 |
| Figure 20 : Taux de glutathion dans les tissus gastriques des différents lots. | 29 |
| Figure 21 : Activité de la catalase dans l'ulcère induit par le diclofénac chez tous les lots traités..... | 30 |
| Figure 22 : Activité de la super oxyde dismutase dans l'ulcère induit par le diclofénac chez tous les lots traités. | 31 |

Liste des tableaux

| | |
|---|-----------|
| Tableau I : Exemple d'études précliniques de diverses plantes avec des propriétés anti-ulcératives et leurs cibles moléculaires. | 15 |
| Tableau II : classification taxonomique de <i>Clematis flammula</i> | 18 |
| Tableau III : Doses des différents traitements à administrer. | 21 |
| Tableau IV : Lots et traitements | 21 |
| Tableau V : Rendement d'extraction et teneur en polyphénols totaux et en flavonoïde de l'extrait éthanolique de <i>Clematis flammula</i> | 25 |

Introduction

Introduction

L'ulcère gastrique constitue un problème majeur de santé publique au cours du XIXe siècle. Il représente l'une des affections les plus fréquentes du système digestif, avec une prévalence d'environ 5 à 10%. Cette pathologie est caractérisée par des lésions de la muqueuse gastrique, dues à une altération de l'équilibre entre les facteurs offensifs et défensifs (**Satapathy et al., 2024**).

Différents stimuli, y compris l'utilisation excessive de médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), le tabagisme, l'infection par *Helicobacter pylori* (HP), la consommation d'alcool et le stress peuvent entraîner une augmentation de l'incidence d'ulcères gastriques qui se traduit par une inflammation intense avec une augmentation du stress oxydatif (**Shareef et al., 2022**). La génération excessive d'EROs lors de l'ulcère gastrique entraîne l'épuisement de ses systèmes antioxydants (**Park et al., 2021**).

Afin de compenser cette déplétion, la cellule gastrique a recours à l'activation de plusieurs antioxydants enzymatiques tels que la catalase (CAT), la superoxyde dismutase (SOD) et la glutathion peroxydase (GPx). D'autres antioxydants endogènes non enzymatiques tels que le glutathion réduit (GSH) participent aussi à l'élimination des ERO.

Actuellement, les thérapies contre l'ulcère gastrique reposent principalement sur deux approches : la réduction de la production d'acide gastrique et le renforcement de la protection de la muqueuse gastrique. Néanmoins, l'efficacité de ces thérapies est limitée et elles présentent plusieurs effets secondaires (**Li et al., 2023**).

Dans ce contexte, l'utilisation des plantes médicinales est en constante expansion à travers le monde pour la prévention et le traitement de diverses pathologies, avec moins d'effets adverses. En effet, 80% de la population mondiale a recours à la phytothérapie pour prévenir les troubles gastro-intestinaux, notamment les ulcères gastriques (**Djanaev et al., 2022**).

Clematis flammula (CF), une plante répertoriée en Kabylie, est reconnue grâce à ses propriétés phytothérapeutiques variées en raison de sa teneur élevée en composés phénoliques. Traditionnellement, elle est utilisée pour la prévention et la gestion de diverses pathologies inflammatoires notamment l'ulcère gastrique (**Belkhir et al., 2024**). Cette étude vise à évaluer *in vivo* le potentiel gastro-protecteur et préventif de l'extrait éthanolique des feuilles de CF contre l'ulcère gastrique induit par le diclofénac, un anti-inflammatoire non stéroïdien.

Chapitre I

Synthèse Bibliographique

I.1. Estomac

I.1.1. Anatomie de l'estomac

L'estomac est considéré comme un sac musculaire creux et élastique en forme de J, qui se trouve entre l'œsophage et l'intestin grêle (**D'Amico et al., 2012 ; Sherwood et al., 2013**). Il comporte trois parties principales : la grosse tubérosité ou le fundus qui se situe sous l'orifice œsophagien (**Sherwood et al., 2013 ; Hunt et al., 2015**). Directement en dessous, se trouve la grande partie centrale de l'estomac appelée le corps, suivie du pylore ou antre, une région distale étroite qui se connecte avec le duodénum de l'intestin grêle via le sphincter pylorique (Figure1) (**Scott et Fong, 2017**).

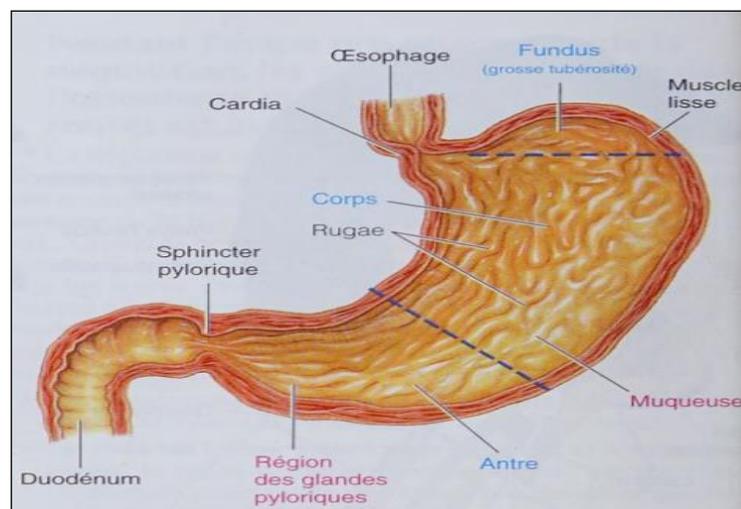


Figure 1 : Anatomie générale de l'estomac (**Sherwood et al., 2013**).

I.1.2. Histologie de l'estomac

L'estomac se compose de quatre couches qui se succèdent de l'extérieur vers l'intérieur par : la séreuse, la musculuse, la sous-muqueuse et la muqueuse (**D'Amico et al., 2012**).

-La séreuse : est la couche conjonctive externe de l'estomac, composée de tissu fibreux lâche (**Ross et al., 2015**). En continuité avec le péritoine, elle constitue une couche protectrice autour de l'estomac et facilite ses mouvements pendant la digestion (**Scott et Fong, 2017**).

-La musculuse ou tunique musculaire : est constituée de trois couches de muscle lisse superposées, qui jouent un rôle principal dans le processus de digestion alimentaire, grâce à leur activité péristaltique (**Johansson et al., 2000**).

-La sous-muqueuse : est une couche épaisse de tissu conjonctif responsable de la distensibilité et de l'élasticité du tube digestif. Elle est riche en vaisseaux sanguins et lymphatiques. On y trouve aussi les plexus nerveux sous-muqueux qui contrôlent l'activité locale de chaque région (Sherwood, 2000 ; Ross *et al.*, 2015).

-La muqueuse : est une couche épaisse qui couvre toute la surface interne de l'estomac. Elle est organisée en tubes glandulaires verticaux (les cryptes) au fond desquelles se trouvent les glandes gastriques, avec trois types principaux de cellules sécrétrices (Melchior et Savoye, 2020) :

- Les cellules zymogènes ou principales : sécrètent l'enzyme gastrique principale, la pepsinogène qui est le précurseur de la pepsine.
- Les cellules pariétales (oxyntiques) : sécrètent de l'acide chlorhydrique (HCl).
- Les cellules muqueuses : sécrètent du mucus, un revêtement protecteur de l'épithélium gastrique contre l'acidité du suc gastrique.

I.1.3. Physiologie de l'estomac

Les cellules pariétales sécrètent le HCl, grâce à l'activité ATPasique de la pompe à protons H^+/K^+ , où le H^+ cytoplasmique est expulsé dans la lumière gastrique en échange d'un ion K^+ . Le H^+ sécrété provient de la décomposition de H_2O en H^+ et OH^- (Figure 2) (Ross *et al.*, 2015).

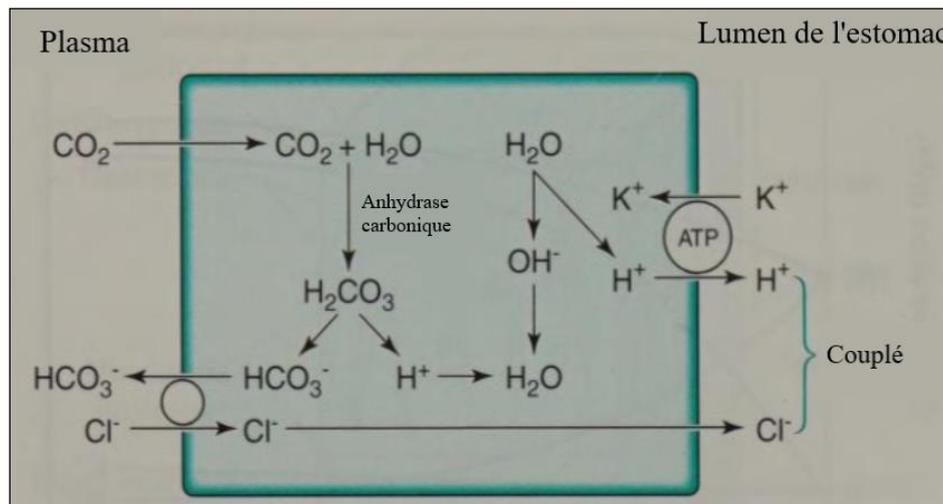


Figure 2 : Sécrétion d'acide chlorhydrique par la cellule oxyntique (Smith et Morton, 2001).

Ce dernier est neutralisé par un autre H^+ provenant de la dissociation de l'acide carbonique (H_2CO_3), qui est synthétisé par l'anhydrase carbonique à partir du dioxyde de carbone (CO_2) et d'eau (H_2O) (Figure 2) (Johansson *et al.*, 2000).

La stimulation de l'acide gastrique est principalement régulée par trois agents secrétagogues nerveux, hormonaux et paracrines, qui sont respectivement assurés par l'acétylcholine, la gastrine et l'histamine (Figure 3).

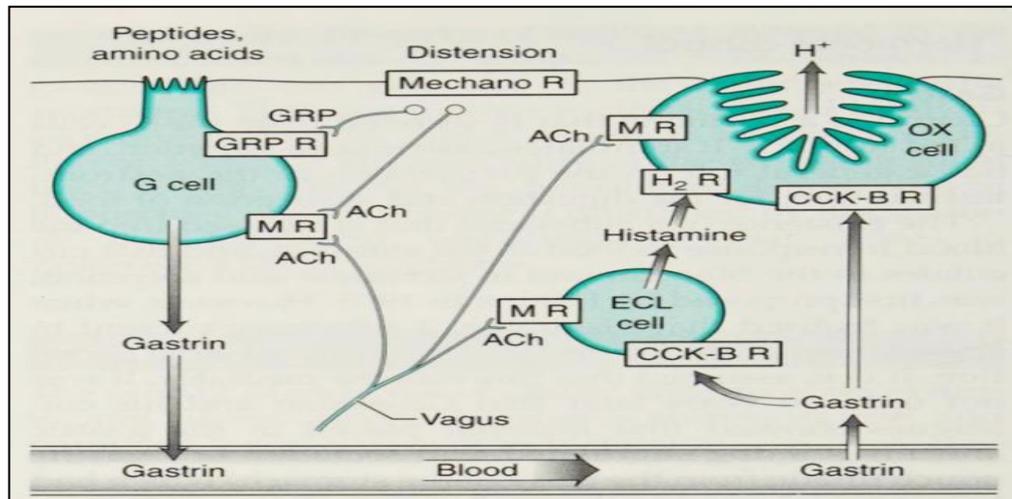


Figure 3 : Mécanismes de stimulation de la sécrétion acide de la cellule oxyntiques (Smith et Morton, 2001). Ach: acétylcholine; GRP: gastrin releasing peptide; CCK-BR: cholecystokin B receptor; H₂R: histamine H₂receptor; MR: muscarinic receptor; OX: oxyntic.

-La gastrine : est sécrétée par les cellules G, localisées dans la région antrale. Elles induisent la sécrétion d'acide en agissant soit directement sur les cellules pariétales, ou indirectement en stimulant les cellules Entero-Chromaffin-Like (ECL). La gastrine augmente également la synthèse de la pompe à protons dans la cellule oxyntique, en stimulant l'expression génique de ce dernier (Waldum et al., 2014 ; Engevik et al., 2020).

-Histamine : est synthétisée au voisinage des cellules pariétales par les cellules ECL à partir de l'histidine. Elle stimule la sécrétion acide par l'intermédiaire de récepteurs à histamine (H₂) couplés à l'adénylate cyclase (AC) (Smith et Morton, 2001 ; Schubert, 2016).

-L'acétylcholine : est synthétisé par des fibres nerveuses cholinergiques dans les nerfs locaux. Elles induisent la libération du HCl par les cellules oxyntiques, et la gastrine par les cellules G (Smith et Morton, 2001).

Par effet rétroactif, la sécrétion d'acide gastrique est bloquée si le contenu de l'estomac devient trop acide (pH ≤ 3) (Johansson et al., 2000), qui stimule la libération de la :

-somatostatine : par les cellules D de la muqueuse antrale. Elle agit directement sur les cellules oxyntiques ou indirectement en inhibant la libération de la gastrine et l'histamine via les récepteurs somatostatine-2 (ST-2) (Smith et Morton, 2001 ; Engevik et al., 2020).

- prostaglandine : agit par voie paracrine en inhibant la sécrétion acide par action directe sur les cellules pariétales ou en inhibant la sécrétion de la gastrine. Elle joue aussi un rôle cytoprotecteur en favorisant la sécrétion du mucus et de bicarbonate (Figure 3) (Schubert, 2016).

La muqueuse gastrique est protégée contre les agressions chimiques du suc gastrique par une barrière de surface mucus-bicarbonate (Reynolds, 2016).

Les cellules à mucus sécrètent du mucus qui forme un revêtement protecteur de l'épithélium gastrique en empêchant le passage des enzymes protéolytiques (Silbernagl et al., 2000). Le mucus est composé de glycoprotéines très hydrophiles, qui retardent la diffusion du bicarbonate (HCO_3^-) loin de l'épithélium, ces ions agissant comme des capteurs d' H^+ endolumineux provenant de la lumière de l'estomac (Figure 4) (Allen et Flemström, 2005 ; Lacour et Belon, 2015).

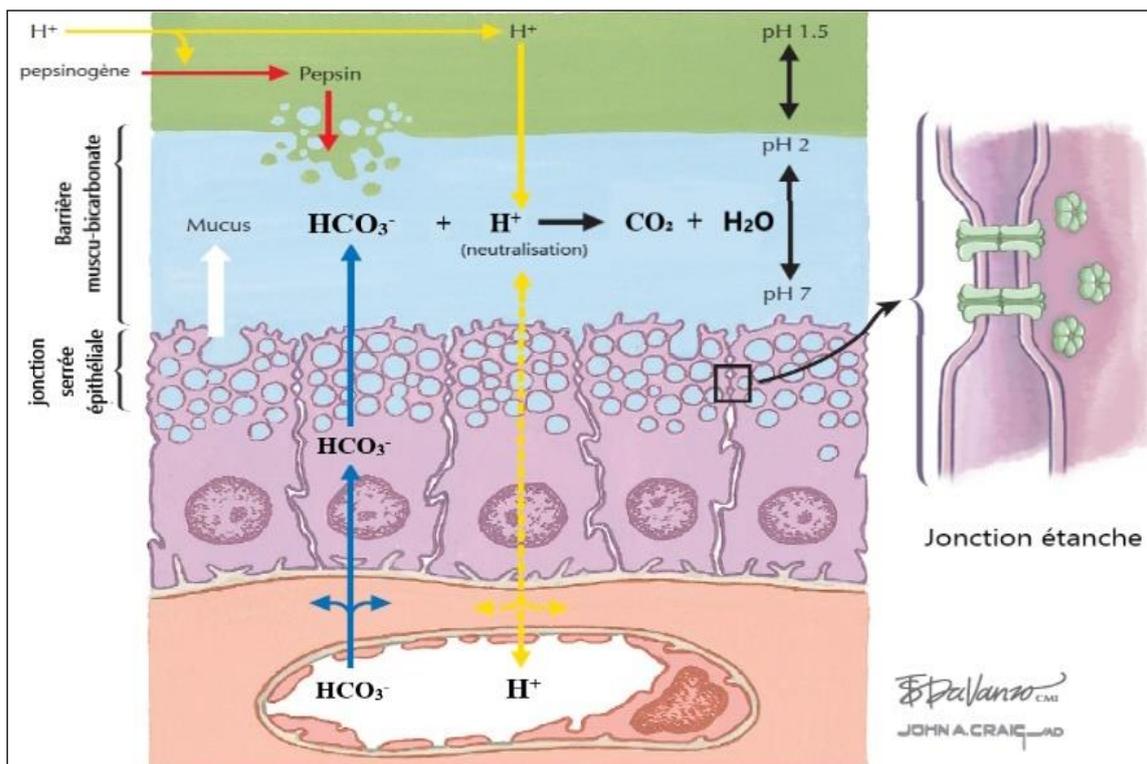


Figure 4 : Mécanisme de protection de la muqueuse gastrique contre les lésions chimiques par le mucus-bicarbonate (Reynolds, 2016).

I.2. Ulcère gastrique

L'ulcère gastroduodénal est une maladie chronique récurrente qui se définit comme une rupture de l'intégrité normale de la muqueuse gastrique et caractérisée par une cicatrisation défectueuse. Elle peut s'étendre à travers la muqueuse jusqu'à la sous-muqueuse ou plus profond (Graham, 2014). Généralement, c'est une maladie non mortelle, dont l'indice varie en fonction de l'âge et du sexe et qui se manifeste principalement par des hémorragies. Cependant, elle peut évoluer vers une tumeur maligne si elle n'est pas traitée (Figure 5) (Graham, 2014).

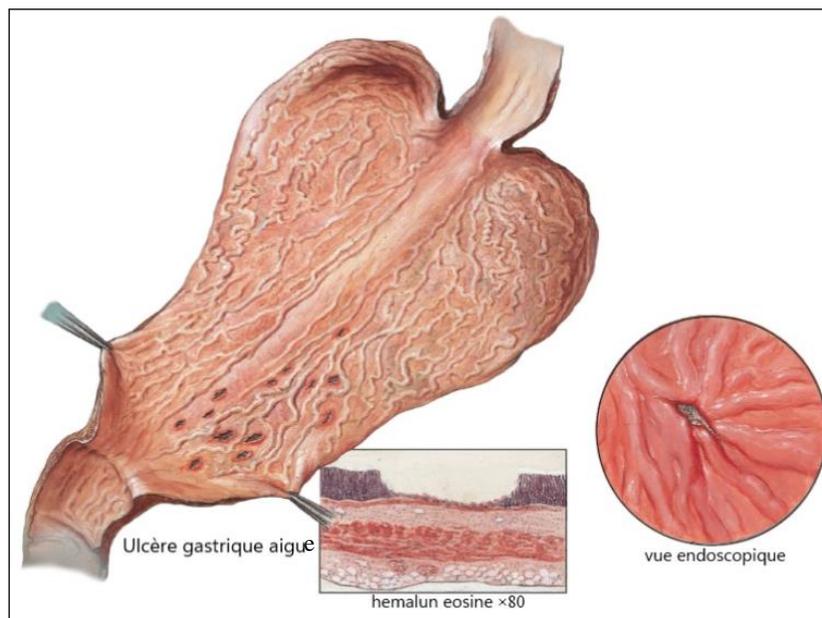


Figure 5 : Représentation de l'ulcère gastroduodénale (Reynolds, 2016).

I.2.1. Physiopathologie de l'ulcère

La muqueuse gastrique normale maintient un équilibre entre les facteurs protecteurs et les facteurs agressifs (Abdel-Sater, 2011). Les cellules pariétales sécrètent le HCl, et les cellules peptiques sécrètent de la pepsine, qui ne peut digérer les protéines que lorsque le pH est faible (entre 2 et 3). Dans le cas où le mucus produit est insuffisant, la muqueuse est digérée par l'acidité de l'estomac, ce qui entraîne un ulcère gastroduodénal (Satapathy et al., 2024).

