



Université Mohamed Khidher de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la
nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Biochimie appliquée Réf.

:

Présenté et soutenu par :
NADA DJOUDI

Le : 2020 – 09- 30 .

Thème

Etude de synthèse : l'activité anti-oxydante et cyto-protectrice des trois plantes de la famille *Fabaceae* vis-à-vis la toxicité de la doxorubicine

Jury :

| | | |
|----------------------|----------------------|--------------|
| Mme Leila Bellebcire | Université de Biskra | Promotrice |
| Mme Fatiha Neffoussi | Université de Biskra | Présidente |
| Mme Yamina Bouatrous | Université de Biskra | Examinatrice |

Année universitaire : 2019/2020

Remerciement

Auons tous nous remercions le dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Nous avons l'honneur et le plaisir de présenter nos profondes gratitudees et nos sincères remerciements à notre encadreur Mme. L. Bellebeir, ou la remercie beaucoup, pour sa précieuse aide, pour ces orientations et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nos profonds remerciements vont également à Mme H. Trabsa pour son soutien moral, ses encouragements, sa confiance en nos capacités, et pour tous ses efforts et ses grands plaisirs.

Nos remerciement s'adresse à tout nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.

Nous remercions par ailleurs, les membres du jury de nous avoir fait l'honneur de juger notre travail.

Sans oublier tous les employées de la bibliothèque et les ingénieurs du laboratoire de départements pour ses efforts.

Finalement, nous remercions toutes les personnes qui ont participé de près ou loin à la concrétisation de ce mémoire.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

La lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que je t'adore.

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde mon chéri, à toi mon père.

A mes grand - parents. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de votre amour, votre présence de ma vie. Que dieu vous me gardé en bonne santé et longue vie, que dieu me garde vos prières ce qui été toujours la raison de mes succès, je vous aime trop

A mon grand frère Hamid , mes sœurs Douaa et Besmalla , vous êtes mes vrais amis , mon soutien , les meilleure choses à faire dans ma vie , que vous me gardes tous le temps .

A mes oncles mes tantes, ma grande famille « Djoudi et Ouamane », vous êtes toujours dans mon esprit et dans mon cœur, j'ai jamais oublié tout les moments qui ce passés avec vous.

Finalement je dédie ce travail à mes amis, mes collègue, à chaque personne aide moi par n'importe quelle chose, à tous ceux qui m'ont aimé ou m'ont souhaité le bonheur. Merci.



Sommaire

| | |
|--|----------|
| Page de garde | |
| remerciement | |
| dédicace | |
| table de matier | |
| Liste des tableaux | |
| Liste des figures | |
| Liste des abréviations | |
| Introduction générale..... | 1 |
| Chapitre1: | 3 |
| Les fabacées | 3 |
| Généralité sur les fabacées..... | 3 |
| Répartition géographique | 3 |
| Description botanique | 3 |
| Position systématique | 4 |
| Chapitre 2: | 6 |
| Les métabolites secondaires et le stress oxydatif | 6 |
| I. Les métabolites secondaires..... | 6 |
| 1. Les composés polyphénoliques | 6 |
| 2. Les terpénoïdes et les stéroïdes..... | 6 |
| 3. Les alcaloïdes..... | 6 |
| II. Le stress oxydatif | 7 |
| 1. Origine et définition..... | 7 |
| 2. Les radicaux libres..... | 7 |
| 3. Conséquences cellulaires du stress oxydant | 7 |
| Chapitre 3: La doxorubicine | 8 |
| I. Généralité sur la doxorubicine | 8 |
| 1. Définition et origine de la doxorubicine | 8 |
| 2. La structure moléculaire..... | 8 |
| 3. Pharmacocinétique de la doxorubicine..... | 9 |
| 4. Pharmacodynamique de la doxorubicine (mécanisme d'action anti-tumoral).... | 9 |

| | |
|---|--------------|
| II. La toxicité de la doxorubicine | 10 |
| 1. Expression de la toxicité..... | 10 |
| 2. Toxicité hépatique | 10 |
| 3. Toxicité cardiaque | 10 |
| Matériels et..... | |
| Méthode..... | 11 |
| 1. Préparation des animaux | 11 |
| 2. Préparation des extraits | 12 |
| 3. Détermination du rendement des trois extrais des fabacées..... | 13 |
| 4. Evaluation de pouvoir toxique des trois extrais des fabacées..... | 13 |
| 5. Evaluation de l'activité antioxydante et cytoprotectrice des trois extrais aqueux vis-à-vis la toxicité médicamenteuse..... | 13 |
| 5.1. L'agent toxique (Doxorubicine)..... | 13 |
| 5.2. Marquage et répartition des souris..... | 14 |
| 5.3. Echantillonnage | 14 |
| 5.4. Evaluation d'activité antioxydante <i>in vivo</i> des extrais aqueux des fabacées . | 16 |
| 5.4.1. Dosage des protéines tissulaire | 16 |
| Principe de dosage | 16 |
| 5.4.2. Dosage du dialdéhyde malonique (MDA) <i>in vivo</i>..... | 16 |
| Principe de dosage | 16 |
| 5.4.3. Evaluation d'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (Gpx) <i>in vivo</i>..... | 16 |
| Principe de dosage | 16 |
| 5.5. Evaluation de l'activité cytoprotectrice <i>in vivo</i> des extrais aqueux des fabacées | 17 |
| 5.5.1. Dosage biochimique et enzymatiques <i>in vivo</i>..... | 17 |
| 5.5.1.1. Evaluation de l'activité enzymatique d'ALAT <i>in vivo</i>..... | 17 |
| Principe de dosage | 17 |
| 5.5.1.2. Evaluation de l'activité enzymatique d'ASAT <i>in vivo</i> | 18 |
| Principe du dosage..... | 18 |
| 5.5.1.3 Evaluation de l'activité enzymatique du lactate déshydrogénase (LDH) <i>in vivo</i> | 19 |
| Principe du dosage..... | 19 |
| 5.5.1.4. Evaluation de l'activité enzymatique de La créatine phosphokinase CPK <i>in vivo</i> | 19 |

| | |
|---|----|
| Principe du dosage..... | 19 |
| 5.5.2. Etude histo-pathologique..... | 20 |
| Principe de l'étude..... | 20 |
| Réalisation de l'étude..... | 20 |
| Résultats et discussion..... | 26 |
| 1. Détermination du rendement des trois extrais des plantes de la famille Fabacée... .. | 26 |
| 2. Evaluation de pouvoir toxique des extrais brutes des trois plantes..... | 27 |
| 3. Evaluation de l'activité antioxydant des trois extrais aqueux <i>in vivo</i> | 28 |
| 3.1. Dosage du dialdéhyde malonique (MDA) de foie <i>in vivo</i> | 28 |
| 3.2. Evaluation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase Gpx du foie <i>in vivo</i> | 29 |
| 3.3. Dosage du dialdéhyde malonique (MDA) de cœur <i>in vivo</i> | 30 |
| 3.4. Détermination de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase Gpx de cœur <i>in vivo</i> | 31 |
| 4. Evaluation d'activité cytoprotectrice des extrais aqueux des plantes | 32 |
| 4.1. Evaluation d'activité hépatoprotectrice des extrais <i>in vivo</i> | 32 |
| 4.1.1. Dosage biochimique et enzymatiques <i>in vivo</i> | 32 |
| 4.1.1.1. Evaluation d'activité enzymatique d'ALAT(TGP)..... | 32 |
| 4.1.1.2. Evaluation de l'activité enzymatique d'ASAT(TGO) <i>in vivo</i> | 33 |
| 4.1.2. Etude hépato-histo-pathologique | 34 |
| 4.1.3. Evaluation de l'activité cardioprotectrice des extrais aqueux..... | 37 |
| 4.1.3.1. Dosage biochimique et enzymatiques..... | 37 |
| 4.1.3.2. Dosage de lactate déshydrogénase LDH <i>in vivo</i> | 37 |
| 4.2.1.2. Dosage de la créatinine phosphokinase (CPK) | 38 |
| 4.2.2. Etude histo-pathologique | 39 |
| Conclusion..... | 41 |
| Conclusion..... | 45 |
| Bibliographie..... | 45 |
| Annexes | 42 |
| Résumé | |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1: La position systématique des fabacées selon différentes approches phylogénétiques ou morphologique (Boutaghane, 2013)..... | 5 |
| Tableau 2: le rapport de mortalité et les symptômes observés après les 14 jours de tests de toxicité à deux doses..... | 27 |
| Tableau 3: l'influence des extraits sur le taux de MDA hépatique chez des souris témoins et les souris traitées par la doxorubicine..... | 28 |
| Tableau 4: l'influence des extraits sur le taux de Gpx hépatique chez les souris témoins et les souris traitées par la doxorubicine..... | 29 |
| Tableau 5: l'influence des extraits sur le taux de MDA hépatique chez des souris témoins et les souris traitées par la doxorubicine..... | 30 |
| Tableau 6: l'influence des extraits sur le taux de GPx cardiaque chez des souris témoins et les souris traitées par la doxorubicine..... | 31 |
| Tableau 7 : les observations microscopiques de tissus hépatiques de souris témoins et des souris traitées | 34 |
| Tableau 8 : les observations microscopiques de tissus hépatiques de souris témoins et des souris traitées (Gr X40)..... | 39 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1: Les partie caractéristique des plantes de famille fabacéa..... | 4 |
| Figure 2: la Structure moléculaire de la doxorubicine. | 8 |
| Figure 3: Des souris blanches dans une cage transparente | 11 |
| Figure 4: Le protocole expérimental d'extraction des matériels végétaux. | 12 |
| Figure 5: Le chemin récapitulatif de principales étapes d'évaluations d'effet des extraits vis à vis la toxicité induite par la doxorubicine. | 15 |
| Figure 6:le principe du dosage d'activité enzymatique ALAT | 17 |
| Figure 7:le principe du dosage d'activité enzymatique ASAT..... | 18 |
| Figure 8:le principe du dosage de LDH | 19 |
| Figure 9: le principe du dosage de CPK..... | 20 |
| Figure 10 : le rendement des extraits aqueux bruts des trois fabacées | 26 |

Liste des abréviations

ASAT: Aspartate aminotransférase.

ALAT: Alanine aminotransférase.

CPK : Créatine phosphokinase.

CV : Congestion vasculaire.

CC : Condensation cytoplasmique.

CS : Capillaire sanguin.

DL₅₀: la dose létale 50%.

DOXO : Doxorubicine.

DV : Dilatation veineuse.

EAAG : Extrait aqueux d'*Astragalus gombiformis* Pomel.

EAAE : Extrait aqueux d'*Astragalus eremophilus*.

EAOA : Extrait aqueux d'*Ononis angustissima*.

EP : Espace porte.

FMCI : Fibre musculaire cardiaque intacte.

Gpx : Glutathion peroxydase.

GSH : Glutathion forme réduit.

H : Hémorragie.

IL : Inflammation lymphocytaire.

LDH : Lactate-déshydrogénase.

MDA : Dialdéhyde malonique.

M: Masse.

N : Noyau

OCDE : Organisation pour Coopération et Développement Economique.

Pc: Poids corporel.

PUFA: Acides gras polyinsaturés.

R: Rendement.

S: Sinusoïde.

TBA: Acide Thiobarbitu

TC: Tissue conjonctif

TGO : Transaminase glutamo-oxaloacétique.

TGP: Transaminase glutamo-pyruvique.

V: vacuolisation.

Introduction générale

Le cancer est une pathologie interne des cellules. Contrairement à de nombreuses maladies causées par le développement de nos agents externes (virus, bactéries, parasites) dans l'organisme, le cancer est causé par certaines de nos propres cellules qui perdent leur capacité à contrôler leur prolifération et tentent d'éviter les mécanismes de surveillance (Gunzburg, 2000).

Les médicaments anticancéreux forment une grande famille, divisée en plusieurs catégories de traitement. Ils sont tous caractérisés par leur mécanisme d'action, la toxicité plus les effets néfastes qu'ils provoquent. En effet, bien que la chimiothérapie anticancéreuse empêche la croissance et la reproduction des cellules cancéreuses, elle attaque également les cellules saines causant des dommages extrêmes au corps humain.

D'une cure à l'autre, les effets toxiques de la chimiothérapie varient d'une personne à l'autre en fonction du médicament utilisé et de la posologie. Ils ne sont pas toujours systématiques. Ces troubles peuvent être limités ou évités par la prévention ou le traitement médical et des conseils pratiques (Carol, 2017).

. La doxorubicine (DOX) est le médicament anticancéreux de première génération de la famille des anthracyclines. Les effets antitumoraux comprennent des mécanismes liés aux dommages à l'ADN et à la production de radicaux libres. Cette molécule est largement utilisée dans l'arsenal thérapeutique actuel, et son utilisation en chimiothérapie est assez restreinte en raison de sa toxicité multiple (Pothier, 2010 ; Mohan et *al.*, 2010).

Dans ce cas, de nombreuses molécules antioxydantes ont été proposées pour prévenir ces toxicités (Du et Lou, 2008 ; Vincent et *al.*, 2013), mais il y a encore des controverses dans la recherche clinique. C'est pourquoi aucune substance sur le marché ne protège efficacement les organes des effets toxiques des anthracyclines. Par conséquent, la recherche d'agents protecteurs est le sujet d'actualité (Chaa, 2019).

Malgré la découverte de nouveaux composés en chimie de synthèse, les ressources naturelles sont toujours les principaux fournisseurs de nouveaux médicaments et de nouvelles structures chimiques. On assiste donc à un renouvellement de la phytothérapie, notamment pour les produits riches en polyphénols, en particulier en flavonoïdes, qui présentent des propriétés antioxydantes biologiques intéressantes (Kurek-Górecka et *al.*, 2013 ; Georgiev et *al.*, 2014).

Les fabacées recouvrent une des plus grandes familles de plantes à fleurs, elle comprend 730 genres et 19 400 espèces. Cette famille est constituée d'espèces horticoles, qui sont beaucoup plus récoltées pour la consommation humaine, pour usage médical ou pour usage chimique (Wojciechowski et *al.*, 2004).

Plus de 200 constituants, dont des saponines et des flavonoïdes, obtenus à partir de 46 espèces du genre *Astragalus* (Fabaceae) ont montré des activités anti-inflammatoires, immunostimulantes, antioxydantes, anticancéreuses, antidiabétiques, cardioprotectrices, hépatoprotectrices et antivirales(Li et al., 2014).

L'étude est menée sur la lumière des résultats de trois mémoires de Master réalisés au niveau de département de biologie Biskra 2018 -2019. L'objectif est de contribuer à l'évaluation des trois extraits aqueux de trois Fabacées, leurs activités antioxydantes et leurs pouvoirs cytoprotecteurs.

Afin d'atteindre cet objectif il est important de :

- Comparer les rendements des extraits aqueux d'*Astragalus gombiformis* Pomel., d'*Astragalus ermophilus* et d'*Ononis augustissima*.
- Evaluer le pouvoir toxique des extrais aqueux des trois plantes.
- Evaluer l'activité anti-oxydante et cyto-protectrice des extraits aqueux des trois plantes *in vivo*.

Partie I: Synthèse bibliographique

Chapitre 1:

Les fabacées

Généralité sur les fabacées

Les Fabacées ou ce qu'on appelle encore les légumineuses présente la plus importante famille dans le monde végétale (Ozenda, 1991), et dans les dicotylédones spécifiquement (Bonnier, 1905). Ils sont classés parmi les plus grands groupes de Spermatophytes avec les Orchidacées et les Astéracées, comprenant plus de 20000 espèces cosmopolites des régions froides à tropicales (Quezel et Santa, 1962; Gepts *et al.*, 2005 ; Cronk *et al.*, 2006). Elle se répartit en trois sous-familles: Mimosoideae, Caesalpinioideae et Papilionoideae (Faboideae), (Wink, 2013). Le genre d'*Astragalus* le plus important de cette famille appartient de la sous-famille Faboideae, c'est le plus étendu chez les plantes à fleurs en générale avec 3270 espèces (Watrous *et al.*, 2011). Aussi bien Le genre d'*Ononis* qui appartient à la tribu des trifolieae des *Papilionoideae*, qui comprend presque 75 espèces, ces dernières présents en fréquence dans la région méditerranéenne, les Iles Canaries, l'Europe et dans l'Asie centrale (Nawasreh *et al.*, 2004).

Répartition géographique

les Fabacées sont distribuées dans tout le globe terrestre. Mais ils sont bien mieux notés en Amérique du centre et du sud. Ainsi en Afrique et en Asie. En d'autres termes, chaque sous-famille a sa distribution spécifique (Ndayishimiye, 2011).

