

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Frères Mentouri Constantine 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Animale

N° d'ordre : 01/BA/2022

N° de série :07/D3C/2022



Thèse de Doctorat

Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat 3^{ème} cycle

Option : Physio-Toxicologie Cellulaire

Présentée et soutenue par : ZEHANI Lamia

Intitulé :

L'effet protecteur de l'extrait *n*-butanol des plantes médicinales « *Saccocalyx satureioides* Coss et Dur et *Genista vepres* Pomel » vis-à-vis de la toxicité induite par l'isoniazide et la rifampicine

Soutenu le : 21/03/2022

Devant le jury :

Président :	LAALAOUI Korichi	Professeur	Université Frères Mentouri Constantine 1
Directrice de thèse :	ZAMA Djamilia	Professeur	Université Frères Mentouri Constantine 1
Examinatrice :	DAHAMNA Saliha	Professeur	Université Ferhat Abbas Sétif 1
Examinatrice :	BOUBEKRI Nassima	MCA	Université Frères Mentouri Constantine 1
Examinatrice :	BENCHIKH Fatima	MCA	Université Ferhat Abbas Sétif 1

Année universitaire : 2021 - 2022

Remerciements

Tout d'abord, j'exprime mes profonds remerciements à mon DIEU qui est toujours avec moi et qui me donne le courage et la volonté de réaliser ce travail.

Après avoir rédigé cette thèse, je suis heureuse d'avoir cette occasion d'exprimer ma gratitude aux personnes qui ont joué un rôle important tout au long de ma thèse. En effet, je n'aurais jamais pu réaliser ce travail de Doctorat sans le soutien d'un grand nombre de personnes très généreuses qui m'ont permis de progresser dans mes recherches. J'espère que les quelques mots que je m'appête à écrire exprimeront fidèlement mes sentiments à leur égard.

En premier lieu, j'exprime mes profonds remerciements à ma directrice de cette thèse Madame *Djamila ZAMA*, professeur à l'université Frères Mentouri Constantine 1, pour son soutien et pour son encouragement tout au long de ce travail. Merci pour m'avoir aidée et dirigée, par vos remarques pertinentes, vos riches connaissances et votre entière disponibilité. C'était très agréable de travailler à vos côtés.

Mon respect et reconnaissance sont adressés à Monsieur *Korichi LAALAOUL*, professeur à l'université Frères Mentouri Constantine 1, qui m'a fait l'honneur de présider le jury de soutenance.

Mes remerciements les plus sincères vont aux Madames : *Saliha DAHAMNA*, Professeur à l'Université Ferhat Abbas Sétif, *Fatima BENCHIKH*, Maître de conférences A à l'Université Ferhat Abbas Sétif et *Nassima BOUBEKRI*, Maître de conférences A à l'université Frères Mentouri Constantine 1, d'avoir accepté d'examiner ce travail. Qu'elles trouvent ici le témoignage de ma reconnaissance.

Ma profonde gratitude va également à Madame *Souad HAMDUCHE*, professeur au Service d'Anatomie Pathologique CHU Constantine grâce à lui j'ai pu avancer dans mon travail sur le plan anatomo-pathologique. Merci tout particulièrement pour votre gentillesse, et le temps que vous m'avez consacré.

Je remercie également tous les membres de notre équipe laborantine. Particulièrement : Dr *Nassima BOUBEKRI*, Dr *Somia LASSED*, Dr *Radja DJEBBARI*, et Dr *Maya Amina LAHNECHE*. Je vous remercie grandement pour l'aide et pour les conseils que vous m'avez apportés.

Une pensée toute particulière est destinée à Dr *Redouane BOULDJADI*, qui m'a encadrée pendant mon master, qui m'écoute toujours très attentivement dans mes difficultés et me donne des conseils pratiques utiles. Merci pour votre générosité scientifique.

Je voudrais également adresser mes remerciements à toute l'équipe du laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologique et spécialement professeur *Leila Beddar* et Dr. *Nadim ABDELMOUMEN* de m'avoir aidé durant la réalisation des coupes histologiques. Ainsi que les membres de l'équipe du laboratoire de Biochimie, l'hôpital Didouche-Mourad de Constantine et spécialement Dr *Souad MIDOUCALI* et à l'hôpital Cardiovasculaire d'El Riad qui m'ont permis d'effectuer les dosages des différents paramètres biochimiques.

Mes remerciements au professeur *Samir BENAYACHE* et professeur *Fadila BENAYACHE* de l'Unité de Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et analyse Physicochimiques et Biologiques que j'ai côtoyées au cours de la thèse pour la fourniture des extraits végétales.

Je voudrais également adresser ma profonde gratitude à Monsieur *Chawki BENSOUICI*, responsable de laboratoire Biochimie de m'avoir accueilli dans Le Centre de Recherche en Biotechnologie «CRBt», Constantine, Algeria, et m'a permis d'effectuer les analyses photochimiques et les activités antioxydant et photoprotectrices.

Mes vifs remerciements au professeur *Sabino Aurelio BUFO* de m'avoir accueilli au Applied Biology and Environmental Safeguard laboratory, Département de science, université degli Studi della Basilicata, Potenza, Italy. Merci pour m'avoir supporté est m'avoir guidé, pour votre disponibilité et votre bienveillance vous méritez ma profonde gratitude et toute ma reconnaissance.

Je remercie aussi tout particulièrement *Laura SCRANO*, professeur à l'université degli Studi della Basilicata, Potenza, Italy. Je tiens à lui exprimer mes sincères remerciements pour l'intérêt manifesté, la chaleur de son accueil, la confiance témoignée et le soutien constant accordé durant mon stage.

C'est avec un grand plaisir que je témoigne ici toute ma reconnaissance au professeur *Vittoria INFANTINO* de m'avoir accueilli dans leur laboratoire « Laboratoire de biochimie structurale et immunologie » en Italie, et m'a permis d'effectuer des nouvelles expériences au sein de son unité, par les quelles j'ai renforcé mes résultats. Et ainsi qu'à toute l'équipe du laboratoire.

À *Anna, Ilaria, Nicola, Loca, Meriem, Donia, Shima et Hazim* pour les bons moments partagés pour leur aide et leur soutien tout au long de mon stage, pour leur disponibilité à tout moment et pour leur amitié.

J'éprouve un profond respect pour au Professeur *Hamama BOURICHE* de m'avoir accueilli dans leur laboratoire à Sétif, et m'a permis d'effectuer l'étude anti-inflammatoire *in*

vivo au sein de son unité. Et ainsi qu'à Dr *Seoussen KADA* et Dr *Dalila MESSAOUDI*, pour leur aide, leur disponibilité et leur conseils.

A *Zahra* l'ingénieur de laboratoire de Physiologie Animal, pour son aide précieuse, sa gentillesse et son sens de l'humour, merci pour votre sympathie et cordialité.

Un merci spécial à Dr *Fatima BENSOUILEH*, je tiens à vous remercier et à vous exprimer ma gratitude pour le soutien moral que vous m'avez apporté.

Enfin, je n'oublie pas de remercier vivement :

- ✓ Professeurs *Souad AMEDDAH* et *Ahmed MANED*, aussi tous les enseignants de la spécialité Physio-Toxicologie Cellulaire.
- ✓ Mes collègues doctorants de la spécialité « Physio-Toxicologie Cellulaire » et mes collègues d'autres spécialités et d'autres universités.

Durant cette période, j'ai rencontré des personnes formidables. Un grand Merci à tous ceux qui ont participé, m'ont encouragé, et soutenu pendant la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Tout d'abord, louage à «Allah » qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long de la réalisation de ce modeste travail.

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات

Je dédie ce modeste travail

A mon père, pour ses encouragements incessants et son soutien moral, financier et spirituel dans les moments difficiles qui ont été pour moi les meilleures garanties de réussite. Qu'il trouve dans cet ouvrage la preuve modeste d'une infinie gratitude et d'un profond amour. Sans vous je n'aurais pas réussi. C'est grâce à votre éducation rigoureuse que j'ai atteint ce niveau. Merci, que Dieu vous accorde une longue vie.

Ma mère, pour leur aide morale et émotionnelle pendant toutes les années de mes études. Merci pour votre sacrifice pour développer et prospérer pour vos enfants. Que Dieu vous protège, vous accorde une bonne santé, trouve ici la preuve de mon infinie reconnaissance.

A mon frère Mohamed qui m'a encouragé à évoluer sur cette trajectoire.

A mes chères et adorables sœurs, leurs maris et leurs petits. Merci pour l'amour fraternel et la chaleur que vous me procurez. Vous avez été là dans tous moments.

À la mémoire de mon frère Abdallah, paix à votre âme.

*A ma famille, mes amies
Merci pour votre soutien et vos encouragements*

ZEHANI Lamia

التأثير الوقائي للمستخلص البيتانولي للنببتين الطبيتين "*Genista* و *Saccocalyx satatureioides* Coss et Dur" ضد السمية التي يسببها أيزونيازيد وريفامبيسين

ملخص

تهدف هذه الدراسة لتقييم الفعل الوقائي للمستخلص البيتانولي للنببتين الطبيتين "*Genista* و *Saccocalyx satatureioides*" بجرعة (50 و 100 ملغ/كلغ) ضد السمية الكبدية والكلى المحرصة بواسطة دواء أيزونيازيد وريفامبيسين على جردان ذكور. إضافة الى تقييم الفعل المضاد لارتفاع سكر الدم والفعل المضاد للالتهاب داخل العضوية. كما أخذت الاختبارات المجرات خارج العضوية حيزا من هذه الدراسة (المحتوى الفينولي، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للالتهاب والنشاط الوقائي من الضوء).

تبين النتائج المتحصل عليها أن المعاملة المسبقة بالمستخلص البيتانولي للنببتين "*G. vepres Pomel* و *S. satureioides*" أدت الى تعديل في المؤشرات البيوكيميائية (AST، ALT، ALP، GTT، ثلاثي الغليسريد، الكوليسترول، الكرياتينين، اليوريا وحمض البوليك) وكذلك مؤشرات الجهد التأكسدي (مستوى MDA وGSH ونشاط كل من GPx وCAT). وهذا ما اثبتته الدراسة النسيجية وكذلك الاختبارات المضادة للأكسدة المجرات خارج العضوية التي اثبتت احتواء المستخلص البيتانولي للنببتين على كمية معتبرة من الفينولات و الفلافونويدات ذات النشاط المضاد للأكسدة.

كما اثبتت النتائج المتحصل عليها داخل العضوية الفعل الخافض لسكر الدم للمستخلص البيتانولي للنببتين إضافة الى نشاطه المثبط لتطور الإستسقاء الموضعي مما يدل على ان هذا المستخلص له نشاط مضاد للالتهاب داخل العضوية، الشيء الذي اثبتته الاختبارات المضادة للالتهاب المجرات خارج العضوية. كما بينت النتائج المتحصل عليها أيضا فعله الوقائي من الضوء.

في الختام، فإن المستخلص البيتانولي للنببتين "*G. vepres Pomel* و *S. satureioides*" يملك نشاطا مضادا للأكسدة و الالتهاب يمكنه أن يلعب دورا وقائيا تجاه السمية التي يسببها دواء أيزونيازيد وريفامبيسين. تم تعزيز هذه النتائج من خلال الخصائص الصيدلانية التي تم الحصول عليها من الاختبارات المجرات خارج العضوية، ويرجع ذلك إلى الثراء المتنوع لهذه المستخلصات النباتية من المركبات الفينولية. تدعم هذه الدراسة الاستخدام التقليدي لهذه النباتات لعلاج بعض الاضطرابات المتعلقة بالالتهاب والإجهاد التأكسدي.

الكلمات المفتاحية: أيزونيازيد، ريفامبيسين، *Saccocalyx satatureioides*، *Genista vepres Pomel*، مركبات الفينول، الإجهاد التأكسدي، التهاب، السمية الكبدية، السمية الكلوية.

L'effet protecteur de l'extrait *n*-butanol des plantes médicinales « *Saccocalyx satureioides* Coss et Dur et *Genista vepres* Pomel » vis-à-vis de la toxicité induite par l'isoniazide et la rifampicine

Résumé

Cette étude vise à évaluer l'action protectrice des extraits *n*-BuOH de deux plantes médicinales endémiques "*Saccocalyx satureioides* et *Genista vepres* Pomel" à une dose de (50 et 100 mg/kg) contre l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité induites par l'isoniazide et la rifampicine sur des rats mâles. En plus d'évaluer *in vivo* l'action anti-hyperglycémiant et l'action anti-inflammatoire. Des tests *in vitro* ont également participé à cette étude (teneur en phénols, activité antioxydant, activité anti-inflammatoire et activité photoprotectrice).

Les résultats obtenus montrent que le prétraitement avec les extraits *n*-butanol des deux plantes « *S. satureioides* et *G. vepres* Pomel » a conduit à une modification des indicateurs biochimiques (AST, ALT, ALP, GTT, triglycérides, cholestérol, créatinine, urée et l'acide urique) ainsi que les indicateurs de stress oxydatif (taux de MDA, GSH et les activités de GPx et CAT). Cela a été confirmé par l'étude histologique, ainsi que par les tests antioxydants *in vitro*, qui ont prouvé que l'extrait *n*-butanol des deux plantes contenait une quantité importante de phénols et de flavonoïdes qui ont montré une activité antioxydant.

Les résultats obtenus *in vivo* ont également démontré l'action anti-hyperglycémiant des extraits *n*-butanol des deux plantes, en plus d'une activité inhibitrice du développement d'œdème local, ce qui indique que cet extrait a une activité anti-inflammatoire, ce qui a été confirmé par les tests anti-inflammatoires *in vitro*. Les résultats obtenus ont également montré l'action protectrice de la lumière pour les extraits *n*-butanol des deux plantes.

