

République Algérienne Démocratique Et Populaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère De L'Enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université M'Hamed Bougara- Boumerdès

جامعة امحمد بوقرة بومرداس



Faculté des Sciences

Département de biologie

Mémoire de fin D'ETUDES

En vue d'obtention de diplôme de Master II en Sciences de la Nature et de la Vie

Option : Biochimie Appliquée

Thème

Etude des activités biologiques
D'ARTIMISIA HERBA -ALBA

Présenté par :

Mlle BESSADI NESRINE

Mlle CHERGUI LYNA

Soutenu devant le jury :

Mme NEMIRI N	M.A.A	Présidente	UMBB
Mme SELMI K	M.A.A	Examinatrice	UMBB
Mr ZAOUANI M	M.C.A	Promoteur	ENSV
Mme BELKHEIR M.B	M.A.A	Co-promotrice	UMBB

Année Universitaire : 2020-2021

Remerciements

En premier lieu, Nous commençons par remercier dieu de nous avoir donné la force, la santé et la patience pour pouvoir mener ce travail.

Nous tenons à remercier notre Promoteur **Mr ZAOUANI M**, Maître de conférences A à ESNV d'Alger et notre Co-Promotrice

Mme BELKHEIR M.B, Maître assistante A au département de Biologie à l'UMBB, pour nous avoir proposé et accepté de diriger avec beaucoup de patience ce sujet de mémoire de fin d'études. Pour leurs suivis, leurs conseils, leurs disponibilités et surtout leurs compréhensions.

Nous remercions les membres de jury, pour le temps précieux qu'ils ont accordé à ce travail :

la présidente **Mme NEMIRI N**, et l'Examinatrice **Mme SELMI K**

Nous n'oublierons jamais l'aide précieuse de **Mr KADDOUR R**, qui nous a offert au sein du laboratoire d'histopathologie à ESNV.

Nous tenons à remercier nos familles pour leurs soutiens et leurs encouragements.

Nous remercions également toute personne ayant contribué à la réalisation de près ou de loin à réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

À ma chère **mère** pour sa tendresse, son amour, son affection, sa patience,
et ses valeureux conseils.

À mon **père** pour son soutien, sa gentillesse, son aide et sa confiance et
surtout pour sa noblesse infinie.

Que Dieu les garde en bonne santé toujours.

À mes chères **frères** et **sœurs** que je trouve toujours à mes côtés.

ET à tous ceux qui ont une place dans mon cœur.

Nesrine

Dédicace

A l'esprit de mon cher père **Ali**

A mon modèle de sacrifice, d'amour et de générosité,

La lumière De mon chemin,

Et à l'étoile de ma vie et à qui je souhaite aussi une

Très longue vie ma très chère mère **Nadia**

A mes chères sœurs et mon frère

Roumaissa, Medina, Asma et Mohamed Salah Eddine

A mon très cher Mari **Zaki**

A mon binôme **Nesrine** et à toute sa famille

Lyna

Sommaire

Introduction	1
Partie Rappel bibliographique	
I. Armoise blanche « Artemisia Herba-alba ».....	3
I.1. Généralité.....	3
I.2. Classification botanique d'Artemisia Herba -alba	4
I.3. Description botanique	4
I.4. Habitat et répartition géographique.....	4
I.5. Ecologie de L'armoise blanche.....	5
I.6. Utilisations traditionnelles de l'armoise blanche	5
I.7. Composition chimique	5
I.7.1. Les flavonoïdes	5
I.7.2. Les terpènes.....	6
I.8. Toxicité de la plante	7
II. Activité Antioxydante.....	8
II.1. Généralités	8
II.2. Stress Oxydatif	8
II.2.1. Définition	8
II.2.2. Conséquences du stress oxydant	8
II.2.3. Les radicaux libres	9
II.3. Les antioxydants	10
II.3.1. Classification des antioxydants	10
A. Les Antioxydants naturels.....	10
B. Les Antioxydants synthétiques.....	12
III. Activité hépato protectrice.....	13
III. Le foie	13
III .1. Anatomie et histologie du foie.....	13
III.2. Cellules du foie	14
III.2.1. Hépatocytes ou cellules hépatiques.....	14
III.2.2. Cellules sinusoïdales endothéliales	14
III.2.2.1. Cellules de Kuppfer.....	14
III.2.2.2. Cellules stellaires.....	15
III.2.3. Cholangiocytes.....	15
III.3. Hépatotoxicité et hépatoprotection	16

III.3.1. Rôle du foie dans la détoxification	16
III.3.2. Hépatotoxicité	16
Partie Expérimentale.....	17
I. Matériels et méthodes.....	17
I.1. Matériels	17
I.1.1. Matériel végétal.....	17
I.1.2. Matériel animal.....	17
I.1.3. Produits et appareillages	18
I.2. Méthodes.....	18
I.2.1. Préparation de l'extrait aqueux.....	18
I.2.2. Évaluation de l'activité anti-oxydante in vitro : Test au DPPH.....	19
I.2.3. Évaluation de la toxicité aigüe d' <i>Artemisia Herba- alba</i> chez les souris	21
I.2.3.1. Prélèvement d'organe pour coupe histologique	22
I.2.3.2. Étude histologique	23
I.2.4. Évaluation de l'activité hépatoprotectrice.....	25
I.2.4.1. Induction d'hépatotoxicité chez les souris.....	25
I.2.4.2. Répartition et traitement des animaux	26
I.2.4.3. Prélèvement du foie pour coupe histologique	27
I.2.4.4. Étude histologique	27
II. Résultats et discussions	28
II.1. Evaluation de l'activité antioxydante : (test de piégeage du radical libre DPPH)	28
II.1.1. Résultats.....	28
II.1.2. Discussion	31
II.2. Evaluation de la toxicité aigüe.....	32
II.2.1. Résultats.....	32
II. 2.1.1. Variation du poids corporel.....	32
II.2.1.2. Étude histologique.....	33
II.2.2. Discussion	36
II. 3. Evaluation de l'activité hépatoprotectrice	36
II.3.1. Résultats.....	36
II. 3.1.1. Variation du poids corporel.....	36
II.3.1.2. Étude histologique.....	38
II.3.2. Discussion	41
Conclusion et perspective	43

Liste des abréviations

A. Herba-alba: Artémisia Herba- alba

Abs: Absorbance

AND: Acide Désoxyribo-Nucléique

BHA: ButylHydroxyAnisole

BHT: Butyle Hydroxy Toluène

DPPH: Radical 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl.

ERO : Espèces Réactives de L'Oxygène

GPx : Glutathion peroxydase

GSH: Glutathion

GSSG : Disulfure de glutathion

IC50 : Concentration inhibitrice à 50%

IHA : insuffisance hépatique aiguë

IPNI: International Plant Names Index

MS : Matière sèche

NADPH : Nicotinamide Adénine Di nucléotide Phosphate

NMRI: National Maritime Research institute

O2 : Oxygène

OCDE : Organisation de coopération et de développement économiques

OH : Radical hydroxyle

PI% : Pourcentage d'Inhibition

ROS: Reactive oxygen species

SO: Stress oxydant

SOD : Superoxyde dismutase.

UV : Ultraviolet

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

Liste des figures

Numéro de figure	Titre de figure	Pages
Figure 1	<i>Artemisia Herba- alba</i>	03
Figure 2	Structure de base des flavonoïdes	06
Figure 3	Vascularisation du foie	13
Figure 4	Localisation des différents types cellulaires constituant le foie	15
Figure 5	Les souris males de souche NMRI	17
Figure 6	<i>Artemisia Herba- alba</i> séchée	18
Figure 7	Préparation de l'extrait aqueux	19
Figure 8	Forme libre et réduite du DPPH	20
Figure 9	Tubes à essai continent un mélange de l'extraits et du DPPH	20
Figure 10	Administration par gavage de l'extrait d' <i>A. Herba-alba</i> aux souris	22
Figure 11	Découpages des organes et dépôt dans des cassettes en plastiques	23
Figure 12	Confection des blocs	24
Figure 13	Réalisation des coupes au microtome	24
Figure 14	Coloration des coupes	25
Figure 15	structure chimique de l'alloxane	26
Figure 16	prélèvement du foie	27

Figure 17	Courbe d'étalonnage du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux	28
Figure 18	Courbe d'étalonnage du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de la BHT	29
Figure 19	Courbe d'étalonnage du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de la BHA	29
Figure 20	Courbe d'étalonnage du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique	30
Figure 21	Variation du poids corporel des souris chez les lots traités à l'extrait aqueux et comparés avec le lot témoin	33
Figure 22	coupes histologiques du foie des souris traitées par l' <i>A. Herba- alba</i>	34
Figure 23	Des coupes histologiques des testicules des souris traitées par l' <i>A. Herba -alba</i>	34
Figure 24	Des coupes histologiques de la rate des souris traitées par l' <i>A. Herba-alba</i>	35
Figure 25	Des coupes histologiques du rein de souris traitées par l' <i>A. Herba- alba</i>	35
Figure 26	Variation du poids corporel des souris chez le lot témoin et les lots traités à l'extrait aqueux pendant 3 jours de traitement	37

Figure 27	Coupe histologique de foie des souris témoins dans lesquels on ne remarque aucune lésion	38
Figure 28	Coupe histologique du foie des souris intoxiquées par alloxane (150mg/kg)	39
Figure 29	coupes histologiques du foie des souris intoxiquées par l'alloxane (150mg/kg) accompagnées de traitement par l'extrait d' <i>A. Herba-alba</i>	40

Liste des tableaux

Numéro de tableau	Titre de tableau	Page
Tableau I	Valeurs de l'IC50 de l'extrait aqueux, acide ascorbique, BHA et BHT par le test DPPH	31
Tableau II	Evaluation du poids corporel chaque trois jour pendant 14 jours chez souris témoin et souris à toxicité aiguë	32
Tableau III	Variation du poids corporel chez les souris témoins et traités par l'extrait aqueux après chaque 3 jours de traitement	36

Introduction

Introduction

Introduction

Depuis la nuit des temps, nos ancêtres ont utilisé les plantes pour soulager leurs douleurs, guérir leurs maux et panser leurs blessures. De génération en génération, ils ont transmis leur savoir et leurs expériences simples en s'efforçant quand ils pouvaient de les consigner par écrit (**tabuti et al., 2003**). A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes (**Iserin, 2001**).

Pendant longtemps, la médecine traditionnelle a été utilisée couramment comme seul remède contre plusieurs maladies, sans aucune base scientifique ni connaissance des différents principes actifs des plantes médicinales, en se basant seulement sur des résultats pratiques (**Sandru et al., 2016**).

L'excès des espèces réactives de l'oxygène pas suffisamment équilibré par des systèmes de défense antioxydant peut entraîner un stress oxydatif et endommager de nombreuses molécules biologiques, il est considéré comme un mécanisme pathogène qui provoque différentes maladies chroniques et souvent associé à la douleur et à l'inflammation (**Nasri et al., 2017**). Les plantes médicinales sont des puissants piègeurs de radicaux libres et peuvent être considérées comme de bonnes sources d'antioxydants naturels à des fins médicinales et commerciales (**Djeridane et al., 2006**).

Le foie est l'un des plus grands organes du corps humain et le site principal pour le métabolisme intense et l'excrétion. Il joue donc un rôle surprenant dans la maintenance, la Performance et la régulation de l'homéostasie du corps. Il est impliqué dans presque toutes les voies biochimiques de la croissance, de la lutte contre les maladies, de l'apport de nutriments, de la fourniture d'énergie et de la reproduction (**Rajib et al., 2009**). Un certain nombre de plantes médicinales montrent une activité prometteuse dans les maladies et le bien-être du foie. Ces plantes permettent d'améliorer les fonctions hépatiques et de traiter de nombreux maux et pathologies en lien avec le foie.

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des Astéracées. Plus de 300 espèces de ce genre se trouvent principalement dans les zones arides et semi arides d'Europe, d'Amérique, d'Afrique du Nord ainsi qu'en Asie (**Nikolova et al., 2010**). Notre choix est porté sur *Artemisia Herba- alba*, car elle est très répandue en Algérie et largement utilisée en médecine traditionnelle. Elle est utilisée pour traiter les troubles inflammatoires (rhume, toux, bronchite,

Introduction

diarrhée), les maladies infectieuses (maladies de la peau, gale, syphilis) et autres (diabète, névralgies) (**Abu-Darwish et al., 2015**).

L'objectif visé par notre étude est :

- Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait d'*Artemisia Herba- alba* vis-à-vis du radical libre DPPH in vitro au niveau du laboratoire biochimie médicale à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.
- Etude de l'effet hépato protecteur in vivo de l'extrait vis-à-vis de la toxicité du foie chez les souris NMRI traitées par l'alloxane et l'*Artemisia Herba –alba* au niveau du laboratoire d'histopathologie à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

**Armoise blanche « Artemisia
Herba-alba »**

I.1. Généralité

Le genre *ARTEMISIA* appartient à la famille des *Asteraceae*, largement distribué dans l'hémisphère nord et absent dans l'hémisphère sud (**Torrell et al ., 2003**), ce genre comprend une grande variété d'espèces (de 200 à plus de 500, selon les auteurs) dont l'utilisation médicinale de certaines d'entre elle remonte à plus de 2000 ans (**Nikolova et al.,2010**).

Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* possèdent des propriétés thérapeutiques, elles sont non seulement utilisées dans la médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique (**Mirjalili et al., 2007**).

Connue depuis des millénaires, l'armoise blanche « *Artemisia Herba-alba* » a été décrite par l'historien grec Xénophon au début du IV siècle avant J-C, dans les steppes de la Mésopotamie (**joannes, 2001**). Elle a été ensuite répertoriée en 1779 par le botaniste espagnol Ignacio Claudio de Asso y Del Rio (IPNI). C'est une plante essentiellement fourragère, très appréciée par le bétail, elle présente une odeur caractéristique d'huile de thymol et un goût amer d'où son caractère astringent (**Nabli, 1989**).

L'armoise blanche est une plante médicinale et aromatique utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle algérienne. C'est l'armoise la plus connue en Algérie, elle est très abondante sur les Hauts Plateaux. Elle est considérée comme matière pleine de substances médicinales et nutritionnelles (plante fourragère), elle est aussi une source de substances (huile essentielle) qui possèdent des effets remarquables sur le plan biologique (**Eloukili, 2013**).



Figure 1 : *Artemisia herba -Alba*

I.2. Classification botanique d'*Artemisia Herba -Alba*

Selon (Nabli ,1989) la classification d'*Artemisia Herba- alba* se présente comme suit :

PHYLUM : Angiospermeae

SOUS PHYLUM : Dicotylédones

ORDRE : Gampanulatae

FAMILLE : Astéraceae

SOUS FAMILLE : Asteroideae

TRIBU : Anthemideae

SOUS-TRIBU :Artemisinae

GENRE : *Artémisia*

ESPECE : *Artémisia herba alba*

I.3. Description botanique

Artemisia Herba-alba est une plante herbacée, vivace, de couleur verdâtre-argenté, de 30-50 cm de hauteur avec des tiges ramifiées, rigides et dressées. Les feuilles sont petites, Sessiles, pubescentes et à aspect argenté (Quezel et Santa, 1962), divisées en languettes fines, blanches et laineuses. Les fleurs sont groupées en grappes, à capitules très petites et ovoïdes de 1,5 à 3 mm de diamètre, de couleur jaune à rougeâtre (Bezza et al., 2010).