I.2.2. Facteurs d'agression de la muqueuse gastrique

Les facteurs agressifs gastriques sont principalement, une infection par *H.Pylori* et le HCl. D'autres facteurs à l'origine de l'ulcère sont la cirrhose alcoolique, le facteur génétique, et le recours aux anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) (Figure 6) (Satapathy et al., 2024).

- L'acide gastrique HCl : induit des lésions de la muqueuse gastrique provoquant ainsi une réponse inflammatoire (Satapathy et al., 2024).
- L'alcool : son contact direct avec la muqueuse peut induire de nombreux changements métaboliques et fonctionnels, amenant à la formation de lésions marquées de cette dernière (Abdel-Sater, 2011).

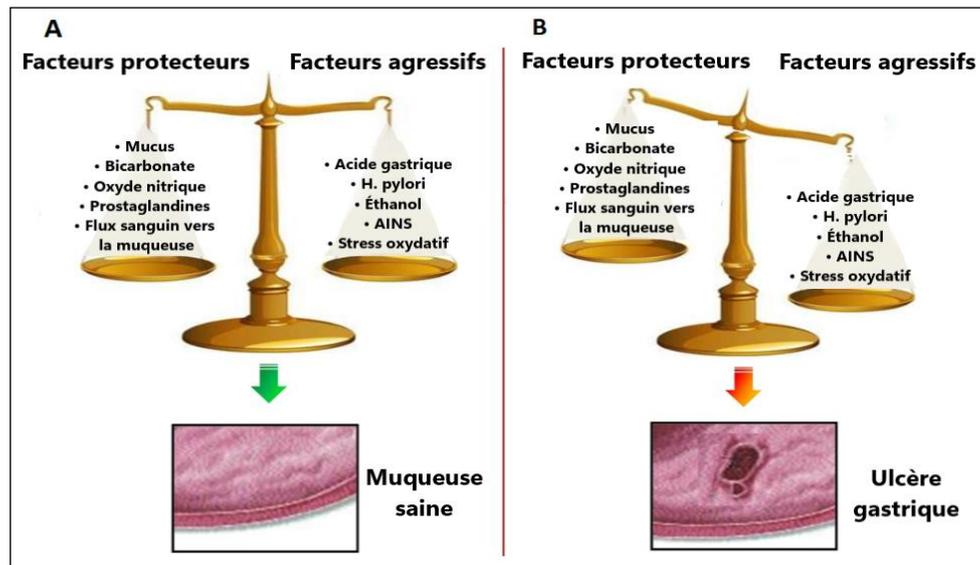


Figure 6 : Facteurs d'agression et de protection de la muqueuse gastrique (Abdel-Sater, 2011).

- Le stress : est un facteur déterminant de l'ulcère gastrique, il peut retarder la guérison ou aggraver des ulcères gastriques déjà existants. Il ralentit la motilité du tube digestif et permet à l'acide gastrique de s'accumuler dans l'estomac (Abdel-Sater, 2011).
- H. pylori : l'infection par *H.pylori* est associée à un risque de développement d'une maladie ulcéreuse avec une prévalence allant jusqu'à 90% (Abdel-Sater, 2011). Le système immunitaire humain ne peut pas éliminer la bactérie. Elle survit dans l'estomac et induit une inflammation chronique avec une infiltration marquée de neutrophiles polymorphonucléaires et une production excessive de ERO, aggravant ainsi l'inflammation (Handa et al., 2010).
- Les AINS : sont la cause d'une incidence élevée (1/175) de l'ulcère gastrique, la mortalité pouvant atteindre 5 à 10% (Lazzaroni et Bianchi, 2004). L'inhibition de la COX-1 par ces AINS entraîne une réduction du flux sanguin gastrique à cause de la baisse de la synthèse des prostaglandines gastriques, ce qui mène à une augmentation de la production d'acide, une diminution de la production de mucus, une rétrodiffusion des ions H^+ dans la muqueuse gastrique, et une réparation cellulaire retardée (Figure 7) (Santos et al., 2012).

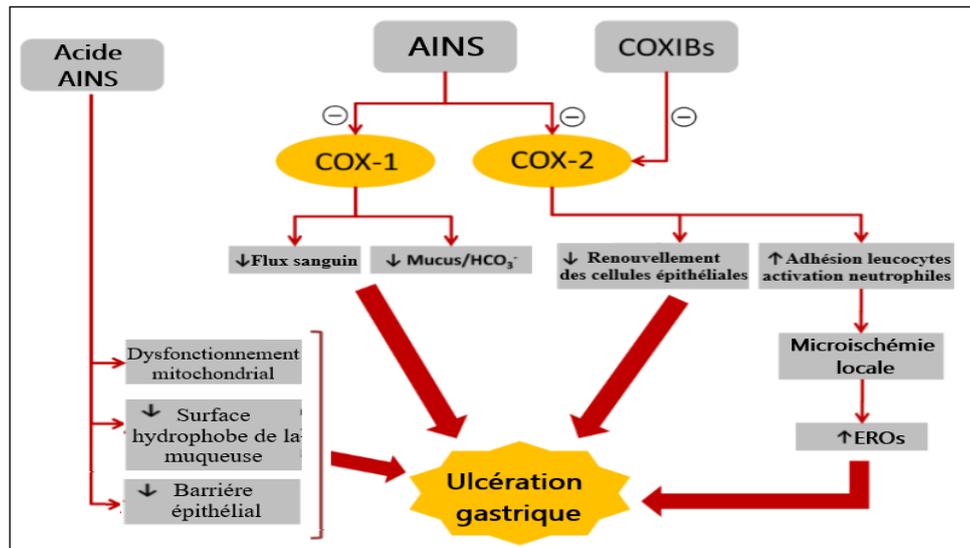


Figure 7 : Mécanisme d'action des AINS (Fornai et al., 2011).

Les AINS perturbent également les phospholipides membranaires ce qui conduit à la formation des pores dans la membrane et permet la rétrodiffusion de l'acide produit par les cellules pariétales entraînant, ainsi la mort cellulaire par apoptose et nécrose et le développement d'ulcère gastrique. Ils inhibent aussi la cicatrisation des lésions et les événements ultérieurs de prolifération cellulaire et d'angiogenèse (Musumba et al., 2009).

En outre, les AINS inhibent la phosphorylation oxydative mitochondriale et répriment aussi l'expression des protéines de choc thermique (PCT) liées à l'intégrité de la membrane cellulaire, ce qui conduit à la création de lésions épithéliales suivies par la libération de divers facteurs inflammatoires (leucotriènes B4, histamine et le facteur de nécrose tumorale TNF- α , activateur de neutrophiles). L'infiltration de ces neutrophiles provoque des dommages fonctionnels du mucus (Abdel-Sater, 2011).

- **Facteur génétique :** Il est impliqué dans le risque d'ulcère gastrique (Abdel-Sater, 2011). Deux mutations seraient responsables dans cette augmentation de ce risque.
 - La première toucherait l'allèle C du gène (PSCA)rs2294008, qui causerait une augmentation directe de risque de l'ulcère gastrique, indépendamment de l'âge, du sexe, du tabagisme, de la consommation d'alcool et du statut de *H.pylori* (Figure 8) (Usui et al., 2021). Cette mutation code pour une protéine PSCA tronquée sensible à la dégradation protéique, ce qui provoquerait l'activation des cellules T CD4 positives et /ou CD8 positives favorisant ainsi les lésions de la muqueuse épithéliale (Tanikawa et al., 2013).

- La deuxième mutation toucherait l'allèle T du même gène, ce qui provoque une sous-expression de la protéine PSCA localisée sur la surface des cellules et qui pourrait entraîner une prolifération épithéliale insuffisante pour contrecarrer les dommages gastriques (Usui et al., 2021).

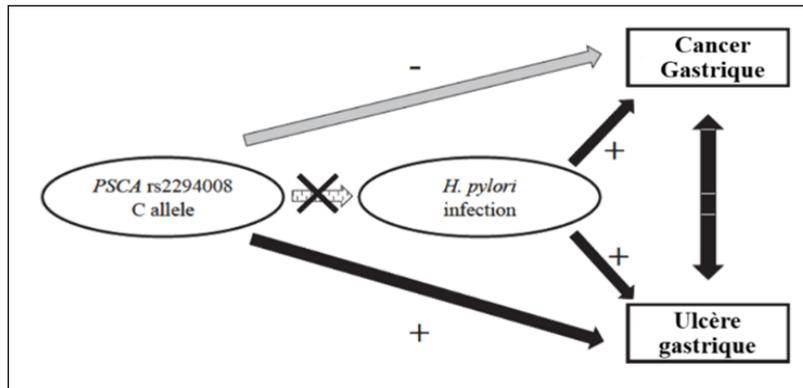


Figure 8 : Impact du gène PSCA sur le risque de développement de l’ulcère gastrique (Usui et al., 2021). PSCA: Prostate stem cell antigen; *H. pylori*: *Helicobacter pylori*.

I.2.3. Inflammation causée par l’ulcère

L’inflammation causée par les lésions ulcéreuses implique différents types de cellules du système immunitaire et des voies de signalisation. Elle mène à l’activation de multiples voies inflammatoires et prolifératives au niveau cellulaire, produisant ainsi des EROs qui sont présents à des niveaux élevés dans les tissus enflammés (Figure 9) (Danis et al., 2021).

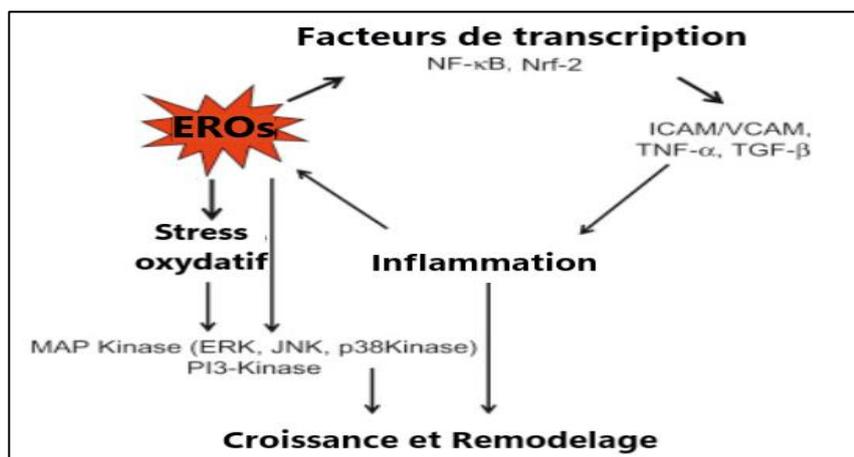


Figure 9 : Espèces réactives de l’oxygène et inflammation (Chatterjee, 2016). NF-κB : Nuclear Factor kappa B, Nrf2: Nuclear factor erythroid 2-related factor 2, ICAM: InterCellular Adhesion Molecule, VCAM : VascularCellular Adhesion Molecule, TNFα : Tumor Necrosis Factor alpha, TGF-β : Transforming Growth Factor Beta, MAP kinase : Mitogen Activated Protein kinase, ERK : Extracellular signal regulated kinase, JNK : Jun N-terminal kinase, PI3- kinase: phosphatidylinositol 3-kinase.

I.2.3.1. Stress oxydatif et inflammation

Les EROs sont engendrés en tant que sous-produits du métabolisme cellulaire par la chaîne de transport d'électrons (CTE) dans les mitochondries. Ils agissent à la fois comme des molécules de signalisation, qui régulent la croissance cellulaire, l'adhésion des cellules, la différenciation, la sénescence et l'apoptose (Figure 9). Cependant, en excès, ils sont nocifs, car ils oxydent les constituants cellulaires protéiques et lipidiques et endommagent l'ADN (Mittal et al., 2014), et tendent à exacerber l'inflammation (Figure 9). Dans ce sens, l'élimination des EROs permettra d'atténuer l'inflammation, par des systèmes antioxydants endogènes et exogènes.

Par ailleurs, les EROs, influencent l'activation de la voie NF-kB principalement en inhibant la phosphorylation de I κ B α , les cascades de protéines kinases composées des kinases liées au signal extracellulaire (ERK), (JNK), de la kinase P38, et de la voie MAPk, et ICAM-1 qui est considéré comme un marqueur de réponse inflammatoire par l'activation des NF-kB, ERK, conduisant à la libération de cytokines inflammatoires (MIP, TNF α , et IL-6). Ces voies majeurs pour la transduction du signal intracellulaire jouent un rôle important dans divers processus cellulaires par une cascade des phosphorylation, déphosphorylation, ubiquitination, tels que la croissance, la différenciation, le développement le cycle cellulaire, la survie et la mort cellulaire, en raison de leur capacité a activé ou désactivé une variété de récepteurs, de protéines, d'ions et d'autres molécules de signalisation, lorsque l'équilibre redox est perturbé (Zhang et al., 2016 ; Bui et al., 2020).

I.2.3.1. Systèmes de défense antioxydant endogènes

Les EROs peuvent être éliminés par des antioxydants enzymatiques (superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT) et glutathion peroxydase (GPX)), et non enzymatiques (glutathion, co-enzyme 10, acide urique) (Danis et al., 2021).

- **La superoxyde dismutase** : est une métallo-enzyme endogène, qui catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en oxygène moléculaire et peroxyde d'hydrogène (Stephanie et al., 2020) suivant la réaction suivante : $O_2^- + O_2^- + H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2(1)$
- **La catalase** : Elle catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène en H₂O, selon la réaction suivante (2) : $2H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2H_2O (2)$.
- **Le glutathion (GSH)** : est un tripeptide (γ -L-glutamyl-L-cysteinylglycine) impliqué dans la signalisation du stress oxydatif (Sreekumar et al., 2021). Il attaque directement les composés

oxygénés et joue un rôle essentiel dans le recyclage des antioxydants comme les vitamines C et E (Figure 10) (Haleng *et al.*, 2007). Il est aussi un cofacteur de la glutamate-péroxydase (GPx) qui est principalement responsable de la réduction intracellulaire du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau avec le GSH servant en tant que donneur d'électrons. Ainsi, le GSH est oxydé en disulfure de glutathion (GSSG) par l'activité GPx et rapidement rétabli en GSH par la réaction catalysée par la glutathion-réductase (GR) (Figure 10) (Patel *et al.*, 2014 ; Yapet Lye, 2020).

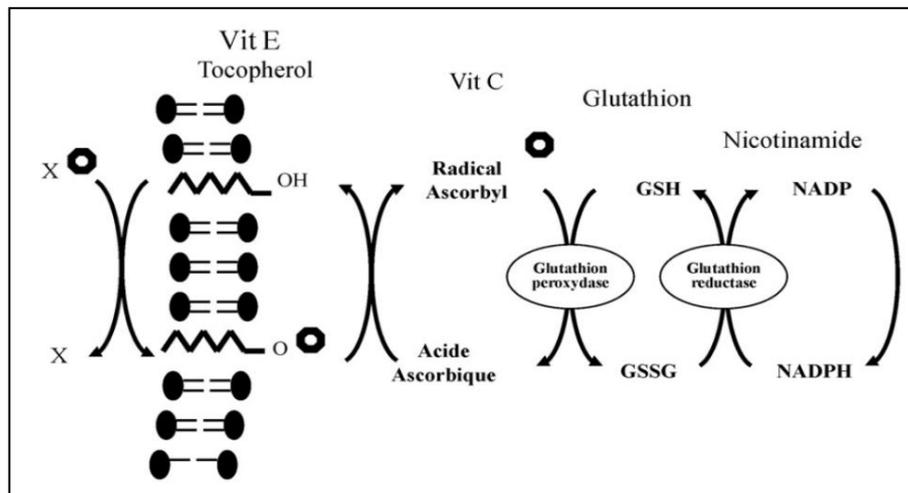


Figure 10 : Réaction d'oxydation et de réduction du glutathion en relation avec la vitamine C et E (Leverve, 2009). GSH : glutathion réduit, GSSG : Disulfure de glutathion, NADP : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate, NADPH : Nicotinamide-Adénine-Dinucléotide-Phosphate Hydrogéné, ● radicaux libres.

Les antioxydants exogènes sont tous les antioxydants qui viennent d'un apport alimentaire, parmi eux les polyphénols, dont les plantes sont une source importante (Danis *et al.*, 2021).

I.2.4. Thérapeutique de l'ulcère

Les traitements les plus couramment prescrits pour l'ulcère gastrique induit par les AINS sont principalement classés en deux catégories : les médicaments protecteurs de la muqueuse et les médicaments anti-sécrétoires (Montreuil, 2021), avec des principes actifs différents représentés dans l'annexe I-A.

I.2.4.1. Traitements médicamenteux

Leurs différents mécanismes d'actions sont résumés dans la figure 11.

-Les anti- H_2 (antihistaminiques) : sont des antagonistes compétitifs des récepteurs de l'histamine 2 (H_2) présents dans les cellules pariétales qui bloquent la production d' HCl (Kavitt *et al.*, 2019)

-Les antiacides : agissent en neutralisant les protons de l'acide chlorhydrique (HCl), afin d'ajuster le pH (Greenberget *et al.*, 2012).

- Les inhibiteurs de la pompe à protons (IPP) : ils bloquent complètement la production d'acide gastrique en se liant de manière sélective et irréversible à la pompe à protons H^+K^+ /ATP-ase au niveau des cellules pariétales (Miskovitz et Betancourt, 2005).

-Les analogues de la prostaglandine : ils ont une fonction double, car ils renforcent à la fois les propriétés défensives de la muqueuse (stimule la sécrétion de mucus et de bicarbonate) et inhibent la sécrétion acide. Ils sont généralement prescrits afin de permettre aux patients de prendre des AINS sans risque d'ulcère (effet préventif) (Wolfe *et al.*, 2006 ; Kalant *et al.*, 2007).

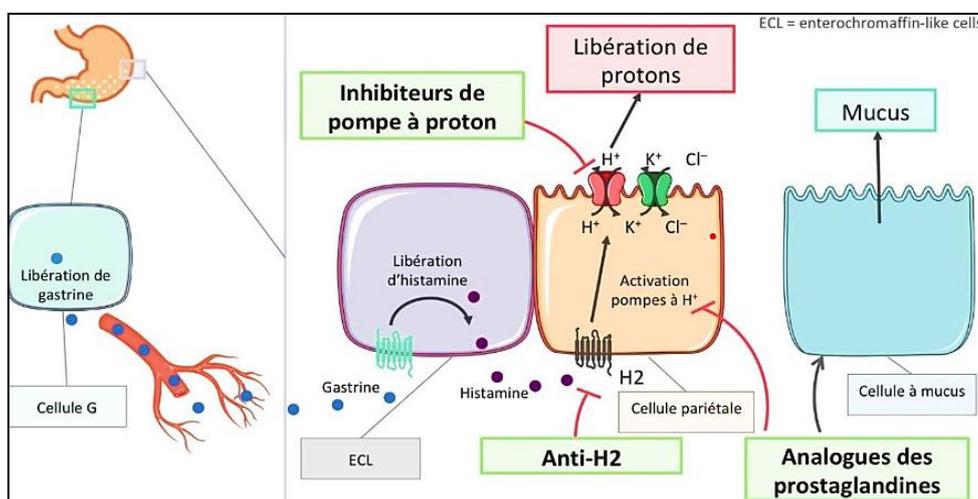


Figure 11 : Régulation de l'acidité gastrique et mécanisme d'action des médicaments associés (Montreuil, 2021).

Le Misoprostol est un analogue synthétique ou 15-deoxy-16-hydroxy- 16-méthyl de la prostaglandine E1 (PGE¹) (Figure 12). Son efficacité réside à la fois dans la prévention et la guérison des ulcères gastriques causés par des AINS (Collins, 1990).

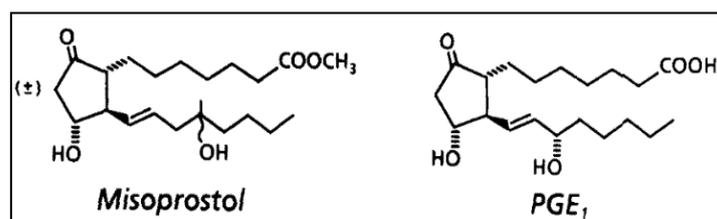


Figure 12 : Structure chimique de Misoprostol et PGE1(Collins, 1990).