En conclusion, les extraits *n*-BuOH des plantes *S.satureioides* et *G.vepres* Pomel sont pourvus des pouvoirs antioxydants et anti-inflammatoires pouvant jouer un rôle protecteur et préventif vis-à-vis la toxicité induite par l'INH et la RIF. Ces résultats sont renforcés par les propriétés pharmacologiques remarquées vis-à-vis d'autres tests, ceci est dû à la richesse diversifiée de ces extraits des plantes en composés phénoliques. Cette étude soutient l'utilisation traditionnelle de ces plantes pour traiter certains désordres liés à l'inflammation et au stress oxydant.

Mots clés : Isoniazide, Rifampicine, *Saccocalyx satureioides*, *Genista vepres* Pomel, Composés phénoliques, Stress oxydatif, Inflammation, Hépatotoxicité, Néphrotoxicité.

**The protective effect of the *n*-butanol extract of the medicinal plants
"*Saccocalyx satatureioides* Coss and Dur and *Genista vepres* Pomel" against
the toxicity induced by isoniazid and rifampicin**

Abstract

This study aims to evaluate the protective effect of *n*-BuOH extracts of two endemic medicinal plants "*Saccocalyx satatureioides* and *Genista vepres* Pomel" at a dose of (50 and 100 mg/kg) against hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by isoniazid and rifampicin on male rats. In addition to evaluating the anti-hyperglycemic and the anti-inflammatory actions. The *in vitro* tests also took part of this study (phenolic content, antioxidant, anti-inflammatory, and photoprotective activities).

The obtained results show that the pre-treatment of the *n*-BuOH extracts of the two plants "*S. satatureioides* and *G. vepres* Pomel" led to a modification in the biochemical indicators (AST, ALT, ALP, GTT, triglycerides, cholesterol, creatinine, urea, and uric acid) as well as the oxidative stress indicators (MDA, GSH level and activity of GPx, CAT). This was confirmed by the histological study, as well as by the *in vitro* antioxidant tests, which proved that the *n*-butanol extracts of the two plants contained a significant amount of phenols and flavonoids that showed antioxidant activity.

The results obtained inside the organism also demonstrated the anti-hyperglycemic action of the *n*-butanol extracts of the two plants, in addition to an inhibitory activity for the development of local edema, which indicates that this extract has anti-inflammatory activity inside the organism, which was confirmed by the *in vitro* anti-inflammatory tests. The obtained results also showed the action protective from light for the *n*-butanol extracts of both plants.

In conclusion, the *n*-BuOH extracts of the plants *S. satatureioides* and *G. vepres* Pomel are endowed with an antioxidant and anti-inflammatory powers which can play a protective and preventive role against the toxicity induced by INH and RIF. These results are reinforced by the pharmacological properties observed with respect to other tests; this is due to the diverse richness of these plants's extract in phenolic compounds. This study supports the traditional use of these plants to treat certain disorders related to inflammation and oxidative stress.

Keywords: Isoniazid, Rifampicin, *Saccocalyx satatureioides*, *Genista vepres* Pomel, Phenolic compounds, Oxidative stress, Inflammation, Hepatotoxicity, Nephrotoxicity.

LISTE DES ABREVIATIONS

AcHz :	Acétylhydrazine
AcINH :	Acétylisoniazid
CF:	Correction factor (= 10)
CUPRAC:	Cupric Reducing Antioxidant Capacity
DiAcHz :	Diacétylhydrazine
EE:	Erythematous effect spectrum
ELISA :	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
Hz :	Hydrazine
I :	solar intensity spectrum
INA :	Acide isonicotinique
INH-GLC :	β -glucosyl isonicotinyldiazide
INH-KA :	le 2-oxoglutarate isonicotinyldiazone
INH-PA :	pyruvate isonicotinyldiazone
INH-PY :	isoniazidyl-pyridoxal
iNOS :	Oxyde Nitrique Synthase inductible
MAPK :	Mitogen-Activated Protein Kinases
NADPH :	Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
NAT2 :	N-acétyltransférase-2
NF-kB :	Nuclear factor-kB
NLRP3 :	Le domaine pyrine de la famille NLR contenant 3
Nrf2 :	Facteur de transcription (NF-E2-related factor 2)
PBS :	Phosphate Buffer Solution
PLA2 :	Phospholipase A2
RPMI :	Roswell Park Memorial Institute medium
SIRT1:	Régulateur d'information silencieux 1 (Silent information regulator 1)
STAT-6 :	Transducteur de signal et activateur de transcription 6
TBARS:	Thiobarbituric acid reactive substances
TNFα :	Tumor necrosis factor α
$\Delta\Psi_m$:	Potentiel électrique

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1	Estimation du taux d'incidence de la tuberculose dans le monde en 2017	4
Figure 1.2	Structure chimique des médicaments antituberculeux de première intention	6
Figure 1.3	Métabolisme de l'isoniazide (INH) et des enzymes impliquées dans les voies métaboliques de l'INH	10
Figure 1.4	Les composés toxiques peuvent altérer la fonction mitochondriale dans le foie via différents mécanismes, notamment l'épuisement de l'ADNmt, l'inhibition de la CRM et l'altération de l'oxydation des acides gras mitochondriaux	13
Figure 1.5	La peroxydation lipidique	15
Figure 1.6	Voies métaboliques de l'INH-Rifampicine induisant des lésions hépatiques	17
Figure 1.7	La fonction de la voie de signalisation Nrf2 pendant la condition de stress	18
Figure 1.8	Le pore de transition de perméabilité mitochondriale (PTPM)	20
Figure 1.19	Facteurs de risque et médiateurs de l'inflammation	25
Figure 1.10	La réponse inflammatoire aiguë	26
Figure 1.11	Les principales voies de signalisation activée par des cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , TNF α et IL-6) dans chondrocytes et leurs effets en aval	27
Figure 1.12	Site d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)	29
Figure 1.13	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie	32
Figure 1.14	Le processus et les produits de la peroxydation lipidique	32
Figure 1.15	Mécanisme illustré pour les polyphénols alimentaires atténuant l'oxydant événement de signalisation inflammatoires induits par le stress	37
Figure 1.16	l'activité anti-inflammatoire, antioxydant et anti-apoptose des polysaccharides d'origine végétaux	38

Figure 1.17	Schéma général d'obtention des trois isonicotinoyl hydrazone (INH-a, INH-b et INH-c)	39
Figure 1.18	<i>Saccocalyx satureioides</i> Coss. et Dur	44
Figure 2.1	La réaction du radical libre DPPH avec un antioxydant où AH est une molécule donneuse et A est un radical libre produit.	54
Figure 2.2	Oxydation de l'ABTS par le persulfate de potassium et génération de ABTS ⁺	55
Figure 2.3	Mécanisme de la réaction de Galvinoxyl avec un antioxydant	56
Figure 2.4	Formation du complexe Fe ⁺² -phenanthroline	57
Figure 2.5	Réduction du complexe chromogène de Cu ⁺² -Nc	58
Figure 2.6	Réduction du bromure de MTT en son formazan	62
Figure 2.7	Les structures de H2DCFDA, DCFH et DCF; et la voie de réaction de la détection de superoxyde	63
Figure 2.8	Principe de dosage du malondialdéhyde	70
Figure 2.9	Principe de dosage de glutathion	71
Figure 3.1	Inhibition de la peroxydation lipidique induite par FeSO ₄ par l'extrait <i>n</i> - BuOH de <i>S. satureioides</i> , et <i>G. vepres</i> Pomel de la vitamine C	81
Figure 3.2	Effet anti-inflammatoire <i>in vitro</i> des extraits <i>n</i> -BuOH des deux plantes ; <i>S. satureioides</i> et <i>G. vepres pomel</i> et d'acide acétylsalicylique (AAS)	83
Figure 3.3	Effet de l'extrait <i>n</i> - BuOH de <i>S. satureioides</i> sur la viabilité cellulaire U937 et la libération de ROS	85
Figure 3.4	Activité anti-inflammatoire de l'extrait <i>n</i> -BuOH des parties aériennes de <i>S. satureioides</i> sur les cellules U937 Induite par le LPS	87
Figure 3.5	Effets des extraits <i>n</i> - BuOH de <i>S. satureioides</i> et <i>G. vepres</i> Pomel (200 et 400 mg/kg). sur l'oedème de la patte induit par la carragénine chez le rat	88
Figure 3.6	Évolution en fonction du temps de la glycémie chez des rats hyperglycémiques prétraités avec l'extrait de <i>n</i> - BuOH de <i>S. satureioides</i> (100 - 400 mg / kg), <i>G.vepres</i> Pomel (50 - 400 mg/kg) et du Glibenclamide (5 mg / kg)	90

Figure 3.7	Effet de l'INH (75mg/kg) + RIF (150 mg/kg), l'extrait <i>n</i> - BuOH de la plante <i>S. satureioides</i> (50,100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur la concentration sérique des aminotransférases : AST et ALT	91
Figure 3.8	Effet de l'INH (75mg/kg) + RIF (150 mg/kg), l'extrait <i>n</i> - BuOH de la plante <i>S.satureioides</i> (50, 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur la concentration sérique des triglycérides et du cholestérol	92
Figure 3.9	Influence de l'administration de l'INH (75mg/kg) + RIF (150 mg/kg), l'extrait <i>n</i> - BuOH de la plante <i>S. satureioides</i> (50, 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur la concentration sérique de l'urée, la créatinine et l'acide urique chez les différents groupes	94
Figure 3.10	Influence de l'administration de l'INH (75mg/kg) + RIF (150 mg/kg), l'extrait <i>n</i> - BuOH de la plante <i>S. satureioides</i> (50, 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur le taux d'MDA du foie et des reins chez les différents groupes	95
Figure 3.11	Influence de l'administration de l'INH (75mg/kg) + RIF (150 mg/kg), l'extrait <i>n</i> - BuOH de la plante <i>S.satureioides</i> (50, 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur le niveau de GSH du foie et des reins chez les différents groupes	96
Figure 3.12	Influence de l'administration de l'INH (75mg/kg) + RIF (150 mg/kg), l'extrait <i>n</i> - BuOH de la plante <i>S. satureioides</i> (50, 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur l'activité de GPx du foie et des reins chez les différents groupes	97
Figure 3.13	Influence de l'administration de l'INH (75mg/kg) + RIF (150 mg/kg), l'extrait <i>n</i> - BuOH de la plante <i>S.satureioides</i> (50,100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur l'activité de la catalase du foie et des reins chez les différents groupes	98
Figure 3.14	L'analyse histopathologique : l'effet protecteur de l'extrait <i>n</i> -BuOH de <i>S. satureioides</i> vis-à-vis l'hépatotoxicité induite par l'INH-RIF	100-101
Figure 3.15	L'analyse histopathologique : l'effet protecteur de l'extrait <i>n</i> -BuOH de <i>S. satureioides</i> vis-à-vis la néphrototoxicité induite par l'INH-RIF	103-104

Figure 3.16	Effet de l'INH (100 mg /kg) + RIF (100 mg/kg), l'extrait <i>n</i> - BuOH de la plante <i>G. vepres</i> Pomel (50, 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur la concentration sérique des aminotransférases : AST et ALT	105
Figure 3.17	Effet de l'INH (100 mg /kg) + RIF (100 mg/kg), l'extrait <i>n</i> - BuOH de la plante <i>G.vepres</i> Pomel (50, 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur la concentration sérique de la phosphatase alcaline (ALP) et gamma-glutamyl transférase (GGT)	106
Figure 3.18	Effet de l'INH (100 mg /kg) + RIF (100 mg/kg), l'extrait <i>n</i> - BuOH de la plante <i>G. vepres</i> Pomel (50,100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur la concentration sérique des triglycérides et du cholestérol	107
Figure 3.19	Influence de l'administration de l'INH (100 mg /kg) + RIF (100 mg/kg), l'extrait <i>n</i> - BuOH de la plante <i>G. vepres</i> Pomel (50, 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur la concentration sérique de l'urée, la créatinine et l'acide urique chez les différents groupes	108
Figure 3.20	Influence de l'administration de l'INH (100 mg /kg) + RIF (100 mg/kg), l'extrait <i>n</i> - BuOH de la plante <i>G. vepres</i> Pomel (50, 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur le taux d'MDA du foie et des reins chez les différents groupes	109
Figure 3.21	Influence de l'administration de de l'INH (100 mg /kg) + RIF (100 mg/kg), l'extrait <i>n</i> - BuOH de la plante <i>G. vepres</i> Pomel (50, 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur le niveau de GSH du foie et des reins chez les différents groupes	110
Figure 3.22	Influence de l'administration de l'INH (100 mg /kg) + RIF (100 mg/kg), l'extrait <i>n</i> - BuOH de la plante <i>G.vepres</i> Pomel (50, 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur l'activité de GPx du foie et des reins chez les différents groupes	111
Figure 3.23	Influence de l'administration de l'INH (100 mg /kg) + RIF (100 mg/kg), l'extrait <i>n</i> - BuOH de la plante <i>G.vepres</i> Pomel (50,100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur l'activité de la catalase du foie et des reins chez les différents groupes	112

Figure 3.24	L'analyse histopathologie : l'effet protecteur de l'extrait <i>n</i> -BuOH de <i>G. vepres</i> Pomel vis-à-vis l'hépatotoxicité induite par l'INH-RIF	115-116
Figure 3.25	L'analyse histopathologie : l'effet protecteur de l'extrait <i>n</i> -BuOH de <i>G. vepres</i> Pomel vis-à-vis la néphrototoxicité induite par l'INH-RIF	117-118