I.4. Habitat et répartition géographique

L'*Artemisia Herba-alba* est largement répandue depuis les îles Canaries et le sud-Est de l'Espagne jusqu'aux steppes d'Asie centrale (Iran, Turkménistan, Ouzbékistan) et à travers l'Afrique du Nord, l'Arabie et le Proche-Orient. En Afrique du nord, cette espèce couvre d'immenses territoires évalués à plus de dix millions d'hectares, l'*Artemisia Herba-alba* est absente des zones littorales nord. Cependant, l'espèce se raréfie dans l'extrême sud (Nabli, 1989).

I.5. Ecologie de L'armoise blanche

L'armoise blanche existe dans les bioclimats allant du semi-aride jusqu'au saharien. Elle est indifférente aux altitudes et peut vivre dans les régions d'hiver, chaud à frais. Dans le Sud, cette plante pousse sur les sols bruns steppiques de texture moyenne et en extrême sud sur les sols sableux. Elle résiste à la sécheresse, supporte le gypse et des niveaux de salinité modérément élevés (**Nabli, 1989**).

I.6. Utilisations traditionnelles de l'armoise blanche

En alimentation, l'armoise blanche est considérée comme l'arôme de certaines boissons comme le thé ou le café. Néanmoins, son usage dans l'industrie alimentaire reste très limité à cause de la toxicité de la bêta thujone dont le taux ne doit pas dépasser 5mg/kg (**Bendjilali et al., 1984**).

En Algérie, le Chih (Armoise blanche) est un remède très populaire auquel on a souvent recours pour faciliter la digestion, calmer les douleurs abdominales et certains maux de foie et antidiabétique. Ses racines sont indiquées contre certains troubles nerveux (**Baba aissa, 2000**).

Plusieurs études scientifiques ont également prouvé l'efficacité de l'armoise blanche en tant qu'agent antidiabétique, antiparasitaire, antibactérien, antiviral, antioxydant, anti-malarien, antipyrétique, antispasmodique et antihémorragique (**Boudjelal, 2013**).

I.7. Composition chimique

L'Artemisia Herba-alba constitue un fourrage particulièrement intéressant. En effet, la plante présente un taux de cellulose beaucoup moins élevé malgré que son aspect extérieur indique l'inverse (17 à 33%). La matière sèche (MS) apporte entre 6 et 11% de matière protéique brute dont 72% est constituée d'acides aminés (**Saleh et al., 1985**).

I.7.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes détectés dans l'armoise montrent aussi une diversité structurale allant des flavonoïdes communs (flavones glycosides et flavonols) jusqu'aux flavonoïdes

méthylés qui sont très inhabituels. Les flavonoïdes glycosides comprennent les O-glycosides tels que : quercitine-3-glucoside, et des flavones C-glycosides qui sont rares dans le genre *Artemisia*, ainsi que dans l'ensemble des Astéracées (**Merghem, 2009**).

Les flavonoïdes, dont beaucoup sont des pigments naturels, sont un groupe important de phénols végétaux qui ont des propriétés antioxydantes. Dans la plante, les flavonoïdes ont probablement pour fonction de le protéger des dommages causés par l'oxygène à haute énergie (**Suzy et al., 2002**).

Les flavonoïdes sont composés généralement de deux cycles benzéniques (cycles A et B) liés par un hétérocycle contenant un oxygène (cycle C) sous la configuration C6-C3-C6 (**figure 2**) (**Tsao et Deng, 2004**). Ce sont des composés de faible poids moléculaire qui consistent en 15 atomes carboniques (**Balasundram et al., 2006**).

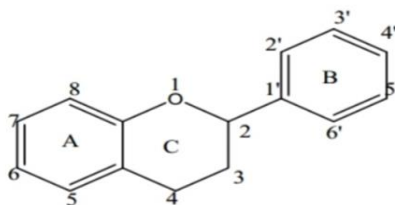


Figure 2 : Structure de base des flavonoïdes (Sandhar et al., 2011).

I.7.2. Les terpènes

Les terpènes sont des polymères constitués d'unités en 6C. Les mono terpènes (en 10C) sont des substances légèrement volatiles qui forment les huiles essentielles. Ils protègent les végétaux contre les parasites, inhibent la croissance bactérienne et attirent les animaux pollinisateurs (**Lüttge et al., 1992**).

Les principaux monoterpènes identifiés dans l'*Artemisia herba-alba* sont le thujone (monoterpène lactone), le 1,8-cinéol et le thymol (**Duke, 1992**).

Des monoterpènes alcooliques (yomogi alcool, santoline alcool) ont été mis en évidence (**Segal et al., 1980**). On a aussi identifié des sesquiterpènes (3 unités en 5C) et des sesquiterpènes lactones dans plusieurs chémotypes du Moyen-Orient (**Segal et al., 1985**).

Le thujone est probablement l'un des constituants terpéniques les plus bioactifs de l'Armoise. Son nom provient de Thuya (*Thuja occidentalis*) plante de laquelle il a été extrait pour la première fois. On l'a identifié également dans d'autres espèces, comme l'Absinthe (*Artemisia absinthium*) et l'Armoise romaine (*Artemisia pontica*).

Structurellement lié au menthol, il est constitué d'un cycle en 6C (cyclohexane) avec en plus un groupement exocycliqueisopropyl et un groupement lactone. Le thujone est un composé chiral présent à l'état naturel sous forme de deux stéréoisomères : l'alphathujone et le bêta-thujone (**Patocka et plucar, 2003**).

I.8. Toxicité de la plante

La toxicité de l'armoise serait liée à la concentration élevée en thujone. A forte dose, l'armoise blanche est abortive, neurotoxique et hémorragique (**Lahsissene et al., 2009**).

**Activité
Antioxydante**

II.1. Généralités

La partie aérienne d'*Artemisia Herba-alba* possède des activités antioxydantes significatives. En effet cette plante est riche en composés doués d'activité antioxydante tels que : les flavonoïdes et les tanins (les polyphénols), ces différents constituants exercent ses actions antioxydantes en pigeant les radicaux libres (inhibant la production) : radicaux hydroxyle (OH) et anions su peroxydes ($O^{\cdot -2}$), comme ils inhibent la peroxydation lipidique au niveau des microsomes (**Bruneton, 1999**).

II.2. Stress Oxydatif

II.2.1. Définition

Le stress oxydatif (SO) est un phénomène complexe, chimique et physiologique, biotiques et abiotiques (métaboliques), défini comme le déséquilibre de la balance entre les pro-oxydants et les antioxydants, ou un déséquilibre entre production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et le système antioxydant d'un organisme (**Demidchik, 2015**).

Une fois formées, les ROS peuvent induire des dommages oxydatifs souvent irréversibles au niveau d'un grand nombre de substrats biologiques (enzymes, protéines, ADN, lipides, glucose) (**Naspolini et al., 2015**).

Le stress oxydatif est de plus en plus impliqué pour expliquer les dégâts cellulaire observés dans les états inflammatoires aigus, le cancer, le diabète ou les maladies cardiovasculaires (**pincemail et al., 2001**).

II.2.2. Conséquences du stress oxydant

Des concentrations élevées en ERO peuvent être un important médiateur de dommages des structures cellulaires, des acides nucléiques, des lipides et des protéines (**Valko et al., 2007**).

Le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies comme le cancer, syndrome de détresse respiratoire aiguë, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré...etc. Est aussi l'un des facteurs potentialisant l'apparition des maladies

plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 2003**).

II.2.3. Les radicaux libres

Un Radical libre est défini comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés (**Jacques et André, 2004**), cette molécule très instable réagit rapidement avec d'autres composants essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité. Ces radicaux libres sont, en général, très actifs. Ils déclenchent des réactions en chaîne capables d'endommager les différents constituants de l'organisme vivant (**Sahnoun et al., 1997**).

Il existe deux sources différentes de ces radicaux libres :

- **Sources endogènes**

- Les réactions enzymatiques, dont plusieurs d'entre elles sont considérées comme source principale des ERO ex : NADPH oxydase, lipoxygénase, xanthine oxydase (enzyme dans le foie).
- La mitochondrie est un élément fondamental pour le fonctionnement de la cellule, dans lequel s'effectue la respiration cellulaire. La consommation de l'oxygène et les différentes réactions du transfert des électrons produisent en performance les ERO (Espèces Réactives de l'oxygène). Les ions métalliques présents dans l'organisme ex : fer, cuivre, peuvent coopérer avec des espèces moins réactives pour produire des radicaux hydroxyles (**Servais, 2004**).

- **Sources exogènes**

Les ERO sont également générées sous l'effet de stress environnementaux comme la pollution, la consommation d'alcool ou médicaments (dont leurs structures peuvent jouer le rôle des accepteurs et donneurs d'électron), l'exposition prolongée au soleil, l'effort intense et prolongé ainsi que le tabagisme ; les facteurs interagissant lors des inflammations. Toutes ces situations provoquent une surproduction des ERO dans l'organisme (**Fuorocci, 2006**).

L'infection au VIH a pour effet d'accroître la production de radicaux libres dans l'organisme (**Hosein et Lytle, 2001**).

II.3. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS (**Vansant, 2004**).

Notre organisme est équipé d'un système de défense antioxydant enzymatique et non enzymatique, endogène ou exogène qui ont pour but de protéger les organismes vivants des effets nocifs des ROS (**Niu et al., 2018**).

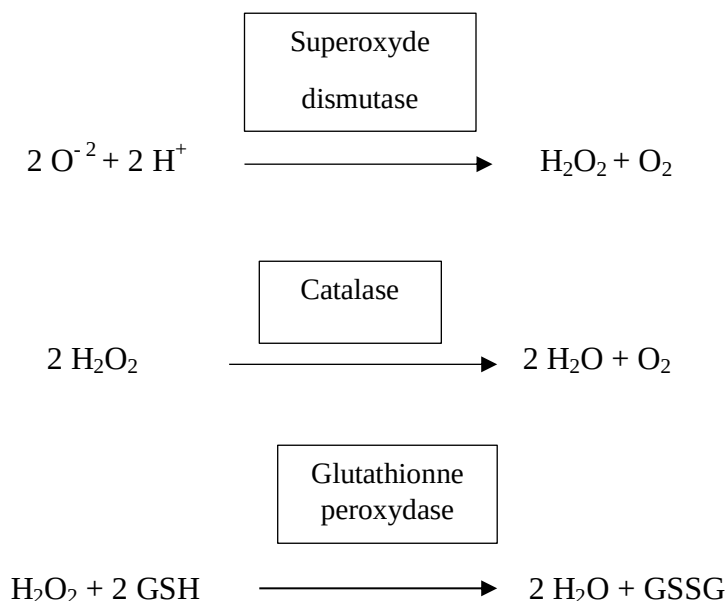
II.3.1. Classification des antioxydants

A. Les Antioxydants naturels

- **Les antioxydants enzymatiques (Défenses endogènes)**

L'organisme humain possède un système enzymatique, constitué principalement de trois enzymes : la dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) (**Avissar et al., 1989**). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (**Makkar, 2003**).

Ces enzymes anti oxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes : (**Dacosta, 2003**)



- **Les Antioxydants non-enzymatiques (Défenses exogènes)**

Contrairement aux enzymes antioxydantes, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), les vitamines E et C et les polyphénols.

- **Le glutathion**

Le glutathion est un agent anti radicalaire composé de 3 acides aminés : cystéine, acide glutamique et glycine. Il joue un rôle majeur dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation (**Delattre et al., 2005**).

Le glutathion est largement présent sous forme réduite, réduit le peroxyde d'hydrogène en H₂O grâce à la réaction catalysée par la glutathion peroxydase (GPx). Il peut aussi réduire les radicaux formés par l'oxydation des vitamines E et C (**Power et Lennon, 1999**).

- **Les oligo-éléments**

Les oligo-éléments interviennent comme cofacteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres. Parmi ces oligo-éléments on cite ; le zinc, le sélénium et le manganèse (**Pastre, 2005**).

- **Les vitamines**

- **La vitamine E**

La vitamine E, est un antioxydant liposoluble, elle se localise entre les chaînes d'acides gras des phospholipides qui constituent les membranes et les lipoprotéines (**Gardès-Albert et al., 2003**). Elle empêche les radicaux libres d'attaquer les graisses des membranes cellulaires et d'oxyder la vitamine A. Elle joue un rôle préventif dans le développement des cancers et sur le vieillissement (**Maydani, 2000**).

- **La vitamine C**

Est une molécule hydrosoluble présente dans la plupart des fruits et légumes (non synthétisée par l'Homme). Elle est connue pour son action protectrice contre l'oxydation

membranaire (**Retsky et al., 1999**). Elle peut capter directement $\text{O}^{\cdot -2}$ et $\text{OH}^{\cdot}$ (**Evans et al., 2002**).

- **Les composés phénoliques**

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires, caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide (**Boizot et Charpentier, 2006**), empêchant ainsi les dégradations liées à leur intense réactivité au niveau des phospholipides membranaires (**Halliwel et Aruoma, 1991**).

B. Les Antioxydants synthétiques

Ces composés purs sont ajoutés aux aliments afin de pouvoir résister à divers traitements et conditions ainsi que pour prolonger la durée de conservation.

Le principal objectif des antioxydants synthétiques est la prévention de l'oxydation des aliments, en particulier des acides gras, comme le ButylHydroxyAnisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT) (**Carocho et Ferreira, 2013**).

Les Antioxydants synthétiques sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels (**Lisu et al., 2003**).

Activité hépato protectrice

III. Le foie

III .1. Anatomie et histologie du foie

Le foie est l'organe le plus volumineux du corps humain, il pèse environ 1.5 à 2 kg chez l'adulte, il est localisé à droite de l'estomac au-dessus du duodénum et enveloppée d'une capsule du tissu conjonctif **(Braeuning et al., 2006)**.

Il est constitué de deux parties, le lobe gauche (1/3 du volume) et le lobe droit (2/3 du volume), séparés par le ligament falciforme. Ces lobes sont subdivisés en segments hépatiques délimités par des cloisons fibreuses. Ces dernières divisent ces segments en unités fonctionnelles plus petites, lobules hépatiques. Chaque lobule est formé par un ensemble de cellules : hépatocytes, cellules de Kupffer, cellules sinusoidales et les cellules stellaires **(Malarkey et al., 2005)**.

Sur les angles du lobule, courent les vaisseaux, artère hépatique, veine porte et le canal biliaire inter lobulaire. L'ensemble constitue, avec le tissu conjonctif environnant l'espace porte **(Ekataksin et Kaneda, 1999)**.

L'artère hépatique est responsable de l'apport d'oxygène, tandis que la veine porte est responsable quant à elle de l'apport des nutriments de l'intestin **(Dooley et al., 2011)**.