Autour de 53 genres et 339 espèces des fabacées occupent une place importante en Algérie (Quézel et Santa, 1962; Ozenda, 1991). le genre d'*Astragalus* assez bien représenté. En effet, la flore algérienne comprend 45 taxons dont des sous-espèces (Quézel et Santa, 1962), sans oublier le genre d'*Ononis* qui est présent en tendance dans le nord de Sahara Algérienne comme d'Ouargla, Ghardaïa, Biskra et Bechar (Gilbert et Boutique, 1953).

Description botanique

La famille ou la superfamille des fabacées présente les plantes dicotylédones, dialypétales, superovariées, herbacées ou arborescentes, annuelles, bisannuelles ou pérennes (Judd *et al.*, 2002 ; Marouf et Reynaud, 2007). Ses fruits dits une gousse ou légume d'où on les appelle les légumineuses le nom le plus connu de cette famille (Wojciechowski *et al.*, 2004). le plus souvent chez les espèces de genre d'*Astragalus* s'agit de fruit sec, pluriloculaire à 2 loges, déhiscence ou indéhiscence (Quézel et Santa, 1962). s'ouvre en générale à maturité par double ouverture ventrale et dorsale (Morel, 2011). Les racines souvent pivotantes dont des nodosités à rhizobium qui s'apparaissent si y'a un manque d'azote du sol (Dupont et Guignard., 2007).

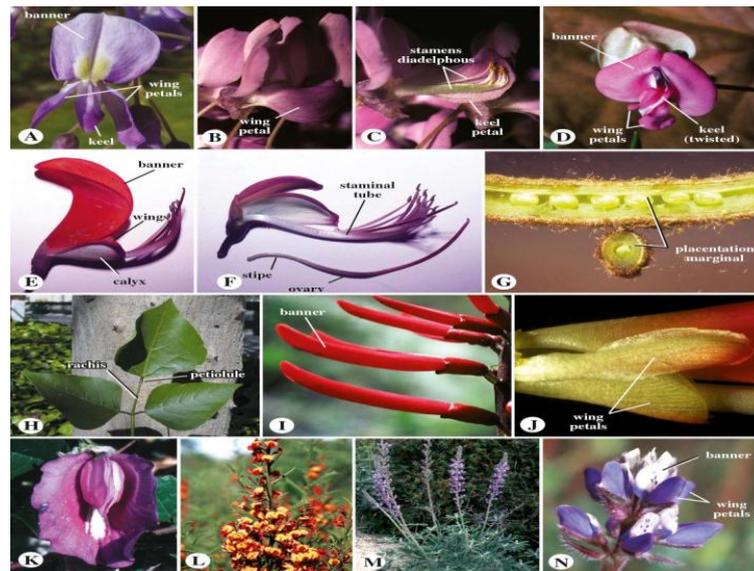


Figure 1: Les partie caractéristique des plantes de famille fabacéa
(Simpson, 2010).

Généralement, ses fleurs sont hermaphrodites, régulières ou irrégulières avec périanthe double (fig.1). Elles sont inférieure à 10 mm blanches panachées de violet chez l'espèce d'*Astragalus eremophilus* (Ozonda, 2004) et jaunes, sur des pédoncules allongés et réunis en grappes lâches chez l'espèce d'*Ononis angustissima*. (Gilbert et Boutique, 1953). Les inflorescences presque toujours indéterminées parfois réduites à une fleur solitaire terminale ou axillaire (Judd *et al.*, 2002).

Position systématique

Selon nombreux caractères morphologiques, les Fabacées subdivisent en trois sous-groupes ou 3 sous familles: les Cesalpinioideae, les Mimosoideae et les Faboideae Papilionoideae. Dans la plupart des classifications ces groupes sont considérés comme des sous-familles, mais ils sont parfois traités en familles indépendantes (Judd *et al.*, 2002) Le concept Leguminosae est alors utilisé soit au niveau familial selon Engler, soit au niveau ordinal selon Cronquist. (tab.1)

Tableau 1: La position systématique des fabacées selon différent approches phylogénétiques ou morphologique (Boutaghane, 2013).

| | Engler (1887-1915) | Cronquist (1988) | Thorne (1992) | APGIII (2009) |
|-------------------------------|---|--|---|---|
| Règne | Plantae | Plantae | Plantae | Plantae |
| Embranchement | Embryophyta | Magnoliophyta | Spermatophytae | Clade: Spermatophyta |
| Sous Embranchement | <i>Angiospermae</i> | / | Angiospermae | Clade: Angiospermae |
| Classe | <i>Dicotyledonae</i> | Magnoliopsida | Magnoliidae | Clade: Eudicotyledonae |
| Sous-classe | <i>Archichlamydeae</i> | Rosidae | Rutanae | Clade: Rosidae |
| Ordre | Rosales | Fabales | Rutales | Clade: Eurosidae |
| Sous-ordre | <i>Leguminosineae</i> | | Fabineae | Clade: Fabales |
| Famille | Leguminosae | <i>Fabaceae</i> (= <i>Papilionaceae</i>) | <i>Fabaceae</i> | <i>Fabaceae</i> (<i>Leguminosae</i>) |
| Sous-famille | <i>Faboideae</i> <i>Mimosoideae</i> <i>Caesalpinioideae</i> | / | <i>Faboideae</i> <i>Mimosoideae</i> <i>Caesalpinioideae</i> | <i>Faboideae</i> <i>Mimosoideae</i> <i>Caesalpinioideae</i> |

Chapitre 2:
Les métabolites
secondaires et le stress
oxydatif

I. Les métabolites secondaires

1. Les composés polyphénoliques

Les polyphénols semblent être des produits chimiques aromatiques, qui sont caractérisés par la présence d'un ou plusieurs cycles (noyaux) benzéniques directement attachés aux groupe hydroxyle. Ce dernier existe sous forme libre ou intégré dans une autre fonction, comme l'éther ou un l'ester (Tarascou et *al.*, 2010), ils sont produits par deux voies d'aromagenèse ; la voie de shikimates ou acide shikimique et de la voie acétate-malonate. En fonction de la structure chimique et du nombre de cycles aromatiques et de substances liées au cycle, les polyphénols se répartissent en deux catégories: les polyphénols simples (flavonoïdes, acides phénoliques et alcools phénoliques) complexes polyphénols ou tanins (tanins condensés et hydrolysables Tanin (Hassan, 2018)

2. Les terpénoïdes et les stéroïdes

Ceux-ci sont le résultat de l'assemblage d'unités ramifiées à 5 carbones dérivées du 2-méthylbutadiène (un polymère de l'isoprène), et ces métabolites peuvent constituer la deuxième classe de composés la plus importante. Comme les dérivés d'acides gras (tels que l'acétogène), les terpènes ont de l'acétyl CoA ou du malonyl CoA en raison de leur origine biosynthétique. Parce qu'ils ont des propriétés qui existent encore chez les animaux, comme le squalène, le cholestérol, les sesquiterpènes, etc. Selon le nombre d'unités isoprène, plusieurs types de terpènes peuvent être distingués: monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), ester terpènes (C25), triterpènes (C30) et tétraterpènes (40).

3. Les alcaloïdes

Ce sont des produits azotés basiques, d'origine naturelle dont l'atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique et dont l'activité pharmacologique est significative. Dans ce titre on peut distinguer aussi deux autres types de ces composés: les alcaloïdes terpéniques ou Les pseudo-alcaloïdes qui ne considèrent pas comme des dérivés des acides aminés. Les proto-alcaloïdes qui sont des amines simples ou l'azote hors le système hétérocyclique.

Les alcaloïdes ont, de plus, la propriété de réagir avec des sels de métaux lourds, ce qui permet leur caractérisation aisée Les alcaloïdes ont, de plus, la propriété de réagir avec des sels de métaux lourds, ce qui permet leur caractérisation aisée (Krief, 2003).

II. Le stress oxydatif

1. Origine et définition

On appelle un stress oxydatif une circonstance anormale créée grâce à un déséquilibre de la balance antioxydants/pro-oxydants, c'est le cas quand s'agit d'un déficit en agents antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux libres, ces derniers sont soit une production faible mais de façon permanente, résulte des dégâts tissulaires à travers les modifications oxydatives des biomolécules cellulaires (Favier, 2006 ; Medoui, 2018).

2. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) à haute réactivité (demi-vie courte). Il y a un ou plusieurs électrons non appariés sur la couche orbitale la plus externe pour la stabilité (Morris et al., 1995), et le radical libre peut être un radical libre central d'oxygène, d'azote ou de carbone (Fusco et al., 2007). Les radicaux libres qui endommagent les systèmes biologiques, en particulier les radicaux libres d'oxygène libre (RLO), sont souvent appelés «espèces réactives de l'oxygène» ou «ROS» (Rahman, 2007).

3. Conséquences cellulaires du stress oxydant

Selon la dose et le type cellulaire. Les conséquences de cette circonstance anormale se différencient de légers stress qui peuvent provoquer une aggravation de prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens aident l'apoptose, le temps que les forts stress peuvent générer une nécrose et des stress violents corrompent la membrane entraînant des lyses immédiates. D'autres troubles biologiques sont remarqués à la suite d'un stress oxydant: la diminution de fluidité membranaire, fibrose tissulaire, amoindrissement musculaire, la mort neuronale ou création de mutations. Plusieurs pathologies encore sont pareillement conduites: carcinogénèse, dépôts de protéines anormales, formation d'auto-anticorps, dépôts de lipides oxydés, immunosuppression etc... (Favier, 2006).

Chapitre 3:

La doxorubicine

I. Généralité sur la doxorubicine

1. Définition et origine de la doxorubicine

La doxorubicine, ou adriamycine est un antibiotique fait partie de la famille des anthracyclines, un médicament anti-cancéreux d'origine naturelle (isolées à partir de bactéries *Streptomyces peucetius*).En 1960 une équipe italienne des laboratoires "Farmitalia Research "ont été faire la découvert de cet antracycline et en1974 elle été approuvée par la Food and Drug Administration(FDA) (Kara , 2018). Leur suffixe rubicine rappelle leur couleur rouge intense (Minotti *et al.*, 2004 ; Mizutani *et al.*, 2005; Kara , 2018).

2. La structure moléculaire

Les anthracyclines possèdent une structure polyaromatique composée de 4 noyaux aromatiques portant la complexe hydroquinone et quinone (accepteur et donneur d'électrons) attachés à une partie glucique, la daunosamine par une liaison O-glycosidique. La structure moléculaire des diverses anthracyclines différent par l'ajout de radicaux (Fig.02) (Mazavet, 2015).

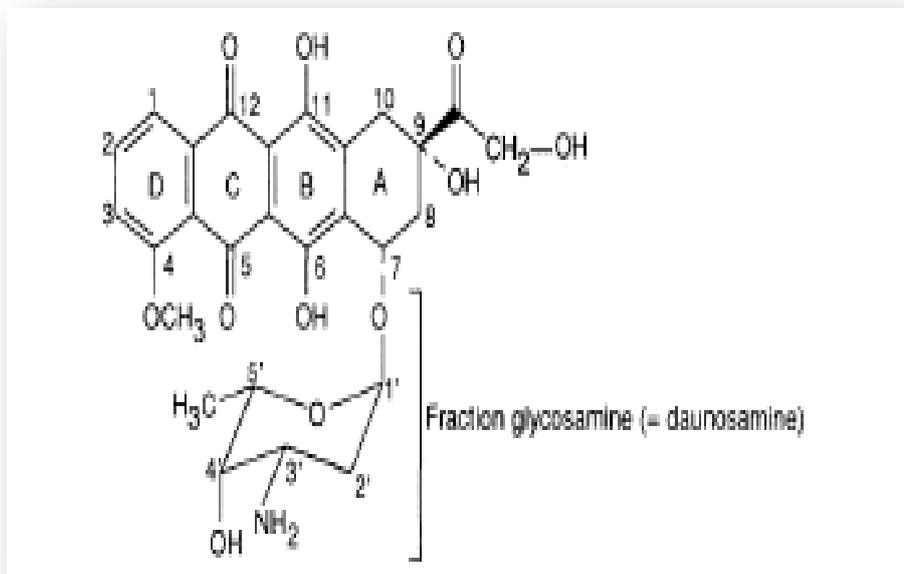


Figure 2: la Structure moléculaire de la doxorubicine (Hande, 1998; Tsuruo *et al.*, 2003).

3. Pharmacocinétique de la doxorubicine

Chez la souris, la concentration de doxorubicine dans les reins, le foie et le cœur a diminué de manière significative de 24 heures jusqu'à atteindre environ 5 µg / g, 4 µg / g et 1 µg / g après 72 heures. Selon une monographie éditée par Pfizer, la doxorubicine peut être rapidement éliminée du plasma du patient et se lier fermement aux tissus .L'adriamycine est rapidement distribuée dans l'ascite, la concentration dépasse le niveau plasmatique et le taux de liaison aux protéines plasmatiques est de 50 à 85%. L'élimination se fait principalement par la bile et les matières fécales, avec 40 à 50% de médicaments inchangés et 23% de doxorubicine. L'excrétion urinaire est minime (5 à 15% de la dose) et reste inchangée (Mazavet ,2015).

4. Pharmacodynamique de la doxorubicine (mécanisme d'action anti-tumoral)

l'administration d'adriamycine se fait par voie intraveineuse et est éliminée du sang rapidement partagée à certains tissus, tels que le foie, les poumons ou le cœur. Une fois la DOXO soit présent dans les organes cibles, elle diffuse simplement traversant le cytoplasme cellulaire, dirigé vers le noyau (Hand, 1998). Ce médicament agirait sur les cellules cancéreuses selon plusieurs modes d'action :

Intercaler dans la molécule d'ADN: La structure hydrocarbonée aromatique polycyclique plate des anthracyclines leur permet d'être placées entre deux paires de bases d'ADN et d'y associer des liaisons de haute affinité.

Interaction avec la topoisomérase II: La présence de molécules d'anthracycline au niveau de la topoisomérase II et des complexes d'ADN peut stabiliser le clivage double brin et inhiber l'action de l'enzyme responsable de la connexion de l'extrémité libre du brin de clivage pour restaurer l'ADN Structure tridimensionnelle.

La formation de radicaux libres: La réduction enzymatique des anthracyclines générera des semiquinones de radicaux libres, qui à leur tour conduisent à des groupes hydroxyles de radicaux libres. De plus, la conjugaison du groupement hydroquinone dans la molécule d'anthracycline (Cosima, 2002).

II. La toxicité de la doxorubicine

1. Expression de la toxicité

D'un modèle animal à l'autre, les effets toxiques ou manifestations de toxicité provoqués par les toxines peuvent être très différents. En fait, les performances de toxicité dépendent de la quantité de toxine et de son affinité de liaison avec les enzymes, les récepteurs cytoplasmiques, l'ADN et d'autres sites d'action. (Lauwerys, 2003). Ils sont évalués en fonction de plusieurs paramètres, dont le mode d'administration, la posologie, la mortalité observée, les changements de poids corporel, l'histologie de certains organes (Etame et al. 2017).

2. Toxicité hépatique

L'administration d'une dose unique de doxorubicine a diminué la teneur en cytochrome P-450 et en glutathion dans le foie du rat, et il a été démontré que des taux élevés de glutathion protègent les hépatocytes isolés de l'induction de la doxorubicine. Les effets de la toxicité.(Babson et al., Marchand et Renton,1981;Bagchi 1995). Différents types d'hépatotoxicité Tous les effets toxiques généralement exprimés au niveau du foie sont classés en hépatotoxicité. Ces crises dépendent généralement de la nature de la toxine, de la gravité de l'intoxication et donc du type d'exposition (aiguë ou chronique): stéatose, hépatite aiguë (nécrose, fibrose, cytolysse, cholestase), hépatite chronique (cirrhose hépatique) et des dommages aux vaisseaux sanguins, aux voies biliaires et aux tumeurs (Wallace et Meyer ,2010).

3. Toxicité cardiaque

La doxorubicine peut provoquer une cardiotoxicité irréversible de type I, caractérisée par des lésions persistantes associées à la mort des cardiomyocytes, aperçues avec une cardiomyopathie dilatée et des modifications ultrastructurales (Mazavet ,2015), telle que la turgescence du réticulum sarcoplasmique , un aspect vacuolaire. Une dégénérescence cellulaire avec des myofibrilles (Cosima, 2002).Généralement cette toxicité peut survenir au moment de l'injection ou quelques heures après l'injection (effet aigu), la première année après la fin du traitement (effet chronique précoce) ou plusieurs années après la fin du traitement (effet retardé chronique) (Lipshultz, 2008).