I.2.4.2. Traitements naturels

Le mot phytothérapie vient du grec (therapeia = traitement, phyton = plantes) ; c'est l'utilisation de plantes médicinales dans le traitement de diverses maladies. Il s'agit bien de l'une des pratiques thérapeutiques les plus anciennes utilisées par l'homme datant à 8 500 av. J.-C (**Leite et al., 2021**). Les effets curatifs des plantes médicinales découlent du fait qu'elles contiennent un large éventail de métabolites secondaires, dont les polyphénols (**Prayoga et al., 2024**).

I.3. Polyphénols

Les polyphénols contiennent au moins deux anneaux phényles comportant un substitut hydroxylique unique ou additionnel (Figure 13) (**Swallah et al., 2020**).

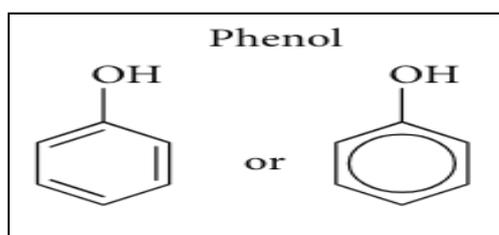


Figure 13: Structure chimique d'un phénol (**Swallah et al., 2020**).

Les composés phénoliques sont produits dans les plantes par deux voies métaboliques distinctes (**Belščak-Cvitanović et al., 2018**).

- La première voie est celle de l'acide shikimique, qui produit principalement les phénylpropanoïdes.
- La deuxième voie est la voie de l'acide acétique, qui produit principalement les phénols simples.
- La combinaison de ces deux voies métaboliques conduit à la formation des flavonoïdes, le groupe phénolique le plus répandu dans la nature (**Belščak-Cvitanović et al., 2018**).

I.3.1. Classification des polyphénols

Les composés phénoliques ont une structure très variée et sont classés en différentes catégories, les principales étant les flavonoïdes, les acides phénoliques et les tanins illustrées dans l'annexe I-B.

I.3.2. Activités biologiques des polyphénols

Les polyphénols possèdent une gamme d'activités biologiques diverses, parmi elles, anti-oxydantes, anti-inflammatoires et anti-ulcéreuses (Farzaei, 2015 ; Serafim et al., 2020).

➤ **Activité anti-oxydante** : Les polyphénols exercent des effets bénéfiques sur le traitement de l'ulcère par l'activité antioxydante. A part leur capacité d'éliminer directement les EROs, ils stimulent l'activité des antioxydants enzymatiques (SOD, CAT, GPx) et non-enzymatique (GSH) afin de prévenir la peroxydation des lipides, protégeant ainsi l'intégrité des membranes cellulaires du tissu gastrique (Figure 9 et 14) (Zhang et al., 2020). En outre, Ils peuvent également réguler la voie du facteur nucléaire lié à l'érythroïde 2 (Nrf2)/hème oxygénase-1 (HO-1) pour réduire le stress oxydatif. Nrf2 est lié au régulateur négatif Keap1 et reste dans un état inactif dans le cytoplasme dans des conditions physiologiques cellulaires normales. Une fois que les cellules se rencontrent un stress oxydatif, Nrf2 dissocié de Keap1, favorisant ainsi la translocation de Nrf2 du cytoplasme au noyau, conduisant à l'activation transcriptionnelle des gènes qui régule la phase II de détoxification et régule à la hausse les gènes antioxydants HO-1 (Zhou et al., 2020). La régulation de l'expression de HO-1 entraîne une accumulation accrue de fer, de bilirubine et de monoxyde de carbone, ce qui réduit la sensibilité des cellules gastro-intestinales aux dommages oxydatifs (Yanaka, 2018).

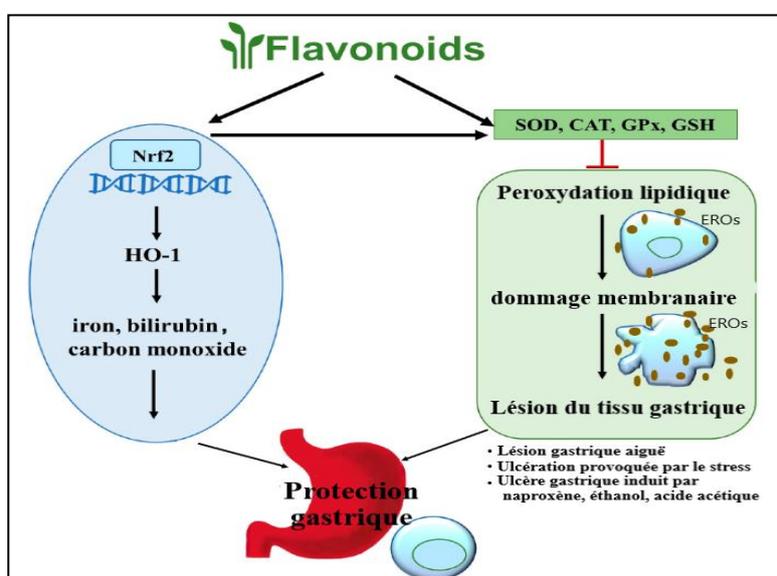


Figure 14 : Activité antioxydante des flavonoïdes (Zhang et al., 2020). Nrf2: Nuclear factor erythroid 2-related factor2, HO-1: Hème Oxygenase-1.

➤ **Activité anti-inflammatoire** : les flavonoïdes améliorent les symptômes inflammatoires dans l'ulcère gastrique en régulant la myéloperoxydase (MPO), la synthèse d'oxyde nitrique (NOS), et l'inhibition des voies de signalisation inflammatoire (MAPK/P65 ;

NF- κ B p65/p50/52), d'autre part le facteur NRF2 régule également l'inhibition de NF- κ B (Figure15), inhibant ainsi la signalisation pro-inflammatoire (TNF- α , IL-1 β et IL-6) et en augmentant les anti-inflammatoire l'IL-10. Cette atténuation contribue à la protection de la muqueuse gastrique contre les lésions oxydatives (Jain et al., 2015 ; Yanaka, 2018).

➤ **Activité anti-ulcéreuse** : les polyphénols occupent une place prépondérante dans la réduction de l'ulcère gastrique, et cela se fait par plusieurs mécanismes y compris l'activité sécrétrice anti-acide, les effets cytoprotecteur, les activités antioxydantes, anti-inflammatoires la croissance anti-*H. pylori*, la promotion de l'angiogenèse, la régulation du métabolisme des acides aminés et la promotion des activités motrices gastro-intestinales (Figure 15), Plusieurs plantes se sont avérées posséder des capacités gastro-protectrices (tableau I) (Zhang et al., 2020).

Tableau I : Exemple d'études précliniques de diverses plantes avec des propriétés anti-ulcéraires et leurs cibles moléculaires.

| Plante | Extrait | Composition | Agent Ulcérogène | Activités | Références |
|------------------------------|------------------------|--|--------------------------|---|--------------------------------|
| <i>Solidago chilensis</i> | Extrait méthanolique | Quercitrin | HCl/Ethanol | ↑GSH ↓MPO | (De Barros et al., 2016) |
| <i>Gentiana triflora</i> | Extrait méthanolique | Isoorientin | AINS Indométacine | ↓MDA ↑ GSH, SOD | (Karaođlan et al., 2018) |
| <i>Glycyrrhiza glabra</i> | Extrait éthanolique | Saponine | Aspirine | ↓TNF-a/NO/ IL-6 ↑CAT/SOD/GSH | (Aslam et al., 2015) |
| <i>Merremia tridentata</i> | Extrait brut d'acétone | Flavonoïde | HCl/éthanol | ↑CAT/SOD/GSH Anti-ulcère | (Sowndhar arajan & Chin, 2014) |
| <i>Croton campestris</i> | Hydroalcoolique | Flavonoïde | Ethanol/ indométacine | Gastro protectif | (Júnior et al., 2013) |
| <i>Euphorbia umbellata</i> | Extrait méthanolique | Dérivé de quercitrine | Ethanol/ indométacine | ↑Cat Anti-ulcère | (Minozzo et al., 2016) |
| <i>Matricaria chamomilla</i> | Extrait éthanolique | Chrysin Kaempferol/ Acide ascorbique | Éthanol | ↑Mucus/GSH ↓MDA | (Cemek et al., 2010) |
| <i>Rhizophora mangle L</i> | Extrait éthanolique | Quercétine/ Proanthocyanidins | Acide acétique | ↑PGE2/EGF, COX, NO, ↓MPO/ TNF-a/ ILs | (De-Faria et al., 2012) |

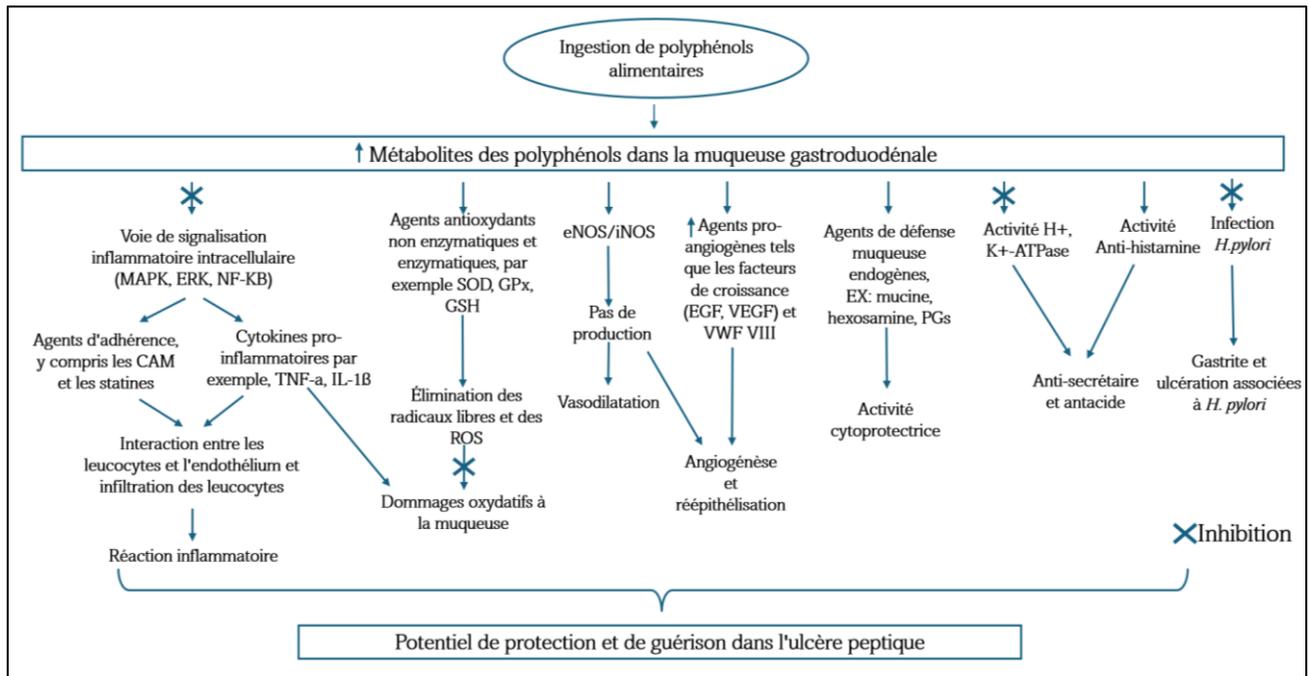


Figure 15 : Mécanismes cellulaires potentiels des polyphénols en tant que facteurs préventifs ou thérapeutiques dans la gestion de l'ulcère gastrique (Farzaei, 2015).

Les composés de *Clematis flammula* peuvent jouer un rôle crucial dans la prévention et la gestion de diverses pathologies notamment pour traiter les troubles à caractère inflammation tels que les infections cutanées et le maladies exanthématiques, elle est largement répandue dans le bassin méditerranéen (Belkhir et al., 2024).

Dans la présente étude, l'efficacité gastro-protectrice de l'extrait hydro éthanolique des feuilles de *Clematis flammula* a été testée chez des rats de laboratoire, contre un inducteur d'ulcère le diclofénac qui est un anti-inflammatoire non stéroïdien, ou cet effet gastro-protecteur a été comparé avec une molécule de référence le misoprostol.

Chapitre II
Matériel et méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel végétal

II.1.1.1. Description botanique

Clematis flammula ou clématite flammette, également appelée azenzou en kabyle, est une plante grimpante, largement distribuée en Kabylie. Il s'agit d'une espèce de plantes florifères, grimpantes rustiques à feuilles caduques. Elle peut atteindre une hauteur comprise entre 3 à 4 mètres. Sa particularité réside dans ses petites fleurs d'un blanc pur (Figure 16) (Leeds et Toomey, 2001).



Figure 16 : *Clematis flammula*. A : fleurs, B : feuilles (originale).

II.1.1.2. Répartition géographique

C. flammula est un arbuste méditerranéen largement répandu dans le sud de l'Europe notamment en Espagne, en Italie et en Turquie (Medjahed et al., 2023).

II.1.1.3. Taxonomie

La classification taxonomique (Tableau II) de *Clematis flammula* a été rapportée par Loudon (1830).

Tableau II : classification taxonomique de *Clematis flammula* (Loudon, 1830).

| | |
|----------------------|--------------------------|
| Règne | Plantae |
| Embranchement | Magnoliophyta |
| Classe | Angiospermae |
| Ordre | Ranunculales |
| Famille | Renonculacées |
| Sous-famille | Ranunculoideae |
| Genre | Clematis |
| Espèce | <i>Clematis flammula</i> |

II.1.1.4. Composition chimique

L'hydrolat de *C.flammula* est principalement constitué de composés organiques, pouvant atteindre jusqu'à 97% du poids sec (Saidi et al., 2019). La présence de proto-anémone dans les feuilles fraîches de la plante peut causer une irritation de la peau, mais lors du séchage, le proto-anémone est transformé en un métabolite, l'anémone qui est, par contre, inoffensif (Chawla et al., 2012). Le criblage phytochimique des extraits de *C. flammula* a révélé la présence d'un large éventail de métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les stéroïdes et les triterpénoïdes (Saidi et al., 2017), ainsi que l'acide gallique, quercétine, acide coumarique, rutine, acide tartrique, kampferol, chrysin et la curcumine (Chawla et al., 2012). Des recherches récentes ont révélé que les extraits de feuilles étaient plus riches en composés phénoliques que les extraits de fleurs (Saidi et al., 2019), les flavonoïdes étant des flavanols glycosylés (Medjahed et al., 2023).

II.1.1.5. Usage thérapeutique

Les usages thérapeutiques traditionnels de cette plante ont été rapportés par certains auteurs comme antifongique, cytotoxique, anti-inflammatoire et antioxydant (Chohra et al., 2020 ; Baaziz et al., 2022) qui résident en particulier dans sa partie aérienne. Son usage traditionnel en Kabylie se résume par l'application des feuilles vertes sous forme de cataplasme pendant dix minutes sur les genoux des patients souffrant d'arthrite chronique (Marc et al., 2008 ; Medjahed et al., 2023). Les feuilles séchées sont principalement utilisées soit dans la préparation d'infusions ou en cataplasme, dans le but de traiter diverses maladies, telles les brûlures superficielles, la goutte, la varicosité et les ulcères (Saidi et al., 2018). En Jordanie, les feuilles de *C. flammula* sont utilisées pour lutter contre le cancer (Afifi-Yazar et al., 2011)

grâce à ses propriétés antitumorales, confirmées par **Medjahed et al., (2023)**. De plus, cette plante est caractérisée par son effet protecteur contre la cardiotoxicité induite par les lipopolysaccharides (**Guesmi et al., 2019**).

II.1.2. Espèce animal et conditions d'élevage

Afin d'évaluer l'efficacité anti-ulcère de l'extrait éthanolique de *Clematis flammula*, un effectif de 32 rats mâles (250-320g) de la souche Wistar prévenant de l'Institut Pasteur d'Alger (IPA), ont été utilisés. Ces rats ont été maintenus dans des conditions favorables d'élevage au niveau de l'animalerie de l'université de Bejaia, à une température de 27 à 30°C et une photopériode de 12h/12h par jour. Les rats ont été logés dans 16 cages (2 rats par cage), avec accès libre à l'eau et à l'aliment de bouchon. Le nettoyage des cages a été effectué trois fois par semaine jusqu'à la fin de l'expérimentation. Les rats ont été privés de nourriture pendant 18 heures avec l'expérience.

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation de l'extrait et dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes

Les feuilles de *C. flammula* (CF) ont été récoltées en avril 2023 dans la forêt d'Azru n'Bechar, située dans la commune d'Amizour, wilaya de Bejaia. Après leur identification au sein du laboratoire de botanique de l'université, les feuilles de CF ont été nettoyées, séchées à l'air libre à température ambiante, ensuite broyées à l'aide d'un broyeur électrique, puis tamisées en une poudre fine de 63 µm de diamètre. La poudre a été mélangée avec de l'éthanol à 10% (1 g de poudre dans 60 ml d'éthanol) et placée dans un bain ultrasonique à 55°C pendant 10 min, puis le mélange a été filtré, et le solvant a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif avant d'être lyophilisé. Enfin, l'extrait a été stocké à -20 °C jusqu'à son utilisation.

II.2.1.1. Rendement de l'extraction

Selon **Carré (1939)**, le pourcentage de rendement est défini comme le rapport entre la masse de l'extrait et la masse initiale de la plante en poudre. La formule est représentée comme suit :

$$R = \frac{M}{M_0} \times 100$$

- R (%) : Rendement exprimé en %

- M : Masse en grammes de l'extrait sec obtenu

- M₀ : Masse en grammes de la poudre végétale utilisée (g)

II.2.1.2. Dosage des polyphénols

La teneur totale en polyphénols de l'extrait de *C. flammula* a été évalué selon la méthode Folin-Ciocalteu (Kähkönen et al., 1999). Son principe repose sur la réaction entre les groupements hydroxyyles des polyphénols présents et le réactif de Folin-Ciocalteu qui se transforme en oxyde de tungstène et de molybdène, ce qui donne une teinte bleue. Dans une microplaque de 96 puits, 20 µL de l'extrait de plante dissous dans de l'eau distillée a été mélangé avec 100 µL du réactif Folin dilué (1/10). Après incubation de 2 à 3 minutes, 80 µL de carbonate de sodium (7,5 %) ont été ajoutés. La microplaque a été incubée pendant 30 minutes à température ambiante, avant que l'absorbance ne soit mesurée à 760 nm. Enfin, la concentration en polyphénols totaux a été calculée à partir d'une courbe standard de quercétine et exprimée en termes de mg Quercétine/g d'extrait.

II.2.1.3. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été déterminée par la procédure de chlorure d'aluminium décrite par Maksimović et al. (2005). Une solution de 100 µl de AlCl₃ (2% dissout dans le méthanol) sont additionnés à 100µl d'échantillon. Après incubation pendant 15min, l'absorbance a été mesurée à 430 nm. Enfin, la concentration en flavonoïdes a été calculée à partir d'une courbe standard de rutine et exprimée en termes de mg rutine/g d'extrait.

II.2.2. Etude de l'activité gastro-protectrice

II.2.2.1. Modèle d'ulcération

Dans le cadre de cette étude, et afin d'évaluer l'effet gastro-protecteur de l'extrait *in vivo*, le diclofénac a été choisi comme agent ulcérogène, et le misoprostol comme molécule de référence,

II.2.2.2. Préparation des traitements à administrer

Les doses des médicaments et des extraits de plantes utilisées dans cette étude sont récapitulées dans le tableau III ci-dessous. Chaque dose a été soigneusement choisie en fonction des données préalablement publiées par Saiah et al. (2018) et Yous et al. (2018).