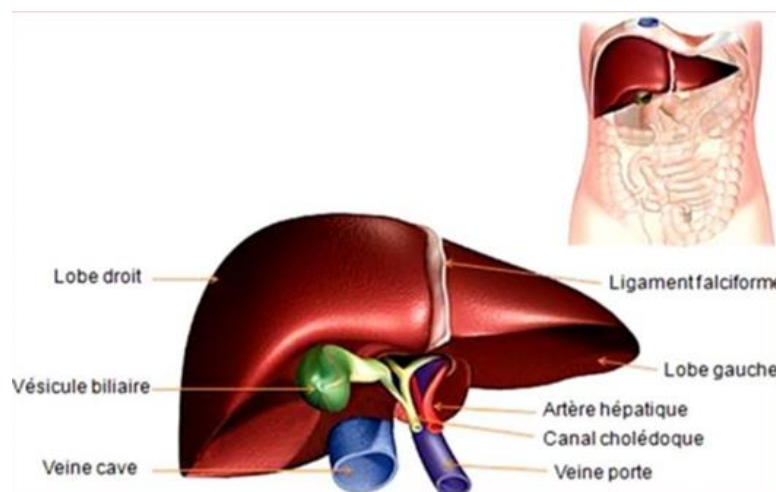


Figure 3 : Vascularisation du foie (Naudot, 2013)

III.2. Cellules du foie

Le foie est composé de différents types cellulaires : les hépatocytes (60 à 65% des cellules hépatiques), les cellules endothéliales sinusoidales (15 à 20 %), les cellules de Kupffer (8 à 12 %), les cellules stellaires ou de Ito (3 à 8 %), les cholangiocytes (cellules épithéliales constituant le canal biliaire, 3 à 5%) (**Nakai, 2011**). Ces cellules ont des fonctions bien identifiées, certaines sont impliquées dans la structuration anatomique de l'organe, toutes sont localisées à un endroit bien précis de cet agencement.

III.2.1. Hépatocytes ou cellules hépatiques

Les hépatocytes sont des cellules polyédriques de 20 μm de long sur 30 μm de large environ. Ils représentent 60% des cellules du foie humain. Elles comportent un noyau rond ou ovalaire central, Les hépatocytes sont responsables de la formation de la bile et des différentes réactions métaboliques (**Pastor et Suter, 1999**).

Ce sont des cellules dites polarisées, c'est-à-dire que leurs membranes plasmiques selon leurs positions, nommées basales ou apicales, Les hépatocytes sont disposés en cordons cellulaires entre lesquels sont localisés les sinusoides (**Tso et McGill, 2003**).

III.2.2. Cellules sinusoidales endothéliales

Les sinusoides diffèrent des capillaires habituels, ils sont longs d'environ 400 à 500 μm et de largeur irrégulière (6 à 15 μm). Au niveau des capillaires sinusoides, il existe des cellules endothéliales, des cellules étoilées du foie ou stellaire, des grands lymphocytes granulaires et des cellules de kupffer (**couvelard et al., 1993**).

Les cellules sinusoidales endothéliales ont une structure lâche (pas de membrane basale). Ce qui favorise les échanges entre le sang et les hépatocytes, permettant ainsi une meilleure oxygénation des hépatocytes (**Dooley et al., 2011**).

III.2.2.1. Cellules de Kupffer

Elles sont des macrophages hautement mobiles, elles sont localisées dans la lumière sinusoidale, au contact des cellules endothéliales (**Dooley et al., 2011**). Parmi leurs principales fonctions de trouvent la phagocytose de particules étrangère l'élimination

d'endotoxines et d'autres substances nocives, la modulation de la réponse immunitaire par la libération de médiateurs et d'agents cytotoxiques et la présentation de l'antigène (**Crispe, 2003**).

III.2.2.2. Cellules stellaires

Se situent dans l'espace péri sinusoidal entre la surface basolatérale des hépatocytes et le côté anti-luminal des cellules endothéliales sinusoidales. Elles ont la fonction de stocker les graisses, et la vitamine A. Ces cellules produisent des cytokines, des facteurs de croissance et des protéines de la matrice extracellulaire telles que le collagène et l'élastine (**LeCluyse et al., 2012**).

III.2.3. Cholangiocytes

Les cholangiocytes sont les cellules épithéliales qui tapissent les canaux biliaires. Ces cellules peuvent sécréter des cytokines et d'autres médiateurs et exprimer à leur surface des molécules d'adhérence, permettant ainsi un contact direct avec les cellules immunitaires (**Glaser et al., 2009**). Les cholangiocytes sont aussi impliquées dans la sécrétion d'eau, d'ions organiques, de lipides, d'électrolytes et de bicarbonate (**Glaser et al., 2009**).

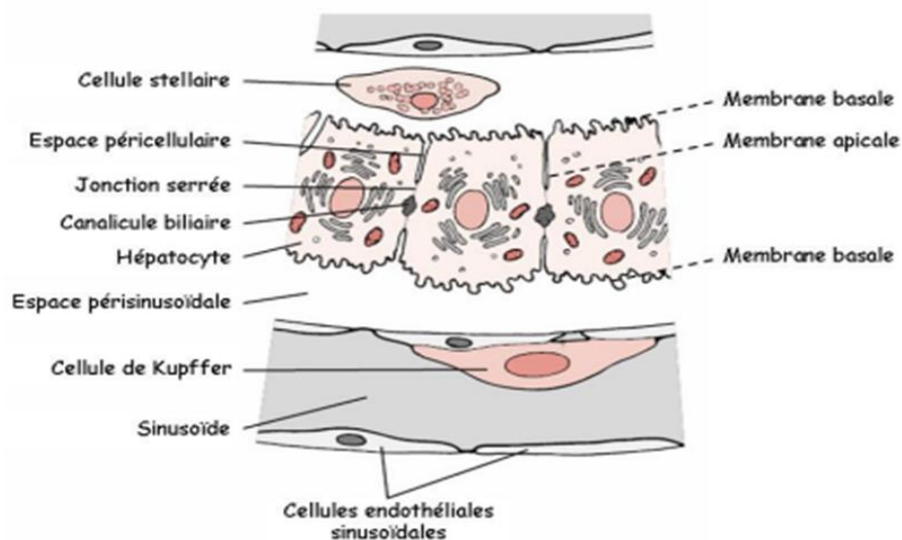


Figure 4 : Localisation des différents types cellulaires constituant le foie (**Tso et McGill, 2003**)

III.3. Hépatotoxicité et hépatoprotection

III.3.1. Rôle du foie dans la détoxification

Le foie est un organe très important. Il joue un rôle central dans la régulation de divers processus physiologiques de l'organisme. Il est impliqué dans plusieurs fonctions vitales, telles que le métabolisme, la sécrétion et le stockage. Il exerce une fonction centrale dans le métabolisme des nutriments tels que les glucides, les protéines et les lipides et l'excrétion des déchets. Il a une grande capacité de désintoxiquer les substances toxiques et de synthétiser des molécules utiles (**Shanmugasundaram et Venkataraman, 2006**). En outre, il gère le métabolisme et l'excrétion des médicaments et des substances toxiques du corps. Il assure la protection contre les substances étrangères en les éliminant (**Saleem et al., 2010**).

Les hépatocytes sont dotés d'un système de défense antioxydant très puissant constitué de Glutathion (GSH), acide ascorbique, vitamine E et des enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase, et le GPx pour se protéger contre le stress oxydatif, qui peut provoquer la destruction et la mort cellulaire (**Kaplowitz et Tsukamoto, 1996**).

Le foie est considéré comme la principale cible de la toxicité des xénobiotiques et des médicaments, car la plupart des produits chimiques et des médicaments ingérés par voie orale passent d'abord par le foie pour être métabolisés en intermédiaires. Un grand nombre de xénobiotiques sont signalés comme potentiellement hépatotoxiques (**Ajith et al., 2007**).

L'hépatocytes qui constituent la majorité de la structure du foie, sont très actifs dans le métabolisme des produits chimiques exogènes, ce qui est l'une des principales raisons pour lesquelles le foie est une cible pour les substances toxiques (**Timbrell, 2001**). Au cours de la détoxification des xénobiotiques, les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont générées et provoquent le stress oxydatif (**Kohen et Nyska, 2002**), ce qui conduit à un dommage du tissu hépatique.

III.3.2. Hépatotoxicité

L'hépatotoxicité est définie comme le pouvoir qu'a une substance de provoquer des dommages au foie. La toxicité au foie se manifeste sous forme d'inflammation (on parlera d'hépatite) ou encore de nécrose (mort des cellules du foie) dans les cas plus sévères. La stéatose hépatique survient lorsqu'il y a accumulation de gras dans le foie (**Therrien, 2009**).

Partie Expérimentale

Objectifs de l'étude

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire biochimie médicale ainsi qu'au niveau de laboratoire d'histopathologie de l'Ecole Nationale supérieure vétérinaire d'Alger. Elle a pour but l'étude des activités biologiques (antioxydants et hépatoprotectrice) ainsi que la toxicité aiguë d'une plante médicinale appartenant à la famille des Astéracées (*Artemisia Herba-alba*) connu sous le nom de Chih.

I. Matériels et méthodes

I.1. Matériels

I.1.1. Matériel végétal

Notre étude a été réalisée sur la partie aérienne (tiges et feuilles) d'*Artemisia Herba-alba*. La récolte de la plante a été effectuée dans la région d'Assekrem de la wilaya de Tamanrasset (Algérie), très reconnue par son climat qui est aride, durant le mois d'avril 2019.

I.1.2. Matériel animal

L'étude a été réalisée sur 12 souris males de souche NMRI pesant entre 19 et 25g obtenus de l'institut Pasteur d'Alger, Ses animaux ont été aléatoirement distribués en quatre groupes expérimentaux, puis sont placés dans des cages en plastique transparente. Après une période d'adaptation de dix jours. Les souris recevaient une alimentation à base de granules et de l'eau et soumis à des conditions expérimentales identiques de température 20 à 24°C avec un taux d'humidité de 50. / . , et une photopériode (12 heures). La litière utilisée est la sciure renouvelée deux fois par semaine pour assurer le bon état hygiénique des animaux.



Figure 5: Les souris males de souche NMRI

I.1.3. Produits et appareillages (Annexe 1)

I.2. Méthodes

I.2.1. Préparation de l'extrait aqueux

50 g de la poudre végétale a été mélangé avec 500 ml d'eau distillée, le mélange a été porté à l'ébullition pendant 30 minutes. Les extraits obtenus ont été filtrés par un papier filtre whatman N°1, puis évaporés dans une étuve à 40 °C pendant dix jours pour sécher. L'extrait sec est conservé au réfrigérateur à une température de (4°C) jusqu'à l'utilisation.



Figure 6 : Artemisia Herba-alba séchée

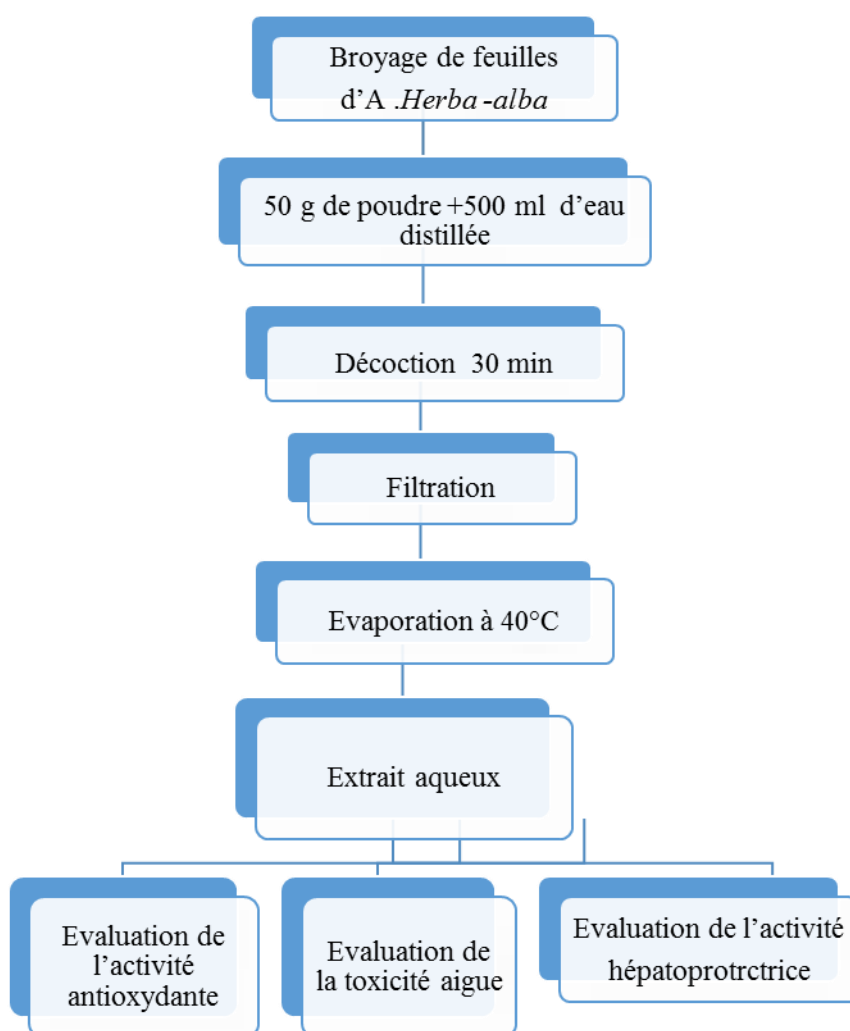


Figure 7: Préparation de l'extrait aqueux

I.2.2. Évaluation de l'activité anti-oxydante in vitro : Test au DPPH

Principe

DPPH, connu officiellement comme le 2,2-diphényl 1- picrylhydrazyl, est un radical libre stable qui est couramment utilisé pour évaluer la capacité des composés à agir comme piègeurs de radicaux libres ou des donneurs d'hydrogène et de mesurer l'activité antioxydante des extraits. La réaction du DPPH avec un antioxydant ou un composé réducteur peut être suivie par le changement de couleur de pourpre au jaune (absorbance à 515 –528nm) (Arulpriya et al., 2010).

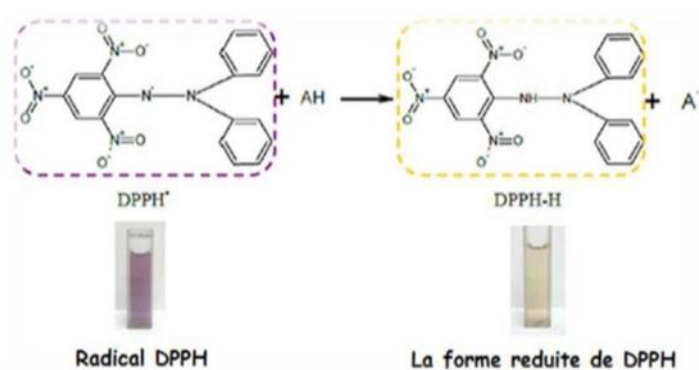


Figure 8 : Forme libre et réduite du DPPH (Molyneux, 2004)

- **Protocole opératoire**

Protocole du DPPH (Annexe 2)

Préparation du mélange DPPH + Extrait

On mélange dans une cuve 925 μ l de la solution de DPPH avec 75 μ l de différentes concentrations de l'extrait (0,8mg/ml, 0,6 mg/ml, 0,4 mg/ml, 0,2 mg /ml et 0,1mg/ml), le mélange est agité au vortex, Puis Laisser à l'abri de la lumière reposer 30 minutes à température ambiante.



Figure 9: Tubes à essai contenant un mélange de l'extrait et du DPPH

Matériel et méthodes

Mesurer l'absorbance à 517nm du blanc qui est dans ce cas un mélange de 925µl de méthanol avec 75 µl du solvant utilisé pour dissoudre nos échantillons.

Mesurer l'absorbance du DPPH à 517nm des échantillons après 30 minutes d'incubation, des témoins (l'acide ascorbique, BHA, BHT) et noter les absorbances.