Partie II: étude expérimentale

Matériels et Méthode

NB : comme mentionné auparavant a l'introduction, l'étude est une contribution a la synthèse des résultats des trois mémoires de Master réalisé au niveau du de département de biologie Biskra 2018 -2019 :

1. Evaluation de l'effet préventif d'un extrait aqueux d'Astragale sud Algérien contre la cardiotoxicité et hépatotoxicité induite par la doxorubicine chez les souris *Swiss albinos* .
2. Evaluation de l'effet préventif d'un extrait aqueux d'Astragale sud Algérien contre la cardiotoxicité et hépatotoxicité induite par la doxorubicine chez les souris *Swiss albinos*.
3. Evaluation de l'effet préventif de l'extrait aqueux d'*Ononis angustissima* contre la cardiotoxicité et l'hepatotoxicité induite par la Doxorubicine chez les souris *Swiss albinos*.

1. Préparation des animaux

Chaque étude a été réalisée sur 42 souris males de *Swiss albinos*, âgés (2,5 à 3 mois) pesant entre 24g à 32g provenant de l'institut Pasteur d'Alger.

Les animaux sont installés et répartis dans des cages en plastique transparentes (fig. 3). Sachant que deux cages portent 5 souris (24-25 g) chacune correspond un groupe destiné pour le teste de la toxicité, et regroupée de façon homogène les autres souris en 4 cages chacune représente un groupe de 8 souris pour les différents traitements (fig 3).



Figure 3: Des souris blanches dans une cage transparente

2. Préparation des extraits

Pour l'extraction trois plantes des fabacées ont été collectées dans la saison d'inflorescence (début de Mars - fin d'Avril) au Biskra en 2018 : La plante d'*Asragalus gombiformis pomel* de la région Elhajib, les plantes d'*Astragalus eremophilus* et d'*Ononis angustissima* de la région Ain ben Naoui.

Pour obtenir les extraits aqueux d'*A.gomiformis* (EAAG), d'*A. eremophilus* (EAAE) et d'*O. angustissima* (EAOA) la partie aérienne de chaque plante (les feuilles, les tiges, les gousses et les graines) a été récoltée et nettoyée, puis mise à sécher à température ambiante dans un endroit aéré à l'ombre pour conserver les molécules sensibles à la chaleur et à la lumière, puis broyées ces échantillons à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir des poudres. Les poudres ont été conservées dans des sacs en papier à 4°C jusqu'à l'utilisation comme le chemin suivant est montré (fig.4).

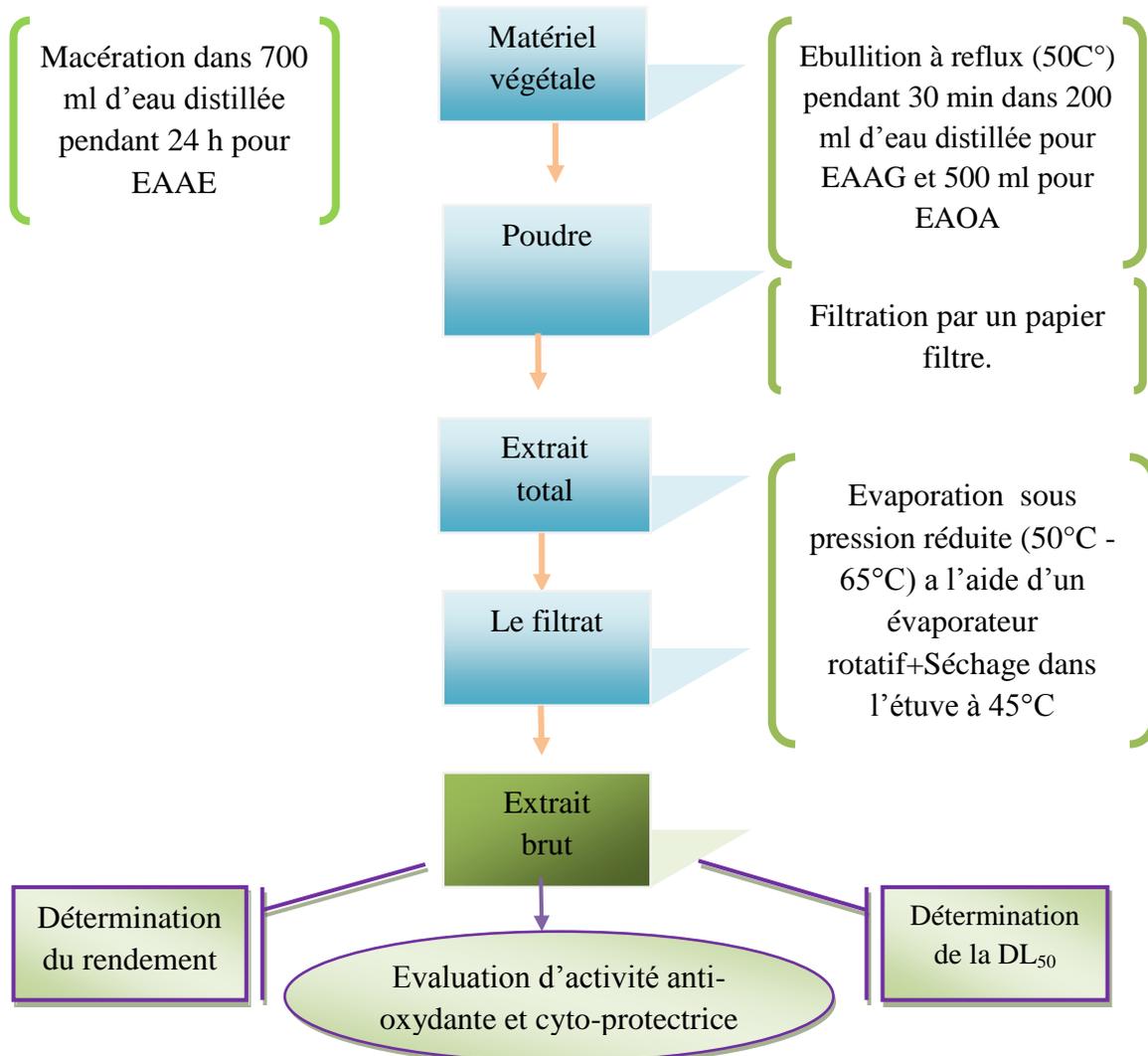


Figure 4: Le protocole expérimental d'extraction des matériels végétaux.

3. Détermination du rendement des trois extraits des fabacées

Afin de déterminer le rendement des extraits de la partie aérienne de nos espèces : *A. gombiformis* Pomel., *A. eremophilus* et *O. angustissima* par rapport au poids sec de la poudre végétale on a suivie la formule suivante :

$$R (\%) = (M2 - M1) / M0 \times 100$$

R(%) : rendement de l'extrait exprimé en pourcentage

M2 : Masse en gramme de boîte pétrie plein par l'extrait.

M1 : Masse en gramme de boîte pétrie vide.

M0 : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

4. Evaluation de pouvoir toxique des trois extraits des fabacées

Il est nécessaire de rechercher à une éventuelle toxicité pour chaque extrait ou substance administrée dans un traitement, et de connaître la DL50 appropriée (Kebieche ,2009)

Pour ce la, on a testé la DL50 choisissant les doses limites 2000 mg/kg et 5000 mg/kg suivant la méthode de l'ajustement des doses selon l'Organisation pour Coopération et Développement Economique (OCDE). Le teste a été exécuter après 4 heures d'arrêt de nourriture et de boire des souris. Jusqu'à 2 h après le traitement.

5. Evaluation de l'activité anti-oxydante et cyto-protectrice des trois extraits aqueux vis-à-vis la toxicité médicamenteuse

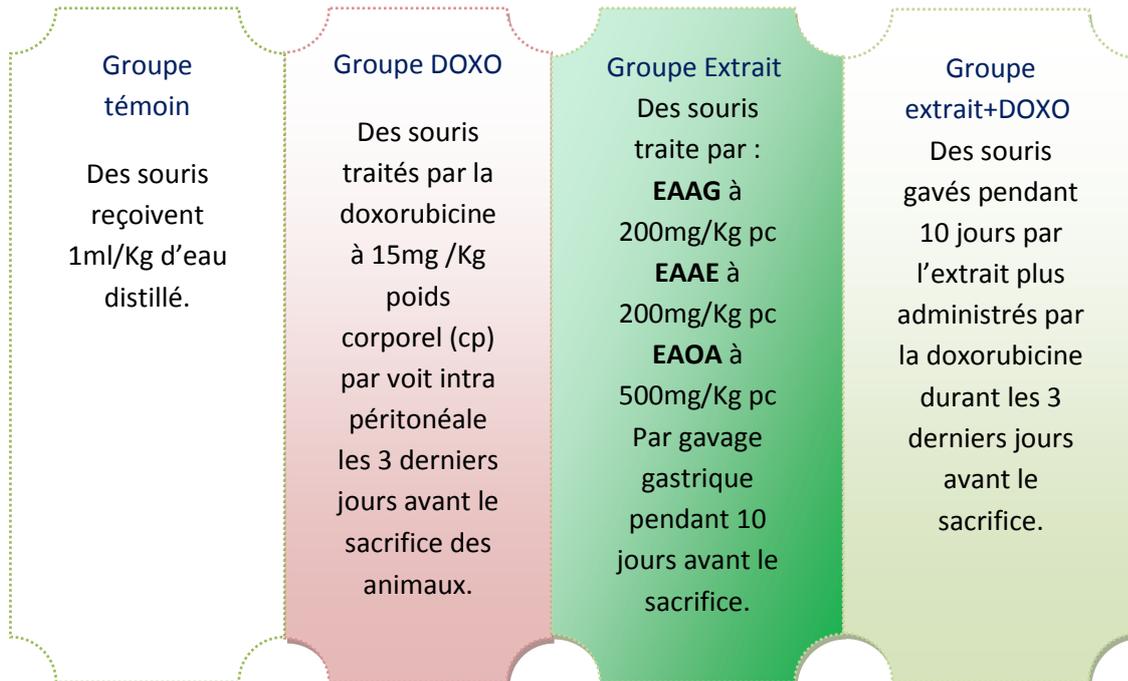
5.1. L'agent toxique (la doxorubicine)

La doxorubicine c'est un médicament antibiotique antracycline contenant la quinone ; une substance important contre une large néoplasme humaine (Yagmurca et al., 2007) ,mais ce médicament représente l'agent toxique dans cette étude administré à 15mg/Kg Pour provoquer une cardio /hépatotoxicité chez les souris males de souche suiss albinos, grâce à leur pouvoir cytotoxique de cet antracycline qui'est confirmé par plusieurs chercheurs scientifiques telle que Wang et al., (2015), Nagai et al., (2015) et Mazevet(2016) .

- Concentration de ce médicament 2mg /kg.
- La masse molaire: 543.519g /mol
- Concentration dans la cellule : 0.000147mol/l

5.2. Marquage et répartition des souris

Les animaux sont marqués individuellement par des tirées dans les queues, ils ont gardés dans les mêmes condition de laboratoire .Ils doivent être sans nourriture avant le traitement, mais pas l'eau, et les mettre à jeun pendant la nuit. Ils ont été repartis dans 4 cage ou 4 lots chacune désigné un groupe de 8 souris soumis à un traitement ou non .



5.3. Echantillonnage :

Après la période de traitement les animaux ont été sacrifiés, le sang a été collecté dans des tubes héparines, désigner pour le dosage des activités enzymatiques (ASAT, ALAT) et des paramètres biochimiques (LDH et CPK). Les organes (foie et cœur) ont été aussi collectés et séparés on deux groupes : un groupe désigner pour doser les paramètres de stress oxydante et les organes de 2^{ème} groupe sont mise dans le formol 10% pour la préparation des coupes histologiques (fig.5). La préparation des fractions cytosoliques est effectuée selon la méthode de Sanmugapria et Venkatramane (2006).

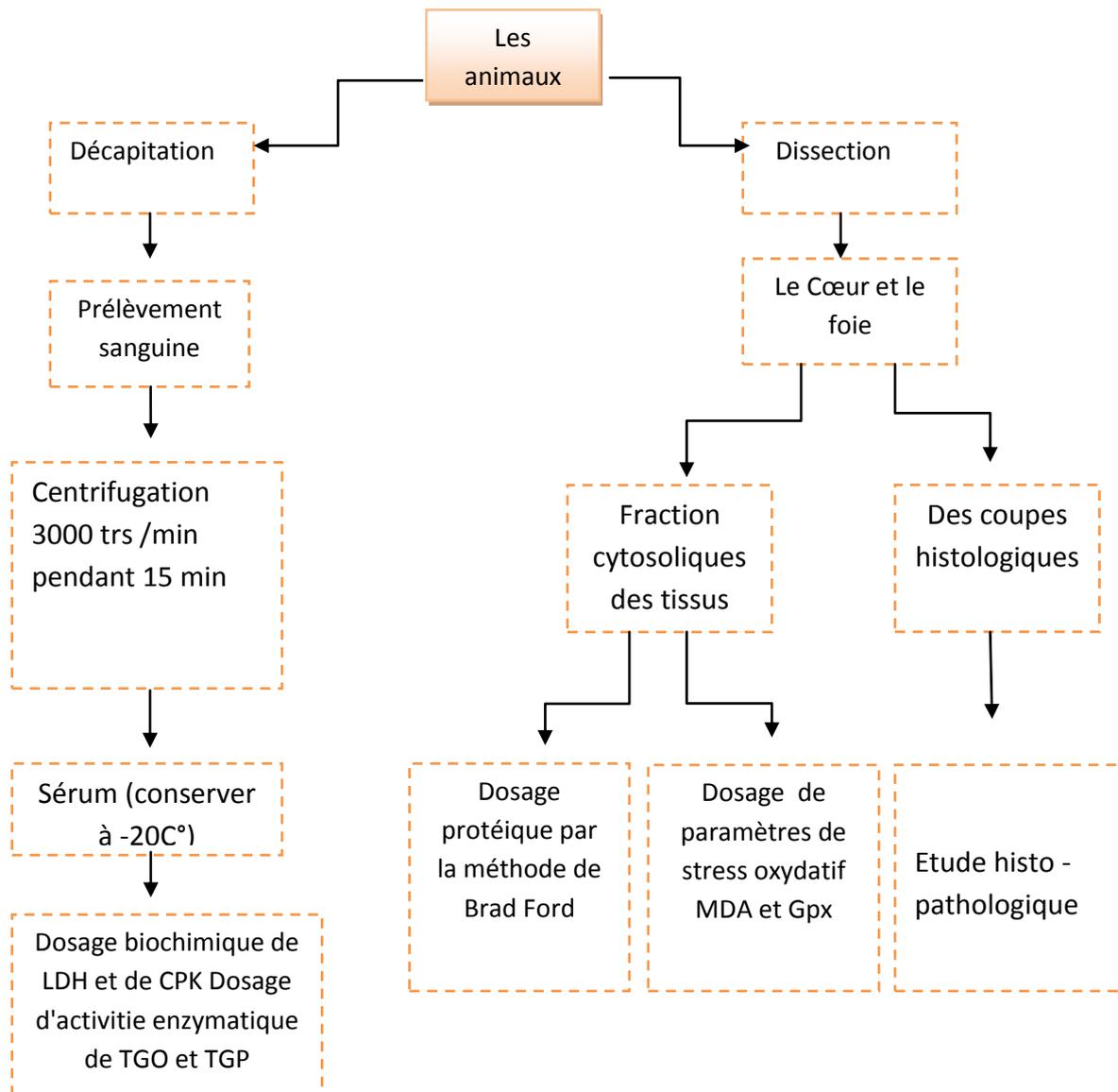


Figure 5: Le chemin récapitulatif de principales étapes d'évaluations d'effet des extraits vis à vis la toxicité induite par la doxorubicine.

5.4. Evaluation d'activité anti-oxydante *in vivo* des extrais aqueux des fabacées

5.4.1. Dosage des protéines tissulaire

Principe de dosage

Le dosage des protéines par la méthode de Bradford (1976) permet de déterminer des concentrations tissulaires de protéines. C'est une méthode colorimétrique, qui utilise le bleu de coomassie comme réactif qui s'associe au groupement amine (-NH₂) des résidus protéiques pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines). L'absorption est mesurée à 595nm (Thomas, 1976).