Tableau III : Doses des différents traitements administrés.

| | Posologie | Solution (10ml/kg) |
|--|-----------|-------------------------------------|
| Extrait de <i>Clematis flammula</i> | 200mg/kg | Dissous dans de l'eau physiologique |
| Misoprostol (Cytotec 200µg) | 200µg/kg | Dissous dans de l'eau physiologique |
| Diclofénac (Biofenac 50mg) | 200mg/kg | 0,8 % CMC* |

*CMC : carboxymethyl cellulose

II.2.2.3. Groupes expérimentaux et traitements

Les rats ont été répartis aléatoirement dans 4 lots de 8 rats, chacun de ces lots recevant un traitement spécifique. Chaque rat des différents groupes a été pesé et marqué avant toute expérimentation. Les solutions ont été administrées par voie intra-gastrique à l'aide d'une sonde de gavage de 10cm, en suivant l'enchaînement décrit ci-dessous (tableau IV).

Tableau IV : Lots et traitements.

| Groupe expérimental | Traitement (Partie 1) | Après 1h | Traitement (Partie 2) |
|--------------------------|-----------------------|-------------|--------------------------|
| Lot I (Témoin négative) | Eau physiologique | | CMC* a 0,8 % |
| Lot II (Témoin positive) | Eau physiologique | | Diclofénac |
| Lot III (Extrait) | Extrait de CF** | | Diclofénac |
| Lot IV (Standard) | Misoprostol | | Diclofénac |

*Carboxymethyl cellulose ; ***Clematis flammula*

Six heures après les traitements, les rats ont été sacrifiés. Leurs estomacs ont été prélevés et soumis à une ouverture le long de la grande courbure, puis lavés avec du NaCl avant d'être observé à l'œil nu à l'aide d'une loupe binoculaire. Ensuite, les estomacs ont été coupés et conservés à -20°C jusqu'à leurs utilisations dans des analyses biologiques.

L'activité gastro-protectrice a été évaluée par observation macroscopique, détermination des taux de MPO et de GSH, et estimation des activités de CAT et SOD.

II.2.2.4. Evaluation macroscopique et calcul des surfaces d'ulcération

Après avoir photographié les estomacs, les images ont été analysées à l'aide du logiciel Image J, permettant ainsi de déterminer la surface totale de chaque estomac, ainsi que celles des ulcérations.

-Le pourcentage d'ulcération a été calculé selon la formule ci-dessous :

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

II.2.2.5. Détermination du taux de la myéloperoxydase

Le dosage de la MPO a été réalisé suivant la procédure décrite par **Rodriguez-Palacios et al. (2015)**, en mesurant l'oxydation du o-Dianisidine dihydrochloride (DHC) dépendante de H₂O₂.



Les tissus gastriques ont été pesés et homogénéisés (homogénéisateur électrique) dans une solution de Hexadecyl-trimethyl-ammonium bromide (HTAB) (0,5g d'HTAB dissout dans 100ml du tampon PBS pH6). Ensuite, les homogénats ont subi une centrifugation (13,500×g/ 5 min/4 °C). Une quantité de 10µL de surnageant a été dispensée dans une microplaque de 96 puits, suivi de l'ajout de 200µL d'une solution contenant un mélange de 0,2mg/ml de DHC et 1% d'H₂O₂. La lecture a été faite à 450nm par un lecteur de microplaques toutes les 30 secondes pendant 5 minutes à 30°C. L'activité MPO a été calculée suivant l'équation suivante :

$$\text{MPO} = \text{pente} \div 0,5 \div 0,0113 \div 0,05 \quad (4)$$

Où 0,0113 est la constante d'extinction du MPO, 0,5 est l'intervalle de temps (0,5 min) et 0,05 est le facteur de dilution de l'échantillon. Les résultats ont été exprimés en unités de MPO par gramme (U/g) de tissu.

II.2.2.6. Estimation de l'activité antioxydante de l'extrait

Dans le but d'évaluer l'activité de la GSH, CAT et la SOD, les tissus de l'estomac ont été homogénéisés dans un tampon phosphate (0,1 M ; pH : 7,4), suivie par deux centrifugations, premièrement à 1000×g pendant 10 min à 4 °C pour obtenir un surnageant S1 utilisé pour la détermination de la GSH, et la deuxième a été effectuée à 10000×g à 4 °C pendant 10 min. Le

surnageant S2 obtenu a été utilisé pour l'évaluation des activités SOD et CAT (Yous *et al.*, 2018).

✓ **Estimation du taux de la GSH**

La détermination des niveaux de GSH a été effectuée dans des microplaques à 96 puis selon une procédure colorimétrique décrit par (Sedlak et Lindsay, 1968). Son principe repose sur la réduction du pont disulfure (SS) présent dans 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) le DTNB connue aussi comme le réactif d'Ellman par les groupements thiols (SH) de la GSH donnent ainsi des dérivés thiols aromatiques colorés en jaune (TNB : acide thionitrobenzoïque/5'-thio-2-nitrobenzoïque). Un aliquot de 25µl de S1 a été ajouté à 375µl du tampon phosphate (0,2 M, pH 8,0), auxquels 62,5µl du DTNB (10 mM) ont été ajoutés. L'absorption a été lue après 5 minutes d'incubation à 412 nm. La teneur en GSH a été exprimée en µmol/mg de protéine, en utilisant la courbe standard de GSH (Annexe II-A).

✓ **Détermination de l'activité de la catalase**

L'activité de la catalase a été estimée en évaluant le taux de disparition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à 240 nm (pendant 1min) (Aebi, 1984). Cette diminution du H₂O₂ est due au fait que lorsque la CAT est présente, le peroxyde d'hydrogène se décompose en dioxygène (O₂). Dans une cuve de spectrophotomètre, 20µl de S2 ont été ajoutés à 380µL de tampon PBS (0,1 M ; pH 6,8), et 1600µL d'H₂O₂ (36 mM). Les résultats ont été exprimés en unités (U), où une unité représente 1µmol H₂O₂ consommé/ min/ mg de protéines.

✓ **Détermination de l'activité de la superoxyde dismutase**

L'évaluation de l'activité de la SOD par la méthode de Marklund et Marklund, (1974) se base sur la mesure de l'inhibition de l'auto-oxydation du pyrogallol par cette dernière, à une longueur d'onde de 420 nm pendant 3 minutes. Le protocole expérimental est résumé de la manière suivante : dans une cuve de spectrophotomètre, 100µL d'une solution de pyrogallol (15 mM/10 mM HCl) ont été ajoutés à 1450µL du tampon Tris-HCl (50 mM/L mM EDTA, pH 8,2) et 10µL de S2. L'activité de la SOD a été exprimée en unités/mg de protéines, où une unité est équivalente à la quantité de SOD nécessaire pour inhiber 50 % de l'auto-oxydation du pyrogallol.

II.2.2.7. Dosage des protéines

La concentration en protéines des homogénats d'estomacs a été déterminée par la méthode de Bradford. Cette méthode est basée sur la liaison du colorant bleu vif de Comassie

G-250 aux groupements amines (NH₂) des protéines, donnant ainsi une couleur bleue détectable sur le spectrophotométrie à partir de 465-595nm. L'absorption de l'échantillon est déterminée et comparée à l'absorption obtenue à partir de la droite de calibrage réalisé en (µg/mg), en utilisant de l'albumine sérique bovine (ASB) (Annexe II-B) (**Bradford, 1976**).

II.2.6. Analyse statistique

L'analyse statistique a été effectuée en utilisant le logiciel GraphPad Prism8 (GraphPad Software, Inc.). Les résultats de l'ensemble des tests réalisés ont été exprimés en moyenne (M) ±SEM pour chaque groupe et leurs différences statistiques ont été calculées par une analyse de la variance à sens unique (ANOVA). Les variations ont été jugées significatives à partir de * $p < 0,05$, et hautement significatives ** $p < 0,01$, et très hautement significatives à *** $p < 0,001$.

Chapitre III
Résultats et discussion

III.1. Résultats

La présente étude s'est focalisée sur la mise en évidence de l'activité gastro-protectrice de l'extrait éthanolique des feuilles d'une plante locale nommée *Clematis flammula in vivo*, contre un agent ulcérogène le diclofénac. Cet effet gastro-protectif a été comparé avec une substance médicamenteuse standard, le Misoprostol.

III.1.1. Rendement d'extraction

Le rendement de l'extraction des feuilles de *C. flammula* obtenu est de 27,5% (Tableau V).

III.1.2. Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes

Les teneurs en polyphénol totaux (PPT) et des flavonoïdes de l'extrait éthanolique de *C. flammula* sont illustrées dans le tableau V et ont été déterminées à partir de courbes d'étalonnage établie avec différentes concentrations de quercétine (Annexe II-C) et de rutine, respectivement.

Tableau V : Rendement d'extraction et teneur en polyphénols totaux et en flavonoïde de l'extrait éthanolique de CF.

| Rendement d'extraction % | Polyphénols totaux (mg EQUÉ/ g d'extrait*) | Flavonoïdes (mg EQRUT/ g d'extrait**) |
|--------------------------|--|---------------------------------------|
| 27,5 | 38,38±1,25 | 18,43±0,18 |

*mg équivalent quercétine/g d'extrait ; **mg équivalent rutin/g d'extrait

III.1.3. Evaluation de l'activité gastro-protectrice

Dans le but d'évaluer l'activité gastro-protectrice de l'extrait, deux études ont été menées :

- Des observations macroscopiques se concentrant sur les lésions externes observables, qui ont été estimées avec l'aide du logiciel image J, ce qui a mené au calcul des pourcentages d'ulcération.
- Une étude biochimique afin d'évaluer un indicateur de l'inflammation, la MPO, et des paramètres antioxydants non enzymatique (GSH) et enzymatiques (CAT et SOD), dans les tissus d'estomacs des différents groupes de rats étudiés.

III.1.4. Examen macroscopique de l'estomac

La figure 19 représente des estomacs de rats des différents lots observés sous une loupe binoculaire. L'estomac représentant le lot témoin négatif (I) montre un aspect normal régulier (Figure 17-A). En revanche, le diclofénac (200mg/kg) administré par voie intra-gastrique a provoqué des lésions significatives, un tissu rouge enflammé avec une apparence nécrotique accentuée dans quelques zones avec des foyers hémorragiques, ou ulcérations (Figure 17-B). En comparaison, le lot III traité avec l'extrait de *Clematis* (Figure 17-C) et le lot IV traité par le Misoprostol (Figure 17-D) illustrent des estomacs sains avec des petites ulcérations pour le lot IV, avec un tissu rosâtre et une surface relativement lisse.

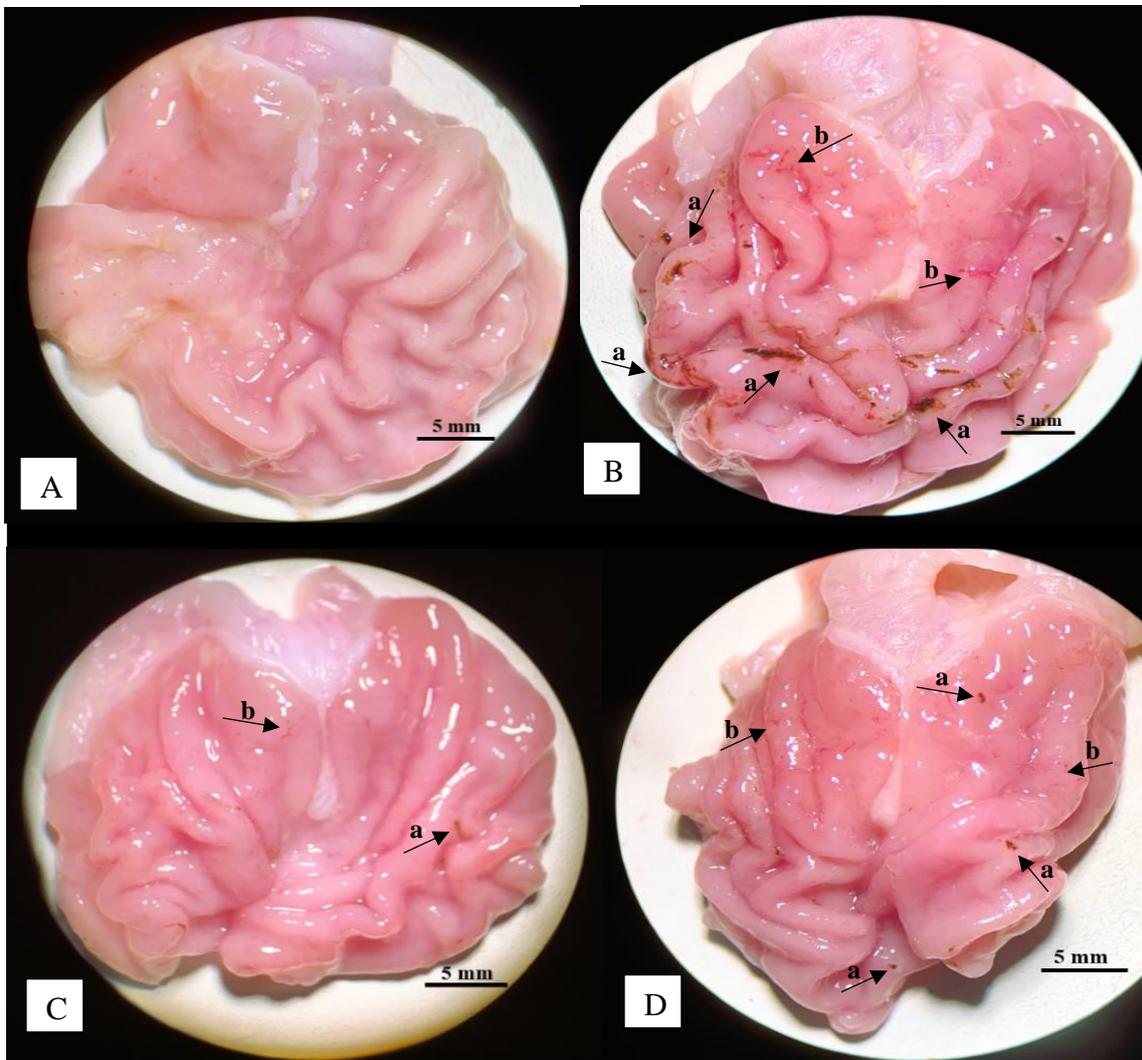


Figure 17: Photographie originale représentant les estomacs des rats de chaque lot. A : Lot I (Témoin négatif) B : Lot II (Diclofénac), C : Lot III (Extrait), D : Lot IV (Standard), a : ulcération, b : pétéchie.

III.1.5. Pourcentages d'ulcération

Afin de confirmer les observations macroscopiques et évaluer l'impact de l'extrait contre l'ulcère induit par le diclofénac, les photos des estomacs ont été traitées par le logiciel Image J. Les pourcentages d'ulcération ont été calculées en mesurant les surfaces touchées par l'ulcère par rapport à la surface totale de l'estomac. Les résultats sont représentés dans la figure 18 ci-dessous.

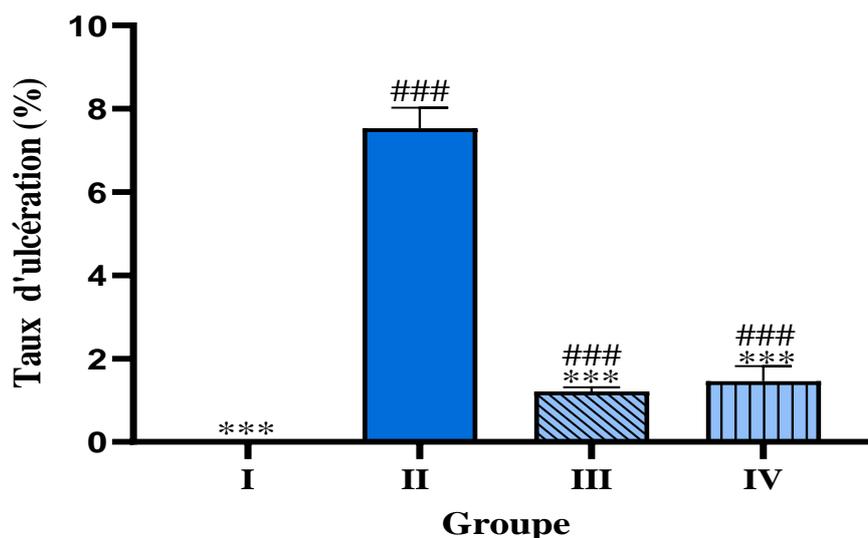


Figure 18: Pourcentages d'ulcérations induites par le diclofénac® exprimées en moyenne \pm SEM (erreur standard moyenne) pour $n = 6$ chez les différents groupes. GI : témoin négatif, GII : témoin positif, GIII: Extrait, GIV : Misoprostol. *Différence significative ($p < 0,050$) ; **hautement significative ($p < 0,01$) ; ***très hautement significative ($p < 0,001$) comparé au lot II (diclofénac). #Différence significative ($p < 0,050$) ; ##hautement significative ($p < 0,01$) ; ###très hautement significative ($p < 0,001$) par rapport au lot I.

Selon la figure 18, un pourcentage d'ulcération maximal ($7,53 \pm 0,50\%$) est observé dans le lot II ou témoin positif traité par le diclofénac. D'autre part, une diminution significative ($p < 0,001$) du pourcentage d'ulcération ($1,21 \pm 0,093$; $1,46 \pm 0,36\%$) a été constaté respectivement chez les lots prétraités par l'extrait et le Misoprostol (lots III et IV, respectivement). Aucune lésion gastrique (0%) n'est observée chez le lot témoin négatif (lot I) qui n'a pas reçu le diclofénac.

III.1.6. Evaluation de l'Effet de l'extrait de *C. flammula* sur l'activité de la myéloperoxydase

Les résultats présentés dans la figure 19 indiquent une augmentation significative ($p < 0,001$) de l'activité de la MPO dans le tissu gastrique des rats traitées par le diclofénac ($80,52 \pm 15,52$ U/g de tissu) par rapport au contrôle ($7,52 \pm 1,39$ U/g de tissu). En parallèle,

l'activité de la MPO a été significativement réduite dans les lots II et III pré-traités par le EECF et le Misoprostol ($10,74 \pm 2,60$; $17,46 \pm 5,05$ U/g de tissus, respectivement), avec une différence non significative entre ces deux derniers en comparaison avec le lot I.

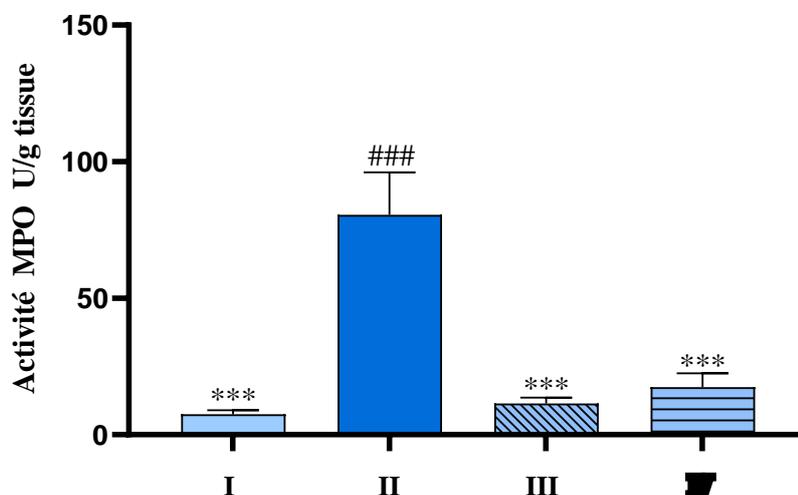


Figure 19 : Taux de la myéloperoxydase dans l'ulcère induit par le diclofénac chez tous les lots traités. Les valeurs sont représentées par la moyenne \pm SEM ; n=6 pour chaque groupe. GI : témoin négatif, GII : témoin positif, GIII : Extrait, GIV : Misoprostol. *Différence significative ($p < 0,050$); **hautement significative ($p < 0,01$); ***très hautement significative ($p < 0,001$) comparé au lot II (diclofénac). #Différence significative ($p < 0,050$); ##hautement significative ($p < 0,01$); ###très hautement significative ($p < 0,001$) par rapport au lot I.