Le BHT, BHA et l'acide ascorbique ont été utilisés comme antioxydants de référence pour la comparaison de l'activité avec les extraits utilisés.

- **Pourcentage d'inhibition (%inh)**

Abs : absorbance à la longueur d'onde de 517nm.

Abs contrôle : absorbance de la solution DPPH+ méthanol.

Abs test : absorbance de l'échantillon.

$$\% inh = (Abs\ contrôle - Abs\ test / Abs\ contrôle) \times 100$$

- **Calcul de la concentration inhibitrice De 50%(IC 50)**

L'IC50 ou concentration inhibitrice de 50 %, est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH.

Les IC50 sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des Graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées.

I.2.3. Évaluation de la toxicité aigüe d'*Artemisia Herba- Alba* chez les souris (test limite)

Principe :

Le test de toxicité aigüe de l'extrait a été réalisé selon la méthode décrite par (OCDE) (Ejebe et al., 2010). Le test consiste à administrer les doses expérimentales aux animaux et observer pour toute manifestation de toxicité, augmentation dans l'activité, salivation, convulsion coma et mort. Ces observations sont faites régulièrement jusqu'à 24 heures (Paschapur et al., 2009).

Protocole

L'extrait (2g) a été dissout dans l'eau distillée (0,5ml) puis administrés par gavage en une seule dose de 2g/kg à l'aide d'une sonde gastrique à 3 souris. Les souris ont été mises en observation pendant 24 heures après le traitement et pendant 14 jours afin de déceler tout signe de toxicité et de mortalité.

Le poids des souris est déterminé avant l'administration et chaque 3 jour pendant la période d'observation.



Figure 10: Administration par gavage de l'extrait d'*A. Herba -alba* aux souris

I.2.3.1. Prélèvement d'organe pour coupe histologique

Les souris ont été sacrifiées et autopsiées dont le but d'examiner les organes internes : le foie, les reins, la rate, testicule. Ces organes qui sont entièrement prélevés, lavés avec de l'eau physiologique puis conservés dans du formol à 10% dans des flacons fermés et étiquetés selon les lots en vue d'un examen histopathologie.

I.2.3.2.Étude histologique

Les coupes histologiques ont été réalisées au niveau du service d'histopathologie qui comporte les étapes suivantes :

Après prélèvement et découpage des organes (le foie, les reins, la rate et testicule), ils sont déposés dans des cassettes en plastique marquées. Une fois isolées sont immergés dans une solution de formol (10%) Pour une fixation, puis lavés, Les échantillons sont déshydratés par passage dans des bains d'Alcool éthylique, puis clarifiées dans le toluène. En suite viens l'étape d'inclusion, Le milieu d'inclusion le plus utilisé est la paraffine. Les cassettes sont alors plongées dans un bain de paraffine liquide, puis incubées dans des blocs de paraffine. Les coupes minces (5 μ m en moyenne) sont obtenues grâce à un microtome, puis étalées sur des lames porte-objet, déplissées et fixés par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée, puis Placées dans l'étuve afin de les sécher. La coloration des lames a été faite par un système hématoxyline/éosine. Enfin, les coupes sont observées au microscope optique (Gx10 puis Gx40). Pour plus de détails voir (**Annexe 3**).

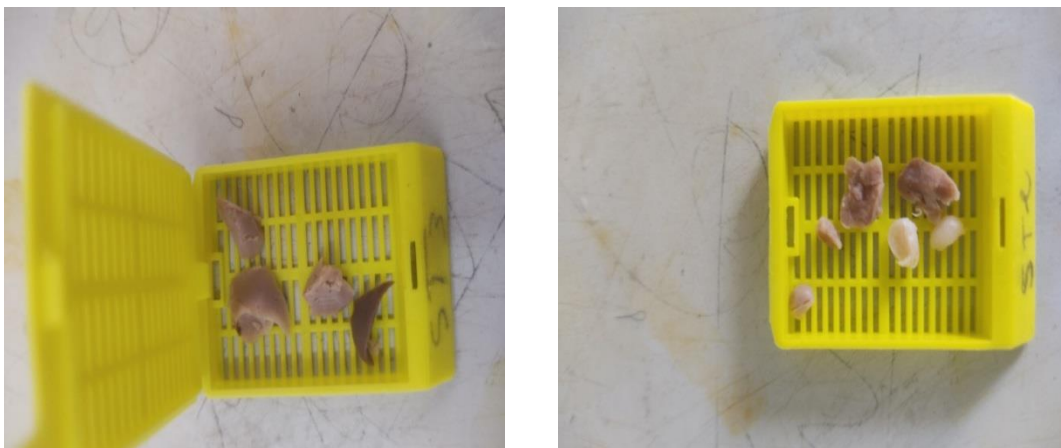


Figure 11 : Découpages des organes et dépôt dans des cassettes en plastique



Figure 12 : Confection des blocs



Figure 13 : Réalisation des coupes au microtome



Figure 14 : Coloration des coupes

I.2.4. Évaluation de l'activité hépato protectrice

I.2.4.1. Induction d'hépatotoxicité chez les souris

Principe

C'est l'action curative des extraits de plantes comportant plusieurs administrations après une intoxication par alloxane.

Les souris reçoivent quotidiennement l'extrait par gavage pendant 14 jours, pour but d'évaluer son action vis-à-vis d'une hépatopathie provoquée par intoxication par alloxane.

Protocole expérimental

- Premier jour : Les souris ont été injecté par l'alloxane à 150mg /kg, préparée juste avant l'injection dans l'eau physiologiques, après 72 heures, les souris ont une glycémie supérieure ou égale à 130 mg/dl.
- Deuxième jour : les souris ont été traitées par une injection de l'extrait d'*A. Herba -alba* à la dose 400mg /kg quotidiennement pendant 14 jours.

➤ Alloxane

L'alloxane est le produit chimique le plus couramment utilisé pour l'induction du diabète expérimentale. Largement utilisé pour induire un diabète de type 1 chez les animaux tels que : Les lapins, les rats, les souris et les chiens (**Etuk, 2010**).

L'alloxane est une pyrimidine oxygénée, son nom scientifique est le 2, 4, 5,6 tétraoxypyrimidine. Cette molécule est préparée par oxydation de l'acide urique sous l'action de l'acide nitrique (**Szkudelski, 2001**). Le diabète induit par l'alloxane est connu sous le nom de (Diabète alloxanique).

L'alloxane inhibe la sécrétion de l'insuline glucose-dépendante, augmente la perméabilité des membranes des cellules β (**Watkins et al., 1964**).

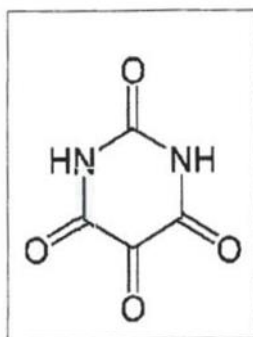


Figure 15 : Structure chimique de l'alloxane (Ienzen et Pantani, 1988)

I.2.4.2. Répartition et traitement des animaux

Nous avons constitué 4 lots de 3 souris par lots :

- **Lot témoin** : reçoit de l'eau distillée.
- **Lot alloxane** : ces souris reçoivent l'alloxane en une seule dose de 150mg/kg.
- **Lot de référence** : ces souris reçoivent l'alloxane à la dose de 150mg/kg, puis le lendemain administration quotidienne d'extrait aqueux *A. Herba-alba* à une dose de 400mg/kg pendant 14 jours.

Les souris ont été mises en observation pendant 14 jours.

Le poids des souris est déterminé chaque 3 jour pendant la période d'observation.

I.2.4.3. Prélèvement du foie pour coupe histologique

Tous les souris sont sacrifiées le quatrième jour, le foie a été prélevé, lavés avec de l'eau physiologique puis conservés dans du formol à 10% dans des flacons fermés et étiquetés selon les lots en vue d'un examen histopathologie.



Figure 16: prélèvement du foie

I.2.4.4. Étude histologique : Réalisée de la même manière que celle de la partie toxicité aiguë.

Résultats et discussions

II. Résultats et discussions

II.1. Evaluation de l'activité antioxydante : (test de piégeage du radical libre DPPH)

II.1.1. Résultats

L'activité anti-radicalaire d'*A. Herba-alba* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par Spectrophotométrie en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm et en comparaison avec le BHT, BHA, Acide ascorbique pris comme des antioxydants de référence.

Les résultats sont répertoriés ci-dessous :

Les résultats obtenus en pourcentage d'inhibition du radical DPPH sont exprimés en fonction de différentes concentrations des composés testés.

- Extrait aqueux

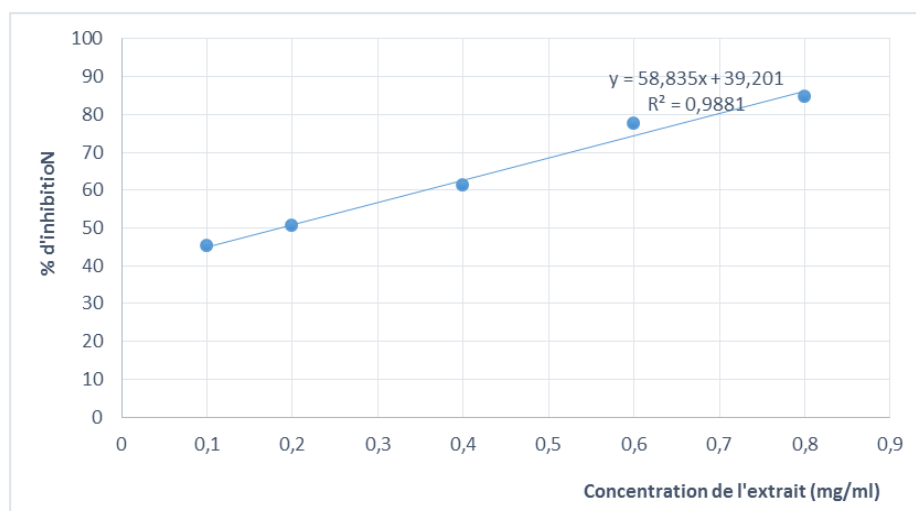


Figure 17 : Courbe d'étalonnage du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux

- BHT :

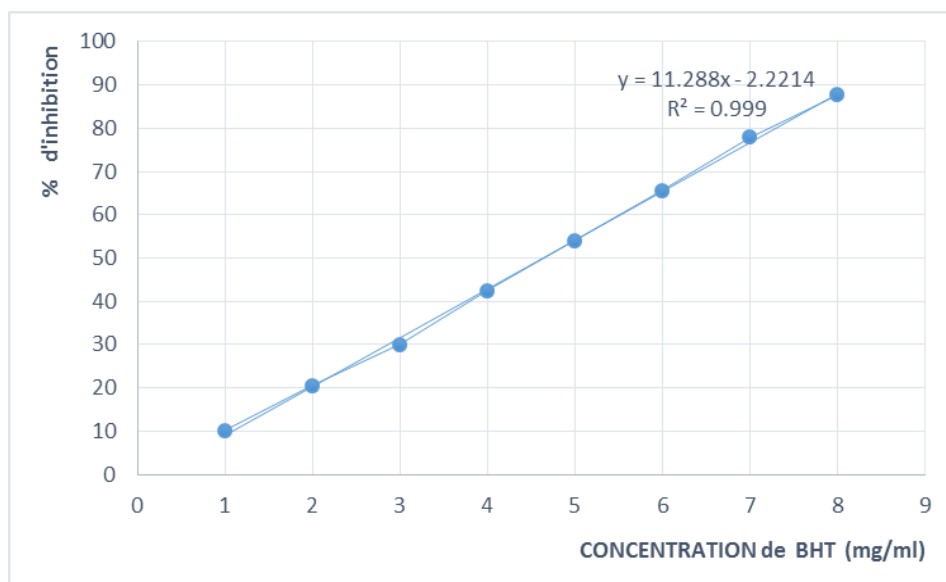


Figure 18 : Courbe d'étalonnage du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de la BHT

- BHA :

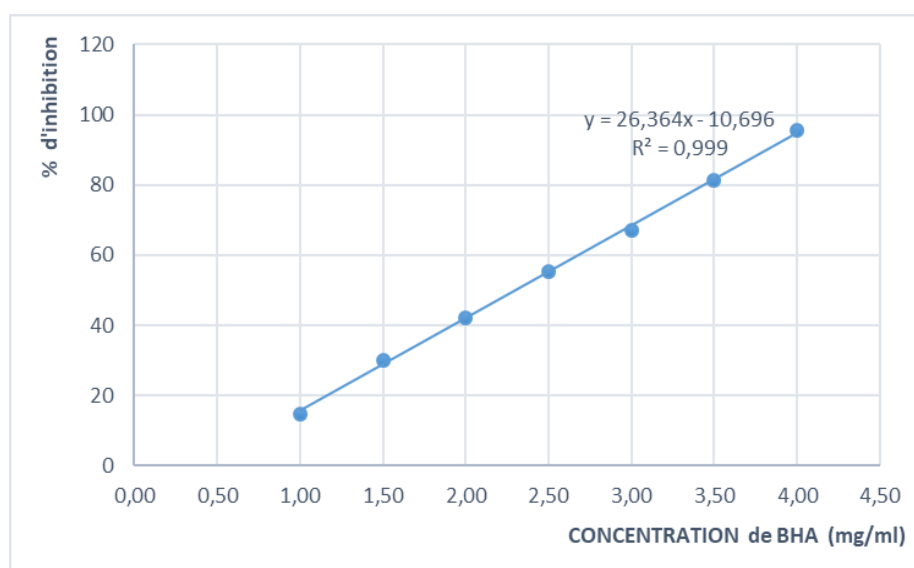


Figure 19 : Courbe d'étalonnage du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de la BHA.

- Acide ascorbique

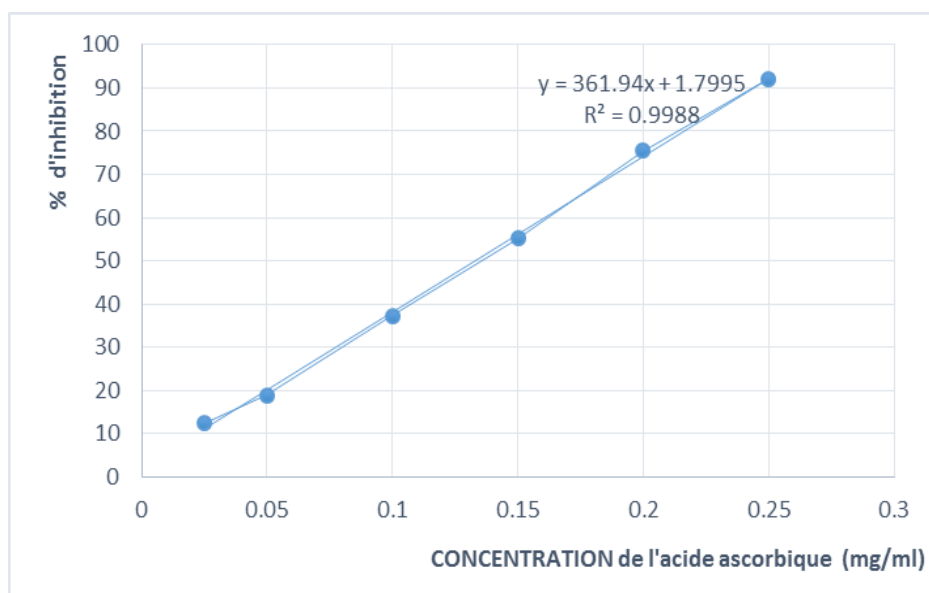


Figure 20 : Courbe d'étalonnage du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.