5.4.2. Dosage du dialdéhyde malonique (MDA) *in vivo*

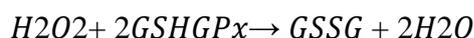
Principe de dosage

Le dialdéhyde malonique (MDA) est un biomarqueur de la peroxydation lipidique formée lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA). Dans cette étude, les Taux du MDA hépatique et cardiaque ont été évalués selon la méthode d'Ohkawa et al. (1979). Le Dosage repose sur le couplage le MDA et l'acide Thiobarbiturique (TBA) en milieu acide et chaud (100 °C) construisant d'un pigment coloré absorbant à 530 nm (Yagi, 1976).

5.4.3. Evaluation d'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (Gpx) *in vivo*

Principe de dosage

Le glutathion peroxydase (GPx) catalyse la réduction de peroxyde d'hydrogène en utilisant le GSH comme un réducteur. L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (Gpx) a été mesurée par la méthode de Flohé et Günzler (1984). Cette méthode est basé sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de glutathion (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la Gpx selon la réaction :



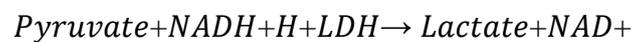
5.5. Evaluation de l'activité cytoprotectrice *in vivo* des extrais aqueux des fabacées

5.5.1. Dosage biochimique et enzymatiques *in vivo*

5.5.1.1. Evaluation de l'activité enzymatique d'ALAT *in vivo*

Principe de dosage

l'alanine aminotransférase (ALAT) appelée aussi la transaminase glutamo-pyruvique (TGP), elle catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'alanine au α -cétoglutarate formant le glutamate et le pyruvate. Le pyruvate est réduit au lactate par la lactate-déshydrogénase (LDH) et le NADH selon les réactions suivantes :



Le taux de la diminution de la concentration en NADH+H⁺, mesuré par photométrie (fig.6), il est proportionnel à l'activité catalytique du lactate déshydrogénase.

Le dosage a été réalisé par la méthode cinétique.

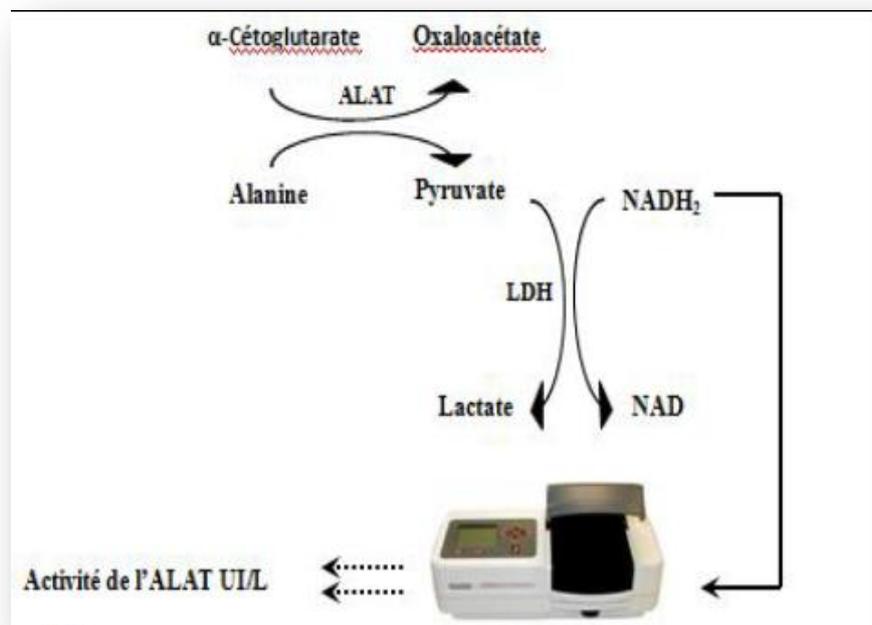
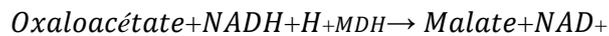


Figure 6: le principe du dosage d'activité enzymatique ALAT (Kara, 2018).

5.5.1.2. Evaluation de l'activité enzymatique d'ASAT *in vivo*

Principe du dosage

L'aspartate aminotransférase (ASAT) appelée aussi la transaminase glutamo-oxaloacétique (TGO), elle catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'aspartate au α -cétoglutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH+ H⁺ selon les réactions suivantes :



Le taux de la diminution de la concentration en NADH+H⁺, mesuré par photométrie (fig.7), il est proportionnel à l'activité catalytique de l'aspartate aminotransférase.

Le dosage a été réalisé suivant la méthode cinétique développée par Karmen et al (1955)

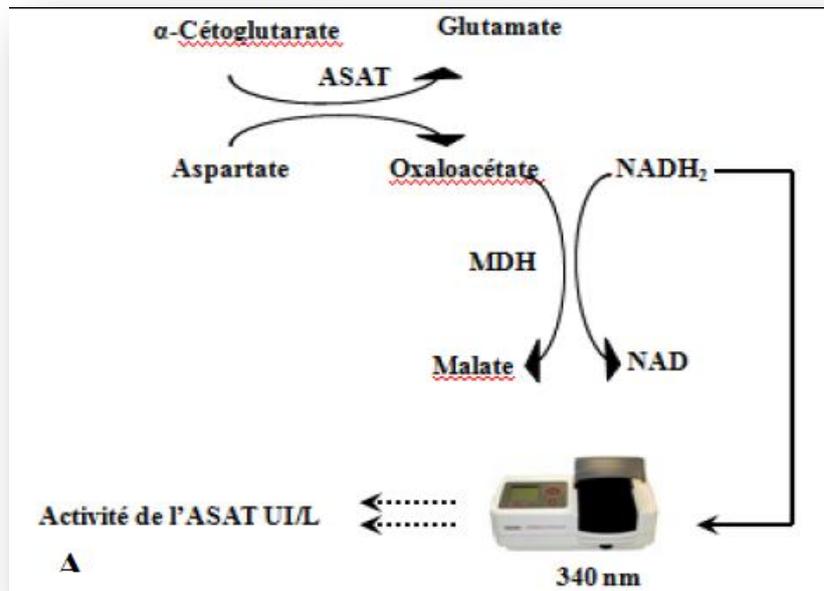


Figure 7: le principe du dosage d'activité enzymatique ASAT (Kara, 2018)

5.5.1.3 Evaluation de l'activité enzymatique du lactate déshydrogénase (LDH) *in vivo*

Principe du dosage

Le lactate déshydrogénase (LDH) catalyse la réduction du pyruvate au moyen de la NADH, selon la réaction suivante :



La vitesse de réduction de la concentration en NADH dans la méthode de détermination par photomètre est proportionnelle à la concentration catalytique de LDH dans l'échantillon testé. (fig.8)

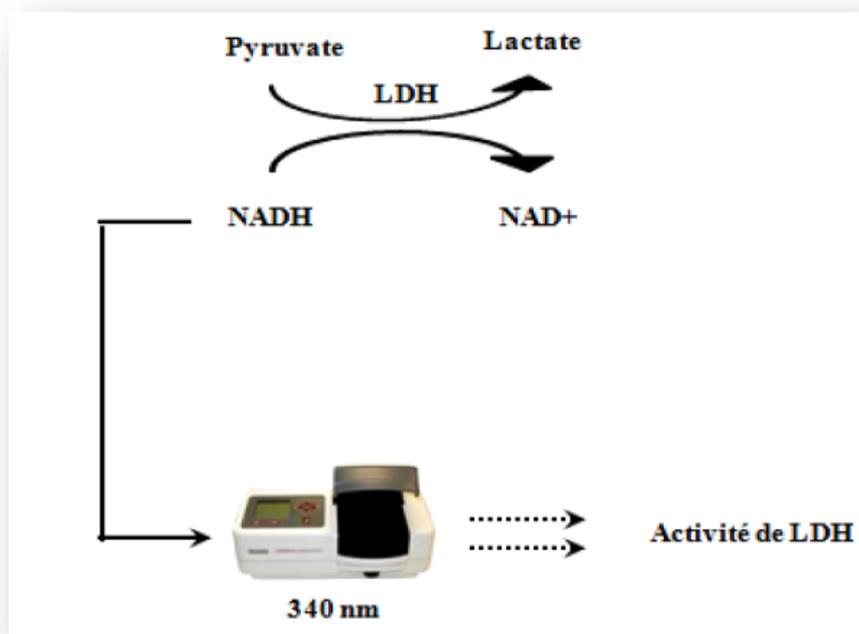
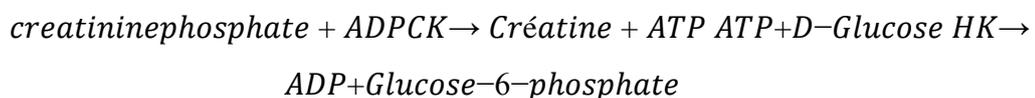


Figure 8: le principe du dosage de LDH (Kara, 2018)

5.5.1.4. Evaluation de l'activité enzymatique de La créatine phosphokinase CPK *in vivo*

Principe du dosage

La créatine phosphokinase (CK) catalyse le transfert réversible d'un groupe phosphate de phosphocréatine à l'ADP selon la réaction.





L'activité catalytique de la CK est déterminée en mesurant la vitesse d'apparition du NADPH+H⁺ à 340 nm. (fig.9)

Le dosage a été réalisé suivant la méthode cinétique.

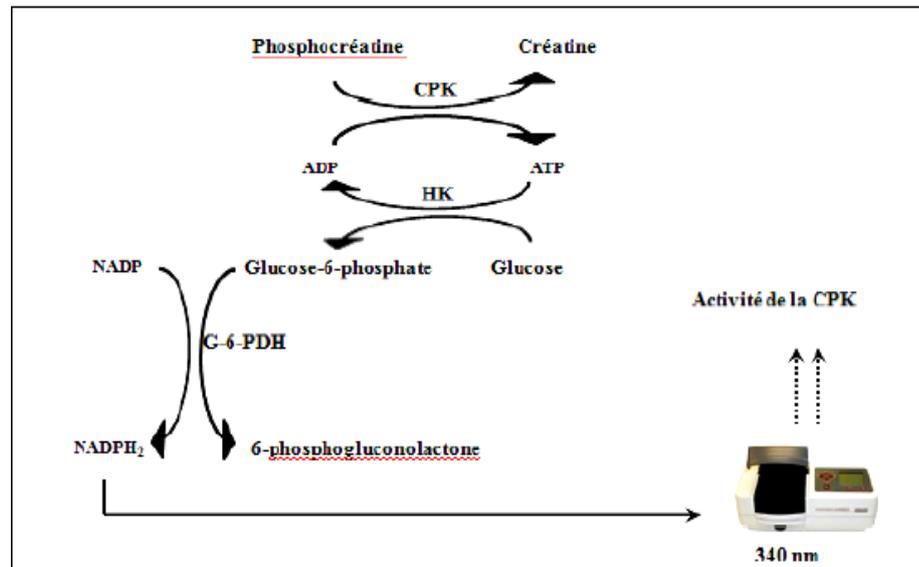


Figure 9: le principe du dosage de CPK (Kara, 2018)

5.5.2. Etude histo-pathologique

Principe de l'étude

Cette étude basée sur la collection des fragments tissulaire qui sont découper pour permettre la réalisation de fines tranches colorés pour analyser la morphologique tissulaire par le microscope.

Réalisation de l'étude

Après la décapitation des souris, des fragments de cœur et de foie des ' groupes ont été rapidement fixés dans le formol 10% pour éviter l'autolyse, des fragment diriger vers l'examen histo-pathologique cet examen décrit par Holote (1984), suivant les étapes suivantes :

- **La fixation** ; utilisant le formol 10 % qui se fixé tous les cellules de l'organe. afin d'immobiliser les structures cellulaires tout en conservant leurs morphologies et entraînant leur insolubilité.

➤ **Lavage, déshydratation et éclaircissement**

d'abord les échantillons fixées par le formole ont été rincées par l'eau courante ensuite, ils ont été placés dans des cassettes spéciales à parois trouées., ensuite, on déshydrate les pièces en les amenant graduellement dans des bains successives depuis le liquide de lavage jusqu'à l'alcool absolu, arrivant à l'éclaircissement mettant les pièces dans un solvant de la paraffine qui est le xylène dans notre cas.

➤ **L'inclusion**

Après la saturation des échantillons par la paraffine liquide ils ont été inclus dans un bain de paraffine fondue pendant deux heures La paraffine va peu à peu pénétrer les tissus en remplaçant le solvant.. arrivant à l'inclusion définitive de ces échantillons dans des petits moules à fond plat pour construire des blocs peuvent se conserver pendant des années sans dommage .

➤ **Préparation des coupes**

Les blocs de paraffine ont été coupés par un microtome en tranches minces. Les coupes obtenues ont été étalées sur des lames de verre et ont été collées sur la lame par l'utilisation de gélatine liquide. Les lames sont ensuite placées dans l'étuve 74°C, puis directement dans l'xylène pour déparaffinage et l'éclaircissement

➤ **La coloration**

Les coupes ont été colorées par la méthode d'éosine et hématoxyline.

➤ **Lecture microscopique à différents grossissements**

Résultats et discussion

1. Détermination du rendement des trois extrais des plantes de la famille Fabacée

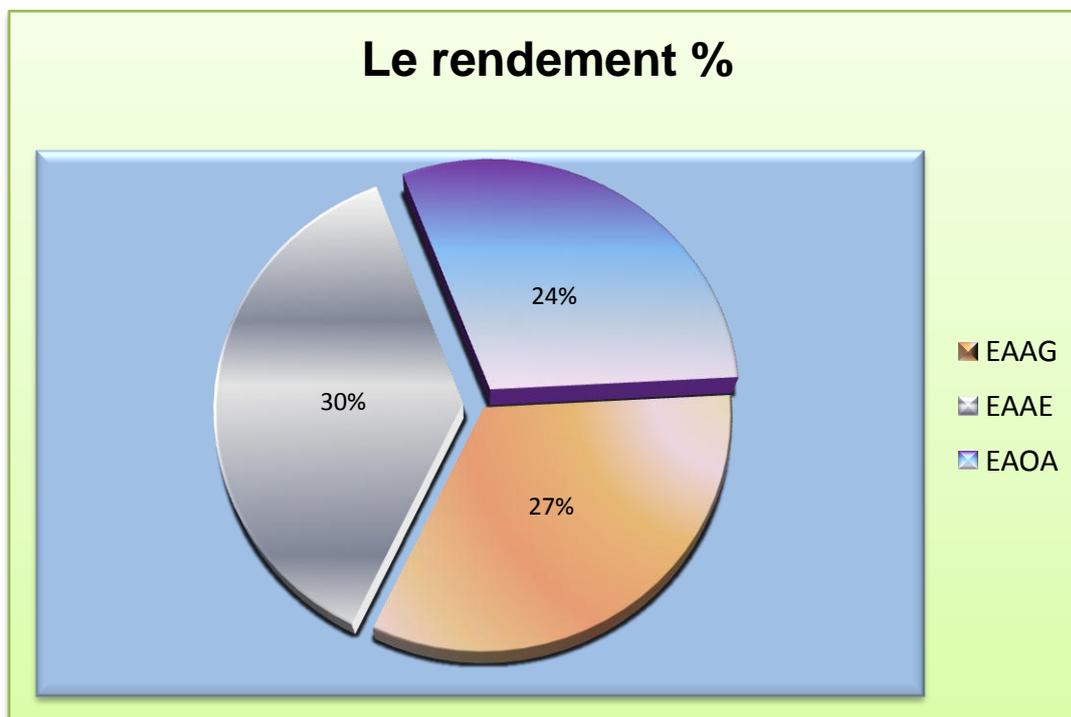


Figure 10 : le rendement des extraits aqueux bruts des trois fabacées

EAAG : extrait aqueux d' *A. gombiformis* Pomel, EAAE : extrait aqueux d' *A. eremophilus*, EAOA : extrait aqueux d' *O. angustissima*

Pour les trois espèces des fabacée la partie aérienne de chaque plante (tige, feuilles, fleurs et gousses) a été utilisé comme matériel végétale sèche pour faire l'extraction arrivant à des rendements proches entre eux, mais le meilleur de rendement a été enregistré par la plante d' *A. eremophilus* avec 29.87% suivie par les autres plantes : l' *A. gombiformis* Pomel et *O. angustissima* 26.58% , 24.24% respectivement .(fig.10)

Le rendement de l'extrait brut est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait sec obtenu et la masse de matériel végétal traité.

L'extraction des plantes *D. corbisieri* et *D. gossweileri*, révèlent les rendements suivants 30,70% et 33,88% respectivement d'extrait aqueux par rapport le matériel végétal sèche (*Maloueki et al.* (2015).

Katerere *et* Eloff. (2005) et Ijeoma (2015) ont marqués un rendement de 17.2 et 16.1 % pour les deux plantes *Sutherlandia frutescens*, et *Abrus precatorius Linn.* respectivement.