III.1.7. Estimation de l'activité antioxydante de l'extrait de *C. flammula*

L'activité antioxydante de l'extrait de CF a été évaluée en testant les activités du GSH, la SOD et la CAT dans les tissus gastriques des lots différents.

III.1.7.1. Détermination du niveau de la GSH

L'analyse statistique des différents résultats obtenus et représentés dans la figure 20 ci-dessous révèle une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) des niveaux de la GSH chez les rats du lot II ulcéré par le diclofénac ($0,83 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/mg}$ protéines) comparé au lot I témoin ($1,09 \pm 0,04$ $\mu\text{mol/mg}$ protéines).

Par contre, le groupe ayant reçu l'extrait de *C. flammula* ne montre aucune différence significative comparativement au groupe I. En revanche, le pré-traitement des rats avec le misoprostol n'a pas permis de rétablir le taux de GSH au taux normal du groupe I témoin ($p < 0,001$), mais la différence avec ce lot n'est pas aussi significative que celle du groupe II ulcéré.

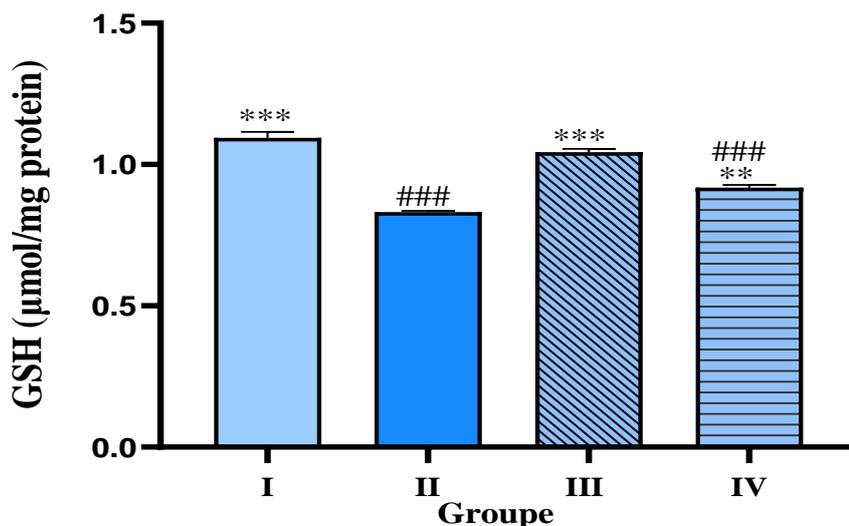


Figure 20 : Taux de glutathion dans les tissus gastriques des différents lots. Les valeurs sont représentées par la moyenne \pm SEM ; n=6 pour chaque groupe. GI : témoin négatif, GII : témoin positif, GIII : Extrait, GIV : Misoprostol. *Différence significative ($p < 0,050$) ; **hautement significative ($p < 0,01$) ; ***très hautement significative ($p < 0,001$) comparé au lot II (diclofénac). #Différence significative ($p < 0,050$) ; ##hautement significative ($p < 0,01$) ; ###très hautement significative ($p < 0,001$) par rapport au lot I.

III.1.7.2. Estimation de l'activité de la CAT

L'analyse statistique a révélé une diminution très hautement significative ($P < 0,001$) de l'activité enzymatique de la catalase chez le groupe témoin positif II gavé par le diclofénac ($48,95 \pm 10,9 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ de protéines), par rapport au groupe I témoin négatif ($136,94 \pm 20,8 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ de protéines), et aux groupes III et IV, traités par l'extrait et le misoprostol ($116,32 \pm 6,8$ et $104 \pm 22,68 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ de protéines, respectivement) (Figure 21).

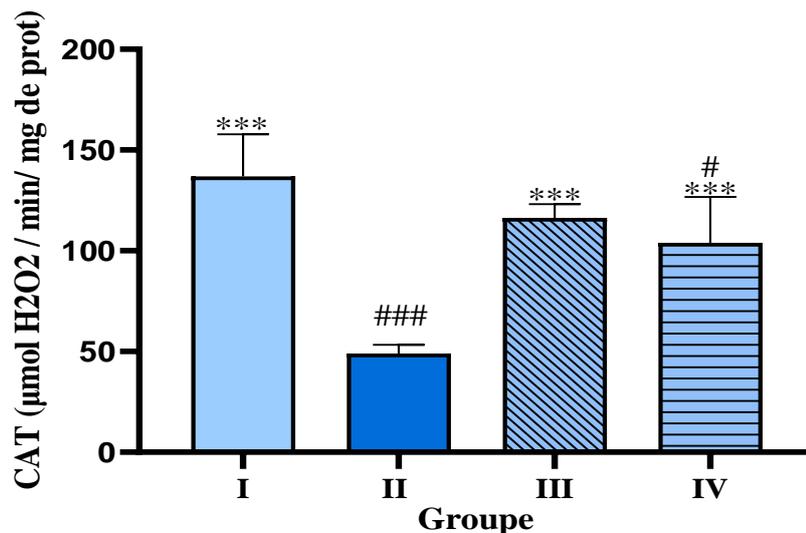


Figure 21 : Activité de la catalase dans l'ulcère induit par le diclofénac chez tous les lots traités. Les valeurs sont représentées par la moyenne \pm SEM ; n=6 pour chaque groupe. GI : témoin négatif, GII : témoin positif, GIII : Extrait, GIV : Misoprostole. *Différence significative ($p < 0,050$) ; **hautement significative ($p < 0,01$) ; ***très hautement significative ($p < 0,001$) comparé au lot II (diclofénac). #Différence significative ($p < 0,050$) ; ##hautement significative ($p < 0,01$) ; ###très hautement significative ($p < 0,001$) par rapport au lot I.

III.1.7.3. Estimation de l'activité de la SOD

Les résultats représentés dans la figure 22 indique une réduction hautement significative ($P < 0,01$) de l'activité enzymatique de la SOD dans le groupe II ($8,28 \pm 0,26$ U/mg de protéines) ulcéré par le diclofénac par rapport au groupe I témoin ($13,28 \pm 0,63$ U/mg de protéines).

D'autre part, le groupe III qui a reçu l'extrait éthanolique de la plante a montré une augmentation de l'activité de la SOD ($25,77 \pm 2,92$ U/mg de protéines) très hautement significative ($p < 0,001$) par rapport à tous les autres groupes, indiquant ainsi un pouvoir antioxydant puissant. Par contre, le groupe IV pré-traité par le Misoprostol ($9,08 \pm 0,6$ U/mg de protéine), montre juste une restauration ($p < 0,5$) de l'activité de la SOD, qui est équivalente à celle du groupe I témoin.

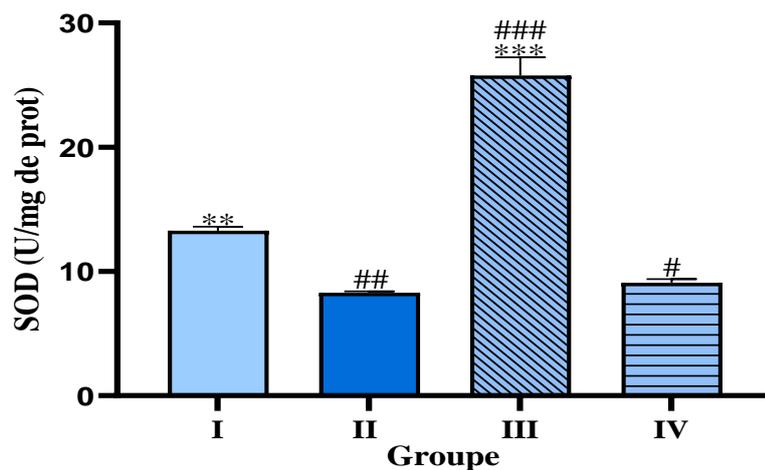


Figure 22 : Activité de la superoxyde dismutase dans l'ulcère induit par le diclofénac chez tous les lots traités. Les valeurs sont représentées par la moyenne \pm SEM ; n=6 pour chaque groupe. GI : témoin négatif, GII : témoin positif, GIII : Extrait, GIV : Misoprostol. *Différence significative ($p < 0,050$) ; **hautement significative ($p < 0,01$) ; ***très hautement significative ($p < 0,001$) comparé au lot II (diclofénac). #Différence significative ($p < 0,050$) ; ##hautement significative ($p < 0,01$) ; ###très hautement significative ($p < 0,001$) par rapport au lot I.

III.2. Discussion

Les ulcères gastroduodénaux sont des plaies qui apparaissent sur la muqueuse de l'estomac, qui résultent généralement d'un déséquilibre entre les facteurs d'agression (HCl, anti-inflammatoires non stéroïdiens, infection par *Helicobacter pylori*, radicaux libres, éthanol, tabac, le stress), et les facteurs de défense de la muqueuse gastrique (mucus, prostaglandines, bicarbonate et microcirculation **(Emakoua et al., 2021)**).

Différents médicaments antiulcéreux de synthèse actuellement disponibles sur le marché comprennent les antiacides, les inhibiteurs de la pompe à protons, les anticholinergiques, les antagonistes de l'histamine H₂, et les cytoprotecteurs, utilisés pour prévenir ou traiter les différents types d'ulcères. Le taux élevé de récurrence, même après la guérison complète de l'ulcère est un obstacle majeur aux thérapies susmentionnées. En outre, ces médicaments ont des effets secondaires notamment la diarrhée, les démangeaisons et la gynécomastie **(Vyawahare et al., 2009)**.

A cet effet, les chercheurs se sont concentrés sur les plantes médicinales comme une source fiable de principes actifs reconnus pour leurs propriétés pharmaceutiques, avec une capacité à traiter diverses pathologies, notamment l'ulcère gastrique. Ces plantes sont considérées comme une réserve biologique des composés phytochimiques, qui favorisent la réduction des effets des agents offensifs et le renforcement des facteurs défensifs.

Des études récentes ont démontré que *C. flammula* représente une source riche de molécules bioactives possédant des propriétés antioxydantes **(Atmani et al., 2011)**, anti-inflammatoires et antibactériennes prometteuses **(Belkhir et al., 2024)**. Certaines de ces molécules ont été identifiées ; ce sont principalement des flavonoïdes **(Medjahed et al., 2023; Belkhir et al., 2024)**.

Afin de mieux comprendre et d'évaluer la validité du pouvoir thérapeutique gastro-protecteur de *C. flammula*, un modèle animal a été adopté, dans lequel un ulcère est induit par une dose de 200 mg/kg de diclofénac chez des lots de rats pré-traités par l'extrait de *C. flammula* (200mg/kg) et le misoprostol (200mg/kg). Une étude macroscopique, suivie par des analyses biochimiques a été réalisée pour tester l'effet gastro-protecteur de l'extrait de *C. flammula*.

Le rendement de l'extrait hydro-éthanolique de *C. flammula* obtenu a été de 27,5%, supérieur à celui de **Yous et al. (2018)** (16%), celui de **Belkhir et al. (2024)** (9,26%), et de **Atmani et al. (2011)** (20,3%). Ces divergences dans les résultats reflètent une différence dans la quantité de molécules bioactives obtenues due en premier lieu au changement climatique qui crée un stress hydrique menant ainsi à une augmentation des molécules susceptibles de défendre la plante contre ce stress (**Karima, 2021**). La méthode d'extraction (ultra-sons) et le solvant utilisé peuvent aussi avoir un impact sur le rendement (**Giacometti et al., 2018**). Dans le cas de l'extrait utilisé dans la présente étude, les ultrasons ont contribué à augmenter le rendement, en augmentant l'énergie nécessaire à extraire plus de molécules. En effet, les ondes ultrasonores traversent la matrice végétale et provoquent une séquence de compression et de raréfaction qui peuvent être transmises à travers le milieu liquide, conduisant ainsi au déplacement et au délogement des molécules de leur emplacement initial (**Das et al., 2022**). De ce fait, l'extraction est plus efficace, réduisant le temps et l'énergie nécessaires à l'extraction, ainsi que l'utilisation de températures modérés, qui n'affectent pas les composés sensibles à la chaleur (**Esclapez et al., 2011**).

En fait, les taux de polyphénols et de flavonoïdes ont aussi varié au cours des années avec des taux respectifs allant de $19,65 \pm 3,61$ mg eqCAT/g extrait et $05,15 \pm 0,10$ mg eq Q/g d'extrait (**Atmani et al., 2009**), à $271,11 \pm 0,47$ mg eqAG/g extrait et $274,28 \pm 0,28$ mg eqCAT/g extrait (**Yous et al., 2018**), à $176,88 \pm 4,51$ mg eqAG/g extrait et $87,58 \pm 0,42$ mg eqR/g extrait (**Belkhir et al., 2024**). En ce qui concerne l'extrait utilisé dans la présente étude, l'extraction a été menée avec un pourcentage d'éthanol très bas (10%), ce qui explique en partie la baisse des taux de polyphénols et flavonoïdes, puisque l'éthanol est le solvant qui extrait le maximum de polyphénols des plantes. Selon **Bodoira et al., (2017)**, les mélanges alcooliques se sont révélés efficaces comme solvants d'extraction car ils peuvent balayer une large gamme de polarités par rapport aux composés à extraire en comparant avec les solvants hydro-éthanoliques (avec un faible taux d'éthanol $< 60,5$) ou ca influencer le types et la quantité des polyphénols extraites.

Pour mieux approfondir l'évaluation de l'activité gastro-protectrice de l'extrait éthanolique de *C. flammula*, ce dernier a été comparé avec le misoprostol, un médicament de référence de type analogue aux prostaglandines.

Le misoprostol est un agent antiulcéreux largement utilisé chez les patients présentant un risque de gastrite et d'ulcère causé par les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). Il

bloque la sécrétion d'acide gastrique en agissant comme un agoniste de type prostaglandine E sur les récepteurs de la cellule pariétale. Cette stimulation entraîne une diminution de l'accumulation de AMPc stimulée par l'histamine (**Kalant et al., 1989**). Donc, en tant qu'analogue de la prostaglandine, il induit la sécrétion du mucus et du bicarbonate, ce qui entraîne l'épaississement de la muqueuse (**Raymond et al., 2023**). Cependant, il présente des effets secondaires, les plus sévères étant la diarrhée, qui résulte d'une exposition à l'acide misoprostolique libéré lors de son métabolisme. D'autres effets secondaires peuvent également survenir, tels que des nausées, des vomissements et des maux de tête (**Krugh et Maani, 2024**).

D'après les observations macroscopiques, l'administration de 200 mg de diclofénac a provoqué des lésions visibles dans le groupe II, manifestés par des pétéchies et des hématomes dispersés au niveau des estomacs des rats du groupe II (Figure 19B). Les lésions gastriques induites par le diclofénac se présentent comme des érosions de la muqueuse gastrique défini comme un processus inflammatoire aigu de la muqueuse, qui déclenche la perte de l'épithélium superficiel au-dessus de la surface de la muqueuse musculaire (**Goswami et al., 2017**). La paroi de l'estomac est donc démunie de sa couche protectrice, ce qui la rend prône aux attaques de l'acidité de l'estomac.

Aussi, d'après **Santos et al. (2012)**, l'administration orale du diclofénac diminue significativement le niveau de PGE₂, ce qui cause une déplétion du mucus protecteur et une diminution du HCO₃⁻. En effet, la muqueuse gastrique représente une source de production continue de prostaglandines, telles que la PGE₂ et la PGI₂, qui sont considérés comme des facteurs cruciaux pour le maintien de l'intégrité de la muqueuse gastrique par la stimulation du mucus et la protection contre les facteurs d'agression tels l'acide chlorhydrique (**Fornai et al., 2011**). Cela indique que l'inhibition des COX 1 et 2 par le diclofénac et la diminution de taux des prostaglandines sont liées aux dommages de la muqueuse, les blessures gastriques, et l'apparition des ulcères gastriques avec un pourcentage de 7,53±0,50% (Figure 20). Ces dommages gastriques résultent aussi de la modification de l'équilibre de la muqueuse en faveur du recrutement et de l'adhésion endothéliale des neutrophiles circulants par l'inhibition de la biosynthèse des prostaglandines. Une fois collés, les neutrophiles obstruent la microvasculature, ce qui entraîne une diminution locale du flux sanguin au niveau de la muqueuse gastrique et une libération marquée de facteurs endommageant les tissus. Ces facteurs, augmentent le tonus vasculaire, exacerbent l'ischémie tissulaire, stimulent la production des ERO, et favorisent la destruction de la matrice gastrique (**Fornai et al., 2011**).

D'autres auteurs (**Kim et al., (2024)**) ont montré que le diclofénac est une source importante d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), tels que l'anion superoxyde (O_2^-), le radical hydroxyle (OH), et surtout le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , qui contribuent à la toxicité hépatocellulaire, et favorisent la formation des ulcérations hémorragiques gastriques.

Par ailleurs le prétraitement des rats avec 200mg/kg de l'extrait éthanolique de *CF* a empêché l'apparition des lésions gastriques ou des pétéchies au niveau de l'estomac (Figure 17C), indiquant ainsi le pouvoir gastro-protecteur de l'extrait, et baissant significativement le pourcentage d'ulcération ($1,21 \pm 0,093\%$), qui est comparable à celui du lot traité par le misoprostol ($1,46 \pm 0,36\%$). Ces pourcentages sont proches de ceux trouvés par **Yous et al. (2018)** pour l'extrait ($2,74 \pm 1,06\%$) pour des rats traités avec l'indométhacine, et indiquent la capacité de l'extrait et du misoprostol à contrecarrer les effets du diclofénac. L'étude de **Yous et al. (2018)** a aussi démontré que le prétraitement par l'extrait éthanolique de *CF* (200mg/kg) a réhabilité la capacité de production de la muqueuse gastrique pour atteindre des valeurs normales ($6,53 \pm 0,44 \mu\text{g AB/g}$ de tissu), légèrement supérieur à celle du groupe traité au misoprostol ($5,48 \pm 0,38 \mu\text{g AB/g}$ de tissu).

Le mécanisme essentiel impliqué dans l'effet protecteur observé de l'extrait peut être lié à l'atténuation de l'inflammation induite par les ulcérations. Le stress oxydatif créé par cette inflammation et celui qui est déclenché par le diclofénac lui-même sont des facteurs qui exacerbent l'inflammation et entravent la réparation des lésions (**Mousa et Fahmy, 2023**). Pour cela, une analyse biochimique a été entreprise, qui consiste à mesurer les activités respectives de la myéloperoxydase (MPO), un indicateur clé de l'inflammation, et les antioxydants CAT, SOD et GSH, qui reflètent l'état redox du tissu.

Les AINS sont impliqués dans l'augmentation de l'activité de la MPO en activant le facteur de transcription nucléaire NF κ B, qui régule l'expression des gènes de plusieurs cytokines pro-inflammatoires et des molécules d'adhésion (**Wallace, 2008**). Une stimulation significative de l'expression de l'ARNm du TNF α s'en suit, avec une augmentation du taux de granulocytes dans les tissus accompagnée d'une induction de l'activité de la myéloperoxydase.

La myéloperoxydase (MPO) est un marqueur d'infiltration des polynucléaires neutrophiles dans le foyer hémorragique, connu comme étant un paramètre clé qui informe sur la progression de l'inflammation dans des rats gavés avec le diclofénac (**Akinrinde et Hameed, 2022**).

Les activités de la MPO montrées dans la figure 26 ont révélé une augmentation très significative ($80,52 \pm 15,52$ U/g de tissu) chez le groupe II ulcéré par le diclofénac, comparé au groupe témoin I ($7,52 \pm 1,39$ U/g de tissus). Par contre, l'extrait et le misoprostol ont restauré les niveaux de MPO dans les groupes III et IV ($10,74 \pm 2,60$ et $17,46 \pm 5,05$ U/g de tissus, respectivement). Ces résultats sont en accord avec ceux ($6,54 \pm 9,67$ U/g tissu) de **Yous et al. (2018)** sur *CF*, et de **Devi et al. (2007)** qui ont démontré que l'extrait d'une plante médicinale, *Terminalia arjunabark*, par son effet potentiel anti inflammatoire très hautement significatif ($p < 0,001$) a contribué à la réparation des lésions de la muqueuse gastrique induites par le diclofénac.