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1	Les différents protocoles de la chimiothérapie antituberculeuse	5
Tableau 1.2	Effets indésirables d'Isoniazide et de la Rifampicine	7
Tableau 1.3	Mécanisme d'action des médicaments antituberculeux de première ligne standard	8
Tableau 1.4	Rôles du glutathion chez les animaux	21
Tableau 1.5	Métabolites différentiels liés aux lésions rénales induites par l'utilisation combinée d'isoniazide et de rifampicine	22
Tableau 1.6	Cellules de l'inflammation	23
Tableau 1.7	Les principaux médiateurs biochimiques dans la réponse inflammatoire	24
Tableau 1.8	Les effets anti-inflammatoires des glucocorticoïdes	31
Tableau 1.9	Relations entre les maladies et le stress oxydant	33
Tableau 1.10	Les antioxydants avec leur mécanisme d'action sur les ERO	34
Tableau 1.11	Propriétés antioxydants et anti-inflammatoires, mécanismes et conséquences des flavonoïdes	37
Tableau 1.12	Liste des sources phytochimiques hépatoprotectrices et leur mode d'action	41
Tableau 1.13	Extraits de plantes médicinales à effet hépatoprotecteur contre les dommages causée par les médicaments INH-RIF	42
Tableau 1.14	Classification botanique de <i>Saccocalyx satureioides</i> Coss. et Dur	45
Tableau 1.15	Composition chimique des huiles essentielles de <i>Saccocalyx Satureioides</i>	46
Tableau 1.16	Les activités biologiques <i>Saccocalyx Satureioides</i>	47
Tableau 1.17	Quelques composés isolés du genre <i>Genista</i>	48
Tableau 1.18	Activités biologiques du genre <i>Genista</i>	59
Tableau 1.19	Classification botanique de <i>Genista verpes</i> Pomel	50
Tableau 3.1	Teneur totale en phénol, flavonoïdes et flavonols	73
Tableau 3.2	Inhibition du radical DPPH par les extraits <i>n</i> -BuOH de <i>S. satureioides</i> et <i>G.verpes</i> Pomel	74

Tableau 3.3	Inhibition du cation radical ABTS par les extraits <i>n</i> - BuOH de <i>S. satureioides</i> et <i>G.verpes</i> Pomel	75
Tableau 3.4	Inhibition du radical Galvinoxyl par les extraits <i>n</i> -BuOH de <i>S.satureioides</i> et <i>G.verpes</i> Pomel	76
Tableau 3.5	Réduction du fer par la méthode phénanthroline	76
Tableau 3.6	Réduction du complexe néocoproine par la méthode CUPRAC	77
Tableau 3.7	Pouvoir réducteur les extraits <i>n</i> - BuOH de <i>S.satureioides</i> et <i>G.verpes</i> Pomel	78
Tableau 3.8	Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre l'activité antioxydant (IC ₅₀ et A _{0.5}) et photoprotéctrice (SPF) et le contenu phytochimique de l'extrait <i>n</i> - BuOH de <i>S. satureioides</i>	79
Tableau 3.9	Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre l'activité antioxydant (IC ₅₀ et A _{0.5}) et photoprotéctrice (SPF) et le contenu phytochimique de l'extrait <i>n</i> - BuOH de <i>G. vepres</i> Pomel	80
Tableau 3.10	Calcul du facteur de protection solaire (SPF) pour les extraits <i>n</i> - BuOH obtenues à partir de <i>S.satureioides</i> et <i>G.verpes</i> Pomel	82
Tableau 3.11	Effet des extraits <i>n</i> - BuOH de <i>S.satureioides</i> et <i>G.verpes</i> Pomel et de l'acide acétylsalicylique (AAS) sur l'hémolyse induite par la chaleur de la membrane érythrocytaire	84
Tableau 3.12	Effet des extraits <i>n</i> - BuOH de <i>S.satureioides</i> et <i>G.verpes</i> Pomel et de l'acide acétylsalicylique (AAS) sur l'hémolyse induite par la solution hypotonique de la membrane érythrocytaire	84
Tableau 3.13	Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques de la fonction hépatique et les paramètres de statut oxydant/ antioxydant de groupe traité par INH (75 mg/kg) et RIF (150 mg/kg) pendant 7 jours	99
Tableau 3.14	Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques de la fonction rénale et les paramètres de statut oxydant/ antioxydant de groupe traité par INH (75 mg/kg) et RIF (150 mg/kg) pendant 7 jours	99
Tableau 3.15	Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques de la fonction hépatique et les paramètres de statut	114

oxydant/ antioxydant de groupe traité par INH (100 mg/kg) et RIF (100 mg/kg) pendant 21 jours

Tableau 3.16 Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques de la fonction rénale et les paramètres de statut oxydant/ antioxydant de groupe traité par INH (100 mg/kg) et RIF (100 mg/kg) pendant 21 jours **114**

TABLE DES MATIÈRES

Remerciements	
الملخص	I
Résumé	II
Abstract	III
Liste des abréviations	IV
Liste des figures	V
Liste des tableaux	X
INTRODUCTION	1

PARTIE 1 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Antituberculeux	4
1.1. Tuberculose et antituberculeux	4
1.2. Aspects pharmacochimiques d’Isoniazide et de la Rifampicine	7
1.2.1. Pharmacodynamique de INH et RIF	7
1.2.2. Pharmacocinétique de INH et la RIF	9
1.2.3. Pharmacogénétique de INH et la RIF	11
2. Toxicité des antituberculeux	12
2.1. Hépatotoxicité des antituberculeux	12
2.1.1. Hépatotoxicité induite par l'INH	12
2.1.1.1. Dysfonctionnement mitochondrial	12
2.1.1.2. Stress oxydative	14
2.1.1.3. Peroxydation lipidique.....	14
2.1.1.4. Métabolites d’ INH	15
2.1.2. Hépatotoxicité induite par RIF	16
2.1.3. Cibles impliquées dans l'hépatotoxicité induite par l'INH-RIF.....	16
2.1.3.1. Activation de la voie Nrf2-ARE	17
2.1.3.2. Ciblage CYP2E1	19
2.1.3.3. Cibler la transition de perméabilité mitochondriale.....	19
2.1.3.4. Cibler la voie du glutathion	20
2.2. Néphrotoxicité des antituberculeux	21
2.2.1. Néphrotoxicité induite par l'INH-RIF	21
3. Stress oxydatif et inflammation	23
3.1. Inflammation	23
3.1.1. L'origine de l'inflammation	25
3.1.2. Types d’inflammation	25

3.1.3. Voies d'inflammation	27
3.1.4. Pathologies inflammatoires	28
3.1.5. Traitement de l'inflammation	28
3.1.5.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens	28
3.1.5.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens	30
3.2. Stress oxydant	31
3.2.1. Maladies liées au stress oxydatif	33
3.2.2. Systèmes de défenses antioxydants	34
3.3. Antioxydants/Anti-inflammatoires d'origine végétale	35
4. Produits naturels et atteintes Néphro-hépatiques	39
4.1. Prévention de la toxicité provoquée par les médicaments antituberculeux	39
4.1.1. Nouveaux dérivés d'isoniazide	39
4.1.2. Plantes médicinales utilisées dans le traitement de la tuberculose	40
4.1.3. Plantes médicinales utilisées dans la prévention de la toxicité provoquée par les médicaments antituberculeux	40
4.1.3.1. Prévention de la toxicité hépatique	40
4.1.3.2. Prévention de la toxicité rénale	42
4.2. Données bibliographiques sur les plantes étudiées	43
4.2.1. <i>Saccocalyx satureioides</i> Coss. et Dur	43
4.2.1.1. Généralité sur la famille des Lamiacées	43
4.2.1.2. Description botanique	43
4.2.1.3. Distribution géographique	44
4.2.1.4. Classification botanique	45
4.2.1.5. Composition chimique	45
4.2.1.6. Activités biologiques	47
4.2.2. <i>Genista vepres</i> Pomel	47
4.2.2.1. Généralités sur la famille des Fabacées	47
4.2.2.2. Description botanique	50
4.2.2.3. Distribution géographique	50
4.2.2.4. Classification botanique	50
4.2.2.5. Composition chimique	51
4.2.2.6. Activités biologiques	51

PARTIE 2 : PROTOCOLES EXPERIMENTAUX

2. PROTOCOLES EXPERIMENTAUX	52
2.1. Matériel végétal et l'étude phyto-chimique	52
2.1.1. Préparation des extraits <i>n</i> -butanol	52
2.1.1.1. <i>Saccocalyx satureioides</i>	52

a. Récolte du matériel végétal	52
b. Extraction	52
2.1.1.2. <i>Genista vepres</i> Pomel	53
a. Récolte du matériel végétal	53
b. Extraction	53
2.2. L'étude phyto-chimique	53
2.2.1. Détermination de la teneur totale en phénols	53
2.2.2. Détermination de la teneur totale en flavonoïdes.....	53
2.2.3. Détermination de la teneur totale en flavonols	54
2.3. Évaluation de l'activité antioxydant	54
2.3.1. Activité antiradicalaire au DPPH.....	54
2.3.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS ^{•+}	55
2.3.3. L'activité Galvinoxyl radical (GOR) scavenging assay	56
2.3.4. Activité de réduction par la formation du complexe Fe ⁺² -phenanthroline.....	57
2.3.5. Activité de réduction du complexe cuivre-neocuproéne (CUPRAC)	58
2.3.6. Pouvoir réducteur du Fer.....	59
2.3.7. Inhibition de la peroxydation lipidique (LPO).....	59
2.4. Détermination de l'activité photoprotectrice	60
2.5. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire	60
2.5.1. Inhibition de la dénaturation de l'albumine	60
2.5.2. Activité anti-hémolytique ou stabilisation membranaire	61
2.5.2.1. L'hémolyse induite par la chaleur	61
2.5.2.2. L'hémolyse induite par une solution hypotonique	61
2.5.3. Effet sur la lignée cellulaire (U937).....	61
2.5.3.1. Culture cellulaire et préparation de la suspension cellulaire	61
2.5.3.2. Test de viabilité cellulaire	62
2.5.3.3. Détection ROS, NO et PGE2	63
2.5.3.4. <i>Western blot</i>	64
2.5.4. Effet sur l'œdème dans la patte induite par la carragénine	64
2.6. Évaluation de l'activité anti-hyperglycémiant	65
2.7. Évaluation de l'activité hépato-néphroprotectrice	66
2.7.1. Soins aux animaux et conception expérimentale	66
2.7.2. Induction de la toxicité et traitement des rats.....	66
2.7.2.1. Effet préventif de <i>S. satureioides</i> sur la toxicité aiguë induite par l'INH (75 mg/kg) et la RIF (150 mg/kg)	66
2.7.2.2. Effet préventif de <i>G. vepres</i> Pomel sur la toxicité chronique induite par l'INH (100 mg/kg) et la RIF (100 mg/kg).....	67
2.7.3. Evaluation les paramètres biochimique et mesure des paramètres de stress ...	68
2.7.3.1. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques du sang	68

a.	Dosage des transaminases	68
b.	Dosage de la phosphatase alcaline (ALP)	68
c.	Dosage de la Gamma Glutamyl Transférase	69
d.	Dosage des triglycérides (TG)	69
e.	Dosage du cholestérol	69
f.	Dosage d'acide urique	69
g.	Dosage de l'urée	69
h.	Dosage de la créatinine	70
2.7.3.2.	Mesure des paramètres de stress	70
a.	Dosage de MDA au niveau d'homogénat	70
b.	Dosage de glutathion (GSH)	71
c.	Evaluation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx)	71
d.	Evaluation de l'activité enzymatique du catalase (CAT)	71
2.7.3.3.	Préparation des coupes histologiques	72
2.8.	Analyse statistique	72

PARTIE 3 : RESULTATS

3.	RESULTATS	73
3.1.	Analyse phytochimique	73
3.2.	Activité antioxydant	74
3.2.1.	Activité antiradicalaire DPPH	74
3.2.2.	Activité antiradicalaire ABTS	75
3.2.3.	Activité du piégeage du radical Galvinoxyl	75
3.2.4.	Activité de réduction par la formation du complexe Fe ⁺² -phenanthroline	76
3.2.5.	Activité de réduction du complexe cuivre-neocuproéne (CUPRAC)	76
3.2.6.	Activité du pouvoir réducteur	77
3.2.7.	Le pouvoir d'inhibition de la peroxydation lipidique	81
3.3.	Activité photoprotectrice	82
3.4.	Activité anti-inflammatoire	83
3.4.1.	Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	83
3.4.2.	Activité de stabilisation membranaire	84
3.4.3.	Évaluation de l'effet de <i>S. satureioides</i> sur la lignée cellulaire (U937)	85
3.4.3.1.	Mesure de la viabilité cellulaire	85
3.4.3.2.	Mesure de la production des espèces réactives de l'oxygène	86
3.4.3.3.	L'effet de <i>S. satureioides</i> sur sécrétion de médiateurs inflammatoires ROS, NO et PGE2 dans les cellules U937 induite par LPS	86
3.4.3.4.	L'effet de <i>S. satureioides</i> sur le niveau d'expression NF- κ B dans les cellules U937 induite par LPS	86

3.4.4. Effet sur l'œdème de la patte induit par la carragénine chez le rat	88
3.5. Évaluation de l'activité anti-hyperglycémiant	89
3.6. Résultats de l'étude expérimentale <i>In vivo</i>	91
3.6.1. L'effet protecteur de <i>S.satureioides</i>	91
3.6.1.1. L'effet des différents traitements sur les marqueurs biochimiques	91
a. Les enzymes transaminase AST et ALT	91
b. L'effet sur les taux des triglycérides et le cholestérol	92
c. L'effet sur la concentration sérique de l'urée, la créatinine et l'acide urique	93
3.6.1.2. L'effet des différents traitements sur les paramètres de stress	95
a. L'effet sur la peroxydation lipidique (taux d'MDA) du foie et des reins	95
b. L'effet sur le GSH du foie et des reins	95
c. L'effet sur l'activité de la GPx du foie et des reins	96
d. L'effet sur l'activité de catalase du foie et des reins	97
3.6.1.3. Etude histologique	100
3.6.2. L'effet protecteur de <i>G.vepres</i> Pomel	105
3.6.2.1. L'effet des différents traitements sur les marqueurs biochimiques	105
a. L'effet sur les enzymes transaminase AST et ALT	105
b. L'effet sur la phosphatase alcaline (ALP) et gamma-glutamyl transférase (GGT)	106
c. L'effet sur les triglycérides et le cholestérol	107
d. L'effet sur la concentration sérique de l'urée, la créatinine et l'acide urique	108
3.6.2.2. L'effet des différents traitements sur les paramètres de stress.	109
a. L'effet sur la peroxydation lipidique (taux d'MDA) du foie et des reins	109
b. L'effet sur le GSH du foie et des reins	110
c. L'effet sur l'activité de la GPx du foie et des reins	111
d. L'effet sur l'activité de catalase du foie et des reins	112
3.6.2.3. Etude histologique	115

PARTIE 4 : DISCUSSION

4. DISCUSSION	119
CONCLUSION ET PRESPECTIVES	140
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	142
ANNEXES	174



INTRODUCTION

INTRODUCTION

La tuberculose (TB) est l'une des principales causes de mortalité à l'échelle mondiale (Desai *et al.*, 2020). Les stratégies existantes pour traiter la TB concernent la TB active et ne traitent pas les effets secondaires associés. Au cours des dernières années, la recherche mondiale de nouveaux médicaments antituberculeux a augmenté. L'objectif clé est d'explorer et de développer de nouveaux médicaments qui peuvent améliorer la stratégie de traitement, renforcer la sécurité et traiter à la fois les infections et les effets secondaires (Sharma et Sharma, 2015).