2. Evaluation de pouvoir toxique des extrais brutes des trois plantes

Tableau 2: le rapport de mortalité et les symptômes observés après les 14 jours de teste de toxicités à les deux doses

| | | | EAAG | EAAE | EAOA |
|---------------------------------------|------|-----------|------|------|------|
| La dose d'extrait administrée (mg/kg) | 2000 | Mortalité | 0/5 | 0/5 | 0/5 |
| | | Symptôme | - | - | - |
| | 5000 | Mortalité | 0/5 | 0/5 | 0/5 |
| | | Symptôme | - | - | - |

EAAG : extrait aqueux d'*A. gombiformis*. EAAE : extrait aqueux d'*A. eremophilus* .

EAOA : extrait aqueux d'*O. angustissima* . (0/5) : le nombre des souris morts par rapport le nombre des souris testés. (-) l'absence des symptômes.

Pendant les quatorze jours après l'administration de chaque extrait avec les doses limites de 2000mg/kg et 5000 mg/kg par voie orale des souris males de *suisse albinos*. Rien a été observe comme des signes de toxicité aigue, ni cas de mortalité a été neregistré.(tab.2) ça nous confirme que les trois plantes ne sont pas toxiques a une dose supérieure de 5000mg/kg.

Donc ces résultats montrent que la DL₅₀ pour les extraits des trois espèces des fabacées supérieure à 5000mg/kg.

C'est résultats corroborent les travaux de Kone *et al.* (2009) et Lebri *et al.* (2015) portés sur les extraits aqueux de la partie aérienne de *Sacaglottis gabonensis* et d'*Abrus precartorius Lin.* respectivement, suivant la même méthode des doses limitent. N'dramn *et al.* (2016) Ont déterminé une DL₅₀ 10000mg/kg de l'extrait

aqueux des graines *Cajanus canjan* pourtant que c'est une plante de la famille Fabaceae.

3. Evaluation de l'activité antioxydant des trois extrais aqueux *in vivo*

3.1. Dosage du dialdéhyde malonique (MDA) de foie *in vivo*

Tableau 3: l'influence des extrais sur le taux de MDA hépatique chez des souris témoins et les souris traités par la doxorubicine

| | | EAAG | EAAE | EAOE |
|---|------------------|------|-------|------|
| La dose d'extrait administrée (mg/Kg /jour) | | 200 | 200 | 500 |
| Taux MDA hépatique (nmolMDA/mg de protéines) | G. Témoin | 1.01 | 11.89 | 0.86 |
| | G. Extrait | 0.31 | 22.77 | 0.35 |
| | G.DOXO | 4.83 | 81.62 | 4.84 |
| | G. Extrait +DOXO | 1.49 | 22.98 | 1.53 |

Le taux de MDA hépatique chez les souris non traités (G.témoin) présentes des valeurs normaux dans l'intervalle des sujets sains, ou les souris traités par les extrais seules (G .Extrait) présentes des petites perturbations. Le taux de ce paramètre chez les souris traités par la doxorubine (G.DOXO) a connus une hyper augmentation devenant jusqu'à six fois plus que le taux de MDA chez un souris témoin (81.62nmolMDA/mg de protéines ,11.89nmolMDA/mg de protéines) respectivement.

Cette augmentation corrigée par la combinaison de ce médicament avec l'extrait de chaque plante séparément (G. Extrait+ DOXO). La correction du taux de MDA est s'étale entre 1,5 - 2 fois par rapport le taux de MDA du groupe témoin (tab.3).

Sakr (2010) et Oussama et *al*, (2013) ont été conclus que 24mg /Kg d'extrait aqueux de *Zingiber officinale* et 50mg /Kg d'extrait éthanolique de *Portulaca oleracea* peuvent induire une réduction de taux de MDA hépatique des souris traités par la doxorubicine.

3.2. Evaluation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase Gpx du foie *in vivo*

Tableau 4: l'influence des extraits sur le taux de Gpx hépatique chez les souris témoin et les souris traitées par la doxorubicine

| | | EAAG | EAAE | EAOE |
|--|------------------|------|------|------|
| La dose d'extrait administrée (mg/kg /jour) | | 200 | 200 | 500 |
| Taux de Gpx hépatique (µMolGSH oxydé/min/mg de protéines) | G. Témoin | 0.07 | 1.98 | 1.31 |
| | G. Extrait | 0.15 | 2.40 | 2.60 |
| | G.DOXO | 0.04 | 0.71 | 0.22 |
| | G. Extrait +DOXO | 0.11 | 1.69 | 1.11 |

Le groupe témoin (G. témoin) a enregistré des taux de Gpx supérieure à 0,07 µMolGSH oxydé/min/mg de protéines. Les valeurs des concentrations de Gpx chez les groupes traités par les extraits seules (G.Extrait) ne dépasse pas 2,60 µMolGSH oxydé/min/mg de protéines. le taux Gpx chez les souris de groupe DOXO connu une diminution arriver jusqu'à 83% moins que le tau de Gpx du groupe témoin (1,312 µMolGSH oxydé/min/mg ; 0,22 µMolGSH oxydé/min/mg) respectivement.

les groupes subi des extraits combinés avec la doxorubicine (G .Extrait+DOXO) ont marqués des valeurs considérables a cinq fois le taux de Gpx de groupe DOXO(tab.4) .

En 2019, Afsar montre que l'extrait éthyl-acétate de la plante *Acacia hydaspica* R. a la capacité de augmenté le taux faible de Gpx hépatique induit par DOXO.

3.3. Dosage du dialdéhyde malonique (MDA) de cœur *in vivo*

Tableau 5: l'influence des extrais sur le tau de MDA hépatique chez des souris témoins et les souris traités par la doxorubicine

| | | EAAE | EAOE |
|--|------------------|-------|-------|
| La dose d'extrait administrée (mg/kg/jour) | | 200 | 500 |
| Le taux de MDA cardiaque ($\mu\text{molMDA}/\text{mg}$ de protéines) | G. Témoin | 23.27 | 8.22 |
| | G. Extrait | 30.33 | 7.99 |
| | G. DOXO | 49.89 | 19.76 |
| | G. Extrait +DOXO | 23.24 | 8.76 |

Le taux de MDA cardiaque chez les souris témoin (G. Témoin) détermine des valeurs normaux dans l'intervalle de sujet sain. les extrais seules (G. Extrait) induit des petites perturbations du taux de Gpx par rapport le taux de ce paramètre de groupe témoin.

le taux de MDA chez les souris traités par la doxorubicine (G. DOXO) subi une hyper augmentation devenant jusqu'à le double du taux de MDA chez les souris témoin ($49.89 \mu\text{molMDA}/\text{mg}$ de protéines , $23.27 \mu\text{mol MDA}/\text{mg}$ de protéines)respectivement. Le taux de ce paramètre a également stabilisé par la combinaison de ce médicament avec l'extrait de chaque plante (G .Extrait +DOXO) (tab.5).

Ashour et *al.* (2012) et Ihoual (2018) ont marqués une diminution significative du taux sériques du MDA cardiaque, par l'administration des extraits méthanoliques *Calligonum comosum* et *Cordia myxa L.* (100 mg/kg) ,et de *Phlomis samia* (250 et 500mg / kg) respectivement .

3.4. Détermination de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase Gpx de cœur *in vivo*

Tableau 6: l'influence des extrais sur le tau de GPx cardiaque chez des souris témoins et les souris traités par la doxorubicine

| | | EAAE | EAOE |
|--|-----------------|-------|-------|
| La dose d'extrait administré (mg/kg/jour) | | 200 | 500 |
| Le tau de Gpx cardiaque ($\mu\text{MolGSH oxydé/min/mg de protéines}$) | G. Témoin | 19.53 | 9.05 |
| | G. Extrait | 18.43 | 13.77 |
| | G. DOXO | 10.22 | 6.79 |
| | G. Extrait+DOXO | 15.52 | 16.16 |

Le taux de Gpx chez les souris témoins (G. témoin) supérieure ou égale à 9,05 $\mu\text{MolGSH oxydé/min/mg de protéines}$. Les valeurs de ce paramètre marqués chez les groupes traités par les extrais seules (G. Extrait) ne dépassent pas 18.43 $\mu\text{MolGSH oxydé/min/mg de protéines}$. Le taux de Gpx chez les souris de groupe DOXO (G .DOXO) registre une diminution arrive jusqu'à 48% moins que le taux de GPx du groupe témoin (10.22 $\mu\text{MolGSH oxydé/min/mg}$, 19.53 $\mu\text{MolGSH oxydé/min/mg}$)respectivement, la combinaisons de la doxorubicine avec les extraits (G. Extrait+DOXO) corrige ce problème retournant dans l'intervalle(tab.6).

Singh et *al.* (2008) et Chahine (2014) ont montré que l'administration des extraits alcooliques de *Terminalia arjuna* à déférentes doses et de *Crocus sativus L.* à 5mg/Kg , induite une augmentation de taux de Gpx cardiaque par rapport celui de groupe traité par la DOXO .

4. Evaluation d'activité cytoprotectrice des extrais aqueux des plantes

4.1. Evaluation d'activité hépatoprotectrice des extrais *in vivo*

4.1.1. Dosage biochimique et enzymatiques *in vivo*

4.1.1.1. Evaluation d'activité enzymatique d'ALAT(TGP)

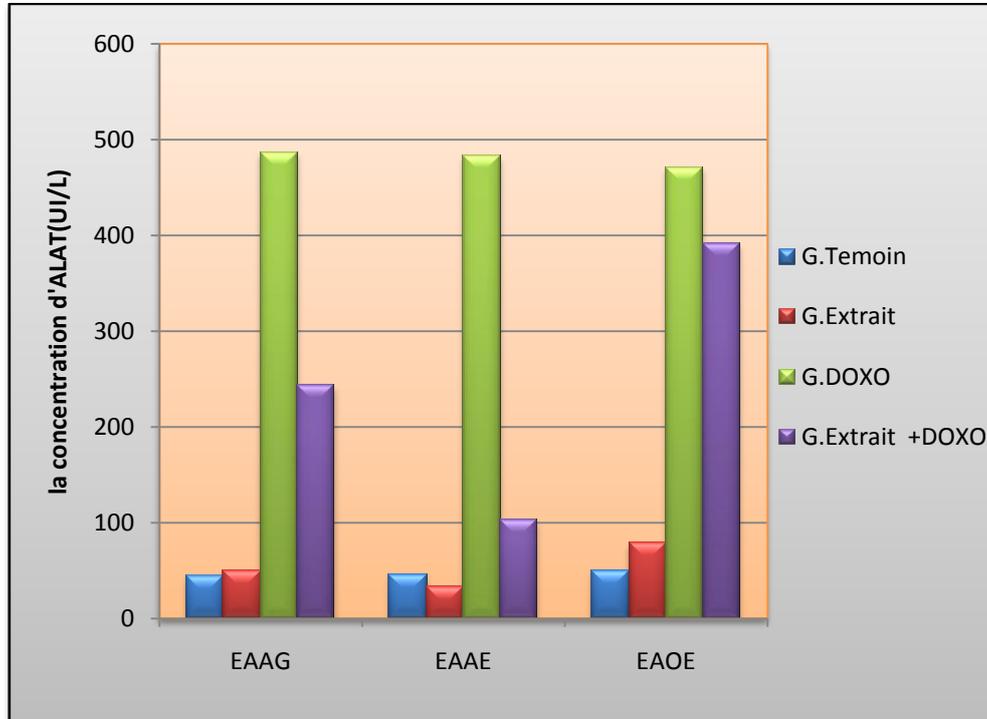


Figure 11: l'influence des extrais sur l'activité enzymatique ALAT chez des souris témoins et les souris traités par doxorubicine

Les concentrations d'activité enzymatique d'ALAT chez les souris témoins (G.témoin) a révélé une moyen de 46.49 ± 2.13 UI/L. les groupes traités seulement par les extraits (G.Extrait) ont marqués des taux d'ALAT plus ou moins proche à celui du témoin.

groupes traités par la doxorubicine (G.DOXO) montre une très haute augmentation arriver jusqu'à dix fois le taux de ce paramètre chez le groupe témoin . les groupes traités par la combinaison de doxorubicine avec l EAAG, EAAE a marqué une diminution varié entre 50% et 20% par rapport la concentration de cette activité chez le groupe DOXO par contre le le taux d'ALAT chez le groupe traités par la combinaison de doxorubicine avec EAOA (G.Extrait+DOXO) a révélé une légère diminution, ça peut être du grâce une activité synergétique établit entre cet extrait et la doxorubicine (fig.11).

Fathy et al. (2017) ont montrés que l'administration de 1g /Kg d'extrait éthanol-aqueux de fruit de *Ficus carica L.* (Moraceés) et de *Phoenix dactylifera L.* (Arecaceae) conduit également à diminution du taux élevé d'ALAT causé par la doxorubicine .

4.1.1.2. Evaluation de l'activité enzymatique d'ASAT(TGO) *in vivo*

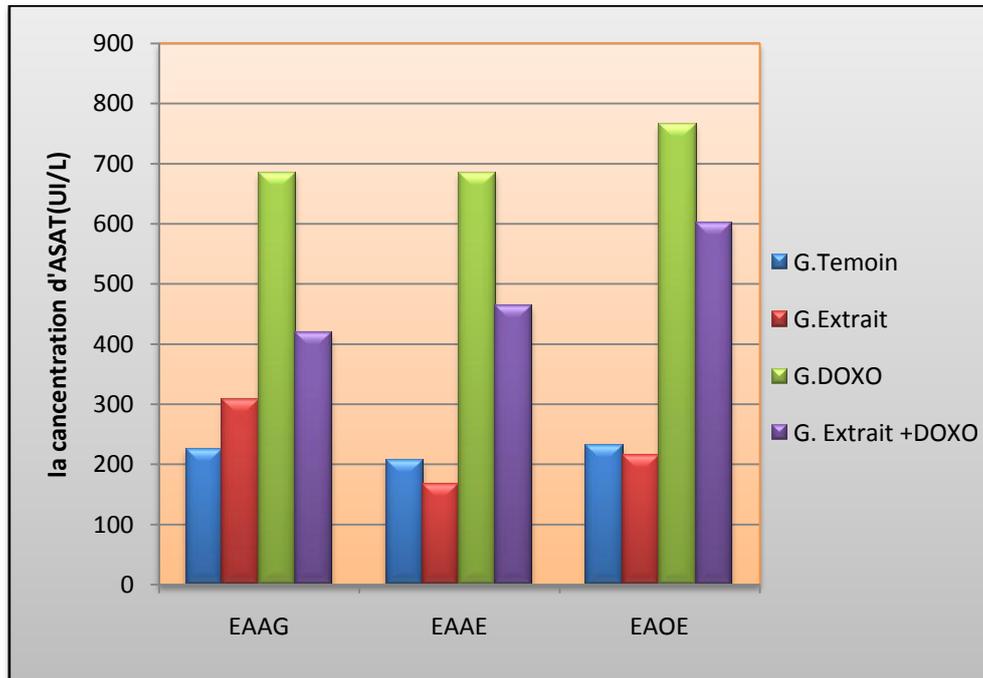


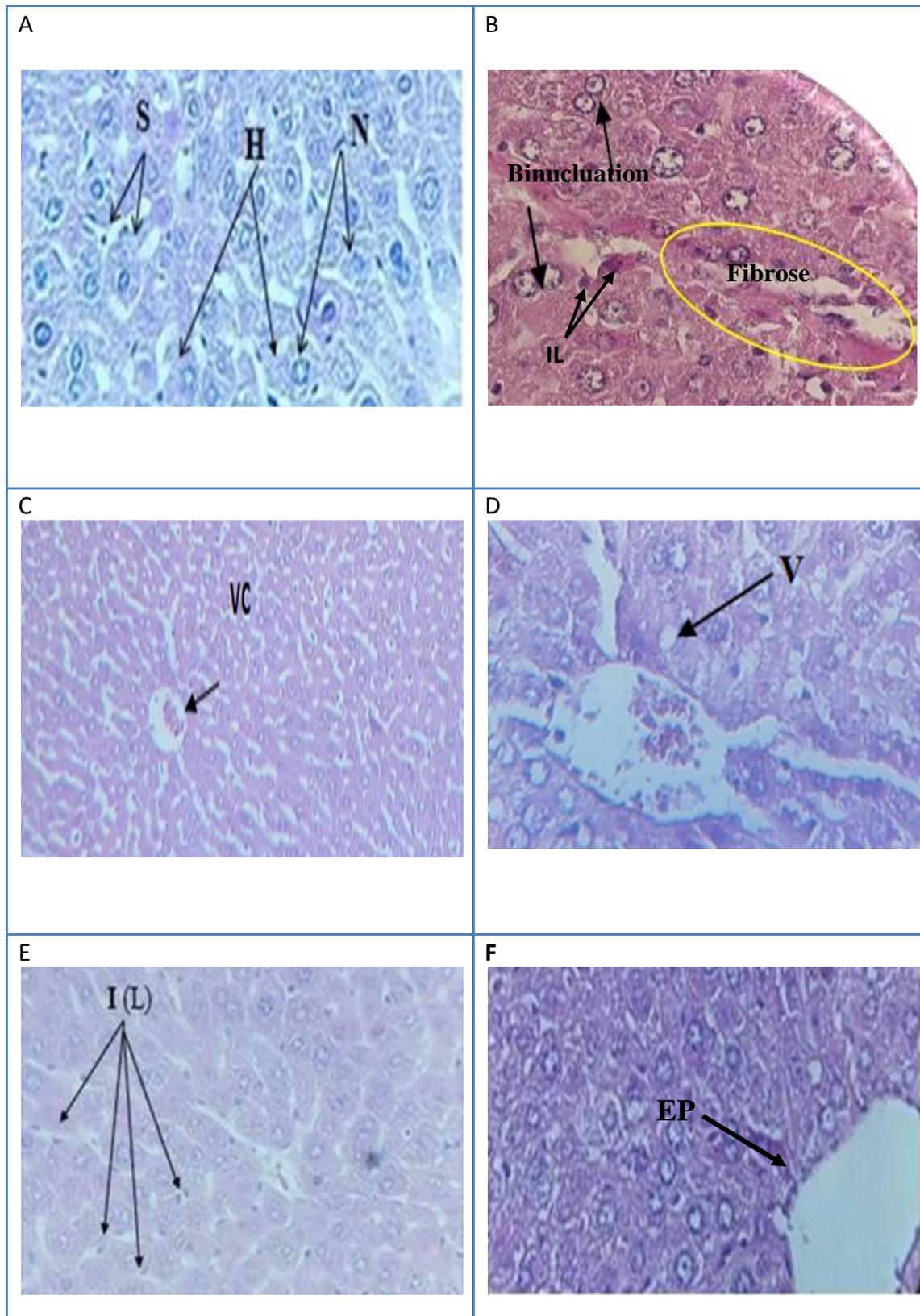
Figure12: l'influence des extrais sur l'activité enzymatique ASAT chez des souris témoins et les souris traités par la doxorubicine