Les figures représentent l'activité anti-radicalaire, vis à-vis du radical DPPH, de l'extrait aqueux d'A. *Herba-alba* et des antioxydants standards (BHA, BHT et l'acide ascorbique) à différentes concentrations.

Le pouvoir de piégeage du radical libre DPPH par l'A. *Herba -alba* est généralement présentée par la valeur IC₅₀.

Nous avons calculé graphiquement les valeurs des inhibitrices 50 (IC₅₀) en utilisant la courbe linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'A. *Herba- alba* et des standards (BHT, BHA, acide ascorbique).

Evaluation de l'IC₅₀ :

La concentration d'IC 50 : C'est la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radicale DPPH. Plus la valeur d'IC₅₀ est basse plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (**Hebi et Eddouks., 2016**).

Les valeurs de l'activité anti-radicalaire de l'extrait aqueux et de standard sont représentées dans le **tableau I**.

Tableau I : Valeurs de l'IC50 de l'extrait aqueux, acide ascorbique, BHA et BHT par le test DPPH.

Etalon /extrait aqueux	IC 50 (mg/ml)
Extrait aqueux	0,183 mg/ml
BHA	2.30 mg/ml
BHT	4,63 mg/ml
Acide ascorbique	0,133 mg/ml

II.1.2 Discussion

On sait que plus les valeurs de d'IC50 sont faibles plus l'efficacité est grande, elle se classe donc dans l'ordre décroissant suivant :

Acide ascorbique > Extrait aqueux > BHA>BHT.

En analysant ces résultats, on déduit que l'activité anti-radicalaire est dépendante de la concentration de l'extrait, plus la concentration est élevée plus le pourcentage d'inhibition augmente. Il semble que la vitamine C (l'acide ascorbique) est l'antioxydant le plus efficace, avec une valeur de 0,133 (mg/ml) suivi par l'extrait d'*A. Herba -alba* avec une valeur 0,183 (mg /ml), suivi par BHA avec une valeur 2,30 (mg/ml) finalement BHT semble être l'antioxydant le moins performant avec une IC50 de 4,63 (mg/ml). Notre extrait est beaucoup plus actif. Ce résultat nous encourage encore à donner plus d'importance aux substances naturelles dans le domaine des additifs, des traitements divers de stabilité et de la lutte biologique.

Il convient de noter que la valeur de la IC50 dépend de plusieurs paramètres : le rapport entre la quantité de l'extrait et la quantité de solution de DPPH utilisée dans le mélange, la concentration de la solution du DPPH et le temps d'incubation (**Akrout et al., 2010**).

Le dosage de DPPH a été largement utilisé comme un paramètre rapide, fiable et reproductible pour rechercher l'activité antioxydante, in vitro, des composés purs, ainsi que des extraits de plantes (**Ara et Nur, 2009**).

Par ailleurs, l'activité antioxydante dépend non seulement de la concentration, mais également de la structure et de la nature des antioxydants (**Falleh et al., 2008**).

Résultats et discussions

De nombreuses plantes médicinales contiennent de grandes quantités de composés antioxydants, qui pourraient être isolés puis utilisés comme antioxydants pour la prévention et le traitement des troubles liés aux radicaux libres (**Abou El-Hamd et al., 2010**).

Ces plantes médicinales ont montré une forte activité antioxydante et une teneur en composés phénoliques plus importante que les plantes alimentaires courantes. Il a été également noté dans cette étude que ces plantes algériennes sont de forts piègeurs de radicaux et peuvent être considérés comme une bonne source d'antioxydants naturels à des fins médicinales et commerciale (**Djeridane et al., 2006**).

II.2. Evaluation de la toxicité aiguë

II.2.1. Résultats

Ce travail a pour but d'évaluer les effets toxiques de l'extrait d'*A. Herba -alba* sur des souris. L'administration par voie orale d'une dose unique de 2 g/kg de l'extrait aux souris n'a pas changé le comportement des animaux et il n'y a pas eu de coma ou mort au cours de 14 jours d'observation. Cependant, on suggère que les extraits testés n'ont aucune toxicité aiguë une fois administré oralement.

II. 2.1.1. Variation du poids corporel

Tableau II : Evaluation du poids corporel (g) chaque trois jour pendant 14 jours chez les souris témoins et souris à toxicité aiguë.

Lots	Jour 3	Jour 6	Jour 9	Jour 12	Jour 14
Souris témoin	21,31	20,3	20,72	20,35	20,3
Souris à toxicité aiguë	18,15	17,75	17,05	20,63	19,6

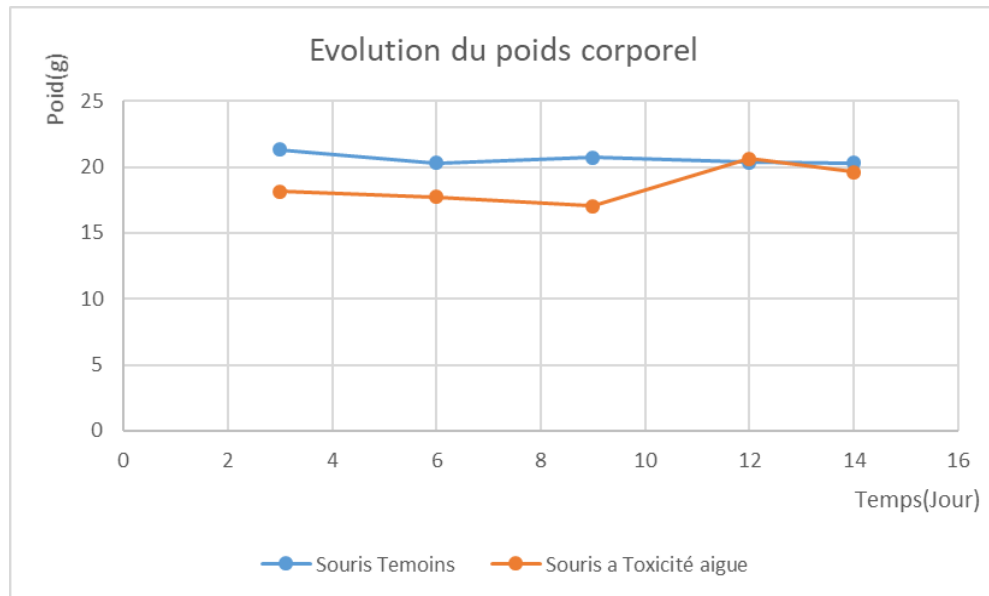


Figure 21 : Variation du poids corporel des souris chez le lot traité à l'extrait aqueux et comparés avec le lot témoin.

L'évaluation du poids corporel a été effectuée pendant 12 jours qui ont suivi l'administration de l'extrait aqueux d'*A. Herba-alba* comparée aux groupes témoins vivants dans les mêmes conditions expérimentales, les résultats obtenus dans le graphe montrent que le poids corporel des souris recevant une dose de 2 g /Kg une perte de poids légère pendant les 9 premiers jours avant de reprendre une croissance normale pendant le reste de la période d'expérimentation.

II.2.1.2. Étude histologique

Des coupes histologiques ont été réalisées au niveau de tissus du foie, Rein, testicule, rat, pour avoir l'effet des substances actives de l'espèce *A. Herba-alba*.

Le foie :

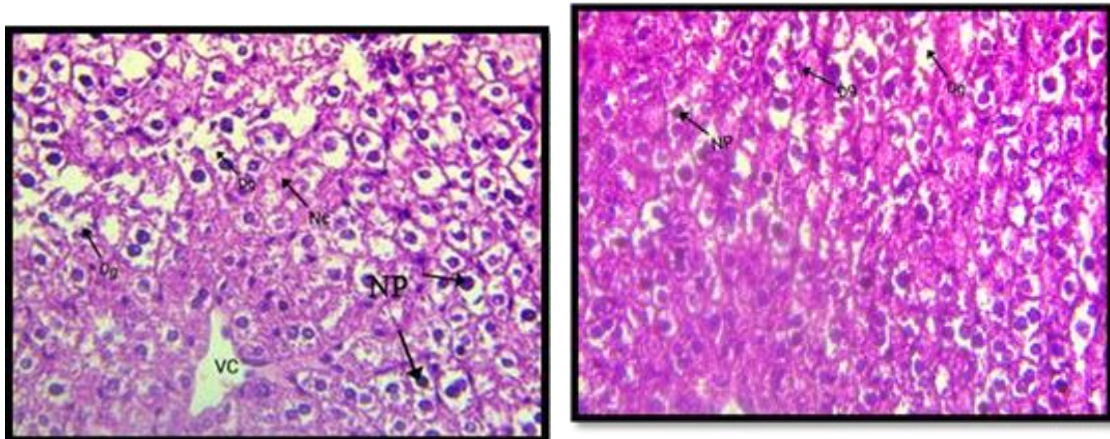


Figure 22 : coupes histologiques du foie des souris traitées par l'A. herba -alba.

NC : Nécrose ; **Dg** : Dégénérescence ; **NP** : Noyau pycnotique ; **VC** : Veine centro-lobulaire.

Les résultats observés dans les groupes traités par l'A. *Herba-alba* à la dose de 2 g / Kg, montre des dégénérescences des hépatocytes avec des noyaux pycnotiques, des nécroses isolées et des hépatocytes atrophies avec une histo-architecture désorganisées.

Testicule :

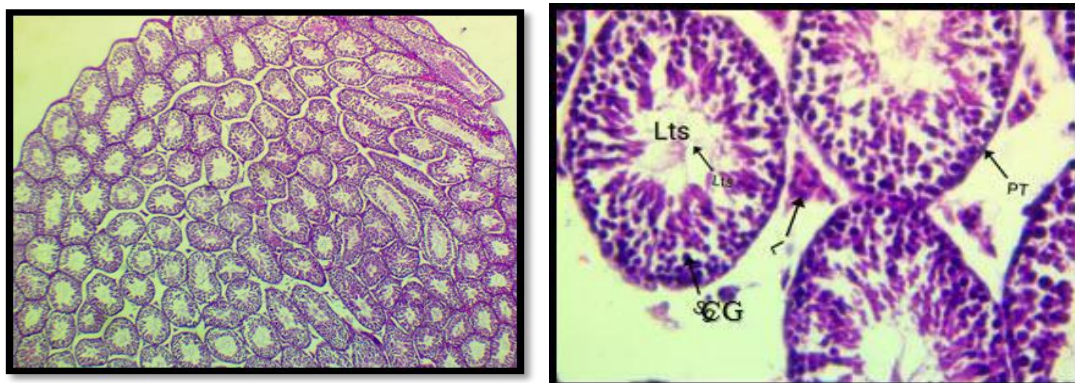


Figure 23 : Des coupes histologiques des testicules des souris traitées par l'A. *herba-alba*.

Lts : Lumière des tubes séminifères ; **L** : Cellules de Leydig ; **CG** : Cellules germinales ;

PT : Paroi de tube séminifère.

Les résultats observés dans les groupes traités par l'A. *Herba-alba* a dose de 2 g / Kg, on décrit ce qui suit : Ne présentent aucune particularité, des tubes séminifères à contours réguliers avec architecture normale et pleine et présentent des spermatozoïdes vivants actifs.

Rate :

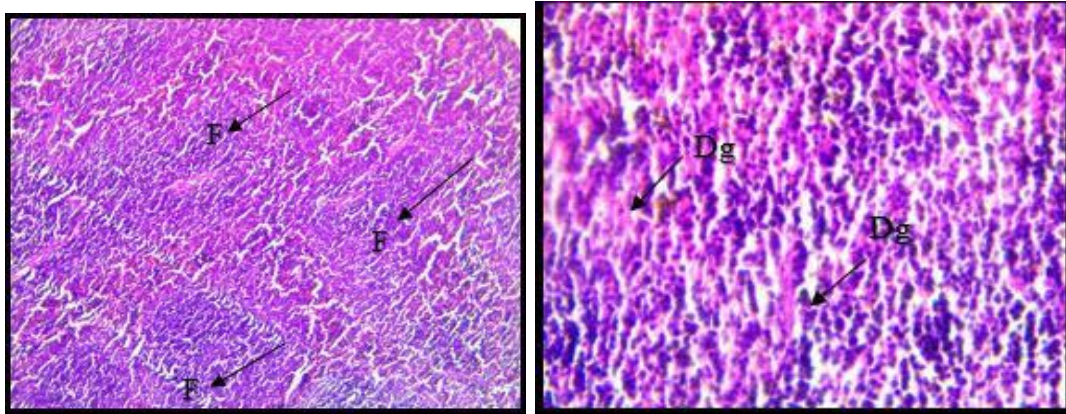


Figure 24 : Des coupes histologiques de la rate des souris traitées par l'*A. herba-alba*.

Dg : Dégénérescence ; **F** : Follicule.

Les résultats observés dans les groupes traités par l'*A. Herba -alba* a dose de 2 g / Kg, on décrit Rate réactionnelle avec présence de nombreux follicules primaires et secondaires, avec des foyers de dégénérescence.

Rein :

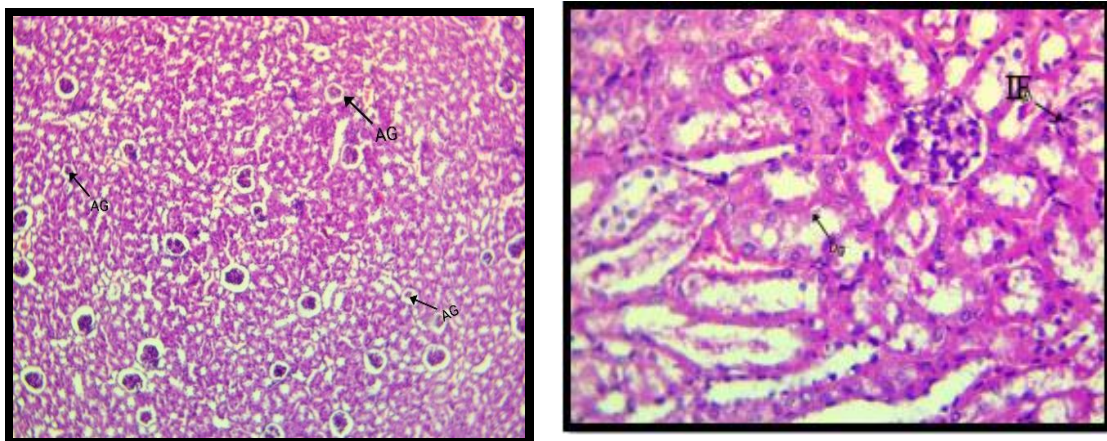


Figure 25 : Des coupes histologiques du rein de souris traitées par l'*A. herba-alba*.

AG : Atrophie glomérulaire ; **Dg** : dégénérescence ; **IF** : Infiltration.

En ce qui concerne les résultats observés dans les groupes traités par l'*A. Herba -alba* a dose de 2 g / Kg, on décrit ce qui suit : L'histologie des tissus rénaux l'en a noté une légère atrophie, dégénérescences diffuse et des nécroses des tubes contournés et des atteintes et des atrophies glomérulaires ainsi des infiltrations importantes des mononucléaires.