L'isoniazide (INH) et la rifampicine (RIF), deux médicaments de première ligne utilisés dans la thérapie anti-tuberculose. En dépit de leur efficacité élevée, leurs utilisations sont limitées en raison de la variété de leurs effets toxiques (Hu *et al.*, 2017). L'hépatotoxicité induite par les antituberculeux est l'une des problèmes cliniques les plus difficiles (Migliani *et al.*, 2016). Le mécanisme d'hépatotoxicité est décrit comme étant idiosyncratique ou imprévisible (Nwidi et Teme, 2018). En plus de plusieurs autres mécanismes ; la lésion hépatique induite par le stress oxydatif est l'un des mécanismes importants de l'hépatotoxicité produite par ces médicaments (Mujahid *et al.*, 2017).

L'INH et la RIF provoquent non seulement des aberrations dans le foie, car il s'agit du principal site de détoxification, mais affectent également gravement les reins en raison de son association étroite avec le foie en tant qu'organe excréteur. Ainsi, les reins sont exposés aux effets nocifs des métabolites toxiques intermédiaires ou finis et se blessent dans de nombreux cas (Sahu *et al.*, 2019). Contrairement aux atteintes hépatiques qui font l'objet de nombreuses études (Ruan *et al.*, 2018), quelques études ont démontré que l'INH et la RIF entraînent également des lésions rénales, mais son mécanisme n'a pas été étudié.

En l'absence de médicaments thérapeutiques efficaces dépourvus d'effets secondaires contre la tuberculose, l'espoir repose sur les produits naturels à base de plantes médicinales, un don éternel de la nature qui est utilisé pour le traitement de nombreuses maladies chez les êtres humains depuis des temps immémoriaux. Selon une estimation de l'OMS, 80 % de la population des pays en développement dépendent des médecines traditionnelles pour les soins de santé primaires (Ekor, 2014).

D'autre part, l'utilisation des plantes médicinales par l'homme est une pratique antique. De nos jours la majorité des habitants du globe terrestre utilisent de très nombreuses plantes, compte tenu de leurs propriétés aromatiques, comme remède en médecine traditionnelle. Cependant, cette utilisation ne se base sur aucun critère scientifique, elle tient compte simplement des observations au cours des siècles (Anderson, 2008 cité par Djebbari, 2017).

À plusieurs égards, les produits phytochimiques sont efficaces dans la gestion de la toxicité induite par les médicaments antituberculeux. Ils agissent principalement sur certains processus responsables de la toxicité des médicaments. Le cytochrome P₄₅₀, les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène sont tous des cibles pour les composés phytochimiques. Ces composés ont un rôle dans la peroxydation lipidique, le stress oxydatif et la dégradation de l'intégrité membranaire (Darvin *et al.*, 2018). Les flavonoïdes, les tanins et les caroténoïdes, par exemple, ont un effet sur les espèces réactives de l'oxygène. Les capacités de piégeage des radicaux libres sont observées dans les composés phénoliques, les composés organosulfurés et les composants électrophiles tels que le picroside II et le kurtkoside. L'activité du cytochrome P₄₅₀ est également affectée par les composés organosulfurés et les flavonoïdes, qui affectent le métabolisme des médicaments (Mangwani *et al.*, 2020).

La flore algérienne avec plus de 3139 espèces, est l'une des plus riches d'Afrique du Nord. Avec sa richesse en biodiversité, l'Algérie a une longue et riche tradition médicinale à base de plantes (Miara *et al.*, 2018). Les plantes médicinales ont des propriétés antioxydants potentielles qui peuvent aider à prévenir les effets indésirables d'une variété de traitements et de maladies. Les composés actifs les plus courants ayant ces propriétés sont les composés phénoliques et polyphénoliques ainsi que les flavonoïdes (Valduga *et al.*, 2019). De cette raison, et dans cette optique que s'inscrit l'objectif du présent travail qui consiste à évaluer l'effet protecteur des extraits *n*-butanol de deux plantes endémiques vis-à-vis de l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité induite par l'isoniazide et la rifampicine. Ce sont *Saccocalyx satureioides* Coss et Dur de la famille des Lamiacées et *Genista vepres* Pomel de la famille des Fabacées.

Dans ce cadre, deux études ont été réalisées parallèlement : une étude expérimentale *in vitro* et une étude expérimentale *in vivo* en utilisant les rats *Albino Wistar*. A cette égard, on a choisi un but pour élucider l'effet protecteur des extraits *n*-butanol des deux plantes vis-à-vis d'une toxicité induite par l'isoniazide et la rifampicine, et si les composés bioactifs des plantes peuvent protéger les organes cibles par l'analyse de leur capacité antioxydants et les effets sur la peroxydation lipidique et les paramètres du stress oxydative.

INTRODUCTION

Ainsi, notre étude a pour but d'évaluer les activités biologiques de ces deux extraits *in vitro*, par l'étude de leurs rôles antioxydants (L'activité anti-radicalaire, réductrice, anti-péroxydation lipidique, et photoprotectrice), anti-inflammatoire, anti-hyperglycémiant et l'évaluation de leurs taux des phénols, flavonoïdes et flavonols.

Partie 1:

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Antituberculeux

1.1. Tuberculose et antituberculeux

La tuberculose (TB) est une maladie infectieuse contagieuse, causée par des bactéries appartenant au *Mycobacterium tuberculosis* complexe. Le principal agent responsable, *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tb*) ou *bacille de Koch*, se transmet par voie aérienne par l'intermédiaire de microgouttelettes de mucus appelées gouttelettes de Pflügge expulsées par la toux, les éternuements et les crachats. Cette maladie peut atteindre de nombreux organes mais préférentiellement les poumons (Kanabalan *et al.*, 2021).

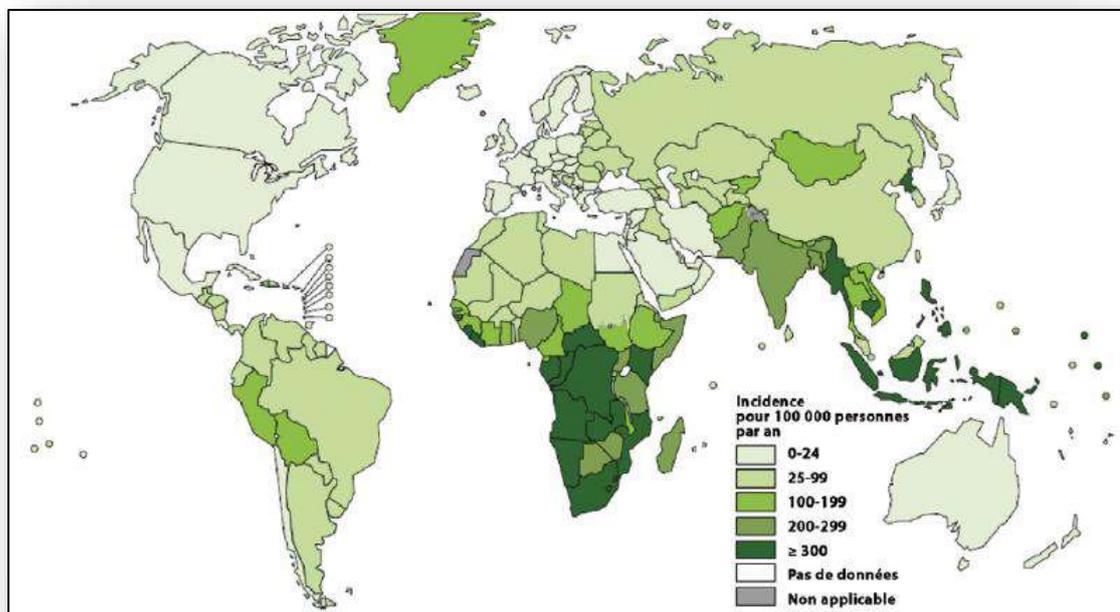


Figure 1.1 : Estimation du taux d'incidence de la tuberculose dans le monde en 2017 (Dupont *et al.*, 2020)

Selon l'Organisation mondiale de la santé, la tuberculose est l'une des dix premières causes de mortalité dans le monde. En effet, en 2018, 10 millions de personnes ont contracté la tuberculose et 1.5 millions de personnes sont mortes. Néanmoins, à l'échelle mondiale (Figure 1.1), l'incidence de la tuberculose diminue d'environ 2 % par an et son diagnostic et son traitement ont permis de sauver 58 millions de personnes entre 2000 et 2018 (Tétart, 2020).

Un traitement efficace de la TB dépend plusieurs médicaments bactéricides et stérilisants administrés dans combinaison pour une durée adéquate, afin de garantir l'efficacité antimicrobienne tout en empêchant la sélection de mutants et obtenir une guérison permanente (Tiberi *et al.*, 2018).

La stratégie thérapeutique actuelle, bien standardisée par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) (Gayout *et al.*, 2017), repose sur :

- En phase d'attaque, une tri- ou quadrithérapie (isoniazide, rifampicine, pyrazinamide, éthambutol) pendant deux mois, pour éradiquer les bacilles extracellulaires, supprimer la contagiosité et prévenir l'apparition de bacilles résistants.
- En phase d'entretien, une bithérapie (isoniazide, rifampicine) durant quatre mois, pour stériliser les foyers intracellulaires et prévenir les rechutes (tableau 1.1).

Tableau 1.1 : Les différents protocoles de la chimiothérapie antituberculeuse
(Gayout *et al.*, 2017)

Traitement	Première phase (deux mois)	Deuxième phase (au moins quatre mois)
Standard simplifié (première intention)	Isoniazide, rifampicine et pyrazinamide	Isoniazide, rifampicine (durant quatre mois)
Classique (permet une éventuelle adaptation posologique)	Isoniazide, rifampicine et pyrazinamide	Isoniazide, rifampicine (durant quatre mois)
Court (en cas de rechute ou de résistance)	Isoniazide, rifampicine, pyrazinamide et éthambutol	Isoniazide, rifampicine (durant quatre mois)
Chez la femme enceinte	Isoniazide, rifampicine et éthambutol	Isoniazide, rifampicine (durant sept mois)
Court (deuxième phase intermittente)	Isoniazide, rifampicine et pyrazinamide	Isoniazide (trois fois/semaine durant quatre mois), rifampicine (trois fois/semaine durant quatre mois)

La rifampicine (RIF) et l'isoniazide (INH) sont tous deux médicaments de première intention essentiels et couramment utilisés pour le traitement de la tuberculose en combinaison avec d'autres molécules (Nguta *et al.*, 2015) (Figure 1.2).

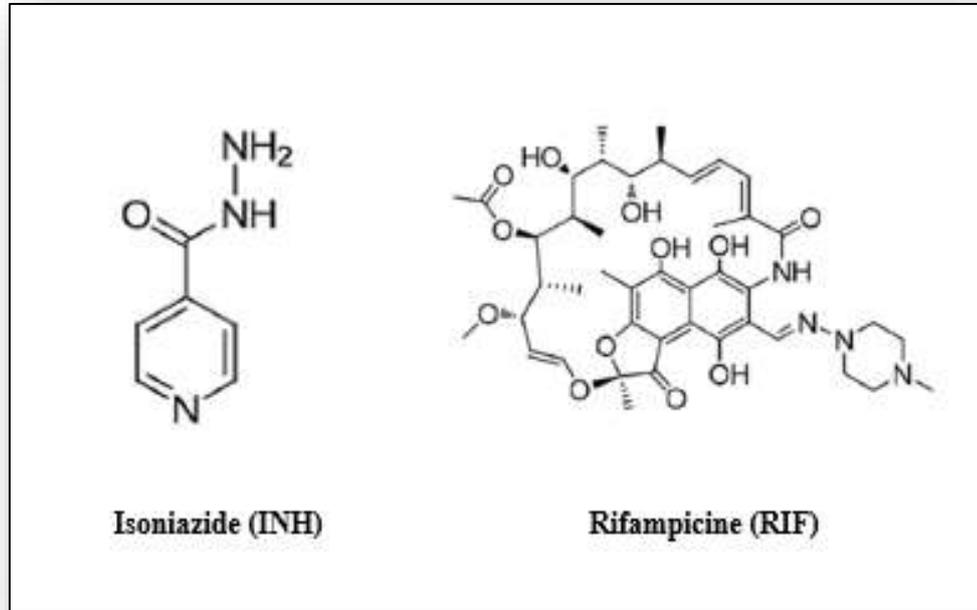


Figure 1.2 : Structure chimique des médicaments antituberculeux de première intention (Mishra *et al.*, 2017)

La RIF et l'INH sont utilisés sur les bacilles résistants, ils sont eux-mêmes source d'effets indésirables. Le traitement de la tuberculose est standardisé mais la décision de traiter est indissociable de l'évaluation des effets secondaires éventuels qui justifient le bilan préthérapeutique, la surveillance tout au long de la prise en charge comme l'éducation (Perriot *et al.*, 2011) (tableau 1.2).