L'augmentation de l'activité de la MPO chez le groupe traité par le diclofénac suggère une infiltration des neutrophiles au niveau de la muqueuse ulcérée, indiquant une corrélation avec le degré d'inflammation dans l'étude de **Devi et al. (2007)**, ainsi que dans la présente étude.

La MPO est une source de radicaux libres qui pourraient aggraver l'inflammation induite par l'ulcère, ce qui indique l'importance de son inhibition. En effet, cette enzyme est localisée dans les granulés neutrophiles azurophiles, sont activés par l'inflammation. La NADPH oxydase localisée dans neutrophiles est alors activée et réduit le dioxygène (O_2) en ion superoxyde O_2^- qui sera ensuite converti en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) par la SOD (**Poret et al., 2017**). Ce dernier est ensuite converti par la MPO en acide hypochloreux ($HOCl^-$) en présence d'ions chlorés (**Thieblemont et al., 2016**).

Le $HOCl^-$ fait partie de plusieurs EROs (O_2^- , et H_2O_2) dont le taux d'augmentation est étroitement lié avec les lésions de la muqueuse gastrique (**Hui et Fangyu, 2017**), provoquant une réaction en chaîne de la peroxydation lipidique. Cette dernière déclenche ainsi un cycle auto-perpétuel où le stress oxydatif et l'inflammation s'amplifient mutuellement (boucle de rétroaction positive) (**Vaziri et Rodríguez-Iturbe, 2006**).

Le diclofénac est lui-même une source d'ERO puisque son mécanisme d'action est lié à l'activation d'enzymes pro-oxydantes productrices de ERO, telles que la nitrique oxyde synthase (NOS) et la xanthine oxydase (XO), entraînant ainsi un stress oxydatif et un épuisement des antioxydants enzymatiques et non-enzymatiques dans le tissu gastrique (**Boeing et al., 2016**). Ceci a été confirmé par plusieurs études, dont celle de **Chowdhury et Kumar (2023)**, qui ont prouvé que les valeurs du H_2O_2 ont été augmenté de manière significative ($p < 0,01$) dans le groupe traité au diclofénac sodique par rapport au groupe

témoin. Dans ce sens, afin de diminuer le taux de H₂O₂, l'activité antioxydante de l'extrait, surtout celle de la CAT et la SOD, est cruciale pour contrecarrer le stress oxydatif créé par le diclofénac et l'inflammation.

Pour cela, dans la présente étude, l'évaluation des activités antioxydantes du glutathion, de la SOD et de la CAT dans les tissus gastriques des différents groupes de rats a été entreprise.

Le glutathion réduit (GSH) joue un rôle essentiel dans la défense antioxydante, il peut agir directement en neutralisant les radicaux libres ou comme substrat d'enzymes telles que la glutathion peroxydase (GPx), l'oxydase (GO) et la réductase (GR) (Figure 11) (Boeing et al., 2016).

D'autre part, la catalase et la superoxyde dismutase sont des enzymes appartenant aux systèmes antioxydants, et qui constituent la première ligne de défense de la cellule contre les ERO. En effet, la SOD neutralise l'anion radical superoxyde (O₂⁻) en H₂O₂, un produit moins nocif, et qui est à son tour décomposé par la CAT en eau (Park et al., 2021). Cette synergie entre les deux enzymes est importante pour maintenir l'homéostasie de la cellule et éliminer le stress oxydatif.

Dans cette étude, l'administration intragastrique du diclofénac a réduit de manière significative le niveau de GSH et l'activité des enzymes antioxydantes (CAT et SOD) par rapport au témoin négatif (Figures 23, 24 et 25, respectivement). Ces résultats sont en accord avec ceux d'autres auteurs (Saiah et al., 2018; Chowdhury et Kumar, 2023), qui ont constaté une réduction presque semblable de ces trois paramètres antioxydants. Cet épuisement des antioxydants est associé à l'accumulation des ERO dans les cellules gastriques induisant ainsi des effets délétères, notamment la perte d'intégrité et de fonction des membranes cellulaires (augmentation des MDA).

En revanche, l'administration des extraits éthanoliques des feuilles de *Clematis flammula*, ainsi que le misoprostol aux rats des groupes respectifs III et IV ont empêché la déplétion des niveaux de la GSH et la baisse des activités enzymatiques de la CAT et la SOD, qui est en accord avec plusieurs études (Devaraj et Krishna, 2013; Yous et al., 2018). De plus, l'analyse statistique a révélé les données suivantes :

-En ce qui concerne l'activité de la catalase, l'extrait de plante et le misoprostol ont tous les deux restauré son niveau, de manière comparable.

- Par contre, l'administration de l'extrait de plante s'est avéré plus efficace que le médicament standard (Misoprostol) avec une différence très hautement significative dans l'amélioration des taux de la GSH ainsi que l'activation de la SOD dans les tissus gastriques, en précisant que *CF* a exhibé une forte activation de la SOD à un niveau supérieur à celui du groupe témoin, ce qui démontre à son tour, que l'extrait est une alternative thérapeutique prometteuse pour réduire les dommages oxydatifs de l'ulcère gastrique, avec moins d'effets secondaires. Dans l'étude de **Yous et ses collaborateurs (2018)**, l'extrait à 200mg/kg était moins efficace dans l'activation des niveaux de la GSH et la SOD. Cela souligne l'importance de la méthode d'extraction sur l'efficacité des extraits de plantes.

Les résultats suggèrent que, sous l'effet du stress oxydatif créé par le diclofénac, l'extrait hydro-éthanolique de *Clematis flammula* est caractérisé par ses propriétés protectrices du tissu gastrique, et cela en renforçant les mécanismes de défense antioxydants. Ces mécanismes se résument soit par une augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes, soit en activant l'expression des gènes codant pour ces derniers. De plus, le mécanisme d'action de l'extrait de *C. flammula* peut être impliqué dans l'inhibition de la pompe à protons, comme a été démontré précédemment (**Yous et al., 2018**). Ceci doit être confirmé car les conditions d'extraction ont changé. Ces conditions ont été déterminées par une optimisation. D'autres modes d'action peuvent être impliqués, similaires à ceux des médicaments utilisés dans le traitement de l'ulcère gastrique. On peut citer la régulation de la prostaglandine qui joue un rôle important dans le processus de guérison des ulcères en inhibant la sécrétion acide, en stimulant la production de mucus, de bicarbonate et de phospholipides, en augmentant le flux sanguin et en accélérant la restitution épithéliale et expression de protéines de jonction étroite et la prolifération cellulaire, et en inhibant l'apoptose (**Khoder et al., 2016;D'Amico et al., 2024**).

L'activité gastro-protectrice de l'extrait de *Clematis flammula* réside dans sa richesse en composés phénoliques (**Atmani et al., 2011 ; Belkhir et al., 2024**). Les polyphénols peuvent protéger contre l'ulcération gastroduodénale par de multiples voies, notamment la cytoprotection, la réépithélialisation et la suppression des dommages oxydatifs (**Farzaei, 2015**).

La suppression des dommages oxydatifs découle du fait que les composés phénoliques, plus particulièrement les flavonoïdes, sont des antioxydants naturels, qui peuvent agir comme des scavengers de radicaux libres (**Sarker et Oba, 2020**), et cela grâce à leurs structures

hydroxylés, où la capacité de piéger les radicaux libres réside sur leurs groupement hydroxyles liés à l'anneau B du flavonoïde (Lang et al., 2024). L'étude de Medjahed et al. (2023) a rapporté une activité antioxydante élevée de l'extrait éthanolique de *C. flammula* notamment par l'inhibition de la xanthine oxydase et la NADH déshydrogénase, des enzymes qui produisent des radicaux libres dans les pathologies inflammatoires. Cette étude a aussi démontré la capacité de cet extrait à éliminer l'anion superoxyde, un radical très impliqué dans les maladies inflammatoires comme le rhumatisme articulaire (Jing et al., 2023), maladie qui est souvent traitée par *C. flammula* dans la médecine traditionnelle locale. La même étude a identifié des flavonols hydroxylés, dérivés de quercétine et de kaempferol dans l'extrait de *C. flammula*, qui lui confèrent un pouvoir antioxydant.

La cytoprotection par le Kaempferol a été observée dans une étude récente (Li et al., 2018) qui a indiqué que le taux de la MPO a été réduit par le traitement préalable de ce flavonoïde, avec une accumulation concomitante de glycoprotéines muqueuses gastriques et une augmentation de la production du NO.

Des études précédentes (Atmani et al., (2009) ; Atmani et al., (2011)) ont aussi prouvé les pouvoirs antioxydants de cette plante contre la peroxydation lipidique, les radicaux hydroxyles, et le H₂O₂. Belkhir et al. (2024) ont prouvé que l'activité anti-inflammatoire *in vitro* des extraits de cette plante émane de leur interaction avec deux modèles membranaires. Les molécules identifiées dans cette étude montrent la richesse de cette plante en flavonoïdes. Parmi ces molécules identifiées, la rutine, dont l'effet gastro-protecteur a été démontré par Liu et al. (2013), avec une réduction significative de l'activité de la MPO. L'évaluation de ses effets sur le tractus gastro-intestinal a montré une activité gastro-protectrice contre les lésions gastriques induites par l'indométacine chez les rats, une inhibition de l'infiltration des neutrophiles et une suppression de la génération du stress oxydatif (augmentation du GSH et de la SOD et réduction du MPO) (Abdel Raheem, 2010).

La quercétine présenterait une propriété antiradicalaire vis-à-vis des radicaux hydroxyles et peroxydes et des anions superoxydes. Elle semble également inverser les dommages causés par le déséquilibre entre le système redox et le système de défense antioxydant (Pereira et al., 2017). En outre, elle possède des effets anti-ulcères et gastro-protecteurs (Ahmed et al., 2015).

Le mode d'action des flavonoïdes en tant que gastro-protecteurs a été étudié. Non seulement ils piègent les radicaux libres, mais ils activent également les enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx), qui, à leur tour, protègent contre les dommages oxydatifs dans l'ulcère gastroduodéal (**Zhang et al., 2020**). La stimulation de l'activité de ces enzymes est probablement liée à la voie de signalisation Nrf2 qui joue un rôle crucial dans la protection des cellules contre les dommages oxydatifs en augmentant l'expression de la protéine HO-1 (**Zhou et al., 2020**).

Le rôle de certains polyphénols dans l'épithélialisation et la régénération cellulaire a été établi. L'étude menée par **George et ses collaborateurs (2018)** ont rapporté que le prétraitement avec la chrysrine augmente l'expression du VEGF favorisant ainsi la guérison des ulcères par la prolifération des cellules endothéliales, la survie et l'augmentation de la perméabilité vasculaire améliorant l'approvisionnement en sang dans les régions ulcérées. Ceci confirme que les composés phénoliques sont également capables de générer une formation accrue de nouveaux capillaires et de fibroblastes (**Pereira et al., 2017**).

L'extrait des feuilles de *Clematis flammula* utilisé dans cette étude est une source prometteuse de polyphénols dotés d'un effet gastro-protecteur, ce qui confirme les résultats d'études précédentes (**Yous et al., 2018 ; Belkhir et al., 2024**). Son action se manifeste par ses pouvoirs anti-inflammatoires et antioxydant. Cependant, son mode d'action au niveau moléculaire reste à prouver et les molécules responsables doivent être identifiées.

Conclusion et Perspectives

À l'ère de la médecine moderne, la quête de nouveaux traitements efficaces mais également dépourvus d'effets secondaires indésirables est devenue une priorité incontestable. Dans cette optique, l'exploration des ressources naturelles, notamment des plantes médicinales, revêt une importance croissante dans le traitement des troubles gastriques, tout en offrant un profil de sécurité plus élevé. Le diclofénac est un médicament de la classe des AINS très utilisé par le monde. Cependant, son efficacité est mise en cause vu sa toxicité qui découle de ses co-produits pro-oxydants et sa capacité à provoquer des lésions gastriques.

Cette étude expérimentale a permis d'évaluer l'efficacité gastro-protectrice de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *Clematis flammula* à une dose de 200mg/Kg chez des rats de laboratoire.

L'ensemble des résultats obtenus montre que CF a pu contrecarrer les dommages oxydatifs et empêcher un ulcère gastrique à cause de ses pouvoirs antioxydants et anti-inflammatoires. Son activité antioxydante a été mise en évidence par une stimulation des activités de la CAT et la SOD et une hausse significative du GSH. En revanche, l'activité de la MPO a été réduite considérablement, dévoilant ainsi un pouvoir anti-inflammatoire. Cette étude a pu démontrer que malgré les changements dans la procédure (ultra-sons) et les conditions d'extraction avec l'utilisation d'un extrait beaucoup plus aqueux (10% d'éthanol) qu'auparavant (95% d'éthanol), cet extrait a maintenu son potentiel gastro-protecteur qui réside dans des constituants phénoliques spécifiques qui restent à identifier.

L'importance du présent travail est la validation des usages traditionnels de *CF* avec l'espoir de l'exploiter dans l'industrie pharmaceutique de notre pays en tant que source inestimable de molécules bioactives accessibles et tant qu'une alternative naturelle aux traitements synthétiques. Pour cela, il serait souhaitable de poursuivre les recherches pour transformer ces résultats en applications cliniques par :

- **L'identification des polyphénols responsables** de l'activité gastro-protectrice de l'extrait en recherchant leurs mécanismes d'action, et ce, par l'analyse de leur expression génique, afin d'identifier les gènes régulés par ces composés et leur implication dans les voies de la protection de la muqueuse gastrique, et l'expression des gènes associés à l'activation des antioxydants et anti-inflammatoire.
- **L'étude des interactions moléculaires** : Une autre perspective intéressante serait d'étudier le Docking moléculaire afin de prévoir les interactions spécifiques entre les composés actifs

de *Clematis flammula* et les protéines cibles de l'ulcère gastrique pour une meilleure efficacité.

- **Les thérapies combinées :** Continuer les essais cliniques pour mettre en place une thérapie combinée basée sur l'administration concomitante de l'extrait de plante avec les AINS, afin de réduire les risques d'ulcère gastrique sévère associé à l'utilisation de ces médicaments. De plus, il serait intéressant d'élaborer des formulations avec des nanoparticules pour augmenter l'efficacité de traitement.

Références Bibliographiques

A

1. **Abdel-Raheem, I.T. (2010).** Gastroprotective effect of rutin against indomethacin-induced ulcers in rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 107(3), 742-750. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2010.00568.x>
2. **Aebi, H. (1984).** [13] Catalase in vitro. In *Methods in Enzymology* (Vol. 105, p. 121-126). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
3. **Afifi-Yazar, F., Kasabri, V., & Abu-Dahab, R. (2011).** Medicinal plants from Jordan in the treatment of cancer : Traditional uses vs. *In vitro* and *In Vivo* evaluations – Part 1. *Planta Medica*, 77(11), 1203-1209. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1270832>
4. **Ahmed, O., Abourehab, M., Khaled, K., & Sarhan, H. (2015).** Evaluation of combined famotidine with quercetin for the treatment of peptic ulcer: In vivo animal study. *Drug Design, Development and Therapy*, 2159. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S81109>
5. **Akinrinde, A. S., & Hameed, H. O. (2022).** Glycine and L-Arginine supplementation ameliorates gastro-duodenal toxicity in a rat model of NSAID (Diclofenac)-gastroenteropathy via inhibition of oxidative stress. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 33(3), 285-295. <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2020-0307>
6. **Alamgir, A. N. M. (2018).** Phytoconstituents-active and inert constituents, metabolic pathways, chemistry and application of phytoconstituents, primary metabolic products, and bioactive compounds of primary metabolic origin. In A. N. M. Alamgir, *Therapeutic Use of Medicinal Plants and their Extracts : Volume 2* (Vol. 74, p. 25-164). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-92387-1_2
7. **Allen, A., & Flemström, G. (2005).** Gastroduodenal mucus bicarbonate barrier: Protection against acid and pepsin. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 288(1), C1-C19. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00102.2004>
8. **Aslam, B., Awan, T., Javed, I., Khaliq, T., Khan, J., & Raza, A. (2015).** Gastroprotective and antioxidant potential of *Glycyrrhiza glabra* on experimentally induced gastric ulcers in albino mice. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 4, 451-460.
9. **Atmani, D., Chaher, N., Atmani, D., Berboucha, M., Debbache, N., & Boudaoud, H. (2009).** Flavonoids in human health: From structure to biological activity. *Current Nutrition & Food Science*, 5(4), 225-237. <https://doi.org/10.2174/157340109790218049>

B

10. **Baaziz, I., Ghazouani, L., Rjeibi, I., Feriani, A., Mnafigui, K., Mufti, A., et al., (2022).** Structural characterization and cardioprotective effect of water-soluble polysaccharides

extracted from *Clematis flammula*. *Applied Sciences*, 12(21), 10818. <https://doi.org/10.3390/app122110818>

11. Belkhir, S., Debbache-Benaida, N., Medjahed, Z., Atia, A., Ayouni, K., Boudjouan, F., et al. (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. <https://doi.org/10.1080/11263504.2023.2293025>

12. Belščak-Cvitanović, A., Durgo, K., Hudek, A., Bačun-Družina, V., & Komes, D. (2018). Overview of polyphenols and their properties. In *Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications* (p. 3-44). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813572-3.00001-4>

13. Bodoira, R., Rossi, Y., Montenegro, M., Maestri, D., & Velez, A. (2017). Extraction of antioxidant polyphenolic compounds from peanut skin using water-ethanol at high pressure and temperature conditions. *The Journal of Supercritical Fluids*, 128, 57-65. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.05.011>

14. Boeing, T., Da Silva, L. M., Somensi, L. B., Cury, B. J., Michels Costa, A. P., Petreanu, M., et al., (2016). Antiulcer mechanisms of *Vernonia condensata* Baker: A medicinal plant used in the treatment of gastritis and gastric ulcer. *Journal of Ethnopharmacology*, 184, 196-207. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.02.049>

15. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

16. Bui, T. M., Wiesolek, H. L., & Sumagin, R. (2020). ICAM-1 : A master regulator of cellular responses in inflammation, injury resolution, and tumorigenesis. *Journal of Leukocyte Biology*, 108(3), 787-799. <https://doi.org/10.1002/JLB.2MR0220-549R>

C

17. Cemek, M., Yilmaz, E., & Büyükkuroğlu, M. E. (2010). Protective effect of *Matricaria chamomilla* on ethanol-induced acute gastric mucosal injury in rats. *Pharmaceutical Biology*, 48(7), 757-763. <https://doi.org/10.3109/13880200903296147>

18. Chatterjee, S. (2016). Chapter two—oxidative stress, inflammation, and disease. In T. Dziubla & D. A. Butterfield (Éds.), *Oxidative Stress and Biomaterials* (p. 35-58). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803269-5.00002-4>

19. Chawla, R., Kumar, S., & Sharma, A. (2012). The genus *Clematis* (Ranunculaceae): Chemical and pharmacological perspectives. *Journal of Ethnopharmacology*, 143(1), 116-150. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.06.014>

20. **Chohra, D., Ferchichi, L., Cakmak, Y. S., Zengin, G., & Alsheikh, S. M. (2020).** Phenolic profiles, antioxidant activities and enzyme inhibitory effects of an Algerian medicinal plant (*Clematis cirrhosa* L.). *South African Journal of Botany*, *132*, 164-170. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.04.026>
21. **Chowdhury, M., & Kumar De, P. (2023).** Novel gastroprotective activity of *basella alba mucilage*-based hydrogel beads on diclofenac sodium induced gastric ulcer. *Journal of Medical pharmaceutical and allied sciences*, *12*(5), 6082-6090. <https://doi.org/10.55522/jmpas.V12I5.5648>
22. **Collins, P. W. (1990).** Misoprostol: Discovery, development, and clinical applications. *Medicinal Research Reviews*, *10*(2), 149-172. <https://doi.org/10.1002/med.2610100202>