II.2.2. Discussion

L'évaluation de la toxicité aiguë consiste à mesurer et enregistrer les différents effets adverses qui sont apparus après l'administration de l'extrait aqueux d'*A. Herba-alba*.

L'évolution du poids corporel des souris est présentée dans la **figure 21**. Les souris n'ont pas montré des symptômes de toxicité (coma, mort), en comparaison avec les souris témoins.

Les doses orales testées par l'*A. Herba-alba* dans l'étude de la toxicité aiguë chez les souris peuvent être considérées comme des doses non toxiques puisqu'elles n'ont pas altérées le comportement général des animaux ainsi qu'elles n'ont pas entraîné des perturbations.

II. 3. Evaluation de l'activité hépatoprotectrice

II.3.1. Résultats

II. 3.1.1 Variation du poids corporel

Les résultats obtenus par cette étude sur l'évolution du poids corporel sont répertoriés sur le tableau suivant :

Tableau III : Variation du poids corporel chez les souris témoins et les souris traitées par l'extrait aqueux après chaque 3 jours de traitement.

Lots	Jour 3	Jour 6	Jour 9	Jour 12	Jour 14
Souris témoins	21,30	20,29	20,71	20,35	20,3
Souris traité par Alloxane	17,77	17,75	17,13	16,25	13,4
Souris traité par Alloxane + l'extrait aqueux	16,6	16,8	15,67	15,8	16,45

Résultats et discussions

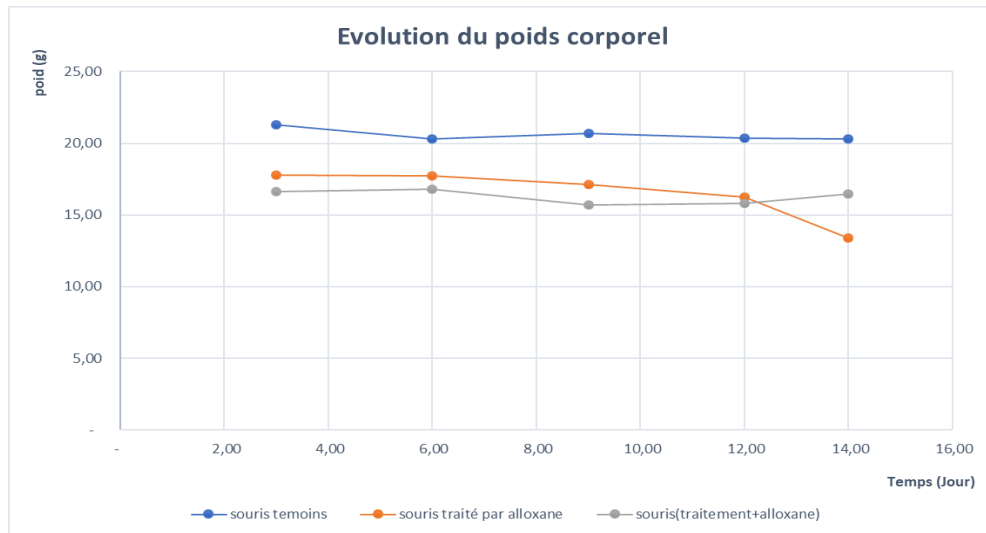


Figure 26 : Variation du poids corporel des souris chez le lot témoin et les lots traités à l'extrait aqueux pendant 3 jours de traitement

Le poids représente un élément important, paramètres qui nous renseigne l'effet de l'extrait aqueux et de l'alloxane.

Pour le lot témoin le poids est relativement stable.

Pour le lot traité par l'alloxane on a enregistré une diminution du poids corporel avec une chute remarquable au 6^{eme} jour jusqu'au 14^{eme} jour.

Par contre, pour le lot traité par alloxane 150 mg/kg et l'extrait d'A. *Herba-alba* (400mg/kg) on a enregistré une chute légère du poids le 6^{eme} jour jusqu'au 9^{eme} jour puis une augmentation de poids corporel à partir du 9^{eme} jour.

L'injection de l'alloxane induit un diabète caractérisé par une perte du poids corporel.

II.3.1.2. Etude histologique

Des coupes histologiques ont été réalisées au niveau de tissus du foie, pour avoir l'effet des substances actives de l'espèce *A. Herba-alba* contre une hepatotoxicité induite par l'alloxane (150mg/kg).

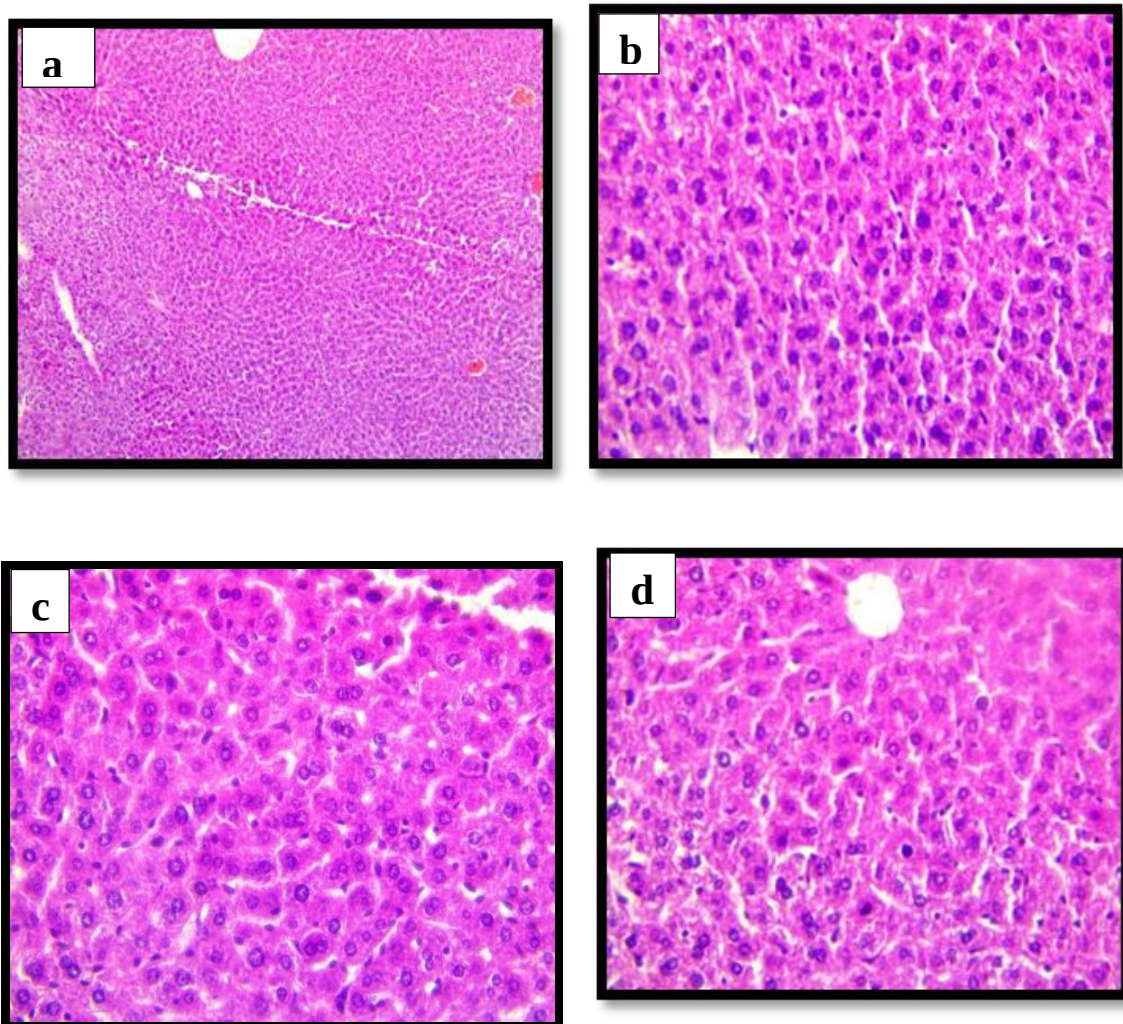


Figure 27 : Coupe histologique de foie des souris témoins dans lesquels on ne remarque aucune lésion.

a) faible grossissement x10 ; **b)** grossissement x40 ; **c)** grossissement x40 ;
d) grossissement X40

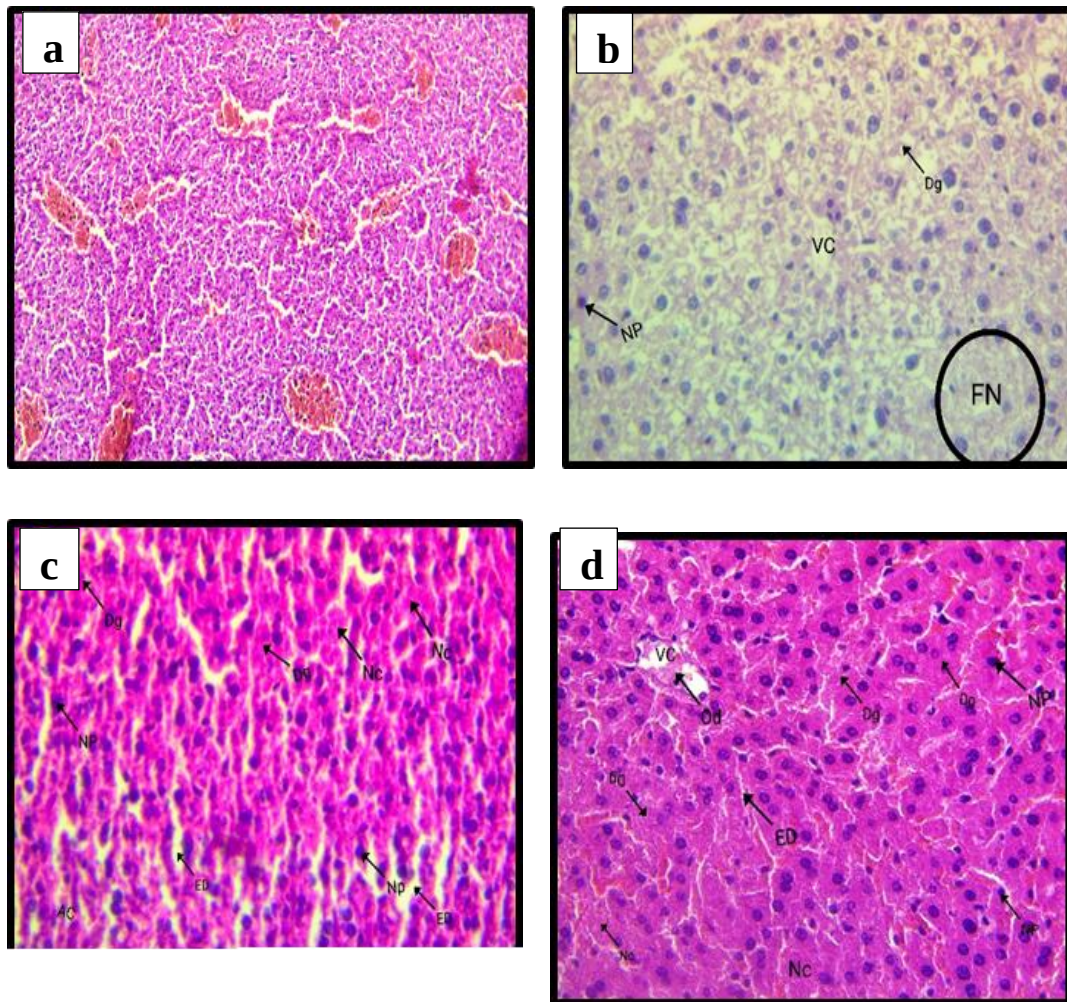


Figure 28 : coupe histologique du foie des souris intoxiquées par alloxane (150 mg/kg) :

a) Faible grossissement ; **b)** grossissement X40 ; **c)** Grossissement X40 ;

d) Gr X40 ; **In** : Infiltration ; **Nc** : nécrose ; **FN** : foyer de nécrose ;

Dg : Dégénérescence ; **ED** : Espace de disse ; **NP** : Noyau pycnotique ; **VC** : veine centro-lobulaire ; **Od** : Œdème

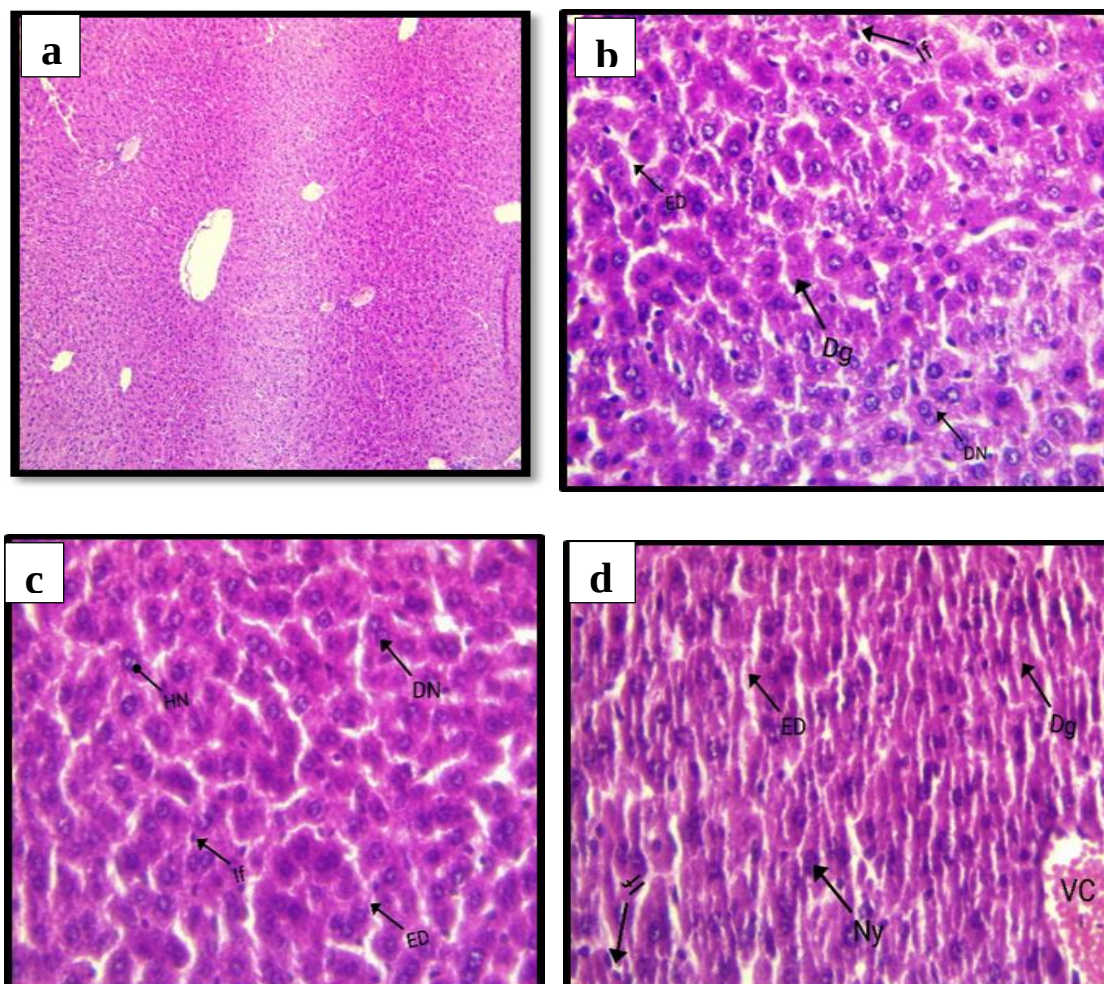


Figure 29 : coupes histologiques du foie des souris intoxiquées par l'alloxane (150mg/kg) accompagnées de traitement par l'extrait d'*A. Herba-alba* :

a) faible grossissement x10 ; **b)** grossissement x40 ; **c)** grossissement x40 ;
d) grossissement X40 ; **In** : infiltration ; **Dg** : Dégénérescence ; **ED** : Espace de disse ;
Ny: Noyau ; **VC** : Veine Centro lobulaire).