Tableau 1.2 : Effets indésirables d’Isoniazide et de la Rifampicine (Perriot *et al.*, 2011)

<i>Isoniazide</i>	<i>Rifampicine</i>
<p>Effets indésirables hépatiques Elévation des transaminases Hépatite cytolytique ou mixte</p>	<p>Effets indésirables hépatiques Elévation des transaminases Cholestase hépatique</p>
<p>Effets indésirables cutanés Acné, érythèmes, photosensibilisation, pellagre</p>	<p>Effets indésirables gastro-intestinaux Nausées, vomissements, douleurs abdominales Colite pseudomembraneuse</p>
<p>Effets indésirables neurologiques Neuropathies périphériques et oculaires, convulsions Agitation, insomnie, psychose réversible</p>	<p>Effets indésirables immuno-allergiques Hypersensibilité immédiate (urticaire, œdème, choc anaphylactique) Phénomène d’Arthus avec insuffisance rénale aigüe.</p>
<p>Autres effets indésirables Pancytopénie Lupus induit Algoneurodystrophie (« syndrome épaule-main ») Nausées, gastralgies Fièvre, gynécomastie, cushing induit Interactions Médicamenteuses</p>	<p>Hypersensibilité retardée (syndrome pseudogrippal, arthralgies). Interactions médicamenteuses Puissant inducteur enzymatique</p>

1.2.Aspects pharmacochimiques d’Isoniazide et de la Rifampicine

1.2.1. Pharmacodynamique de INH et RIF

Les effets anti- tuberculose de l’INH et la RIF sur la *M.tb* sont représentés par le tableau 1.3.

PARTIE 1 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau 1.3 : Mécanisme d'action des médicaments antituberculeux de première ligne standard (Bhat *et al.*, 2018)

Découverte de médicament	Cible	Mécanisme d'action	Description
Rifampicine (RIF) (1963)	ARN bactérien Polymérase (RNAP)	Bactéricide inhibe la transcription RIF inhibe l'ARN polymérase dépendante de l'ADN bactérien par formant un complexe enzyme-médicament stable avec la sous-unité β d'ARN polymérase (RNAP-Rif), gène <i>rpoB</i> . Large spectre antibactérien, y compris une activité contre plusieurs formes de <i>Mycobacterium</i>	RIF- Semi-synthétique ; Un membre du groupe d'antibiotiques Rifamycine produit de <i>Streptomyces mediterranei</i> . L'ATB le plus puissant agent actuellement disponible.
Isoniazide (INH) (1952) (Activation peroxydante du promédicament par <i>M.tb</i> KatG)	InhA [Enoyl-(protéine acylporteur) réductase]	Bactéricide - perturbation de l'enveloppe cellulaire INH-Inhibe la biosynthèse de l'acide mycolique, un élément essentiel composant de l'enveloppe cellulaire de <i>M.tb</i> . Il spécifiquement inhibe l'InhA, l'énoyl réductase de <i>M.tb</i> , en former un adduit covalent avec le cofacteur NAD. L'adduit INHNAD agit comme un inhibiteur compétitif à liaison lente et serrée de InhA.	INH-appartient à la classe des médicaments pyridine-carboxyliques, contenant un cycle pyridine portant un groupe acide carboxylique. Très actif contre la réplication mais pas de bacilles dormants ou presque dormants

1.2.2. Pharmacocinétique de INH et la RIF

1.2.2.1. Isoniazide

L'INH est facilement absorbé lorsqu'il est administré soit oralement ou parentéralement. Concentrations plasmatiques maximales de 3 à 5 µg/mL se développent une à deux heures après l'ingestion orale de la dose de 300 mg chez l'adulte. L'INH se diffuse facilement dans tout le corps fluides et cellules. Environ 75% à 95% de la dose unique est excrété dans l'urine dans les 24 h (Motta *et al.*, 2017 ; Mukherjee *et al.*, 2019).

L'INH est métabolisé dans le foie, 50 à 90% du total de l'INH ingéré est acétylé par la N-acétyltransférase-2 (NAT2) en acétylisoniazid (AcINH), le principal métabolite urinaire de ce médicament. L'INH peut également subir des réactions non enzymatiques avec le pyruvate et le 2-oxoglutarate, pour former respectivement le pyruvate isonicotinyldiazone (INH-PA) et le 2-oxoglutarate isonicotinyldiazone (INH-KA) ; ou il peut former un complexe de base de Schiff (complexe isoniazidyl-pyridoxal, INH-PY) avec le pyridoxal-5-phosphate ; ou conjugué avec du glucose pour former le β-glucosyl isonicotinyldiazide (INH-GLC) (Ramappa et Aithal, 2013; Coudert et Rubat-Coudert, 2017).

INH peut également être hydrolysé en hydrazine (Hz) via l'amidase, avec la formation simultanée d'acide isonicotinique (INA). Ou, il peut être métabolisé en diverses espèces d'oxoacide hydrazine. L'acINH, à son tour, peut être hydrolysé en INA et en acétylhydrazine (AcHz), cette dernière pouvant subir une acétylation supplémentaire via NAT2 pour former de la diacétylhydrazine (DiAcHz), ou être désacétylée en Hz via une hydrolyse d'amidase. Hz à son tour, peut être dégradé en ammoniac ou acétylé via NAT2 pour former AcHz. L'INA susmentionné peut subir une conjugaison enzymatique avec la glycine pour former de l'isonicotinylglycine (Tostmann *et al.*, 2008; Du Preez et Loots, 2018).

Environ 80% de la plupart des métabolites INH (AcINH, AcHz, DiAcHz) sont excrétés dans l'urine. D'autres métabolites tels que l'acide isonicotinique peut être excrété sous forme de métabolite acide libre ou d'une espèce conjuguée avec de la glycine (isonicotinyl glycine). Moins de 10% de l'INH oral est excrété dans les fèces, et peut également être excrété dans le lait maternel. Les autres principaux produits d'excrétion urinaire de l'INH comprennent l'INH, l'hydrazine pyruvique et l'hydrazine alpha-cétoglutarique (Erwin *et al.*, 2019).

1.2.2.2. Rifampicine

Après l'administration orale, la concentration maximale dans le plasma est atteinte en 2 à 4 h. La RIF est désacétylée dans foie, probablement par l'enzyme hépatique B-estérases. Elle peut également être hydroxylée par les enzymes P₄₅₀. La RIF est éliminée rapidement dans la bile et une circulation entérohépatique s'ensuit. La réabsorption intestinale est réduite par la désacétylation, et donc le métabolisme facilite l'élimination du médicament. Jusqu'à 30% de la dose du médicament est excrété dans les urines et de 60% à 65% dans les selles. À propos 85% des concentrations sériques de la RIF sont liées aux protéines. La demi-vie varie de 1,5 à 5 h. La RIF est connu pour subir une auto-induction. La demi-vie est progressivement raccourcie d'environ 40% au cours des 14 premiers jours de traitement, en raison de l'induction d'enzymes microsomaux hépatiques qui accélèrent désacétylation de la RIF (Motta *et al.*, 2017; Mukherjee *et al.*, 2019).

1.2.3. Pharmacogénétique de INH et la RIF

En raison des différences génétiques humaines, le défi crucial dans la pratique clinique, le développement de médicaments et la réglementation est la forte hétérogénéité interindividuelle de la réponse xénobiotique, y compris les médicaments, entraînant une inefficacité ou même un taux élevé de réactions toxiques indésirables (Drakoulis et Papasavva, 2021).

L'INH est principalement métabolisé par acétylation via la N-acétyl transférase 2 (NAT2). Le taux d'élimination de l'INH dépend d'activité métabolique NAT2, et l'activité est contrôlée par des allèles. Selon le génotype NAT2, les patients peuvent être caractérisés aussi lent (sans allèles actifs), intermédiaire (hétérozygote pour NAT2*4) et des acétylateurs rapides (homozygotes pour NAT2 * 4, type sauvage). Des études *in vitro* ont démontré que l'INH inhibe le CYP1A2, le CYP2A6, le CYP3A4 / 5 et le CYP2C19 de manière concentration-dépendante, puis les acétylateurs rapides présentent un risque plus élevé d'échec du traitement, alors que les acétylateurs lents peuvent développer une hépatotoxicité (Russo *et al.*, 2016; Motta *et al.*, 2017).

De plus, la RIF est un substrat de transporteurs de médicaments tels que la glycoprotéine P et l'OATP1B1. C'est un inducteur bien connu du système CYP₄₅₀, des enzymes UGT1A1, mais aussi du transporteur P-glycoprotéine codé par ABCB1. La RIF régule à la hausse le CYP3A4 et les enzymes CYP2B6 en augmentant la transcription de l'ARNm par l'activation des récepteurs nucléaires (hPXR) (Russo *et al.*, 2016).

2. Toxicité des antituberculeux

L'hépatotoxicité induite par les médicaments antituberculeux est l'effet indésirable le plus répandu et le plus grave avec des taux de survenue de 4.8% à 36% dans différentes régions, et pourrait entraîner une insuffisance hépatique et une mortalité chez 15% et 67% des patients, respectivement. En plus, il existe d'autres effets indésirables médicamenteux induits par ces médicaments, tels que la néphrotoxicité et l'hématotoxicité, qui sont moins fréquents mais qui persistent ou sont mortels (Hu *et al.*, 2017). En revanche, la toxicité du système nerveux central a été étroitement associée à une surdose aiguë d'INH, caractérisée par une acidose métabolique, des convulsions répétitives et un coma (Ruan *et al.*, 2018).

De plus, L'ovaire est vulnérable au stress oxydatif, qui peut provoquer une toxicité reproductive à travers de multiples stimuli. Les ERO produites par l'INH peuvent entraîner une détérioration des ovocytes et retarder le développement de l'embryon par le biais d'un stress oxydatif sur le foie. Certaines études ont montré qu'elles provoquent également une toxicité testiculaire chez les mammifères (Qiao *et al.*, 2021).

2.1. Hépatotoxicité des antituberculeux

2.1.2. L'hépatotoxicité induite par l'INH

Plusieurs voies sont impliquées dans l'hépatotoxicité induite par l'INH

2.1.2.1. Dysfonctionnement mitochondrial

Les mitochondries sont des organites intracellulaires qui ont été considérées comme une véritable centrale d'énergie produite sous forme d'ATP indispensable pour la cellule. Elles jouent un rôle capital dans l'homéostasie cellulaire en modulant le métabolisme cellulaire, la genèse des espèces réactives de l'oxygène (ERO), l'apoptose cellulaire (Chaussonot *et al.*, 2011; Xia *et al.*, 2019).

Le dysfonctionnement mitochondrial a été défini comme une efficacité réduite des mitochondries à produire de l'ATP due à une perte de potentiel de membrane mitochondriale, des altérations de la fonction de la chaîne de transport d'électrons, avec une augmentation de la génération des ERO et une diminution de l'oxygène consommation (Videla *et al.*, 2022).

De nombreuses études ont démontré que le dysfonctionnement mitochondrial est préjudiciable aux cellules, aux tissus et aux organismes, néanmoins, les mitochondries dysfonctionnelles peuvent signaler d'une manière particulière en réponse au stress (Liu *et al.*, 2016; Advani *et al.*, 2021). Les xénobiotiques sont capables d'altérer la fonction

mitochondriale par différents mécanismes, tels que l'inhibition directe de l'oxydation des acides gras mitochondriaux, l'altération de la réplication de l'ADN mitochondrial (ADNmt) et le stress oxydatif (Figure 1.4). Les rapports suggèrent que la toxicité de l'INH résulte de l'initiation de l'apoptose couplée à une perturbation potentielle de la membrane mitochondriale et à la division du brin d'ADN (Perwitasari *et al.*, 2015).