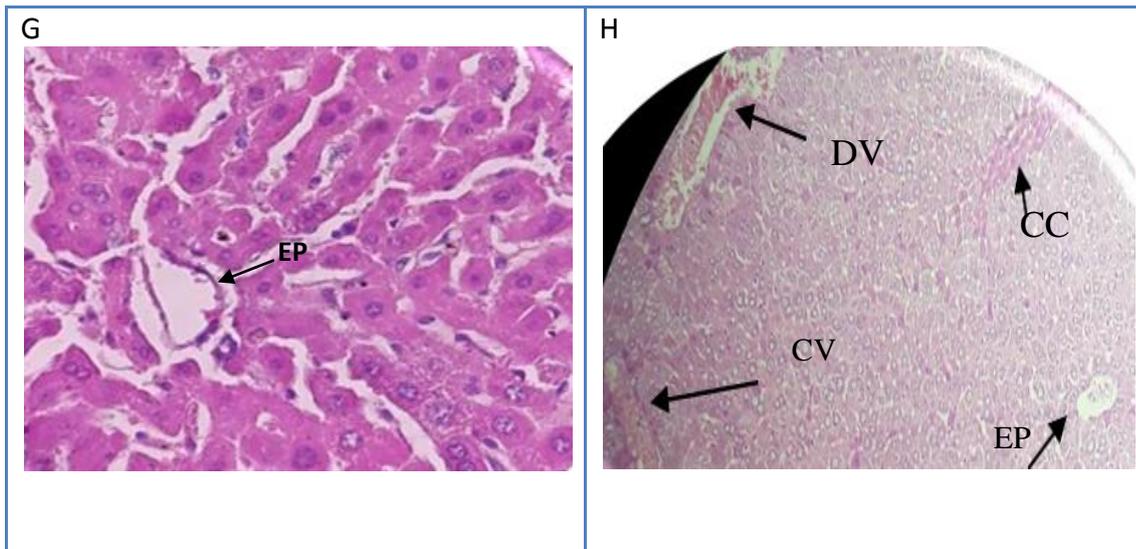
les concentrations d'activité enzymatique d'ASAT chez les groupes témoins (G. témoin) à déterminé une moyenne de 221.48 ± 9.43 UI/L. Les concentrations d'activité enzymatique d'ASAT chez le groupes traités par l'extrait seul (G. Extrait) sont biens proches a celui de groupe témoin . Les souris traités par la doxorubicine (G.DOXO) marqués une hautes élévation de concentration d'ASAT devenez trois fois la concentration d'ASAT du groupe témoin. Chez les souris traités par la combinaison de chaque extrait avec La Doxorubicine (G. Extrait+DOXO) les concentrations d'ASAT ont été diminués 1/3 la concentration de cette activité enzymatique de groupe DOXO. (fig.12)

Cecen (2011) et Zhao (2012) ont suggérés une diminution des concentration de l'activité enzymatique d'ASAT après l'administration de 100mg/kg de Silymarine et 60 mg/kg de Berbérine , vis a vis l'induction de la doxorubicine.

4.1.2. Etude hépato-histo-pathologique

Tableau 7 : les observations microscopiques de tissus hépatique de souris témoin et des souris traités .





(S) sinusoïde. (H) hépatocyte. (N) noyau (CV) congestion vasculaire (DV) dilatation veineuse (IL) inflammation lymphocytaire (V) vacuolisation (CC) condensation cytoplasmique (EP) espace porte.

Le tableau 7 montre des coupes histologiques sous le microscope de foie de souris témoin (GrX40) (A) , de souris traité par DOXO (GrX40) (B), de souris traité par EAAG (GrX10)(C), souris traité par EAAE(GrX10) (E), et de souris traité par EAOA(GrX40) (G), ainsi de souris traité par la combinaison de DOXO avec EAAG(GrX40) (D), DOXO avec EAAE (GrX40) (F), DOXO avec EAOA(GrX10)(H)

L'observation optique des coupes histologiques du foie d'un souris témoin(A), apparait un parenchyme hépatique intacte organisé par des travées des hépatocytes souvent mono ou binoculaires, séparés entre eux par des sinusoides, formants des structure hépatique lobulaire, ces structures sont centrés par une vienne s'appelle une vienne centrelobulaire et entourés par des espace portes(EP) (Martin, 2007).

les souris traités par chaque extrait des fabacées (C),(E),(G) portent un parenchyme hépatique intacte , néanmoins une légère inflammation lymphocytaire (IL) est aperçue chez souris traités par le EAAE (E) ; illustrée par l'apparition du nombre non considérable des cellules inflammatoire.

Les souris traités par 15mg /kg de doxorubicine (B) montrent des graves dommages et des dégâts tissulaire, tell que des congestions vasculaires, dilatation veineuses, binucléation avec infiltrat inflammatoire lymphocytaire associé à fibrose cellulaire.

Kalender et *al.* (2005) ont trouvés que l'administration de 5mg/kg de la doxorubicine peut provoquer une nécrose hépatocytaire, une atypie, des figures mitotiques dans certaines hépatocytes, vacuolisation mitochondriale et gonflement, et une dilatation de l'espace intercellulaire. Ces dommages sont presque négligeables chez les souris traités par la combinaison de DOXO avec chaque extrait séparément. le groupe EAAE+DOXO (F) a marqué une petite vacuolisation, comparant au groupe EAOA+DOXO (H) qui a montré une congestion vasculaire(CV), une dilatation veineuse (DV) et une condensation cytoplasmique (CC), ça peut être due grâce une synergétique crée entre la doxorubicine et l'extrait d'O. angus .

Les dégâts induites par doxorubicine ont été complètement améliorés par l'administration de 10mg/Kg du théanine de la plante *Camellia sinensis* et 7g/kg de huile d'olive extrait de la plante *Olea europia* (Oleaceae) (Nagai et *al.*, 2015 ; Fathy et *al.*,2017).

4.1.3. Evaluation de l'activité cardioprotectrice des extrais aqueux

4.1.3.1. Dosage biochimique et enzymatiques

4.1.3.2. Dosage de lactate déshydrogénase LDH in vivo

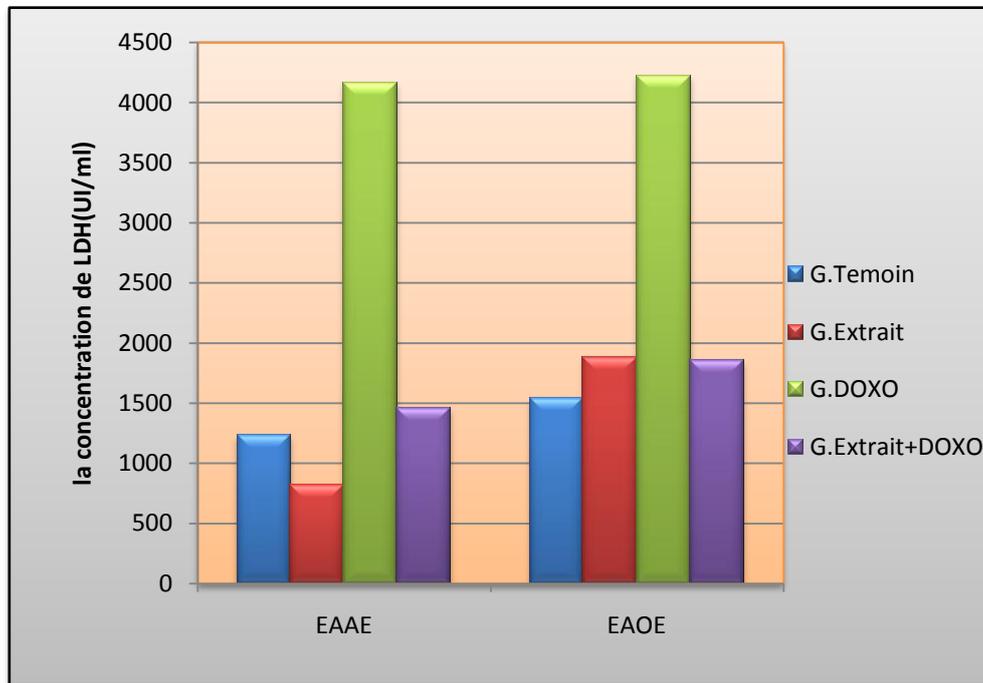


Figure 13: l'influence des extrais sur l'activité enzymatique LDH chez les souris témoins et les souris traités par Doxorubicine

EAAE : Extrait aqueux d'*A. ermphilus*, EAOA : extrait aqueux d'*O. angustissima*

Les concentrations d'activité enzymatique de LDH chez les souris témoins (G. témoin) ont été enregistrées 1540,62UI/ml comme une valeur maximale. Les souris traitées par les extraits seules (G. Extrait) marquent des concentrations de LDH inférieures ou égales à 1878.65UI/L. Les souris traitées par ce médicament (G.DOXO) déterminent une concentration trois fois plus que la concentration de LDH de groupe témoin.

Cette augmentation récupérée par la combinaison de chaque extrait avec la doxorubicine (G. Extrait+ DOXO) allant dans l'intervalle (1460.24, 1853.87UI/ml).(fig.13)

Elberry *et al.* (2010), El-boghdady (2013) et Kara *et al.* (2016), ont noté également une réduction de taux de LDH après l'administration de 100mg/Kg des extraits de *Vaccinium macrocarpon*, *Gingko biloba* et de *Galobularia alypum* respectivement.

4.2.1.2. Dosage de la créatinine phosphokinase (CPK)

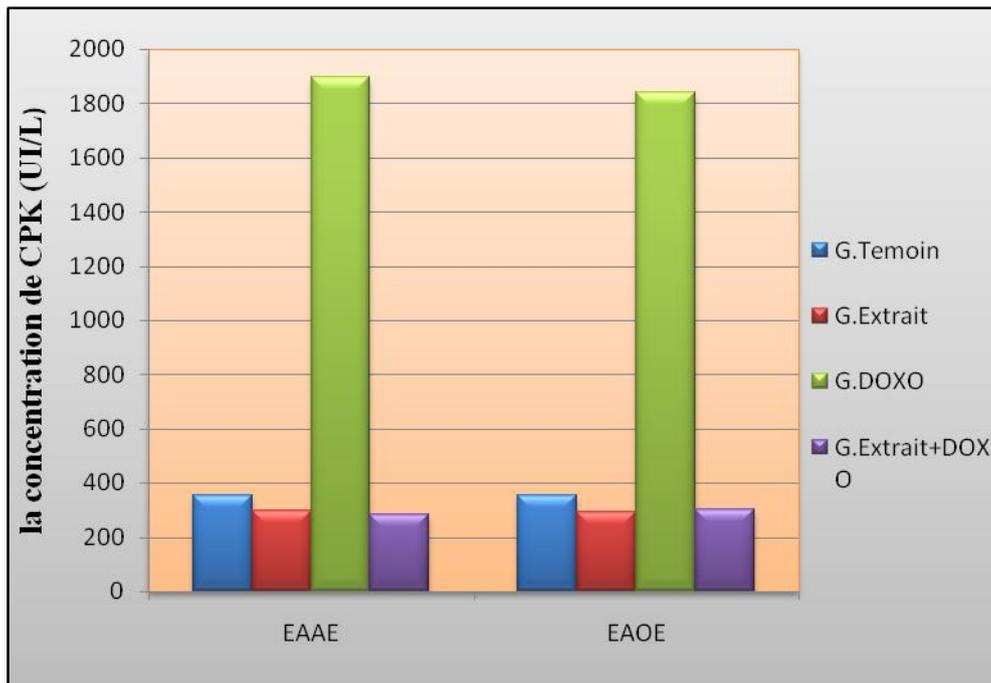


Figure 14: l'influence des extrais sur l'activité enzymatique CPK chez des souris témoins et les souris traités par Doxorubicine

EAAE : Extrait aqueux d'*A. ermphilus*, EAOA : Extrait aqueux d'*O. angustissima*

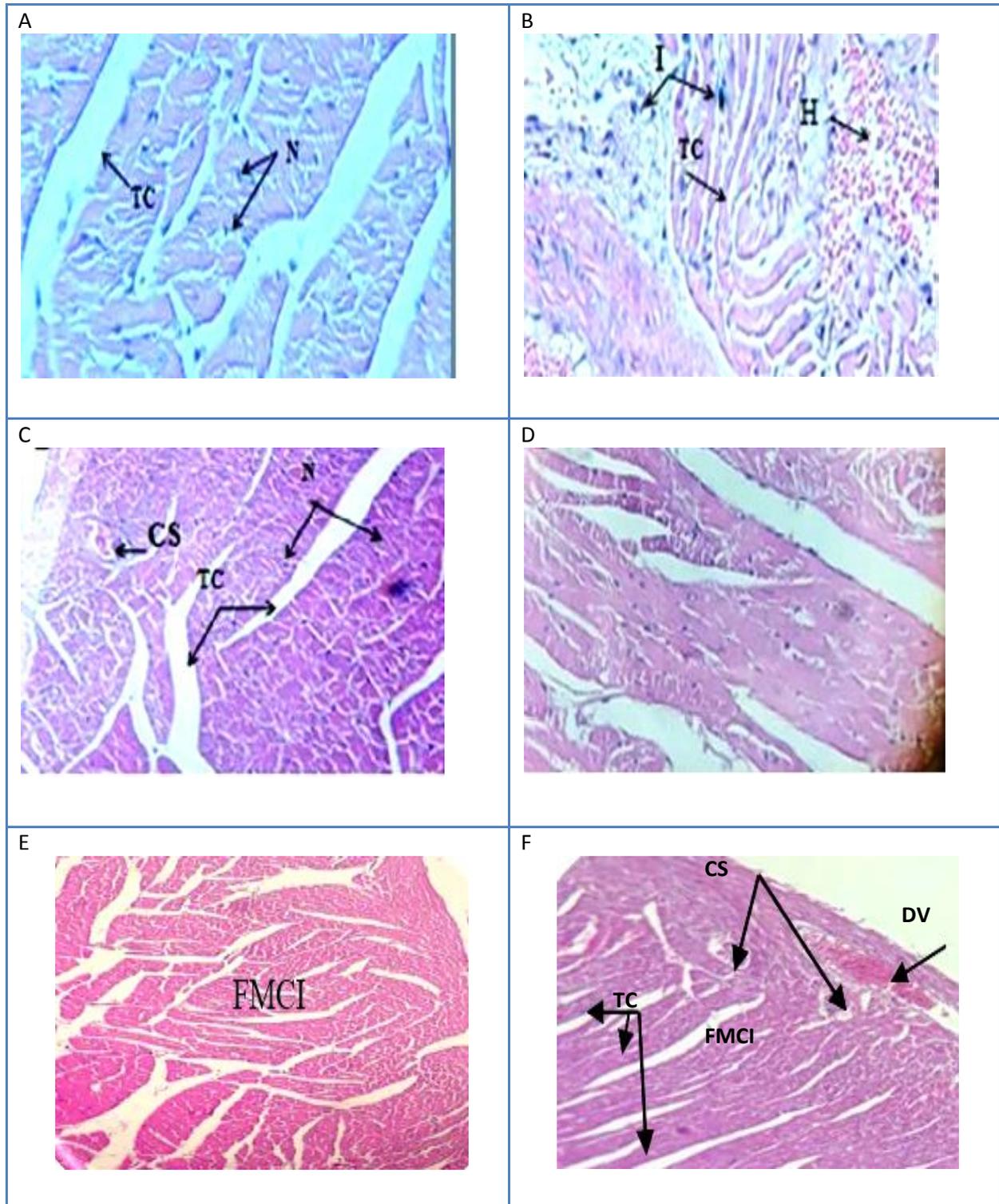
Les concentrations d'activité enzymatique de créatinine phosphokinase (CPK) chez les groupes témoins (G. témoin) sont environ de 352 UI/L. Les concentrations de cette activité enzymatique chez les souris traités par les extrais (G. Extrait) ont révélé une moyenne de 296.16 ± 2.03 UI/ml. L'augmentation de cette concentration provoqué par la doxorubicine arrive jusqu'à cinq foie plus que la concentration de groupe témoin (1897, 37UI/L).