II.3.2. Discussion

Dans l'étude actuelle, les souris traitées par alloxane ont présenté un gain de poids corporel inférieurs à ceux des témoins, alors que l'association d'alloxane à l'extrait aqueux permet d'améliorer le gain de poids corporel. Ce qui est cohérent avec étude publiée précédemment par (Fatmi et al., 2018).

Les altérations histologiques observées au niveau des hépatocytes sont caractérisées par l'apparition des nécroses, des sinusoides dilatées, des hépatocytes dégénérer et un infiltrat cellulaire inflammatoire péri-portal. Ces dommages pourraient être dus probablement à la génération de radicaux réactifs et à la peroxydation lipidique subséquente induite par l'alloxane. Tandis que la morphologie générale des lésions hépatocytaires des souris alloxanique avec l'extrait d'*A. Herba- alba* était bien améliorée et semblait d'apparence tout à fait normale par rapport à celle des souris alloxanique non traité.

Des altérations histologiques similaires ont été observées par l'étude de (Sekio et al., 2018) a montré que l'administration de l'extrait aqueux d'*A. Herba-alba* a empêché les lésions hépatocytaires induites par l'alloxane et a présenté une protection significative du tissu hépatique. L'activité hépatoprotectrice de l'*A. Herba-alba* contre l'hépatotoxicité induite par l'alloxane chez les souris est principalement due à ses propriétés antioxydantes.

Les lésions du foie induites par différents agents hépatotoxiques sont reconnues comme un problème majeur toxicologique qui conduit à la mort. Les médicaments classiques qui stimulent la fonction hépatique et offrent une protection du foie sont rares et sont hépatotoxiques à une certaine dose. Le traitement naturel basé sur l'utilisation des plantes médicinales est considéré comme étant efficace et sans effets indésirables (Arem et al., 2014).

La présente étude a pour but d'évaluer l'activité hépatoprotectrice d'extraits aqueux d'*A. Herba- Alba*, une plante médicinale largement utilisée dans tout le nord d'Afrique pour soulager les douleurs abdominales.

Ces résultats indiqués que l'administration orale de l'extrait d'*A. Herba -alba* à une dose 400 mg/kg pendant 14 jours offre une protection et maintiennent l'intégrité fonctionnelle des cellules hépatiques chez les souris traitées à l'alloxane.

L'administration de l'extrait *A. Herba -alba* entraîne une réduction de la mortalité dans les lots subissant l'intoxication à l'alloxane.

Résultats et discussions

Les troubles hépatiques sont un problème commun dans le monde, en particulier dans les pays en développement. Cependant, il n'existe pas de médicaments efficaces capables de réguler et de restaurer l'intégrité fonctionnelle du foie. Ces dernières années, les scientifiques ont mené une recherche marquée sur la médecine traditionnelle dans le but de développer de nouveaux médicaments et leurs formulations pour préserver les mécanismes physiologiques hépatiques normaux. Les composés qui peuvent soit diminuer les dommages nécrotiques aux hépatocytes via des mécanismes de défense améliorés contre une agression toxique, soit améliorer la réparation des dommages hépatocytes sont considérés comme potentiellement utiles dans le traitement des troubles hépatiques humains (**Perrissoud et Testa, 1982**).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspective

À la lumière de nos résultats, les plantes aromatiques et médicinales sont d'une grande importance, surtout avec les vertus thérapeutiques et les activités biologiques que présentent et qui sont connues depuis l'antiquité, ces dernières continuent à faire l'objet de plusieurs recherches scientifiques à travers le monde.

Ce travail visait l'évaluation de l'activité antioxydant in vitro, et hépato protectrice in Vivo des extraits d'*Artemisia Herba- alba* dans un but essentiel de valoriser leur potentiel thérapeutique.

Après l'extraction, nous avons évalués la toxicité aiguë d'*A. Herba-alba*, par l'administration orale a la dose 2 mg/Kg, qui n'a montré aucun signe de toxicité, ni sur le comportement des souris.

En ce qui concerne l'activité antioxydante, elle a été évaluée par la méthode de réduction de radical libre DPPH. Les résultats ont montré que l'extrait aqueux avec une Valeur IC₅₀ de 0,183 mg/ml a un pouvoir plus important que celui des standards BHA (2,30 mg/ml) et BHT (4,63mg/ml) et presque similaire à celui de l'antioxydant standard acide ascorbique (0,133 mg/ml).

À notre époque, il est apparu plusieurs pathologies à cause de l'évolution dans tous les domaines, qui touchent tous les organes du corps humain telle que le foie, qu'il joue un rôle crucial dans le métabolisme des différentes substances telle que les médicaments, ce dernier peuvent être une cause importante de lésions hépatiques.

Dans ce travail, on a étudié l'effet hepatoprotecteur d'*A. Herba- alba*. D'après les résultats de notre recherche on a trouvé que l'administration de l'alloxane à une dose unique 150mg/kg chez les souris Provoque une hepatotoxicité, et on a remarqué une diminution des lésions dans le parenchyme hépatique. Donc l'*A. Herba- alba* protège le foie à faible dose contre l'hépatotoxicité induite par l'alloxane

Pour cela, quelques perspectives peuvent être envisagées :

Tester d'autres activités biologiques telles que l'activité antibactérienne, anti inflammatoire et antidiabétique.

Développer des médicaments anti radicalaire à base de plantes, doués d'une activité antioxydante.

Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pouvant répondre aux différents problèmes de la santé et être une alternative aux médicaments synthétiques.

Doser les paramètres biochimiques des organes.

Références Bibliographique

Références Bibliographique

Abou El-Hamd, H.M., Magdi, A.E., Mohamed, E.H., Soleiman ,E.H., Abeer, M.E., Naglaa, S.M.(2010).Chemical Constituents and Biological Activities of Artemisia herb alba. Academy of Chemistry of Globe Publications. (4:1): 1-25.

Abu-Darwish, M.S., Cabral, C ., Gonçalves, M.J ., Cavaleiro, C ., Cruz, M.T ., Efferth ,T ., Salgueiro, L.(2015). Huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* de Buseirah (South Jordan) : Caractérisation chimique et évaluation des doses antifongiques et anti inflammatoires Ethnopharmacologie ; 174 : 153-60.

Ajith, T.A., Hema, U., Aswathy, M.S. (2007). Zingiber officinale Roscoe prevents acetaminopheninduced acute hepatotoxicity by enhancing hepatic antioxidant status. Food. Chem.Toxicology. 45: 2267-2272.

Akrout, A., el-janil, H., Amouri, S., Neffati, M. (2010).Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of Artemisia campestris L., Artemisia herba alba Asso, & thymus capitatus Hoff. And Link growing wild in the southern of Tunisia. Rec Res Sci Tech., 2: 29-39.

Ara, N., Nur, H. (2009).In vitro antioxidant activity of methanolic leaves and flowers extracts of Lippia Alba. Research Journal of Medical Sciences, vol. 4, pp. 107-110.

Arem, A.E.I, Ghrairi, F., Lahouar, L., Thouri ,A., Saafi, E.B., Ayed, A., Zekri, M., Ferjani, H., Haouas, Z., Zakhama, A., Achour, L.(2014).Hepatoprotective activity of date fruit extracts against dichloroaceticacid-induced liver damage in rats. J Funct Foods, 9, 119 - 130.

Arulpriya, P., Lalith, P., and Hemalatha, S. (2010). In vitro antioxidant testing of the extract of Samaneasaman (Jacq.)Merr.Der ChemicaSinica. 1(2): 73-79.

Avissar, N.,Whitin, J.C., and Allen, P.Z. (1989).Plasma selenium-dependent glutathione peroxidase.J. Biol. Chem.2:15850-15855.

Baba Aissa, F. (2000).Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb.Substancesvégétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Edition librairie moderne. Rouïba(Algérie). Mémoire de fin d'étude, université -M'sila,

Références Bibliographique

Balasundram, N., Sundram, K., and Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99: 191–203.

Bendjilali, B., Richard, H., Liddle, P. (1984). chémotypes d'armoise blanche du Maroc, Congrès international de la société italienne de phyto-chimie, 131-151.

Bezza, L., Mannarino, A., Fattarsi, K., Mikail, C., Abou, L., Hadji-Minaglou, F., Kaloustian. (2010). composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia Herba-alba* provenant de la Région de Biskra (Algérie). *phytothérapie*, 8 :277-281.

Boizot, N., et Charpentier, J. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en Composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le cahier des techniques de L'Inra*, 79-82.

Boudjelal, A. (2013). Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajugaiva*, *Artemisia herba Alba* et *Marrubiumvulgare*) de la région de M'Sila, Algérie. Mémoire de fin d'étude. Université Mostaganem. 18p.

Braeuning, A., Itrich, C., Köhle, C., Hailfringer, S., Bonin, M., Buchmann, A., and Schwarz, M. (2006). Differential gene expression in periportal and perivenous mouse hepatocytes. *FEBSJ*. 273, 5051-5061.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Tec & Doc, Paris. 494p.

Carocho, M., & Ferreira, I. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related Controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives, 1-39.

Couvelard, A., Scoazec, J.y., Feldmann, G. (1993). Expression of cell-cell and cell-matrix adhesion proteins by sinusoidal endothelial cells in the normal and cirrhotic human liver. *Am.J.Pathol*, 143, 738-52.

Crispe, I. N. (2003). Hepatic t cells and liver tolerance. *Nat Rev Immunol* 3: 76, 123.

Dacosta, Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317 p.

Delattre, J., Beaudoux, J.L., Bonnefont, R.D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. p. 87-108.

Références Bibliographique

Demidchik, V. (2015). Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology, Elsevier b.v, environmental and experimental botany, vol109: 212.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chem, 97: 654-660.

Dooley, J.S., Lok , A.S.F., Burroughs, A.K., Heathcote, E.J.(2011). Sherlock's diseases of the liver and biliary system, 12ème édition, Blackwell science, John Wiley & Sons, Ltd, Milan, Italy. Pp 1-254.

Duke, J. (1992). Handbook of phytochemical constituents of gras herbs and other economic plants Boca. Raton, FL. CRC Press.676p.

Ejebe, D.E., Siminialayi, I.M.,Emudainowho, J.O.T., Ofesi, U., Morka,L. (2010). Analgesic and anti-inflammatory activities of the ethanol extract of the leaves of Helianthus Annus in Wistar rats. Asian Pac J Trop; 3(5): 341-347.

Ekataksin, W., Kaneda, K. (1999). Liver microvascular architecture: an insight into the Pathophysiology of portal hypertension. SeminLiver Dis, 19, 359 – 382.

Eloukili, M. (2013). Valeur nutritive de l'armoise blanche (*Artemisia herba alba*) comparée à l'unité fourragère de l'orge, Mémoire de fin d'étude, université-M'sila, 21.

Etuk, E.U. (2010). Animals models for studying diabetes mellitus. *AgricBio/J.N.Amr*,1(2):130-134.

Evans, J.L., Goldfine, I .D., Maddux, B .A., Grodsky ,G.M. (2002). Oxidative stress and stress- activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes, Endocr. Rev., 23, 599-622.

Faivre, J. (2015). Les cancers du foie, fondation arc pour la recherche sur le cancer - centr'imprim, conception éditoriale & création graphique, ELSEVIER Masson.

Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdely, C. (2008). Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. organs, and their biological activities. Comptes Rendus Biologies, 331: 372- 379.

Références Bibliographique

Fatmi, W., bellik, Y., & kechrid, Z.(2018). Protective effect of artemisia herba alba aqueous extract upon nickel induced hepatotoxicity in albino wistar rats, Austin J Pharmacology Ther, 6 (2), 1106.algeria.

Fiorucci, S. (2006). Activités biologiques des composés de la famille des flavonoïdes : Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de Doctorat de l'université de Nice Sophia Antipolis.

Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., et Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? L'actualité chimique. Pp : 91-96.

Glaser, S.S., Gaudio, E., Miller, T., Alvaro, D., Alpini, G. (2009). Cholangiocyte proliferation and liver fibrosis.Expert Rev Mol Med, 11, 1 – 20.

Hallowell, B., & Aruoma, O.I. (1991) .DNA damage by oxygen-derived species: its Mechanism and measurement in mammalian Systems, Apr9; 281(1-2):9-19.

Hebi, M., & Eddouks, M. (2016). Evaluation de l'activité antioxydante de Steviarebaudiana. Phytothérapie, 14, 17 – 22.

Hosein, S.R ., et Lytle ,M. (2001). Les Antioxydants. Traducteur : Alain Boutilier.Catie Feuillet d'information.5p.

Iserin, P. (2001). Larousse encyclopédie des plantes médicinales : Identification, préparation, soins. (Ed) Larousse-Bordas.335p.

Jacques, B., et André, R. (2004). Biochimie métabolique. 2e édition. Paris. 217-225 p.

Joannès, F. (2001). Dictionnaire de la civilisation mésopotamienne. Ed robertlaffont;isbn 2-221-09207-4.

Kaplowitz, N., Tsukamoto, H. (1996). Oxidative stress and liver disease. Progress in Liver Diseases. 14: 131-159.

Kohen, R., Nyska, A. (2002). Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena,antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. Toxicologic Pathology. 30: 620-650.

Références Bibliographique

Lahsissen, H., Kahouadji, A., Tijane, A., et Hseini, S. (2009) : Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zair (Maroc occidental). Le jeunia. Revue de botanique n°186.Belgique.

LeCluyse,E.L., Witek, R.P., Andersen, M.E., Powers, M.J. (2012). Organotypic liver culture models: meeting current challenges in toxicity testing. Crit Rev Toxicol, 42, 501 - 548.

Lenzen, S., et Panten, U. (1988). Alloxan: history and mechanism of action. Diabetologia. 31: 337-342.

Lüttge, U., Kluge, M., Bauer, G. (1992). Botanique : traité fondamental (traduction française). Ed. Tec. & doc. Lavoisier, Paris, 205-218 p.

Makkar, H. (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin rich feeds.Ruminant research, 49:241-256.

Malarkey, D.E., Johnson, K., Ryan, L., Boorman, G., Maronpot, R.R. (2005).New insights into functional aspects of liver morphology. ToxicolPathol, 33, 27 – 34.

Maydani, M. (2000).Effect of functional ingredients: vitamin E modulation of cardiovascular diseases and immune status in the elderly .Am.J.Clin.Nutr.71, 1665S-1668S.

Merghem, R. (2009). Eléments de biochimie végétale. BahaEddine Editions, p 95-121.

Mirjalili,M.H.,Tabatabaei,S.M.F.,Hadian,J.,Nejad,S.E.,andSonboli,A. (2007).Phenological Variation of the essential oil of Artemisia scopariafrom Iran. J. Essent. OilRes. 19: 326–329.