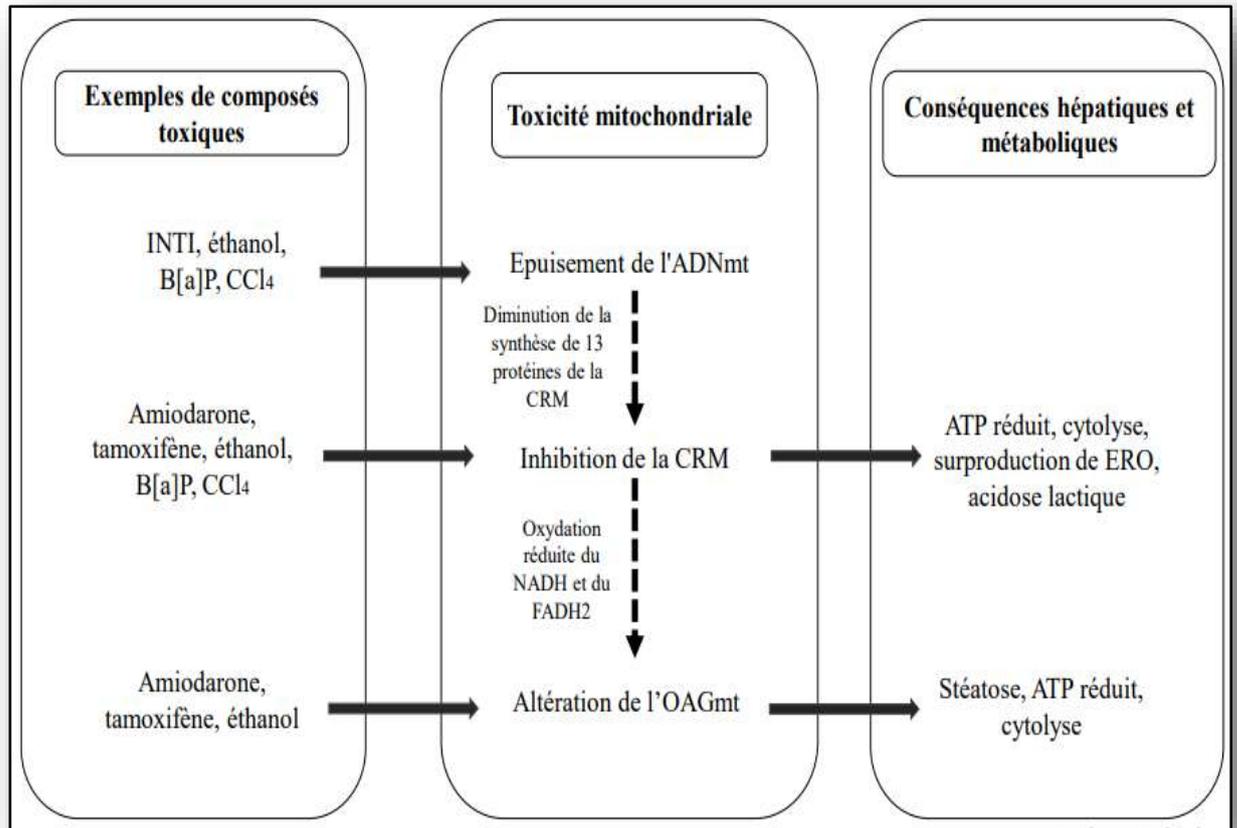


Figure 1.4 : Les composés toxiques peuvent altérer la fonction mitochondriale dans le foie via différents mécanismes, notamment l'épuisement de l'ADNmt, l'inhibition de la CRM et l'altération de l'oxydation des acides gras mitochondriaux. ADNmt, ADN mitochondrial;

B[a]P, benzo[a]pyrène; CCl₄, carbone tétrachlorure ; CRM, chaîne respiratoire mitochondriale; ERO, espèces réactives de l'oxygène ; INTI, inhibiteurs nucléosidiques de la

transcriptase inverse ; OAGmt, oxydation des acides gras mitochondriaux (Begrliche *et al.*, 2019)

2.1.2.2. Stress oxydatif

Le stress oxydatif a été considéré comme un mécanisme pathologique conjoint impliqué dans les lésions hépatiques (Li *et al.*, 2015). Un déséquilibre entre la présence d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote et la capacité de l'organisme à neutraliser leur action par les systèmes antioxydants. Ce déséquilibre peut endommager certaines macromolécules (acides nucléiques, lipides et protéines), conduisant à l'apparition des diverses maladies (Pisoschi et Pop, 2015; Smaga *et al.*, 2015). Des études antérieures ont montré que le stress oxydatif induit par les ERO joue un rôle important dans la toxicité induite par l'INH (Çelik *et al.*, 2020). Des rapports ont suggéré une corrélation plus forte entre une sévérité plus élevée de l'hépatotoxicité de l'INH avec les espèces réactives de nitrite (ERN) qu'avec les ERO ; il est donc possible que la génération de peroxynitrite (ONOO) et le dysfonctionnement mitochondrial contribuent de manière significative à une telle toxicité (Lei *et al.*, 2021).

2.1.2.3. Peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique (LPO) est une séquence de réactions dévastatrices dans les membranes cellulaires. Une fois initiées, les ERO oxydent les acides gras polyinsaturés (AGPI) dans la membrane de manière auto-propagée (Alban *et al.*, 2018). Elle désigne la dégradation oxydative des lipides. Libérer les radicaux « volent » des électrons aux lipides des membranes cellulaires, créer des dommages cellulaires tels que des changements dans la structure, l'accumulation et la dynamique des membranes lipidiques ; conduisant à un mécanisme de réaction en chaîne de radicaux libres, provoquant des composés hautement réactifs. La cascade de LPO peut être expliquée en trois étapes, appelées initiation, propagation et terminaison dont chaque processus est représenté sur la figure 1.5 (Evans *et al.*, 2021). La LPO endogène est impliquée dans la cytotoxicité de l'INH (Nwidu *et al.*, 2018). Bien que l'INH lui-même ne génère des radicaux libres directement mais génère des radicaux libres via la voie métabolique en produisant des métabolites réactifs tels que l'hydrazine et la diacétylhydrazine ; ces deux métabolites conduisent à formation de radicaux libres et provoquer de graves lésions cellulaires (Sahu *et al.*, 2019). La LPO accumulés entraîne la formation des dérivés toxiques entraînant endommagement de l'intégrité de la membrane, dysfonctionnement des mitochondries (Zhong et Yin, 2015; Xiao *et al.*, 2017).

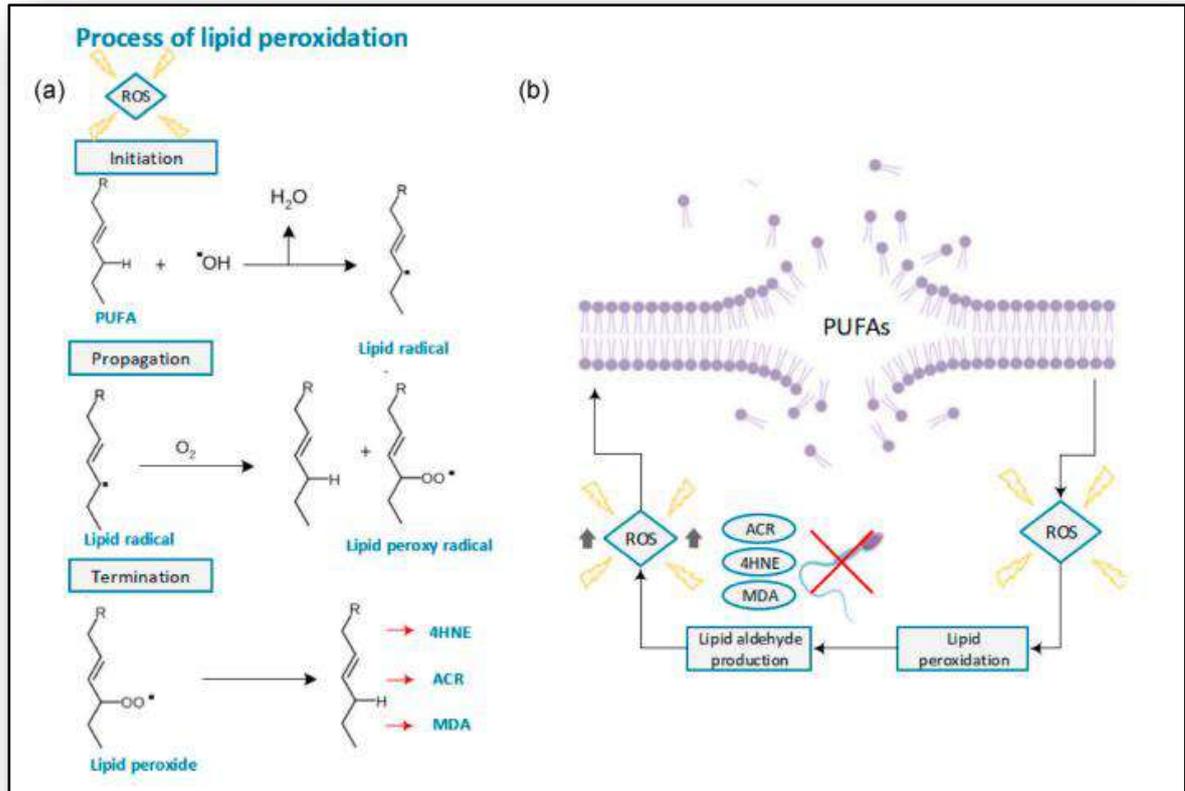


Figure 1.5 : Peroxydation lipidique (a) La cascade de peroxydation lipidique expliquée en trois étapes, appelées initiation, propagation et terminaison. (4-hydroxynonanal (4HNE), malondialdéhyde (MDA) et acroléine (ACR)) (b) La peroxydation lipidique provoque une génération de divers aldéhydes lipidiques électrophiles comme l'ACR, le 4HNE et le MDA. Ces électrophiles réduisent la fonction des cellules et provoquent encore plus de génération d'ERO (Evans *et al.*, 2021)

2.1.2.4. Métabolites d'INH

L'hépatotoxicité induite par l'INH est considérée comme idiosyncratique, c'est-à-dire que les métabolites toxiques réactifs (hydrazine, monométhylhydrazine) sont plutôt responsables de l'hépatotoxicité que le médicament d'origine (Fatima *et al.*, 2013 ; Hassan *et al.*, 2015). Le métabolisme de l'INH est associé à la lésion hépatique. Le groupe azote présent dans la structure chimique d'INH subit métabolisme qui entraîne la formation de métabolites réactifs conduisant à une hépatotoxicité. Acétylhydrazine (AcHz), hydrazine (Hz) et l'acétylisoniazide (AcINH) sont les principaux métabolites de INH, qui peuvent provoquer une nécrose hépatique (Metushi *et al.*, 2012 ; Cheng *et al.*, 2013) .

Ces métabolites réactifs provoquent une création induite d'ERO et une génération d'espèces d'azote après avoir été métabolisées par les enzymes, qui comprennent CYP2E1 (Nanashima *et al.*, 2012). Les enzymes qui jouent un rôle important dans le métabolisme de l'INH sont la N-acétyltransférase 2 (NAT2) et le CYP2E1. Ces enzymes sont connues pour amplifier les périls hépatotoxicité (Figure 1.6) (Ingawale *et al.*, 2014).

2.1.3. Hépatotoxicité induite par RIF

La RIF est considérée comme un puissant inducteur de fonction oxydases qui augmentent l'hépatotoxicité de l'isoniazide en augmentant la production de métabolites toxiques à partir d'acétylhydrazine. Le récepteur Xeno Sensing Pregnane X (PXR) fait partie de la superfamille des récepteurs nucléaires des facteurs de transcription dépendants du ligand et il peut être activé par des médicaments comme la RIF. Ces PXR activés se lie aux éléments de réponse dans les promoteurs et ainsi régule la transcription du cytochrome P450 (CYP) et glutathion S-transférase (GST). Ce sont à la fois les enzymes de la phase I et II qui métabolisent les médicaments. La RIF est un puissant inducteur de multiples voies enzymatiques métaboliques, en particulier système cytochrome P450 à travers l'hépatocyte PXR (Figure 1.6) (Hassan *et al.*, 2015).

2.1.4. Cibles impliquées dans l'hépatotoxicité induite par l'INH-RIF

La stratégie thérapeutique vis-à-vis la tuberculose nécessite l'utilisation d'INH et RIF en phase d'attaque et en phase d'entretien. Plusieurs cibles sont impliquées dans l'hépatotoxicité induite par l'INH et la RIF :

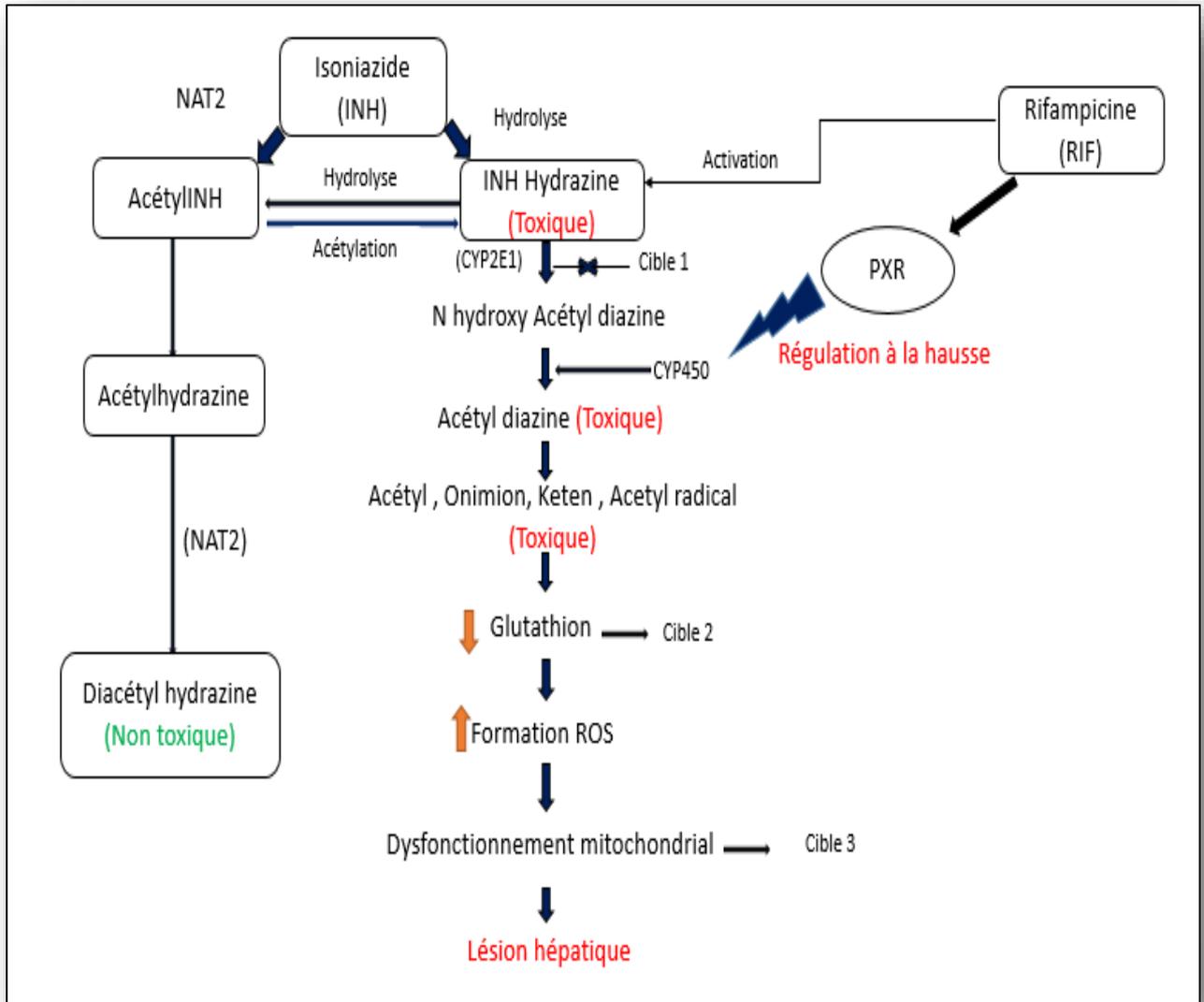


Figure 1.6 : Voies métaboliques de l'INH-Rifampicine induisant des lésions hépatiques (John et Kale, 2019)