D

23. **D'Amico, S., Batigne, S., Bourbonnière, J., & Fredette, N. (2012).** *Le corps humain : Comprendre notre organisme et son fonctionnement*. Québec Amérique.
24. **D'Amico, V., Denora, N., Ivone, M., Iacobazzi, R. M., Laquintana, V., Cutrignelli, A., et al. (2024).** Investigating the prilling/vibration technique to produce gastric-directed drug delivery systems for misoprostol. *International Journal of Pharmaceutics*, *651*, 123762. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2023.123762>
25. **Danis, N., Ozkan, A., Karatas, F., Cakici, C., Yigitbasi, T., Sevensan, N., & Kayhan, B. (2021).** The importance of antioxidant status in gastric intestinal metaplasia. *Journal of Medical Biochemistry*, *40*(4), 378-383. <https://doi.org/10.5937/jomb0-29349>
26. **Das, P., Nayak, P. K., & Kesavan, R. krishnan. (2022).** Ultrasound assisted extraction of food colorants: Principle, mechanism, extraction technique and applications: A review on recent progress. *Food Chemistry Advances*, *1*, 100144. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100144>
27. **De Barros, M., Mota Da Silva, L., Boeing, T., Somensi, L. B., Cury, B. J., De Moura Burci, L., et al. (2016).** Pharmacological reports about gastroprotective effects of methanolic extract from leaves of *Solidago chilensis* (Brazilian arnica) and its components quercitrin and afzelin in rodents. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, *389*(4), 403-417. <https://doi.org/10.1007/s00210-015-1208-0>
28. **Djanaev G.Yu, Askarov O.O, & Sultanov S.A. (2022).** Phytotherapy of gastric ulcer (Literature Review). *Texas Journal of Medical Science*, *15*, 51-59. <https://doi.org/10.62480/tjms.2022.vol15.pp51-59>
29. **De-Faria, F. M., Almeida, A. C. A., Luiz-Ferreira, A., Dunder, R. J., Takayama, C., Da Silva, M. S., et al. (2012).** Mechanisms of action underlying the gastric antiulcer activity

of the *Rhizophora mangle* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 139(1), 234-243. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.11.007>

30. Devaraj, V. C., & Krishna, B. G. (2013). Antiulcer activity of a polyherbal formulation (PHF) from Indian medicinal plants. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 11(2), 145-148. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(13\)60041-2](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(13)60041-2)

31. Devi, R. S., Narayan, S., Vani, G., & Shyamala Devi, C. S. (2007). Gastroprotective effect of *Terminalia arjuna* bark on diclofenac sodium induced gastric ulcer. *Chemico-Biological Interactions*, 167(1), 71-83. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2007.01.011>

32. Dina Atmani, M. Begoña Ruiz-Larrea, José Ignacio Ruiz-Sanz, Leandro J. Lizcano, Fadil Bakkali, & Djebbar Atmani. (2011). Antioxidant potential, cytotoxic activity and phenolic content of *Clematis flammula* leaf extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5, 589-598. <https://doi.org/10.5897/JMPR.9000225>

33. Djanaev G.Yu, Askarov O.O, & Sultanov S.A. (2022). Phytotherapy of gastric ulcer (Literature Review). *Texas Journal of Medical Science*, 15, 51-59. <https://doi.org/10.62480/tjms.2022.vol15.pp51-59>

E

34. Emakoua, J. F., Mimosette, M. K. T., Amang, A. P., Essama, M. D., Ndjii, O. G. L., Mezui, C., Enonchong, E.-O. G., et al., (2021). In-vitro antacid properties of Cameroonian Clay (MY41g) and its potential use in anti-ulcer triple therapy regimen formulated with *Eremomastax speciosa* extract. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, 28-47. <https://doi.org/10.9734/jabb/2021/v24i330205>

35. Engevik, A. C., Kaji, I., & Goldenring, J. R. (2020). The physiology of the gastric parietal cell. *Physiological Reviews*, 100(2), 573-602. <https://doi.org/10.1152/physrev.00016.2019>

F

36. Farzaei, M. H. (2015). Role of dietary polyphenols in the management of peptic ulcer. *World Journal of Gastroenterology*, 21(21), 6499. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i21.6499>

37. Fornai, M., Antonioli, L., Colucci, R., Tuccori, M., & Blandizzi, C. (2011). Pathophysiology of gastric ulcer development and healing : Molecular mechanisms and novel therapeutic options. In J. Chai (Éd.), *Peptic Ulcer Disease*. InTech. <https://doi.org/10.5772/17640>

G

38. **George, M. Y., Esmat, A., Tadros, M. G., & El-Demerdash, E. (2018).** In vivo cellular and molecular gastroprotective mechanisms of chrysin; Emphasis on oxidative stress, inflammation and angiogenesis. *European Journal of Pharmacology*, 818, 486-498. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.11.008>
39. **Giacometti, J., Bursac Kovačević, D., Putnik, P., Gabrić, D., Bilušić, T., Krešić, G., Stulić, et al. (2018).** Extraction of bioactive compounds and essential oils from mediterranean herbs by conventional and green innovative techniques: A review. *Food Research International*, 113, 245-262. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.036>
40. **Goswami, S. K., Rand, A. A., Wan, D., Yang, J., Inceoglu, B., Thomas, M., et al. (2017).** Pharmacological inhibition of soluble epoxide hydrolase or genetic deletion reduces diclofenac-induced gastric ulcers. *Life sciences*, 180, 114-122. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2017.05.018>
41. **Graham, D. Y. (2014).** History of *Helicobacter pylori*, duodenal ulcer, gastric ulcer and gastric cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 20(18), 5191. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i18.5191>
42. **Guan, S., Wang, Y., Hu, T., Che, L., Wang, X., Huang, Y., & Xia, Z. (2024).** Study on the selectivity of molecular imprinting materials determined through hydrogen bonding on template molecular structures of flavonoids. *Molecules*, 29(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/molecules29061292>
43. **Guesmi, F., Ben Hmed, M., Prasad, S., Tyagi, A. K., & Landoulsi, A. (2019).** In vivo pathogenesis of colon carcinoma and its suppression by hydrophilic fractions of *Clematis flammula* via activation of TRAIL death machinery (DRs) expression. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109, 2182-2191. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.11.052>

H

44. **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007).** [Oxidative stress]. *Revue Medicale De Liege*, 62(10), 628-638.
45. **Halpern, G. M. (2004).** *Ulcer free! Nature's safe & effective remedy for ulcers*. Garden City Park, N.Y. : Square One Publishers. <http://archive.org/details/ulcerfreenatures0000halp>

46. **Handa, O., Naito, Y., & Yoshikawa, T. (2010).** *Helicobacter pylori* : A ROS-inducing bacterial species in the stomach. *Inflammation Research*, 59(12), 997-1003. <https://doi.org/10.1007/s00011-010-0245-x>
47. **Hui, S., & Fangyu, W. (2017).** Protective effects of bilobalide against ethanol-induced gastric ulcer in vivo/vitro. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 85, 592-600. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.11.068>
48. **Hunt, R. H., Camilleri, M., Crowe, S. E., El-Omar, E. M., Fox, J. G., Kuipers, E. J., et al., (2015).** The stomach in health and disease. *Gut*, 64(10), 1650-1668. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2014-307595>

J

49. **Jain, P., Pandey, R., & Shukla, S. S. (2015).** *Inflammation: Natural Resources and Its Applications*. Springer India. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2163-0>
50. **Jing, W., Liu, C., Su, C., Liu, L., Chen, P., Li, X., Zhang, X., Yuan, B., Wang, H., & Du, X. (2023).** Role of reactive oxygen species and mitochondrial damage in rheumatoid arthritis and targeted drugs. *Frontiers in Immunology*, 14, 1107670. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1107670>
51. **Johansson, M., Synnerstad, I., & Holm, L. (2000).** Acid transport through channels in the mucous layer of rat stomach. *Gastroenterology*, 119(5), 1297-1304. <https://doi.org/10.1053/gast.2000.19455>
52. **Júnior, F. E. B., De Oliveira, D. R., Bento, E. B., Leite, L. H. I., Souza, D. O., Siebra, A. L. A., et al., (2013).** Antiulcerogenic activity of the hydroalcoholic extract of leaves of *Croton campestris* A. St.-Hill in Rodents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2013/579346>

K

53. **Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J.-P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., & Heinonen, M. (1999).** Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 3954-3962. <https://doi.org/10.1021/jf990146l>
54. **Kalant, H., Mitchell, J., & Grant, D. (Éds.). (2007).** *Principles of medical pharmacology* (7. ed). Saunders, Elsevier Canada.

55. **Karima, Y. (2021).** *Etude floristique et Ethnobotanique des plantes médicinales dans le Tell Sétifien (forêt de Tamntout, Beni Aziz), Essai de caractérisation biologique et pharmacopée de l'espèce Erica arborea L.* [Working Paper]. <http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/3720>
56. **Kavitt, R. T., Lipowska, A. M., Anyane-Yeboa, A., & Gralnek, I. M. (2019).** Diagnosis and treatment of peptic ulcer disease. *The American Journal of Medicine*, 132(4), 447-456. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2018.12.009>
57. **Khoder, G., Al-Menhali, A. A., Al-Yassir, F., & Karam, S. M. (2016).** Potential role of probiotics in the management of gastric ulcer. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 12(1), 3-17. <https://doi.org/10.3892/etm.2016.3293>
58. **Khaled A. Abdel-Sater. (2011).** *Herbal Treatment of Peptic Ulcer: Guilty or Innocent.* INTECH Open Access Publisher.
59. **Kim, S. R., Park, J. W., Choi, Y.-J., Sonn, S. K., Oh, G. T., Lee, B.-H., & Chang, T.-S. (2024).** Mitochondrial H₂O₂ is a central mediator of diclofenac-induced hepatocellular injury. *Antioxidants*, 13(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/antiox13010017>

L

60. **Lacour, B., & Belon, J.-P. (2015).** *Physiologie.* Elsevier Masson.
61. **Lang, Y., Gao, N., Zang, Z., Meng, X., Lin, Y., Yang, S., Yang, Y., Jin, Z., & Li, B. (2024).** Classification and antioxidant assays of polyphenols: A review. *Journal of Future Foods*, 4(3), 193-204. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2023.07.002>
62. **Lazzaroni, M., & Bianchi Porro, G. (2004).** Gastrointestinal side-effects of traditional non-steroidal anti-inflammatory drugs and new formulations. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 20(s2), 48-58. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2004.02037.x>
63. **Leeds, E., & Toomey, M. (2001).** *An illustrated encyclopedia of clematis.* Timber press British Clematis Society.
64. **Leite, P. M., Camargos, L. M., & Castilho, R. O., (2021).** Recent progress in phytotherapy: A Brazilian perspective. *European Journal of Integrative Medicine*, 41, 101270. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2020.101270>
65. **Leverve, X. (2009).** Stress oxydant et antioxydants? *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 44(5), 219-224. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2009.09.001>
66. **Li, J., Liang, X., Wang, Q., Breyer, R. M., McCullough, L., & Andreasson, K. (2008).** Misoprostol, an anti-ulcer agent and PGE₂ receptor agonist, protects against cerebral ischemia. *Neuroscience letters*, 438(2), 210-215. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.04.054>

67. **Li, Q., Guo, H., Gong, M., Zhang, Y., Yang, L., Wang, J., et al. (2023).** Protective effects of aqueous extracts of the herb of *Paederia scandens* (Lour.) Merr. against HCl/EtOH-Induced Gastric Ulcer in Rats : Involvement and Inhibitors' Identification of NF- κ B Signaling. *Journal of Food Biochemistry*, 2023, 1-15. <https://doi.org/10.1155/2023/4545188>
68. **Li, Q., Hu, X., Xuan, Y., Ying, J., Fei, Y., Rong, J., et al. (2018).** Kaempferol protects ethanol-induced gastric ulcers in mice via pro-inflammatory cytokines and NO. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 50(3), 246-253. <https://doi.org/10.1093/abbs/gmy002>
69. **Liu, Y., Gou, L., Fu, X., Li, S., Lan, N., & Yin, X. (2013).** Protective effect of rutin against acute gastric mucosal lesions induced by ischemia-reperfusion. *Pharmaceutical Biology*, 51(7), 914-919. <https://doi.org/10.3109/13880209.2013.771375>
70. **Loudon, J. C. (1830).** *Loudon's Hortus Britannicus, a catal. Of all the plants indigenous, cultivated in, or introduced ...* <http://archive.org/details/loudonshortusbr00loudgoog>
71. **Lu, S. C. (2013).** Glutathione synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1830(5), 3143-3153. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.09.008>

M

72. **Maksimović, Z., Malenčić, Đ., & Kovačević, N. (2005).** Polyphenol contents and antioxidant activity of *Maydis stigma* extracts. *Bioresource Technology*, 96(8), 873-877. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.09.006>
73. **Marc, E. B., Nelly, A., Annick, D.-D., & Frederic, D. (2008).** Plants used as remedies antirheumatic and antineuralgic in the traditional medicine of Lebanon. *Journal of Ethnopharmacology*, 120(3), 315-334. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.08.024>
74. **Margis, R., Dunand, C., Teixeira, F. K., & Margis-Pinheiro, M. (2008).** Glutathione peroxidase family – an evolutionary overview. *The FEBS Journal*, 275(15), 3959-3970. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06542.x>
75. **Marklund, S., & Marklund, G. (1974).** Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European journal of biochemistry*, 47(3), 469-474.
76. **Medjahed, Z., Chaher-Bazizi, N., Atmani-Kilani, D., Ahmane, N., Ruiz-Larrea, M. B., Sanz, J. I. R., et al. (2023).** A novel flavonol glycoside and six derivatives of quercetin and kaempferol from *Clematis flammula* with antioxidant and anticancer potentials. *Fitoterapia*, 170, 105642. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2023.105642>
77. **Melchior, C., & Savoye, G. (2020).** Fonctions et motricité del'estomac. In *Réanimation* (4^e éd., Vol. 33). Elsevier Masson SAS.

78. **Minozzo, B. R., Lemes, B. M., Justo, A. D. S., Lara, J. E., Petry, V. E. K., Fernandes, D., et al. (2016).** Anti-ulcer mechanisms of polyphenols extract of *Euphorbia umbellata* (Pax) Bruyns (Euphorbiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 191, 29-40. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.06.032>
79. **Mittal, M., Siddiqui, M. R., Tran, K., Reddy, S. P., & Malik, A. B. (2014).** Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants & Redox Signaling*, 20(7), 1126-1167. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.5149>
80. **Miskovitz, P. F. & Marian Betancourt. (2005).** *The doctor's guide to gastrointestinal health: Preventing and treating acid reflux, ulcers, irritable bowel syndrome, diverticulitis, celiac disease, colon cancer, pancreatitis, cirrhosis, hernias and more.* Wiley.
81. **Montreuil, J. (2021).** *Revue de l'utilisation des inhibiteurs de la pompe à protons en réanimation pédiatrique et exploration des complications associées.* 49.
82. **Musumba, C., Pritchard, D. M., & Pirmohamed, M. (2009).** Review article: Cellular and molecular mechanisms of NSAID-induced peptic ulcers. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 30(6), 517-531. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2009.04086.x>

N

83. **Nomura, A. (1994).** *Helicobacter pylori* infection and the risk for duodenal and gastric ulceration. *Annals of Internal Medicine*, 120(12), 977. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-120-12-199406150-00001>

P

84. **Park, H., Seo, C.-S., Baek, E. B., Rho, J., Won, Y.-S., & Kwun, H. (2021).** Gastroprotective effect of myricetin on ethanol-induced acute gastric injury in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2021/9968112>
85. **Patel, M. K., Riley, M. A., Hobbs, S., Cortez-Cooper, M., & Robinson, V. J. B. (2014).** Can α -Lipoic acid mitigate progression of aging-related decline caused by oxidative stress? *Southern Medical Journal*, 107(12), 780-787. <https://doi.org/10.14423/SMJ.0000000000000198>
86. **Pengelly, A. (2020).** *The constituents of medicinal plants: An introduction to the chemistry and therapeutics of herbal medicine* (Second edition). Routledge, Taylor & Francis Group.
87. **Pereira, A. C. H., Lenz, D., Nogueira, B. V., Scherer, R., Andrade, T. U., Costa, H. B. D., et al. (2017).** Gastroprotective activity of the resin from *Viola oleifera*. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 472-480. <https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1251467>

88. Poret, M., Tran, T., Villotte, M., & Nüsse, O. (2017). La myéloperoxydase : Un fin stratège face à l'infection par un pathogène. *Médecine/sciences*, 33(8-9), 741-743. <https://doi.org/10.1051/medsci/20173308018>

89. Prayoga, D., Aulifa, D., Budiman, A., & Levita, J. (2024). Plants with anti-ulcer activity and mechanism: A review of preclinical and clinical studies. *Drug Design, Development and Therapy, Volume 18*, 193-213. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S446949>

R

90. Reynolds, J. C. (2016). *The Netter collection of medical illustrations* (2nd ed, Vol. 9). Elsevier.

91. Rodriguez-Palacios, A., Rodriguez-Palacios, A., Aladyshkina, N., & Cominelli, F. (2015). Stereomicroscopy and 3D-target myeloperoxidase intestinal phenotyping following a fecal flora homogenization protocol. *Protocol Exchange*. <https://doi.org/10.1038/protex.2015.065>

92. Ross, J. S., Wilson, K. J. W., Waugh, A., Grant, A., Chambers, G., & Cosserat, J. (2015). *Anatomie et physiologie normales et pathologiques* (12e éd). Elsevier Masson.

S

93. 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. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12456>

94. Saidi, R., Chawech, R., Baccouch, N., & Mezghani Jarraya, R. (2019). Study toward antioxidant activity of *Clematis flammula* extracts: Purification and identification of two flavonoids-glucoside and trisaccharide. *South African Journal of Botany*, 123, 208-213. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.03.010>

95. Saidi, R., Khanous, L., Khadim Allah, S., Hamdi, B., Ayadi, A., Damak, M., Hammami, H., et al. (2017). Antifungal, molluscicidal and larvicidal assessment of anemonin and *Clematis flammula* L. extracts against mollusc *Galba truncatula*, intermediate host of *Fasciola hepatica* in Tunisia. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(10), 967-973. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.09.008>

96. Santos, J., Moreira, V., Campos, M., Chelucci, R., Barbieri, K., Souto, P., et al. (2012). Pharmacological evaluation and preliminary pharmacokinetics studies of a new diclofenac prodrug without gastric ulceration effect. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(11), 15305-15320. <https://doi.org/10.3390/ijms131115305>

97. Sarker, U., & Oba, S. (2020). Polyphenol and flavonoid profiles and radical scavenging activity in leafy vegetable *Amaranthus gangeticus*. *BMC Plant Biology*, 20(1), 499. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02700-0>
98. Satapathy, T., Sen, K., Sahu, S., Pradhan, B., Gupta, A., Khan, Md. A., Kumar, D., et al. (2024). Experimental animal models for gastric ulcer / peptic ulcer : An overview. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 14(1), 182-192. <https://doi.org/10.22270/jddt.v14i1.6258>
99. Schubert, M. L. (2016). Gastric acid secretion. *Current Opinion in Gastroenterology*, 32(6), 452-460. <https://doi.org/10.1097/MOG.0000000000000308>
100. Scott, A. S., & Fong, E. (2017). *Body structures and functions* (13th edition). Cengage Learning.
101. Sedlak, J., & Lindsay, R. H. (1968). Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical biochemistry*, 25, 192-205.
102. Shams, S. G. E., & Eissa, R. G. (2022). Amelioration of ethanol-induced gastric ulcer in rats by quercetin: Implication of Nrf2/HO1 and HMGB1/TLR4/NF-κB pathways. *Heliyon*, 8(10), e11159. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11159>
103. Shareef, S. H., Al-Medhtiy, M. H., Ibrahim, I. A. A., Alzahrani, A. R., Jabbar, A. Aj., Galali, Y., et al. (2022). Gastrophylactic effects of p-Cymene in ethanol-induced Gastric Ulcer in Rats. *Processes*, 10(7), 1314. <https://doi.org/10.3390/pr10071314>
104. Singh, N., Baby, D., Rajguru, J., Patil, P., Thakkannavar, S., & Pujari, V. (2019). Inflammation and cancer. *Annals of African Medicine*, 18(3), 121. https://doi.org/10.4103/aam.aam_56_18
105. 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. <https://doi.org/10.3390/molecules25225431>
106. Sherwood, L. (2000). *Physiologie humaine* (A. Lockhart, Trad.). De Boeck université.
107. Sherwood, L., Kell, R., & Ward, C. (2013). *Human physiology: From cells to systems*. Toronto: Nelson Education. <http://archive.org/details/humanphysiologyf02edsher>
108. Silbernagl, S., Lang, F., Duval, D., Gay, R., & Rothenburger, A. (2000). *Atlas de poche de physiopathologie*. Flammarion médecine-sciences.
109. Smith, M. E., & Morton, D. G. (2001). *The digestive system*. Churchill Livingstone.