Cette augmentation repris par l'administration de la doxorubicine et l'extrait de chaque plante (G.Extrait+DOXO) avec 85% par rapport la concentration de CPK.(fig.14)

Bommu et *al.* (2008), Palamis et *al.* (2012) et Uma et *al.* (2013) ont déclaré un abaissement de la concentration de CPK après l'administration des extrais éthanoliques de *Phyllanthus maderaspatensis* (400 et 600 mg/kg), de *Flacourtia indica* (250et 500mg/kg) et de *Boswellia ovalifoliolata* (250 et 400mg /kg).

4.2.2. Etude histo-pathologique

Tableau 8 : Observation microscopique de tissus hépatique de souris témoin et des souris traités (Gr X40)



(FMCI) Fibre musculaire cardiaque intacte. (DV) Dilatation veineuse. (TC) Tissue conjonctif.
 (CS) Capillaire sanguin .H: hémorragie. N :noyau

Le tableau 8 montre des coupes histologiques du cœur de souris témoin (A), de souris traité par DOXO(B), de souris traité par EAAE(C) et souris traité par EAOA(E), ainsi de souris traité par la combinaison de DOXO avec EAAE(D) et de DOXO avec EAOA (F).

L'observation optique des coupes histologiques du cœur de la souris témoin (A) apparaît des travées myocardiques qui ont constituées par l'enfilade solidarisée et anastomosée des cellules cardiaques s'insèrent (comme des rubans) par leurs extrémités à un anneau fibreux ou charpente fibreuse, formant un tissu musculaire cardiaque intacte. Chaque cardiomyocyte possède un noyau central, unique et allongé dans le sens du grand axe de la cellule. les coupes histologique cardiaque des souris traités par les extraits seules (C, E) illustrent un fibre musculaire cardiaque intacte. (Martin, 2007)

La coupe histologique du souris traités par la Doxorubicine (15mg /Kg) (B) arbore des modifications tissulaires telle que la dystrophie musculaire, le gonflement des cardiomyocytes avec des noyaux pycnotiques, la congestion vasculaire notable et des foyers hémorragiques au niveau de tissu conjonctif avec l'infiltration des quelque cellule inflammatoire.

Delemasure et *al.* (2006) ont déclarés que les antracyclines, peuvent diffuser sur plus de 35 % des cellules incluses à l'égard des altérations sévères telle que : la perte totale des myofibrilles, des organites intracellulaires, plus la dégénérescence nucléaire et mitochondriale.

Ces dommages sont corrigés chez les souris traités par la combinaison de la doxorubicine avec l'extrait de chaque plante, on note l'apparition d'une légère inflammation et une faible dystrophie musculaire au niveau des coupes histologiques de souris traitées par la combinaison de DOXO avec l'extrait d'*A. eremophilus* (D) et avec l'extrait d'*O.angustissima* (F) respectivement.

Uma et *al.* (2013) et Kara (2016) indiquent que les dommages sévères du cœur distingué chez les rats traités par la DOXO ont radicalement diminués par l'administration d'extrait éthanoliques de *Boswellia ovalifoliolata* (250 et 400mg/Kg) et l'extrait butanolique de *Globularia alypum* (100mg/kg), en comparaison avec les rats du lot DOXO.

Conclusion

Conclusion

Fabaceae c'est une famille caractérisé par la richesse des espèces et par large gamme d'utilisation dans la médecine traditionnelle ainsi dans le domaine pharmacologique (Chouana, 2017).

La présente étude consiste en l'évaluation des trois espèces de la famille des fabacées, leurs pouvoirs antioxydants et leurs effets cytoprotecteurs contre la toxicité induite par un agent anticancéreux la doxorubicine.

Les résultats de teste de toxicité indiquent que les extraits des trois plantes des fabacées sont non-toxiques, révélant un DL_{50} supérieure ou égale à 5000 mg / kg.

Les résultats enregistrés du dosage des paramètres de stress oxydatif, confirment que les extraits aqueux jouent un rôle important dans l'inhibition de la peroxydation lipidique et la lutte contre les radicaux libres. La richesse de ces extraits en biomolécules, permet au système antioxydant de résister à l'oxydation provoquée par la doxorubicine. Bien que ces extraits aient la capacité de protéger le tissu hépatique contre les dommages causés par la doxorubicine, empêchant la libération d'enzymes hépatiques.

Les résultats obtenus par le dosage biochimique et enzymatique au niveau des coupes histologiques montrent l'effet préventif des extraits aqueux d'*A. eremophilus* et d'*O. angustissima* contre la cardio-toxicité par la correction des dommages tissulaires induite par la doxorubicine .

En fin, on peut conclure que la présente étude a confirmé l'efficacité du pouvoir antioxydant ainsi que l'activité cyto-protectrice des extraits des plantes étudiés vis-à-vis la cyto-toxicité provoqué par un médicament de classe chimiothérapeutique.

Bibliographie

A

Afsar T., Razak S., Almajwal A. 2019. Effect of *Acacia hydaspica* R. Parker extract on lipid peroxidation, antioxidant status, liver function test and histopathology in doxorubicin treated rats. *Lipids in Health and Disease*, 18(1) p126.

Ashour O.M., Abdel-Naim A.B., Abdallah H.M., Nagy A.A., Mohamadin A.M., Abdel-Sattar E.A. 2012. *Evaluation of the Potential Cardioprotective Activity of Some Saudi Plants against Doxorubicin Toxicity*. p11.

B

Babson J.R., Abell N.S., Reed D.J. 1981. Protective role of glutathione redox cycle against adriamycin-mediated toxicity in isolated hepatocytes. *Biochem. Pharmacol.* 30 : 2299–2304.

Bagchi D., Bagchi M., Hassoun, E.A., Kell J., Stohs S.J 1995. Adriamycin-induced hepatic and myocardial lipid-peroxidation and DNA-damage, and enhanced excretion of urinary lipid metabolites in rats. *Toxicology* 95: 1–9.

Bommu P., Nanjan, C.M., Joghee N.M., Nataraj S. M., & Bhojraj S. 2008. *Phyllanthus maderaspatensis*, a dietary supplement for the amelioration of adriamycin-induced toxicity and oxidative stress in mice. *Journal of Natural Medicines*, 62(2), 149-154.

Bonnier G. 1905. *Cours de botanique*. librairie Générale de l'Enseignement ,Paris .

Boutaghane N. 2013. *Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genista ulicina* Spach (Fabaceae) et *Chrysanthemum macrocarpum* (Sch. Bip.) Coss. & Kralik ex Batt (Asteraceae)*. Thèse de Docteur en Sciences: Pharmacochimie, Université Constantine1, Costantine , Algérie.p18

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.

C

Carol M. 2017. Prise en charge des effets indésirables de la chimiothérapie anticancéreuse à l'officine par homéopathie, aromathérapie et phytothérapie. Thèse de doctorat d'état, université de Paul Sabatier, Toulouse, 145p

Cecen E ; Dost T; Culhac N; Karul A; Ergur B; Birincioglu M. 2011. Protective effects of Silymarin against Doxorubicin-induced toxicity, Asian Pacific J Cancer Prev 12: 2697-2704.

Chaa S. 2019. Effet protecteur de la propolis de Tizirt sur l'hépatotoxicité, la cardiotoxicité et la néphrotoxicité induites par l'épirubicine. Thèse de doctorat d'état, Université Abd El Hamid Ibn Badis Mostaganem , Algérie ,135 p.

Chahine N. 2014. Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique. Thèse de doctorat d'état, université de REIMS CHAMPAGNE-ARDENNE, Libanane, 244p.

Chouana T. 2017. Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d'Astragalus gombo bunge. these de doctora d'etat, université Kasdi Merbah de Ouargla, Algérie, 205p.

Cosima D. 2002. La toxicité cardiaque des anthracyclines dans le traitement des tumeurs de l'enfant,these de doctorat en médecine, l'Université de Genève.

Cronk Q., Ojeda I., Pennington R. 2006. Legume comparative genomics: progress in phylogenetics and phylogenomics. Curr Opin Plant Biol (9) :99-103.

D

Delemasure S., Vergely C., Zeller M., Cottin Y., & Rochette, L. 2006. Prévention de la cardiotoxicité des anthracyclines : Approche fondamentale des mécanismes mis en jeu ; relations avec les données cliniques. Annales de Cardiologie et d'Angéiologie, 55(2), 104-112.

Du Y., Lou H. 2008. Catechin and proanthocyanidin B4 from grape seeds prevent doxorubicin induced toxicity in cardiomyocytes. Eur. J. Pharmacol 591: 96–101.

Dupont F. and Guignard L. J. 2007. Abrégés de Botanique :Systématique moléculaire 14e édition, Masson, Paris .

E

Elberry A.A., Abdel-Naim A.B., Abdel-Sattar E.A. 2010. Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats, *Food Chem.Toxicol.* 48: 1178–1184.

El-Boghdady N. A. 2013. Increased cardiac endothelin-1 and nitric oxide in adriamycin-induced acute cardiotoxicity: Protective effect of Ginkgo biloba extract. *INDIAN J. BIOCHEM. BIOPHYS*, 50, 8p.

Etame L. G., Yinyang J., Okalla E., Ebongue C., Makondo B.V., Ngaba G .P., Mpondo M. E., Dibong S. D. 2017. Étude de la toxicité aigüe et subaigüe de l'extrait au vin des graines de *Caricapapaya* Linn. *Journal of Applied Biosciences* 120: 12077-12085.

F

Fathy A. H., Bashandy M. A., Mansour A. M., Azab K. S., Bashandy A. 2017. Hepatoprotective Effects of Olive Oil with Fig and Date-Palm Fruit Extracts in Rats Treated with Doxorubicin and Gamma Radiation. *Advances in Pharmaceutical and Ethnomedicines*, 8p.

Favier A. 2006. Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6): 390-396.

Flohé I., Gunzler W.A. 1984. 12 essays and Glutathione Peroxidase. *Methods in Enzymologie*.6:114-120.

Fusco D., Colloca G., Monaco M.R., Cesari M. 2007. Effects of antioxidantsupplementation on the aging process. *Clin Interv Aging*, 2(3): 377-87.

G

Georgiev V., Ananga A., Tsoleva V. 2014. Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. *Nutrients* 6:391-415.

Gepts P, Beavis W.D., Charles B., Nevin D., Norman F.W. 2005. Legumes as a Model Plant Family. Genomics for Food and Feed Report of the Cross-Legume Advances through Genomics Conference. *Plant Physiology* 137 (4): 1228-1235.

Gilbert G. and Boutique R. 1954. mimosaceae et papillionaceae, vol.5 ,Flore du Congo belge et du Ruanda Urundi ,I.N.E.A.C, Bruxelles 11-36.

Gilbert J. and Woods S. M. 2006. Strategies and considerations for multilocation FHB screening nurseries. The global Fusarium initiative for international collaboration: A strategic planning workshop, El Batán, Mexico 93–102.

Gunzburg J. 2000. Cancer : GTPases et suppresseurs de tumeurs. médecine/sciences 16 :487-91.

H

Hande K.R. 1998. Clinical applications of anticancer drugs targeted to topoisomerase II. *Biochim Biophys Acta*, 1400 (1-3): 173-184.

Hassan S. 2018. Etude pharmacologiques d'un modele cellulaire 2D/3D dans le cancer hépato-pancréatique, Thèse se de doctorat d'état , université de Strasbourg, France, 254p .

Houlot R. 1984. Techniques d'histologie et de cytologie. Edition Maloine. Paris..

I

Ihoual S. 2018. Effet d'extrait méthanolique de la plante médicinale *Phlomis samia* sur l'apoptose des cellules cancéreuses HepG2 et MDA MB 468 et sur la cardiotoxicité induite par la Doxorubicine. Thèse de doctorat d'état, Université des Frères Mentouri -Constantine, Algérie, 209p

J

Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Stevens P. 2002. Botanique systématique. *Systematics and Geography of Plants* 72 (1):242-24.

K

Kalender Y., Yel M., Kalender S. 2005. Doxorubicin hepatotoxicity and hepatic free radical metabolism in rats. *Toxicology*, 209(1): 39-45.

Kara A.W ., Ihoual S., Abidli N. 2016. The Combination Therapy of Medicinal Plant *Globularia Alypum*, with Adriamycin Limits Free Radical Mediated Cardiac Injury in Rats. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, 36(1): 1-8.

. KARA A. W. 2018. Effet des extraits de la plante médicinale *Ruta montana*. Biologie Animale, Thèse de doctorat d'état, université de Constantine, Algérie, 126p.

Karmen A., Wróblewski F., La Due J. 1955. Transaminase activity in human blood. *J. Clin. Invest.* , 34 (1):126–133.

Katerere D. R., Eloff J. N. 2005. Antibacterial and antioxidant activity of *Sutherlandia frutescens* (Fabaceae), a reputed Anti-HIV/AIDS phytomedicine. *Phytotherapy Research*, 19(9): 779-781.

Kebiechea M., Lakrouna Z., Lahoue M., Bouayed J., Meraihi Z., Souliman R. 2009. Evaluation of epirubicin-induced acute oxidative stress toxicity in rat. *Experimental and Toxicologic Pathology* (61): 161–167.

Kone M., Bleyere N., Yapo A., Vangah M., Ehile E. 2010. Evaluation de la toxicité d'un extrait aqueux de *Sacoglottis gabonensis* (Baille) Urban (Humiriaceae) chez les rongeurs, une plante utilisée dans le traitement de l'ulcère de Buruli en Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 3(6).

Krief S. 2003. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal :surveillance sanitaire et observation de l'alimentation des chiimpanzé(*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommés, thèse de doctorat d'état ,université de muséum national d'Histoire naturelle, Paris , 348p

Kurek G.A., Rzepecka S. M., Górecki J., Stojko M., Sosada., Świerczek Z.G. 2014. Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules* 19:78-101.

I

Lauwerys R.R. 2003. Toxicologie industrielle et intoxication professionnelles. Ed Masson, Paris, p. 12.

Lebri M., Bahi C., Fofie N., Gnahoue G., Lagou S., Achibat H., Yapi A., Zirihi G., Coulibaly, A., Hafid, A., & Khouili, M. 2015. Analyse phytochimique et évaluation de la toxicité aiguë par voie orale chez des rats de l'extrait total aqueux des feuilles de *Abrus precatorius* Linn (Fabaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1470.

Li X., Qu L., Dong Y., Han L., Liu E., Fang S., Zhang Y., Wang T. 2014. A Review of Recent Research Progress on the *Astragalus* Genus. *Molecules* 19(11) :18850-18880.

Lipshultz S.E., Cochran T.R., Franco V.I., Miller T.L. 2013. Treatment-related cardiotoxicity in survivors of childhood cancer. *Nature reviews. Clinical oncology*. 10:697-710.