2.1.4.1. Activation de la voie Nrf2-ARE

Les ROS entraînent des dommages à l'ADN et conduisent au vieillissement et à la mort cellulaire (Saito *et al.*, 2015). Le facteur nucléaire érythroïde 2 lié au facteur 2 (Nrf2), un facteur clé de transcription dans la défense antioxydant (Erukainure *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2020a). Dans le processus physiologique normal, Nrf2 et la protéine 1 associée à l'ECH de type kelch (Keap1) restent sous forme d'hétérodimère dans la cellule. Dans le cas de stimuli externes à la cellule, tels que l'inflammation, la toxicité et les dommages, Nrf2 et Keap1 sont séparés et l'équilibre au sein de la cellule est perturbé. Ensuite, Nrf2 pénètre dans

le noyau cellulaire et active les gènes antioxydants, les enzymes de détoxification et les molécules de transport telles que HO-1, NQO1, Gclm et Gclc (Jin *et al.*, 2017).

Lorsque le stress oxydatif est stimulé par les métabolites toxiques des antituberculeux, la voie Nrf2-ARE est déclenchée et régule à la hausse une série de gènes cibles, dans le noyau, le Nrf2 se lie à l'ARE dans l'ADN. Par la suite, la transcription des enzymes antioxydants, des enzymes détoxifiantes (SOD, GST et Catalase) et des protéasomes est régulée à la hausse pour se défendre contre le stress oxydatif chez cellules (Shen *et al.*, 2019; Karan *et al.*, 2020). Cependant, l'exposition continue aux médicaments antituberculeux, la voie de signalisation Nrf2-ARE a montré une expression plus faible indiquant la protéine être attaquée par les métabolites toxiques (Figure 1.7) (Zhang *et al.*, 2016).

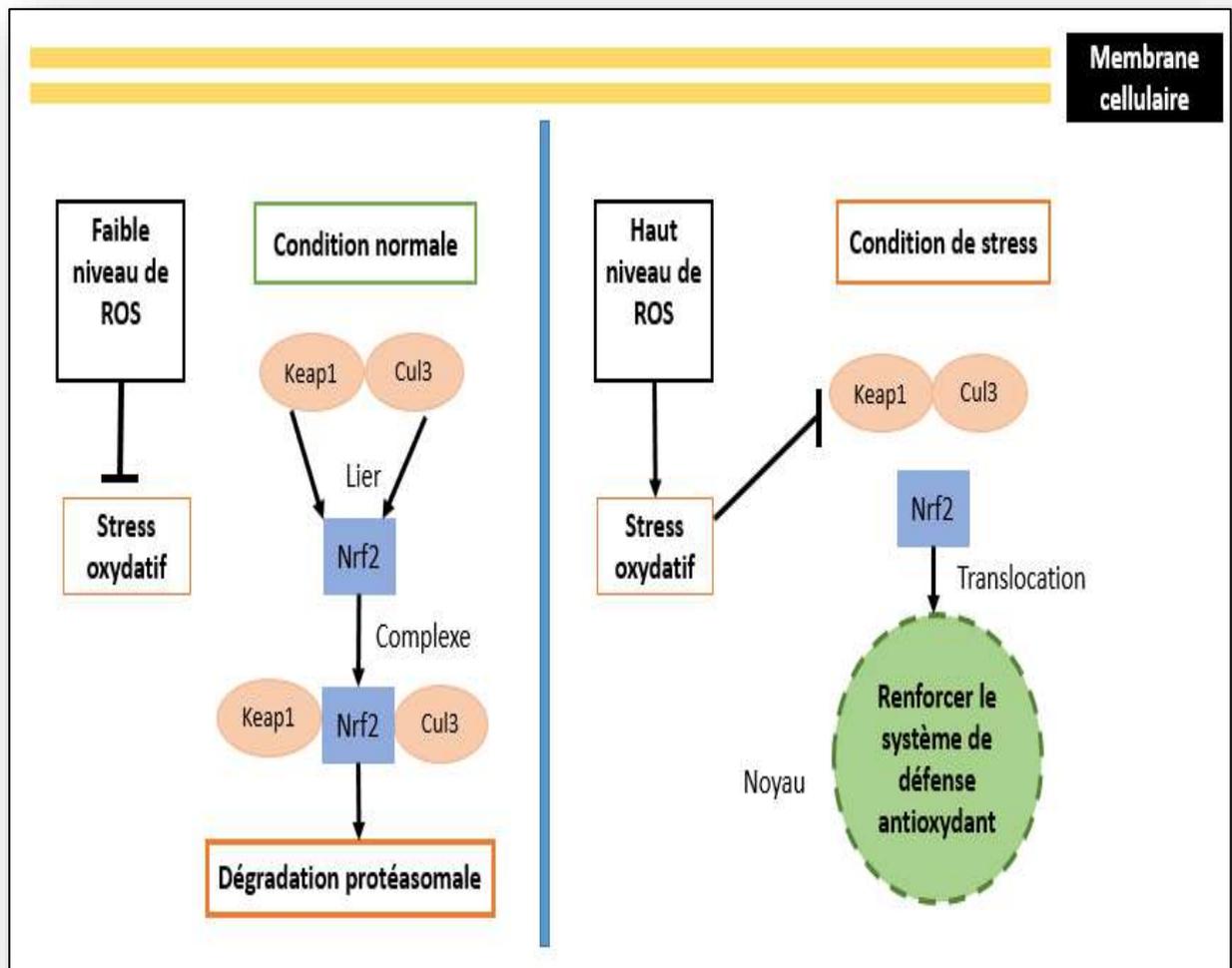


Figure 1.7 : La fonction de la voie de signalisation Nrf2 pendant la condition de stress (Ashrafizadeh *et al.*, 2020)

2.1.4.2. Ciblage CYP2E1

La superfamille du cytochrome P450 (CYP) comprend une grande variété d'enzymes impliquées dans le métabolisme des xénobiotiques et endogènes composés (Burkina *et al.*, 2019). Parmi les membres de la famille du cytochrome P450, l'isoenzyme le 2E1 (CYP2E1) qui fait l'objet de nombreuses études car il s'agit d'une enzyme clé dans l'activation métabolique de divers xénobiotiques (Sutti *et al.*, 2014). Le traitement à l'INH et à la RIF régule la fonction hépatique CYP2E1. La surexpression du CYP2E1 entraîne l'élévation des médiateurs inflammatoires dans le foie. Par contre l'inhibition de Le CYP2E1 peut entraîner une réduction de la formation de métabolites toxiques et diminuant ainsi la génération de radicaux libres donc une réduction des lésions hépatiques (Hassan *et al.*, 2017).

2.1.4.3. Cibler la transition de perméabilité mitochondriale

Les mitochondries sont composées de la membrane mitochondriale externe, d'une région inter-membranaire, d'une membrane interne et d'une matrice contenue par la membrane interne qui abrite un certain nombre de constituants importants tels que les enzymes essentielles au cycle de l'acide tricarboxylique (cycle d'acide citrique ou cycle de Krebs). La transition de perméabilité mitochondriale représente un extrême forme de perturbation résultant d'un changement encore incomplètement caractérisé mais très significatif de la structure de la mitochondrie (Winqvist et Gribkoff, 2020).

Dans la plupart des conditions, le PTPM est fermé, la capacité élevée de la membrane mitochondriale interne, la charge négative relative de la matrice, et le potentiel de membrane mitochondriale ($\Delta\psi_m$). Lorsque le PTPM est ouvert, la capacité de la membrane mitochondriale interne diminue, la charge négative de la matrice se dissipe et $\Delta\psi_m$ s'effondre. Cela peut aussi conduire à la libération du cytochrome c, qui, avec d'autres facteurs, initie les voies de mort cellulaire. On peut noter également que l'ouverture des pores de transition de perméabilité transitoire peut se produire, et cela ne conduit pas à la mort cellulaire et peut remplir une fonction physiologique (Beutner *et al.*, 2016). Le potentiel de membrane intérieur-négatif a tendance à se stabiliser le pore de transition de perméabilité dans la conformation fermée, tandis que la dépolarisation favorise l'ouverture des pores (Figure 1.8) (Bernardi *et al.*, 2015). Cependant, l'ouverture incontrôlée du PTPM conduit à une nécrose cellulaire et, peut-être, l'apoptose (Bernardi, 2013). Un dysfonctionnement mitochondrial a été observé dans l'hépatotoxicité induite par l'INH-RIF (Bhadoria *et al.*, 2010). Le ciblage de la transition de perméabilité mitochondriale peut empêcher l'apparition

de dysfonctionnement mitochondrial et ainsi protéger les cellules hépatiques des dommages causés par les médicaments antituberculeux (Haouzi *et al.*, 2000).

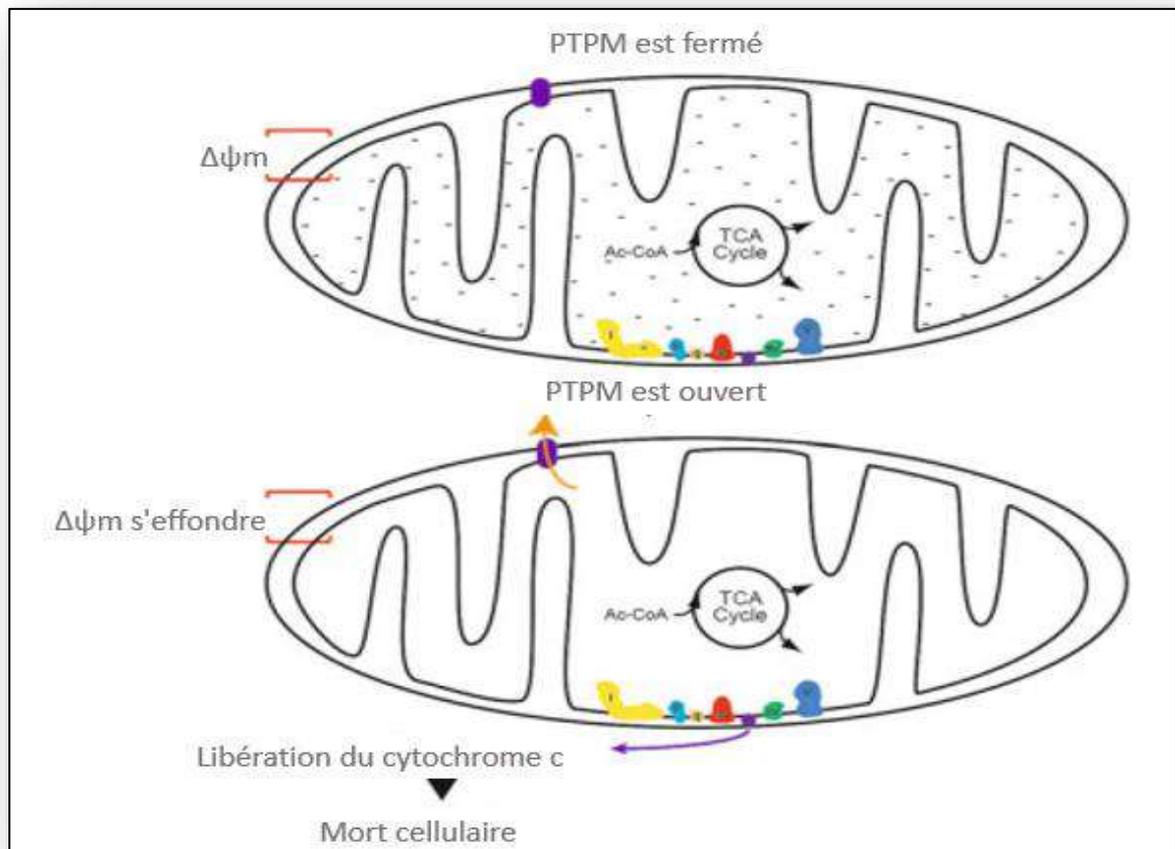


Figure 1.8 : Le pore de transition de perméabilité mitochondriale (PTPM) (Beutner *et al.*, 2016)

2.1.4.4. Cibler la voie du glutathion

Glutathion (GSH, c-glutamyl-cystéinyl-glycine), le thiol le plus abondant dans les cellules, joue un rôle clé dans de nombreuses fonctions cellulaires, en particulier ceux qui régissent l'état redox des cellules vivantes. De plus, le GSH sert d'antioxydant pour protéger les cellules en piégeant radicaux libres (Fraternale *et al.*, 2009).