- 110. Sowndhararajan, K., & Chin, N. L. (2014).** Antioxidant and anti-ulcer effects of ethyl acetate fraction of *Merremia Tridentata* (L.) Hallier F. Root. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 406-414. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2014.11.057>
- 111. Sreekumar, P. G., Ferrington, D. A., & Kannan, R. (2021).** Glutathione metabolism and the novel role of mitochondrial GSH in retinal degeneration. *Antioxidants*, 10(5), 661. <https://doi.org/10.3390/antiox10050661>
- 112. Stephenie, S., Chang, Y. P., Gnanasekaran, A., Esa, N. M., & Gnanaraj, C. (2020).** An insight on superoxide dismutase (SOD) from plants for mammalian health enhancement. *Journal of Functional Foods*, 68, 103917. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103917>
- 113. Swallah, M. S., Sun, H., Affoh, R., Fu, H., & Yu, H. (2020).** Antioxidant potential overviews of secondary metabolites (Polyphenols) in fruits. *International Journal of Food Science*, 2020, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2020/9081686>

T

- 114. Tanikawa, C., Matsuo, K., Kubo, M., Takahashi, A., Ito, H., Tanaka, H., et al. (2013).** Impact of PSCA variation on gastric ulcer susceptibility. *PLoS ONE*, 8(5), e63698. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063698>
- 115. Thieblemont, N., Wright, H. L., Edwards, S. W., & Witko-Sarsat, V. (2016).** Human neutrophils in auto-immunity. *Seminars in Immunology*, 28(2), 159-173. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2016.03.004>

V

- 116. Vaziri, N. D., & Rodríguez-Iturbe, B. (2006).** Mechanisms of disease: Oxidative stress and inflammation in the pathogenesis of hypertension. *Nature Clinical Practice Nephrology*, 2(10), 582-593. <https://doi.org/10.1038/ncpneph0283>
- 117. Vyawahare, N. S., Deshmukh, V. V., Gadkari, M. R., & Kagathara, V. G. (2009).** *PHCOG REV. : Review Article Plants with Antiulcer Activity.*

W

- 118. Waldum, H. L., Hauso, Ø., & Fossmark, R. (2014).** The regulation of gastric acid secretion – clinical perspectives. *Acta Physiologica*, 210(2), 239-256. <https://doi.org/10.1111/apha.12208>

- 119. Wallace, J. L. (2008).** Prostaglandins, NSAIDs, and gastric mucosal protection: Why doesn't the stomach digest itself? *Physiological Reviews*, 88(4), 1547-1565. <https://doi.org/10.1152/physrev.00004.2008>
- 120. Wallace, J. L., Caliendo, G., Santagada, V., Cirino, G., & Fiorucci, S. (2007).** Gastrointestinal safety and anti-inflammatory effects of a hydrogen sulfide-releasing diclofenac derivative in the rat. *Gastroenterology*, 132(1), 261-271. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2006.11.042>
- 121. Wallace, J. L., & McKnight, G. W. (1993).** Characterization of a simple animal model for nonsteroidal anti-inflammatory drug induced antral ulcer. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 71(7), 447-452. <https://doi.org/10.1139/y93-066>
- 122. Wolfe, M. M., Davis, G. L., Farraye, F. A., Giannella, R. A., Malagelada, J.-R., & Steer, M. L. (2006).** *Therapy of digestive disorders*. Elsevier Saunders. http://archive.org/details/therapyofdigesti0000unse_q5i9

Y

- 123. Yanaka, A. (2018).** Role of NRF2 in protection of the gastrointestinal tract against oxidative stress. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 63(1), 18-25. <https://doi.org/10.3164/jcbtn.17-139>
- 124. Yap, H. M., & Lye, K. L. (2020).** An insight of vitamin E as neuroprotective agents. *Progress In Microbes & Molecular Biology*, 3(1).
- 125. Yasui, K., & Baba, A. (2006).** Therapeutic potential of superoxide dismutase (SOD) for resolution of inflammation. *Inflammation Research*, 55(9), 359-363. <https://doi.org/10.1007/s00011-006-5195-y>
- 126. Yeung, Y. T., Aziz, F., Guerrero-Castilla, A., & Arguelles, S. (2018).** Signaling pathways in inflammation and anti-inflammatory therapies. *Current Pharmaceutical Design*, 24(14), 1449-1484. <https://doi.org/10.2174/1381612824666180327165604>
- 127. Yous, F., Atmani-Kilani, D., Debbache-Benaida, N., Cherift, N., Sebaihi, S., Saidene, N., et al. (2018).** Anti-ulcerogenic and proton pump (H⁺, K⁺ ATPase) inhibitory activity of *Clematis flammula* L. extract. *South African Journal of Botany*, 119, 390-399. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.09.036>

Z

128. Zapata-Colindres, J. C., Zepeda-Gómez, S., Montaña-Loza, A., Vázquez-Ballesteros, E., Villalobos, J. de J., & Valdovinos-Andraca, F. (2006). *The association of Helicobacter pylori infection and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in peptic ulcer disease.* 20(4).
129. Zhang, J., Wang, X., Vikash, V., Ye, Q., Wu, D., Liu, Y., et al. (2016). ROS and ROS-Mediated Cellular Signaling. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016(1), 4350965. <https://doi.org/10.1155/2016/4350965>
130. Zhang, W., Lian, Y., Li, Q., Sun, L., Chen, R., Lai, X., et al. (2020). Preventative and therapeutic potential of flavonoids in peptic ulcers. *olecules*, 25(20), 4626. <https://doi.org/10.3390/molecules25204626>
131. Zhou, D., Yang, Q., Tian, T., Chang, Y., Li, Y., Duan, L.-R., et al. (2020). Gastroprotective effect of gallic acid against ethanol-induced gastric ulcer in rats: Involvement of the Nrf2/HO-1 signaling and anti-apoptosis role. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 126, 110075. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110075>

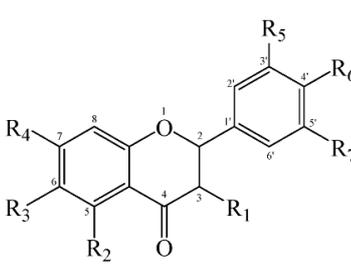
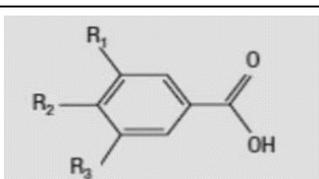
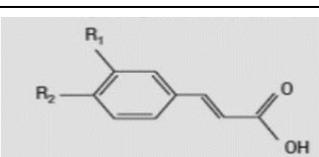
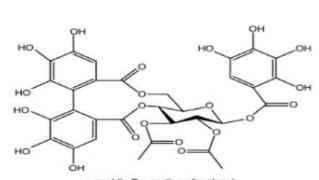
Annexes

○ Annexe I

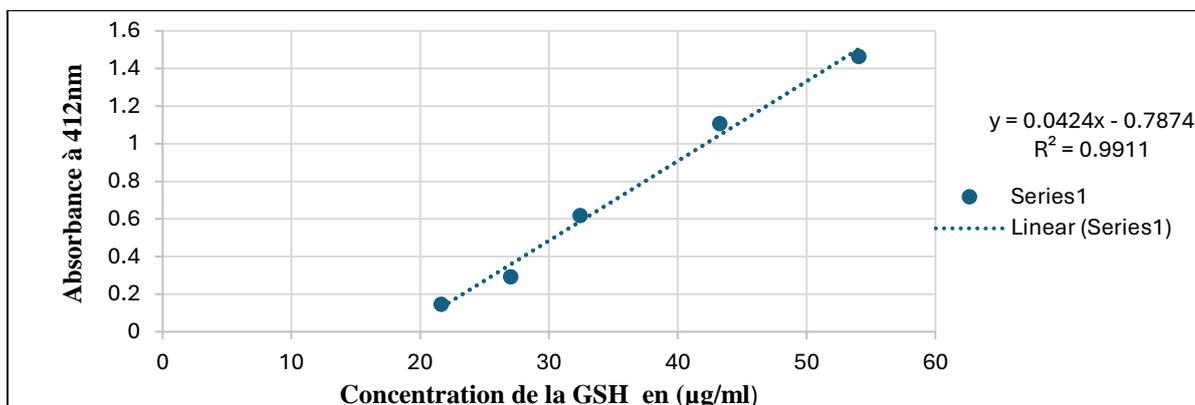
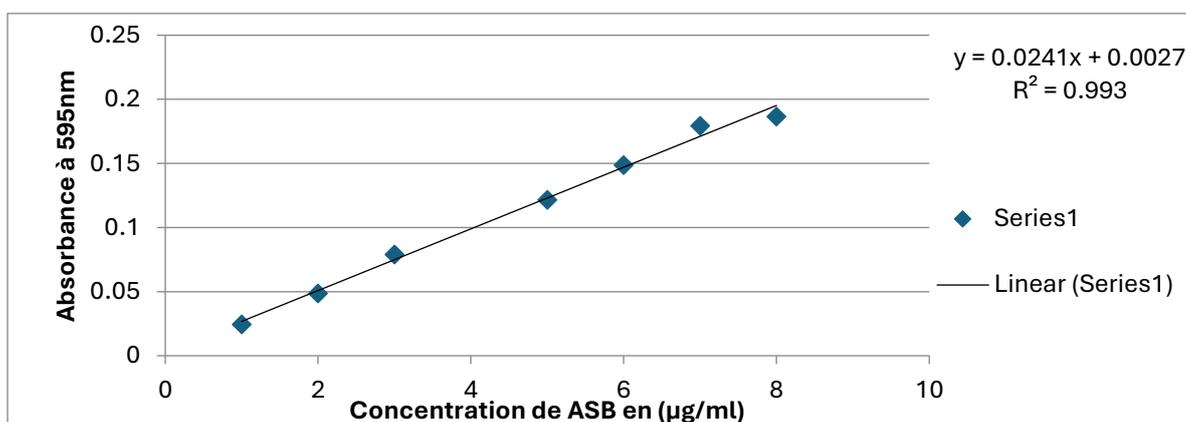
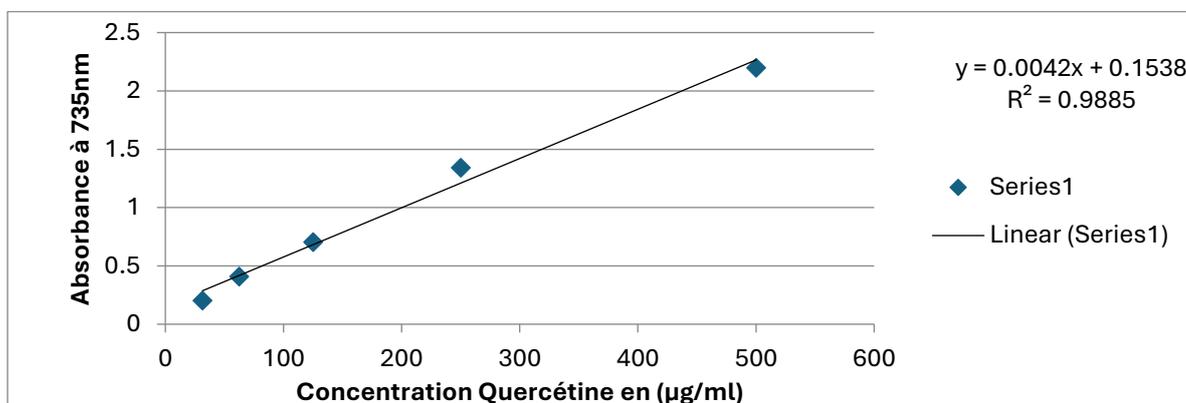
Tableau A : Les types d'anti-ulcéreux avec des exemples de principes actifs (Halpern, 2004; Wolfe et al., 2006).

| Type de médicament | Principes actifs |
|---------------------------------------|--|
| Les anti H2 | Cimétidine / Famotidine / Ranitidine |
| Les anti acide | MagnésiumHydroxide / AluminumHydroxyde |
| Les Inhibiteurs de la pompe à protons | Oméprazole/ Rabéprazole / Lansoprazole |
| Les analogues de Prostaglandine | Enprostil / Misoprostole / Arbaprostil |

Tableau B : Classification des polyphénols avec quelques exemples de sources alimentaires.

| Classe | Sous-classe | Structure chimique | Sources alimentaires | Référencer |
|--------------------|---------------------------|---|-----------------------------------|---|
| Flavonoïdes | Flavones |  | Céréales, olives, thym | (Swallah et al., 2020 ; Guan et al., 2024) |
| | Flavanols | | Nectarines, poires, cacao | |
| | Flavonols | | Oignons, haricots, prunes | |
| | Flavanones | | Paprika, écorce des citrons | |
| | Isoflavones | | Soja, lait de soya, fromage | |
| | Anthocyanes | | Algues, fraises, framboise | |
| Acides phénoliques | Acides hydroxybenzoïques |  | Fraises, framboises, Jus d'amande | (Alamgir, 2018 ; Belščak-Cvitanović et al., 2018) |
| | Acides hydroxycinnamiques |  | Pomme, épinards, thé | |
| Tanins | |  | Thé, le vin, café | (Pengelly, 2020) |

○ Annexe II

○ **Figure A :** Courbe d'étalonnage de la GSH.**Figure B :** Courbe d'étalonnage de la ASB pour dosage des protéines.**Figure C :** Courbe d'étalonnage de la Quercétine pour le dosage des phénols totaux.

Résumé

L'ulcère gastrique est l'un des troubles gastro-intestinaux les plus répandus à travers le monde, défini par une rupture de l'intégrité normale de la muqueuse gastrique, résultante d'un déséquilibre entre les facteurs défensifs et offensifs de la barrière gastrique. Trente pour cent des cas d'ulcère de l'estomac sont dus à une consommation accrue des AINS. *Clematis flammula* est une plante locale, largement utilisée en médecine traditionnelle algérienne, pour ses nombreuses propriétés curatives en tant qu'anti-inflammatoire et anti-ulcère. La présente étude vise à évaluer l'effet gastro-protecteur de l'extrait hydro-éthanolique (200mg/kg) de *C. flammula* et le misoprostol (200mg/kg) contre les AINS chez des rats Wistar. Cette activité a été testée par l'administration du diclofénac (200mg/kg), qui a induit chez l'animal un ulcère accru caractérisé par des lésions externes observables (pourcentage d'ulcération de $7,53 \pm 0,50$) qui a été réduit par le pré-traitement avec l'extrait et le misoprostol (à des pourcentages de $1,21 \pm 0,093\%$ et $1,46 \pm 0,36\%$ respectivement). L'analyse biochimique a montré une augmentation du taux de la MPO en tant qu'indicateur de l'inflammation, et une réduction des paramètres du système de défense antioxydant (CAT, SOD, GSH) dans le lot ulcéré, en contraste avec les lots prétraités par l'extrait et le misoprostol, respectivement, où la MPO a baissé considérablement et les activités de la CAT, SOD et les taux de GSH ont augmenté. Ces résultats confirment la validité de l'utilisation de *Clematis flammula* dans le traitement antiulcéreux, et encourage son exploitation dans le domaine pharmaceutique.

Mots clés : *Clematis flammula*, SOD, CAT, Gastro-protection, Polyphénols.

Abstract

Gastric ulcer is one of the most common gastrointestinal disorders worldwide, defined by a disruption of the normal integrity of the gastric mucosa, resulting from an imbalance between the defensive and offensive factors of the gastric barrier. Thirty per cent of gastric ulcer cases are due to increased consumption of NSAID. *Clematis flammula* is a local plant, widely used in traditional Algerian medicine for its numerous curative properties as anti-inflammatory and anti-ulcer activities. The present study aimed at evaluating the gastro-protective effect of the hydro-ethanolic *C. flammula* extract (200mg/kg) and misoprostol (200 mg/kg) against the ulcerative action of NSAIDs in Wistar rats. This activity was assessed by the administration of diclofenac (200mg/kg) which induced in the animal a severe ulcer characterized by observable external lesions (percentage of ulceration of $7,53 \pm 0,50$), which was reduced by pre-treatment with the extract and misoprostol (at percentages of ulceration of $1,21 \pm 0,093\%$, $1,46 \pm 0,36\%$ respectively), Biochemical analysis demonstrated a rise in MPO as an index of inflammation, and a reduction of the antioxidant defense parameters system (CAT, SOD, GSH) in the ulcerated group, in contrast with the groups pre-treated with the extract and misoprostol, respectively, where MPO was considerably decreased and CAT and SOD activities as well as the level of GSH were increased. These results confirm the validity of using *Clematis flammula* in the treatment of ulcers and encourage its exploitation in the pharmaceutical field.

Keywords: *Clematis flammula*, SOD, CAT, Gastro-protection, Polyphenols.

المخلص

قرحة المعدة هي واحدة من أكثر اضطرابات الجهاز الهضمي شيوعا، وتعرف بانتهيار في السلامة الطبيعية للغشاء المخاطي للمعدة الناتجة عن عدم توازن بين العوامل الدفاعية و الهجومية لحاجز المعدة. ثلاثون بالمائة من حالات قرحة المعدة ترجع إلى استهلاك مضادات الالتهاب غير الستيروئيدية. نبات الياسمين البري هو نبات محلي يستخدم على نطاق واسع في الطب الجزائري التقليدي لخصائصه العلاجية العديدة، و أنشطته المضادة للالتهابات و القرحة. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم التأثير الوقائي للمعدة لمستخلص الايثانولي لنبات الياسمين البري، و إثبات قوة مضادات الالتهاب غير الستيروئيدية في الوقاية من القرحة. تم اختيار هذا النشاط عن طريق إعطاء الديكلوفيناك بجرعة 200 ملغ/كغم مما أدى إلى زيادة التقرح في الحيوان الذي يتميز بقروح خارجية ملحوظة (دراسة عينية لتقدير نسبة التقرح من الديكلوفيناك المقدره بي $(7,53\% \pm 0,50)$ ، تم بعد ذلك فحص معيارين آخرين، فحص كيميائي حيوي تتمثل في تحديد مستوى MPO و إنزيمات النظام الدفاع المضاد للأكسدة، CAT, SOD, GSH، و دراسة نسيجية أكدت التقرحات التي سببها الديكلوفيناك من خلال ظهور تغيرات في الأنسجة الكبيرة المعدية، تمت مقارنة التأثير المضاد للقرحة لمستخلص نبات الياسمين مع جزيء مرجعي هو الميسوبروستول، حيث أظهرت المعالجة المسبقة للمستخلص الايثانولي بجرعة 200 ملغ/كغم نشاطا قدره $1,21 \pm 0,093\%$ و $1,46 \pm 0,36\%$ و تؤكد هذه النتائج إمكانية استخدام مستخلص الياسمين البري لعلاج مضاد لقرحة المعدة دون آثار جانبية.

الكلمات المفتاحية: الياسمين البري، CAT, SOD, GSH، وقاية المعدة، البوليفينولات.