M

Maloueki U., Kapetshi J., Kabena N., Ndimbo K., Ngbolua K., Mbomba N., Muganza C. 2015. Activités antimicrobiennes et antioxydantes des extraits aqueux totaux des fruits de *Dialium corbisieri* et *Dialium gossweileri* (Fabaceae- Caesalpinioideae), consommés par les bonobos, Bolobo, République Démocratique du Congo. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(2), p 633.

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

Marouf A. and Reyanaud J. 2007. *La botanique de A à Z:1662 définitions* Dunod. vol. 106, Paris.

Martin C ; Jean M A;Georges K; Jacques P.2007. *Histologie : organes, systèmes et appareils. Histologie – Embryologie*. Université Pierre et Marie Curie, Paris, 102p.

Mazevet M. 2016. Etude de la cardiotoxicité induite par les traitements anticancéreux : Rôle d'Epac dans la cardiotoxicité induite par la Doxorubicine. Thèse de doctorat d'état, université Paris -Saclay, Paris Sud, 303p.

Medoui S. 2018. *Activités Biologiques Des Extraits De Cytisus Triflorus*, Biochimie, these de doctorat d'état , universitéFerhat Abbas Sétif 1,Algérie,104p

Minotti G., Menna P., Salvatorelli E., Cairo G., Gianni L. 2004. Antracyclines : molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacol Rev* 56:185-229.

Mizutani H., Tada-Oikawa S., Hiraku Y., Kojima M. , Kawanishi S. 2005. Mechanism of apoptosis induced by doxorubicin through the generation of hydrogen peroxide. *Life Sei*, 76 (13):1439-1453.

Mohan M ., Kamble S., Gadhi P., Kasture S. 2010. Protective effect of *Solanum torvum* on doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats 48(1):436-40.

Morel S. 2011 .Etude phytochimique et évaluation biologique de *Derris ferruginea* Benth. (Fabaceae). Thèse de doctorat d'état , université d'Angers , d'Angers, 266p.

Morris C.J., Earl J.R., Trenam C.W., Blake D.R. 1995. Reactive oxygen species and iron—a dangerous partnership in inflammation. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 27 : 109-122.

N

N'draman D. E., Fofié Y., Adjambri E., Méléde M.F., Sawadogo D. 2016. Caractérisation et évaluation in vitro de l'effet antifalcimiant des graines de *Cajanus cajan* (Fabacées) sur les drépanocytes à Abidjan—Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(5), p 2300.

Nagai K., Oda A., Konishi H. 2015. Theanine prevents doxorubicin-induced acute hepatotoxicity by reducing intrinsic apoptotic response. *Food and Chemical Toxicology*, p78.

Nawasreh M., Abu zarga M., Sabri S., AL-khalil S., Bomeister E., Peter Zelle C. 2004. A new anthranilic acid derivative from *Ononis natrix* of Jordanian Origin. *Alex journal Pharm.sci* , 18 (2), p165.

Ndayishimiye J. 2011. Diversité endémisme géographie et conservation des Fabaceae. 12. Service d'Ecologie du Paysage, Ecole Inter facultaire de Bio ingénieurs, Bruxelles.

O

Ogbuehi I. H., Ebong O. O., Obianime A. W. 2015. Oral acute toxicity (LD50) study of different solvent extracts of *Abrus precatorius* Linn leaves in wistar rats. p 8.

Ohkawa H., Ohishi N., Yagi, K. 1979. Assay of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric reaction. *Analytical Biochemistry* , 95 (2): 351-358.

Osama M.A., Walaa G., Hozayen., Haidy T., Abo Sree. 2013. Effects of Purslane Shoot and Seed Ethanolic Extracts on Doxorubicin-Induced Hepatotoxicity in Albino Rats, *Life Science*, 10(4):67-74.

Ozenda P. 1991. Flore et végétation du Sahara. 3eme édition .CNRS.Paris .

Ozenda P. 2004 . Flore du Sahara. Ed. Centre national de la recherche scientifique, Paris 622 p.

P

Palani S., Jayakumar M., Karthi S., Raja S. 2012. Protective effects of *Flacourtia indica* on doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats, *Toxicol. Environ. Chem.* 94 :1014–1025.

Pissang P., Agban A., Hoekou Y. P., Tchacondo T., Sadjı A. Y., Effoe S., Karou S. D., Batawila K. 2016. Evaluation In Vitro De L'activité Antimicrobienne Des Extraits De Cassia Alata Linn. (Fabaceae). European Scientific Journal, ESJ, 12(21), p 116.

Pothier G. 2010. Apport de l'électrophorèse dans le suivi de la doxorubicine et de son complexe ferreux p 132.



Quézel P., and Sébastien S. 1962. *Nouvelle flore de l'Algérie et des région désertiques méridionales*. Vol. 622 . Centre national de la recherche scientifique , Paris.



Rahman K. 2007. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. Clin Interv Aging ,2(2) : 219–36.



Sakr S. A., Mahran H. A., Lamfon H. A. 2011. Protective effect of ginger (*Zingiber officinale*) on adriamycin—Induced hepatotoxicity in albino rats. 5(1): 133-140.

Sanmugapriya E, E., Venkataraman S. 2006. Studies of hepatoprotective and antioxidant actions of *Strychnos potatorum* Linn. Seeds on CCl4 induced acute hepatic injury in experimental rats. JEthnopharmacol : 154–60.

Simpson M. G. 2010. Diversity and Classification of Flowering Plants : Eudicots. In Plant Systematics ,Elsevier: 275-448.

Singh G., Singh A. T., Abraha A., Bhat B., Mukherjee A., Verma R., Agarwal S. K., Jha S., Mukherjee R., Burman A. C. 2008. Protective effects of *Terminalia arjuna* against Doxorubicin-induced cardiotoxicity. Journal of Ethnopharmacology, 117(1): 123-129.



Tarascou I. 2010. The Hidden Face of Food Phenolic Composition. Archives of biochemistry and biophysics 501(1): 16–22.

Thomas S. 1976. Refinement of the Coomassie Blue Methode of Protein Quantitation A Simple and Linear Spectrophotometric Assay for 50.5 to 500 pg of Protein. ANALYTICAL BIOCHEMISTRY : 142- 146.

Tsuruo T M., Naito A., Tomida N., Fujita., Mashima T., Sakamoto H., Haga N. 2003. Molecular targeting therapy of cancer: drug resistance, apoptosis and survival signal. *Cancer Sei*, 94 (1):15-21.

U

Uma M.B., Shrivastava S, Kuncha M. 2013. Ethanolic extract of *Boswellia ovalifoliolata* bark and leaf attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 36:840–849.

V

Vincent D.T., Ibrahim Y.F., Espey M.G., Suzuki Y.J. 2013. The role of antioxidants in the era of cardiooncology . *Cancer. Chemother Pharmacol* 72: 1157–1168.

W

Wallace A.D., and Meyer S.A. 2010. Hépatotoxicity in: Smart RC, Hodgson E(eds), *moléculaire and biochemical toxicology*, 4eme edition, Wiley, Hoboken, pp:671-692.

Wang Y., Mei X., Yuan J., Lu W., Li B., Xu D. 2015. Taurine zinc solid dispersions attenuate doxorubicin-induced hepatotoxicity and cardiotoxicity in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 289(1): 1-11.

Wang K.Y., Lai H.C., & Lai H.C. 2009. A standardized extract of *Ginkgo biloba* suppresses doxorubicin-induced oxidative stress and p53-mediated mitochondrial apoptosis in rat testes. *British Journal of Pharmacology*, 156(1): 48-61.

Watrous K. M., and Cane J. H. 2011. Breeding Biology of the Threadstalk Milkvetch, *Astragalus filipes* (Fabaceae), with a Review of the Genus. *The American Midland Naturalist* , 165 (2): 225-240.

Wink M. 2013. Evolution of secondary métabolites in légumes (Fabaceae). *South African Journal of Botany* .

Wojciechowski M.F., Lavin M., Sanderson M.J. 2004. A phylogeny of Legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid MATK gene resolves man well-supported subclades within the family. *American Journal of Botany* 11 :1846-2004.

Y

Yagi K. 1976. A Simple Fluorometric Assay for Lipoperoxide in Blood Plasma. *BIOCHEMICAL MEDICINE* (15):212-216.

Yagmurca M., Bas O., Mollaoglu H., Sahin O., Nacar A., Karaman O., Songur A. 2007. Protective Effects of Erdosteine on Doxorubicin-induced Hepatotoxicity in Rats. *Archives of Medical Research*, 38(4) : 380-385.

Z

Zhao X., Zhang J., Tong N., Chen Y., Luo Y. 2012. Protective Effects of Berberine on Doxorubicin-Induced Hepatotoxicity in Mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 35(5): 796-800.

Annexes

Annexes

I. Résultats de dosage protéique *in vivo*:

1. Dosage protéine du tissu de foie :

| | | EAAG | EAAE | EAOE |
|---|------------------|------------|-------------|-------------|
| Concentration protéique du foie (mg/ml) | G. Témoin | 5.64± 0.98 | 3.76 ± 1.57 | 5.64 ± 0.98 |
| | G. Extrait | 4.94 ±0.93 | 4.38 ± 0.24 | 6.5±0.92 |
| | G. DOXO | 4.28± 1.8 | 4.97 ± 0.77 | 4.28 ±1.80 |
| | G. Extrait +DOXO | 5.46±0.9 | 7.63 ± 2.76 | 7.88±0.76 |

2. Dosage protéine du tissu de cœur :

| | | EAAE | EAOE |
|---|------------------|---------------|------------|
| Concentration protéique du cœur (mg/ml) | G. Témoin | 0.293 ± 0.056 | 0.17 ±0.03 |
| | G. Extrait | 0,355±0.027 | 0.29±0.01 |
| | G.DOXO | 0.617 ± 0.071 | 0.25±0.03 |
| | G. Extrait +DOXO | 0.56 ± 0.18 | 0.25±0.03 |

II. Résultats de dosage enzymatique et biochimique *in vivo*:

Dosage de GTP(ALAT) *in vivo*

| | | EAAG | EAAE | EAOE |
|-------------------------------|-----------------|--------|---------|---------|
| Concentration de GTP(UI/L) | G.Temoin | 44.375 | 46.01 | 50 |
| | G.Extrait | 50.25 | 34.096 | 79.125 |
| | G.DOXO | 486.75 | 482.865 | 471 |
| | G.Extrait +DOXO | 243.62 | 102.625 | 392.125 |

Dosage de GTO(ASAT) *in vivo*:

| | | EAAG | EAAE | EAOE |
|-------------------------------|------------------|---------|---------|---------|
| Concentration de GTO(UI/L) | G.Temoin | 225.375 | 207.33 | 231.75 |
| | G.Extrait | 307.125 | 167.081 | 214.875 |
| | G.DOXO | 685.125 | 685.619 | 766.25 |
| | G. Extrait +DOXO | 419 | 464.325 | 602.75 |

Dosage de LDH *in vivo* :

| | | EAAE | EAOE |
|-----|--------------|----------|----------|
| LDH | Temoin | 1233.588 | 1540.625 |
| | Extrait | 818.563 | 1877.875 |
| | DOXO | 4167.25 | 4224 |
| | Extrait+DOXO | 1460.238 | 1853.875 |

Dosage de CPK *in vivo* :

| | | EAAE | EAOE |
|-----|-----------------|----------|----------|
| CPK | G. Temoin | 352 | 352 |
| | G. Extrait | 298.2 | 294.125 |
| | G. DOXO | 1897.375 | 1841.375 |
| | G. Extrait+DOXO | 284.625 | 304 |

Résumé

ملخص : ان البحث والتعرف على المواد الابيضية الثانوية الموجودة في البقوليات أكد على غناها بهذه المكونات، مما اكسبها خاصية مضادة للتاكسد ووقاية الكبد والقلب من مختلف السموم. تهدف هذه الدراسة الى تقييم مدى النشاط المضاد للتاكسد والواقى ضد السمية الدوائية لثلاثة نباتات من عائلة البقوليات ضد سمية دوكسوريبيسين المضاد للسرطان. بعد استخلاص الجزء العلوي لكل نبتة تم اختبار ذكور الفئران البيضاء السويسرية بكل مستخلص وذلك لتحديد الجرعة المميّنة لكان منهم والتي وجدناها لا تقل عن 5000مغ/كغ. انطلاقا من هذا التركيز تم إجراء معالجة الفئران عن طريق تقديم تركيز معين من كل مستخلص بمفرده ثم تقديمه مع 15مغ/كغ من دوكسوريبيسين، لنقوم بعد فترة العلاج بفحوصات معاملات الإجهاد التأكسدي MDA و Gpx والانشطة الانزيمية والكيمياء الحيوية CPK, LDH, ALAT, ASAT لتنتهي بالفحص المجهرى للأنسجة الكبد والقلب. اظهرت النتائج المتحصل عليها زيادة في تركيز البيروكسيداز الجلدي وتثبيط بيروكسيد الدهون مع منع التحرير الغير طبيعي للأزيمات الكبدية (ترنسزاميناز) ASAT وALAT وزيادة مستوى الانشطة الانزيمية LDH و CPK في المصل، أكدت هذه النتائج بعد الملاحظات المجهرية لنسيج كل من الكبد والقلب. جميع النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة تؤكد مدى قوة النشاط المضاد للتاكسد والواقى للخلايا الكبدية والقلبية الذي تتمتع به هذه النباتات ضد سمية دوكسوريبيسين.

كلمات مفتاحية: البقوليات، دوكسوريبيسين، السمية القلبية، السمية الكبدية، النشاط المضاد للتاكسد.

Résumé : La recherche et l'identification des métabolites secondaires dans les légumineuses montrent qu'elles sont riches en ces composés, donnant des propriétés antioxydantes, hépatopréventive et cardiopréventive contre divers agents toxiques. La présente étude visait à évaluer l'activité antioxydante et cytoprotectrice des trois plantes de la famille fabacées contre la toxicité médicamenteuse induite par l'agent anticancéreux doxorubicine. Après l'extraction de la partie aérienne de chaque plante, les souris males de *suiss albino* ont été traités par les extraits à différents concentrations pour déterminer la DL50, qui est supérieure ou égale à 5000mg/kg. A partir de cette concentration on a réaliser un traitement par l'induction de chaque extraits seules a certaine dose et combiné avec 15mg/kg de la doxorubicine. Par la suite, dosage des paramètres du stress oxydatif MDA et Gpx et les activités enzymatiques et biochimiques ASAT, ALAT, LDH et CPK. En fin l'examen histo--pathologique de tissu hépatique et cardiaque. Les résultats montrent l'élévation de concentration de l'activité du Glutation peroxidaze et l'inhibition de la peroxydation lipidique, empêchant la libration anormale des transaminases hépatique ASAT et ALAT, et diminuant le taux sérique des activités enzymatiques LDH et CPK, qui ont été affirmés par les observations optiques de tissu hépatique et cardiaque. Tous les résultats trouvés dans cette étude confirment la forte activité antioxydante et cytopréventive contre l'hépatotoxicité et la cardiotoxicité causée par la doxorubicine.

Les mots clés : Fabacéae , Doxorubicine, stress oxydatif, hepatotoxicité, cardiotoxicité.

Summary: Research and identification of secondary metabolites of legumes shows that they are rich in these compounds, giving antioxidant, hepatopreventive and cardiopreventive properties against various toxic agents. The present study aimed to evaluate the antioxidant and cytoprotective activity of the three plants of the *Fabaceae* family, against the drug toxicity induced by the anticancer agent doxorubicin. After the extraction of the aerial part of each plant, the male mice of *suiss albino* were treated with the extracts at different concentrations to determine the LD50, which is equal or bigger than 5000 mg / kg. From this concentration we carried out a treatment by induction of each extract alone and combined with 15 mg / kg of doxorubicin, and then assay the parameters of oxidative stress MDA and Gpx and the enzymatic and biochemical activities ASAT, ALAT, LDH and CPK. Finalluy the histopathological examination of hepatic and cardiac tissue. The results show the increase in the concentration of glutation peroxidaze activity and the lipid peroxidation inhibition, preventing the release of hepatic transaminases ASAT and ALAT and increasing the serum level of the enzymatic activities (LDH and CPK), these results were confirmed by optical observations of liver and heart tissues. All the results found in this study confirm the strong antioxidant activity, and cytopreventive against hepatotoxicity and cardiotoxicity caused by doxorubicin.

Keywords: Fabaceae, Doxorubicine, hépatotoxicity, cardiotoxicity, oxidative stress.