Molyneux, P. (2004).The use of the stable free radical of Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activit .songklanakaranJ.sectechmol .Page 211-219.

Nabli, M.A. (1989). Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes. Tome Ed MAB (faculté des sciences de Tunis) : 186-188 p.

Nakai, H. (2011). Hepatic gene therapy. In: MongaSatdarshan P S, editor. Molecular pathology of liver diseases.pp.343-371.

Références Bibliographique

Naspolini, N.F., Freitas, M.B. De., Moreira, E.A.M., Salles, R.k de., Batista, S.M de., Filho, D.W. (2015). Effects of calorie restriction and soybean and olive oils on oxidative stress in obese. *Journal of Food & Nutritional Disorders, Scitechnol*, 4:6.1-8.

Naudot, M. (2013). Caractérisation par imagerie en temps réel de cultures cellulaires Hépatiques en biopuces microfluidiques, P 33, 34.

Nikolova, M., Gushev, C.H., and Nguyen, T. (2010). Evaluation of the Antioxidant action and flavonoid composition of *Artemisia* species extracts. *Biotechnol*, 21-23.

Niu, Y., Cao, W., Zhao, Y., Zhai, H., Tang, X., and Chen, Q. (2018). The levels of oxidative stress and antioxidant capacity in hibernating *Nanorana parkeri*. *CBP*:1-31.

Paschapur, S.M., Patil, M.B., Kumar, R., Sachin, R.P. (2009). Evaluation of aqueous extract of leaves of *Ocimum kilimandscharicum* on wound healing activity in albino wistar Rats. *Int. J. Pharm. Tech. Res*, 1(3), 544-550.

Pastor, C.M., Suter, P.M. (1999). Hepatic hemodynamics and cell functions in human and experimental sepsis. *Anesth Analg*, 89, 344 - 352.

Pastre, J.O.C. (2005). Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 120p.

Patocka, J., Plucar, B. (2003). *Journal of Applied Biomedicine* 1 : 199–205, ISSN 1214-0287.

Perrissoud, D., & Testa, B. (1982). Hepatic pharmacology: Mechanisms of action and classification of antinecrotic hepatoprotective agents, *Trends in pharmacological sciences*, university of Lausanne .Volume 3, 365-367.

Pincemail, J., Lecomte, J., Collart, E., Castiaux, J.P., Defraigne, J.O. (2001) .stress oxydant, antioxydants et exercice physique. *Vaisseaux, cœur, poumons* 6(5):1-3.

Powers, S.K., and Lennon, S.L. (1999). Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc. Nutr. Soc.*, 58, 1025-1033.

Quezel, P., Santa, S. (1962). Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, Tome I. 565p.

Références Bibliographique

Rajib, A., Monirul, I.K.m., Musaddik, A., & Haque, E. (2009). Hepatoprotective Activity of Methanol Extract of Some Medicinal Plants against Carbon tetrachloride-Induced Hepatotoxicity in albino Rats, *Global Journal of Pharmacology*, 3(3):116-122.

Retsky, K.L., Chen, k., Zeind, J, and Frei, B.(1999).Inhibition of copper-induced LDL oxidation by vitamin C is associated with decreased copper-binding to LDL and 2-oxo histidine formation. *Free Radical Biology and Medicine* 26(1-2): 90-98.

Sahnoun, Z., Jamoussi, K., and Zeghal, K. (1997).Free Radicals and Antioxidants : Human Physiology, Pathology and Therapeutic Aspects. *Therapie* , 52(4), 251 -270p.

Saleem, T.S.M., Chetty, C.M., Ramkanth, S., Rajan, V.S.T., Kumar, K.M., Gauthaman, K. (2010). Hepatoprotective herbs- a review. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 1: 1-5.

Saleh, N., El-Nougoumy, S., Abd-Allah, M., Abou-Zaid, M., Dellmonica, G., Chopin J.(1985).Phytochemistry 24(01) :201-203.

Sandhar, H.K., Kumar, B., Prasher, S., Tiwari, P., Salhan , M., and Sharma , P.(2011). A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids .*International Pharmaceutica Scientia*, 1 (1), 25-41.

Sandru, D. M., Lengyel, E., Tita, O., Stegarus, D. (2016).Identification and quantification the Aroma compounds from Autochthonous plants with GC/Fid system. *Management of sustainable Development ,Sciendo*, 08(02), P 25.

Schuppan, D., Jia, J.-D., Brinkhaus, B., Hahn, E.G. (1999). Herbal products for liver diseases: A therapeutic challenge for the new millennium. *Hepatology* 30, 1099–1104. doi:10.1002/hep.510300437.

Segal, R., Breuer, A., Feuerstein, I. (1980).Phytochemistry, 19(12): 2761 -2762.

Segal, R., Eden, L.b., Danin, A., Kaiser, M, and Duddeck, H.(1985).Sesquiterpene lactones from *Artemisia herba alba*. *Photochemistry*, 24, 1381-1382.

Sekiou, O., Boumendjel, M., Taibi, F., Boumendjel, A ., Messarah, M.(2018) .Mitigating effects of antioxidant properties of *artemisia herba alba* aqueous extract on hyperlipidemia and oxidative damage in alloxan-induced diabetic rats. *Archives of Physiology and Biochemistry* 125(1):1-11 .

Références Bibliographique

Servais, S. (2004). Altération mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone : Effets de l'âge et d'une supplémentation en oméga-3. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard-Lyon1, France, pp. 19-35.

Shanmugasundaram, P., Venkataraman, S. (2006). Hepatoprotective and antioxidant activity of *Hygrophila auriculata* (K. Schum) Heine Acanthaceae root extract. *J. Ethnopharmacol.* 104: 124-128.

Singh, S.C., Ram, k. S. (2017). Protective effect of dietary inclusion of aeglemarmelos fruit on gentamicin induced hepatotoxicity in rats, 578-603.

Suzy, A.A., Comhair., & Serpil, C. E. (2002). Antioxidant responses to oxidant mediated lung diseases. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 283(2), 246-255.

Szkudelski , T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res* 50, 537-546.

TaBuTi, R.S., Iyeka., & dhillion, S.S. (2003) . Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration .*J.Ethno pharmacology* 88:19-44.

Therrien, R. (2009). Hépatotoxicité, tibotec, une division de janssen-ortho inc.

Timbrell, J. (2001). Introduction to Toxicology. 3rd ed. Taylor and Francis. New York. pp. 57-71.

Torrell, M., Cerbah, M ., Siljak -Yakovlev , S ., Valle, 'S.J.(2003). Molecular cytogenetics of the genus *Artémisia* (Asteraceae, Anthemideae) : Fluorochrome banding and Fluorescence in situ hybridization .*I.Subgenusseriphidium and related taxa.Plantsyst.E.*, 239 :141-153.

Tsao, R., and Deng, Z.(2004). Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals *Journal of Chromatography B*, 812: 85- 99.

Tso, P., McGill, J. (2003) . The physiology of the liver. In: Lippincott Williams & Wilkins, editor. *Medicalphysiology*. pp. 514-525.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncola, J., Cronin, M.T.D., Mazura, M.& Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 39: 44 – 84.

Références Bibliographique

Vansant, G. (2004). Radicaux libres et antioxydants : principes de base.Symposium «Antioydant et alimentation » Institut Danone.

Watkins, D., Cooperstein, S., Lazarow, A. (1964).Effect of alloxan on permeability of pancreatic islet tissue in vitro, 207:436-40.

ANNEXES

ANNEXE

(Annexe 1)

Produits et appareillages

Tests	Réactifs	Matériels et Appareillages
Préparation de l'extrait	Eau distillée	Plaque chauffante Eprouvette Balance Bécher Erlenmeyer Papiers filtres Entonnoir Réfrigérateur Etuve Broyeur
Activité antioxydante	DPPH Acide ascorbique BHT BHA Eau distillé Méthanol Extrait aqueux d' <i>A. Herba-alba</i>	Portoirs Bécher Tubes à essais Spectrophotomètre UV-visible, Micropipette Fioles Embouts en plastique stériles Vortex
Activité hepatoprotectrice et toxicité aigue	Alloxane Eau distillée Extrait aqueux d' <i>A. Herba-alba</i>	Une sonde et seringue Balance pour animaux de laboratoire Bécher Seringues de 5 ml Biberon de souris Les flacons Eprouvette graduée Les cages en plastique
Autres	Gants chirurgicaux, Blouse, Feutre indélébile, Boite a dissection	

(Annexe 2)

Protocole du DPPH

- **Préparation de la solution de DPPH dans du méthanol**

Peser 0,01g de DPPH et dissoudre dans 250 ml de méthanol. La solution ainsi préparée est préservée à l'abri de la lumière.

- **Préparation de la solution mère de l'extrait**

Peser une masse de 25mg de l'extrait dans 25ml d'eau distillée, pour obtenir une concentration 1mg/ml.

- **Préparation de la solution de vitamine C**

10 mg de poudre (acide ascorbique) ont été dissous dans 50 ml de méthanol.

- **Préparation de la solution BHA**

200 mg de poudre (BHA) ont été dissous dans 50 ml de méthanol.

- **Préparation de la solution BHT**

500 mg de poudre (BHT) ont été dissous dans 50 ml de méthanol.

ANNEXE

(Annexe 3)

Résumé des différentes étapes de l'étude histologique.

Étapes	Produit	Nombre de bains	Temps	Température	Rôle
Fixation	Formol à 10. /.	1 bain	24 heures à 48 heures	Ambiante	Immobilisation des constituants tissulaires et cellulaires
Lavage	Eau courante		2 à 3 minutes	Ambiante	
Déshydratation	Alcool éthylique à degré croissant : 60°C 70°C 90°C 95°C 100°C 100°C	6 bains	6 heures	Ambiante	Éliminer l’eau des tissus
Éclaircissement	Toluène	2 bains	2 heures		Éliminer les alcools
Inclusion	Paraffine liquide	2 bains	12 heures Étuve : 58°C		Les tissus étant maintenu et imbibés de paraffine
Confection des blocs	Paraffine	Cassettes		Ambiante	Consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine
Coupage et étalement	Les coupes de paraffine sont étalées sur l’âme porte objet, puis fixés par l’eau chauffée à 37°C				Redonner au tissu sa forme initiale
Séchage			2heures Étuve : 58°C		
Coloration	Voire la fiche technique (Annexe 4)				

Fiche technique (Annexe 4)

Coloration Topographique

HEMALUN EOSINE

Principe : coloration des noyaux par une laque aluminique basique l'hémalum (violet foncé) et le fond par un seul colorant acide : l'éosine (rose pâle)

II. Mode opératoire

1. Déparaffiner

Xylène : 5min

Xylène 7min

2. Hydrater

A°100° > 60 s à agitations

A°90 > 60 s à agitations

A°70 > 60 s à agitation

E.D : 3 mn (plusieurs bains)

3. coloration :

L'hématine : 1,25 s

Laver pendant 3 mn à l'eau courante (plusieurs bains)

Colorer 7 min à l'éosine

Rinçage (rapide) à E.D : 20 s

4. Déshydrater

A°70 > 30 s à agitations

A°90 > 30 s à agitations

A° 100° > 1min à agitations

5. Eclaircir : 2 bains *5 min xylène (ou toluène)

Résumé

Artemisia herba -alba est une plante médicinale appartenant à la famille des Astéracée, Cette espèce connue sous le nom de « chih », est très répandue dans le sud algérien. Plante très utilisée en médecine traditionnelle pour ses nombreuses vertus.

Dans le cadre de la valorisation des ressources naturelles, nous avons essayé dans cette étude de contribuer à la connaissance de certains effets biologiques des feuilles d'*Artemisia Herba- alba*.

Le présent travail porte sur l'étude des activités antioxydante, hepatoprotecteur ainsi que la toxicité aiguë de l'extrait aqueux de l'armoise blanche.

Les résultats obtenus ont montré que l'extrait aqueux est associé à une activité antioxydante intéressante par rapport à l'antioxydant standard employé. D'autre part l'extrait aqueux d'*A. Herba alba* en testant leur toxicité a la dose 2 mg/ kg par voie orale nos résultats montrent que cet extrait n'exerce aucun effet toxique, donc présente une efficacité sur les souris .Concernant l'activité hepatoprotectrice, l'extrait aqueux protège le foie contre l'hepatotoxicité. L'évaluation histopathologique a suggéré que *A. herba alba* diminuait la nécrose hépatique induite par l'alloxane . Ce travail démontre que l'amélioration des activités biologiques des plantes peut être un élément à la contribution de leur valorisation.

Mots Clés : *Artemisia Herba-alba*, Activitéantioxydante, Toxicitéaiguë, Activité hépato protectrice

Abstract

Artemisia herba alba is a medicinal plant belonging to the *Asteraceae* family, This species known under the name of "chih", is widespread in southern Algeria. It is a plant widely used in traditional medicine for its many virtues. Within the framework of the valuation of natural resources, we have tried in this study to contribute to the knowledge of certain biological effects of the of *A Herba-alba*. This work focuses on the study of the antioxidant and hepatoprotective activities as well as the acute toxicity of the aqueous extract of white wormwood.

The results obtained showed that the aqueous extract is associated with an interesting antioxidant activity compared to the standard antioxidant used. On the other hand, by testing the toxicity of the aqueous extract of *A.herba-alba* at a dose of 2 mg / kg orally, our results show that this extract has no toxic effect; therefore it is effective on mice. Regarding hepatoprotective activity, the aqueous extract protects the liver against hepatotoxicity. Histopathological and the evaluation suggested that *A. herba alba* decreased hepatic alloxan-induced necrosis. This work shows that the improvement of the biological activities of plants can be an element in the contribution of their valuation.

Keywords: *Artemisia Herba-Alba*, Antioxidant activity, Acute toxicity, Hepatoprotective activity.

الملخص

Artemisia Herba-Alba هو نبات طبي ينتمي إلى عائلة **Astéracée**، وهذا النوع المعروف باسم "شبح" منتشر في جنوب الجزائر. يستخدم النبات على نطاق واسع في الطب التقليدي لفوائده العديدة وكجزء من تنمية الموارد الطبيعية، حاولنا في هذه الدراسة المساهمة في معرفة بعض التأثيرات البيولوجية لأوراق عشبة **A. Herba-alba**. يركز هذا العمل على دراسة الأنشطة المضادة للأكسدة والوقاية الكبد بالإضافة إلى السمية الحادة للمستخلص المائي لنبات الشبح الأبيض. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن المستخلص المائي مرتبط بنشاط مضاد للأكسدة مثير للاهتمام مقارنة بمضادات الأكسدة القياسية المستخدمة. من ناحية أخرى أن المستخلص المائي لـ **A. herba -alba** باختبار سميتها بجرعة 2 مجم / كجم عن طريق الفم، تظهر نتائجنا أن هذا المستخلص ليس له تأثير سام ، وبالتالي فهو فعال في الفئران. فيما يتعلق بالنشاط الوقائي للكبد ، فإن المستخلص المائي يحمي الكبد من السمية الكبدية. أشار التقييم التشريحي المرضي إلى أن **A. Herba- alba** قلل من النخر الكبدية الناتج عن الالوكسان. يوضح هذا العمل أن تحسين الأنشطة البيولوجية للنباتات يمكن أن يكون عنصرًا في مساهمة تقييمها .

الكلمات المفتاحية: *Artemisia Herba-Alba*، النشاط المضاد للأكسدة، نشاط الكبد، السمية الحادة.