En conséquence, GSH est connu pour jouer un rôle clé dans le contrôle du stress oxydatif dans l'homéostasie redox, qui implique l'interconversion de sulfhydryle réduit (GSH) et oxydé formes de disulfure (GSSG). Des niveaux anormaux de GSH servent également de signaux pour de nombreuses maladies (Lee *et al.*, 2018). La biosynthèse du GSH est sous le contrôle de Nrf2, le régulateur clé de la réponse cellulaire contre le stress oxydatif (Tableau 1.4) (Yamamoto *et al.*, 2018).

Tableau 1.4 : Rôles du glutathion chez les animaux (Wu *et al.*, 2004)

Défense antioxydant	Élimination des radicaux libres et d'autres espèces réactives Éliminer l'hydrogène et les peroxydes lipidiques Prévenir l'oxydation des biomolécules.
Métabolisme	Synthèse des leucotriènes et des prostaglandines Conversion du formaldéhyde en formiate Production de D-lactate à partir de méthylglyoxal Formation de mercapturates à partir d'électrophiles Formation d'adduit glutathion-NO Stockage et transport de la cystéine.
Régulation	Statut redox intracellulaire Transduction du signal et expression génique Synthèse d'ADN et de protéines et protéolyse Prolifération cellulaire et apoptose Production de cytokines et réponse immunitaire Glutathionylation des protéines Fonction et intégrité mitochondriales.

2.2. Néphrotoxicité des antituberculeux

2.2.1. Néphrotoxicité induite par l'INH-RIF

Les reins éliminent la plupart des médicaments et leurs métabolites du corps. Ces médicaments peuvent être à l'origine de maladies rénales et la néphrotoxicité qui se manifeste de plusieurs manières (Kelly et Byrne, 2019). Les maladies rénales associées à la tuberculose comprennent l'infection directe des voies urinaires par *M.tb*, l'amylose secondaire, la néphrotoxicité médicamenteuse et la néphrite interstitielle tuberculeuse (Chapagain *et al.*, 2011).

Le médicament antituberculeux généralement impliqué dans la cause de l'insuffisance rénale aiguë est la RIF (Sahu *et al.*, 2018). Cette complication du traitement antituberculeux survenant chez moins de 0.1% des patients avec la tuberculose (Rosati *et al.*, 2013). Beebe et ses collaborateurs ont suggéré que l'exposition intermittente ou antérieure à un régime de traitement antituberculeux contenant de la RIF est supposée être liée à la capacité de la RIF à

produire une réponse immunitaire, qui conduit à la destruction des cellules. De plus, il est suggéré que la RIF fonctionne en tant que molécule qui, lorsqu'elle est liée à des protéines, déclenche une réponse immunitaire en créant des anticorps anti-RIF (Beebe *et al.*, 2015). Une étude de Chiba et ses collaborateurs a indiqué que la réadministration de médicaments antituberculeux de première intention, à l'exclusion de la RIF, n'a pas détérioré la fonction rénale du patient ; par conséquent, ils ont considéré que la maladie rénale aiguë observée était due à la RIF (Chiba *et al.*, 2013).

Tableau 1.5 : Métabolites différentiels liés aux lésions rénales induites par l'utilisation combinée d'isoniazide et de rifampicine (Peng *et al.*, 2020)

Métabolites	<i>p</i> value	
	k test	Control vs Model
1,5-Anhydroglucitol	< 0.001	< 0.001
2,3-Dihydropyridine	< 0.001	0.020
4-Hydroxybutyric acid	0.030	0.020
5-Aminovaline	< 0.001	< 0.001
Alpha tocopherol	< 0.001	< 0.001
Alpha aminoadipic acid	< 0.001	< 0.001
Asparagine	< 0.001	< 0.001
Bis-2-hydroxypropylamine	< 0.001	< 0.001
Citrulline	< 0.001	< 0.001
Creatine	< 0.001	< 0.001
Cystine	< 0.001	< 0.001
D-Erythro-sphingosine	< 0.001	< 0.001
γ-Aminobutyric acid	0.050	0.030
Gluconic acid lactone	< 0.001	< 0.001
Glucose	< 0.001	0.010
Glycocyamine	< 0.001	< 0.001
Lactic acid	< 0.001	< 0.001
Linoleic acid	0.010	< 0.001
Methionine	< 0.001	< 0.001
Palmitoleic acid	< 0.001	< 0.001
Phosphate	< 0.001	< 0.001
Phosphogluconic acid	0.020	0.010
Pipecolinic acid	< 0.001	< 0.001
Proline	0.040	0.020
Ribose	0.030	0.010
Taurine	< 0.001	< 0.001
Thymine	< 0.001	< 0.001
Tyrosine	0.010	< 0.001
Uracil	0.010	0.030
Uridine	< 0.001	0.040
Valine	< 0.001	0.040

L'utilisation combinée d'INH et de RIF provoque des lésions rénales. Il est suggéré que la peroxydation lipidique, les radicaux libres générés par les voies métaboliques et la voie du GSH sont impliqués dans la néphrotoxicité induite par l'INH et le RIF (Sahu *et al.*, 2018). La perturbation des profils métabolomiques chez les rats atteints de lésions rénales a été analysée

par métabolomique non ciblée basée sur la GC-MS. Les résultats ont montré que l'utilisation combinée de l'INH et de la RIF affecte la capacité métabolique du rein et 31 métabolites significativement différents ont été identifiés, qui ont été considérés comme des biomarqueurs potentiels des lésions rénales d'origine médicamenteuse (Peng *et al.*, 2020). Cependant, une enquête moléculaire plus approfondie est encore nécessaire pour clarifier le mécanisme derrière l'effet néphrotoxique de l'INH et du RIF.

3. Stress oxydatif et inflammation

3.1. Inflammation

L'inflammation est une réaction de défense naturelle déclenchée lorsque le corps est menacé par des agents pathogènes, des cellules endommagées ou des irritants. Cette réponse est essentielle pour l'être humain afin de combattre les différentes infections, pour favoriser la cicatrisation et le rétablissement de la fonction normale du tissu endommagé. Cependant, elle peut avoir des effets néfastes si elle n'est pas régulée. Elle est caractérisée par 4 signes : une rougeur, un gonflement avec chaleur et douleur, et met en jeu un grand nombre de cellules et de nombreux médiateurs biochimiques. En outre, les cellules inflammatoires peuvent produire des ERO et de nitrogène qui peuvent déclencher des réactions d'oxydation toxiques, conduisant à des lésions tissulaires (Tableau 1.6) (Majdalawieh et Fayyad, 2015; Noack et Kolopp-Sarda, 2018).

Tableau 1.6 : Cellules de l'inflammation (Espinosa et Chillet, 2010)

Les cellules de système immunitaire	Cellules sanguines circulantes	Cellules résidentes tissulaires
La lignée monocytaire	Monocytes	Macrophages Les cellules dendritiques
Les cellules de la lignée myéloïde	La lignés granulocytaire	Neutrophiles Eosinophiles Basophiles
	Mastocytes	Mastocytes
Les cellules de la lignée lymphoïde	Lymphocytes Les cellules NK	

Tableau 1.7 : Les principaux médiateurs biochimiques dans la réponse inflammatoire (Mebirouk, 2017)

Médiateurs de l'inflammation	Membres	Source	Caractéristiques	Effets
Protéines sériques	La protéine c réactive « CRP »	- Sécrétée par le foie au moment de la phase aigüe de l'inflammation.	- Reconnaître et se lier au motif, e polysaccharide cell wall retrouvé sur la surface de certaines bactéries et champignons.	- Active le système du complément - Entraîne l'élimination du pathogène par sa lyse ou par la phagocytose
Amines vasoactives	Histamine	- Produites lors de la dégranulation des mastocytes.	- Se lie à des récepteurs retrouvés au niveau des capillaires et des veines.	- Entraînant une vasodilatation et une augmentation de leur perméabilité
Médiateurs lipidiques	Leucotriènes Prostanoides		- Produits par deux voies (voie COX1 et COX2 et la voie lipo- oxygénase) à partir de l'acide arachidonique	- Propriétés chimiotactiques pour les éosinophiles et les neutrophiles - Stimulent également la sécrétion de certaines cytokines : IL-2 et IFN γ
	Platelet Activating Factor (PAF)			- L'augmentation de la perméabilité vasculaire. - La stimulation de l'agrégation plaquettaire. - L'activation des leucocytes.
Dérivés d'oxygène et d'azote	NO	les éosinophiles, les neutrophiles et les macrophages	- Une courte durée de demi-vie < à 50 sec	- Contribuent à l'apoptose, et à la protéolyse de la MEC. - Impliqués dans la cascade de l'activation du NF κ B par l'IL-1 β en tant que second messenger. - Jouent deux rôles dans le processus inflammatoire : un rôle pro-inflammatoire et un rôle anti-inflammatoire.
Enzymes		Neutrophiles	- Enzyme hémiqque présente dans les granules des neutrophiles	- Activité peroxydase
Cytokines	-IL-1, IL-6 -TNF α -IFN α	- Produites par de très nombreux types cellulaires.	- Molécules solubles. - Nature glycoprotéique. - Faible PM. - Leur action se fait par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques.	- Permettent le dialogue entre les cellules. - Régulent la prolifération, l'activation la différenciation, la survie et la mort cellulaire.

Le déclenchement de l'inflammation fait appel à des facteurs synthétisés localement ou au niveau systémique dont certains sont des pro-inflammatoires et d'autres des anti-inflammatoires. Un déséquilibre entre ces deux groupes de médiateurs conduit à la chronicité de la réaction inflammatoire et à la destruction des tissus enflammés (Tableau 1.6).

3.1.1. L'origine de l'inflammation

Plusieurs facteurs contribuent au développement de l'inflammation (Figure 1.9). Ceux-ci incluent des facteurs de risque modifiables et non modifiables.

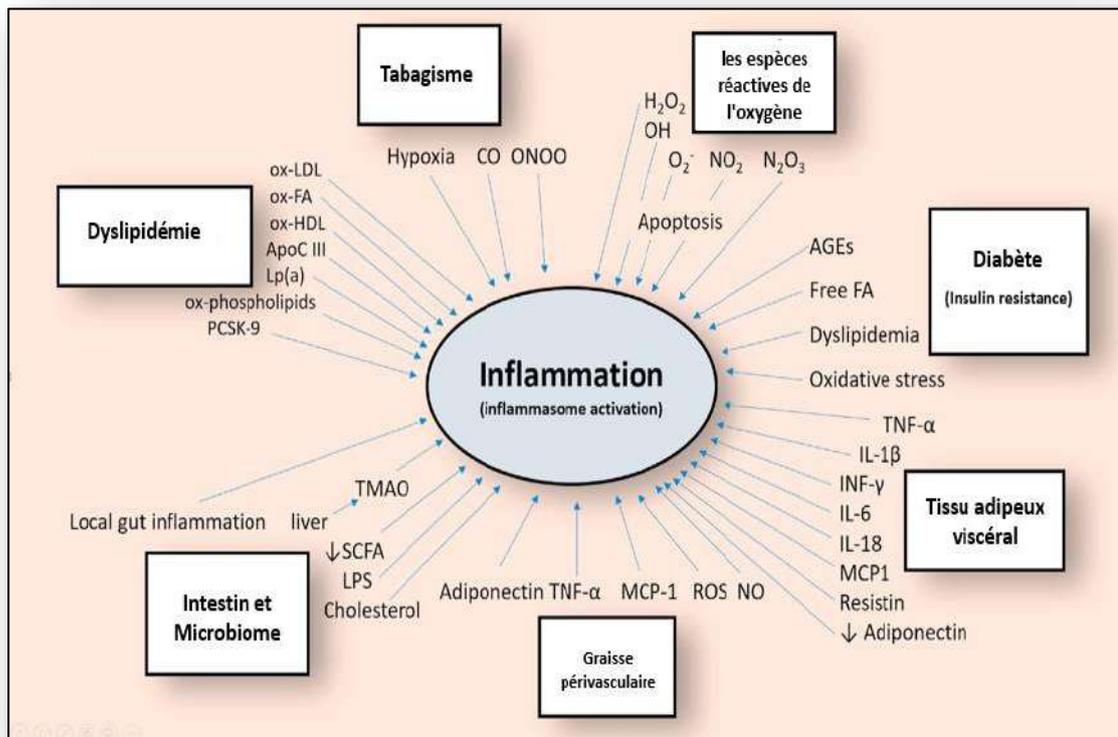


Figure 1.9 : Facteurs de risque et médiateurs de l'inflammation (Alfaddagh *et al.*, 2020)

3.1.2. Types d'inflammation

Le processus d'inflammation est aussi complexe qu'il y paraît et est divisé principalement dans l'inflammation aiguë et chronique (Iwalewa *et al.*, 2007).

3.1.2.1. Inflammation aiguë

La réponse inflammatoire aiguë est la première réaction protectrice montée par le tissu hôte contre les agents pathogènes envahissants, les corps étrangers et / ou les blessures. Caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. Elle se traduit par quatre symptômes

cardinaux : œdème, rougeur, douleur et chaleur. L'inflammation aiguë est un processus spatiotemporel non linéaire hautement coordonné, actif pour l'élimination des agents pathogènes et la réparation des tissus endommagés pour rétablir l'homéostasie. Cependant, un échec dans la résolution provoque une infiltration incontrôlée et persistante des cellules inflammatoires, conduisant ainsi à la progression en inflammation chronique (Lee et Surh, 2012; Rathinam et Fitzgerald, 2016; Serhan *et al.*, 2020). La réponse inflammatoire aiguë se déroule en trois phases ; phase vasculaire, phase cellulaire et phase de résolution.

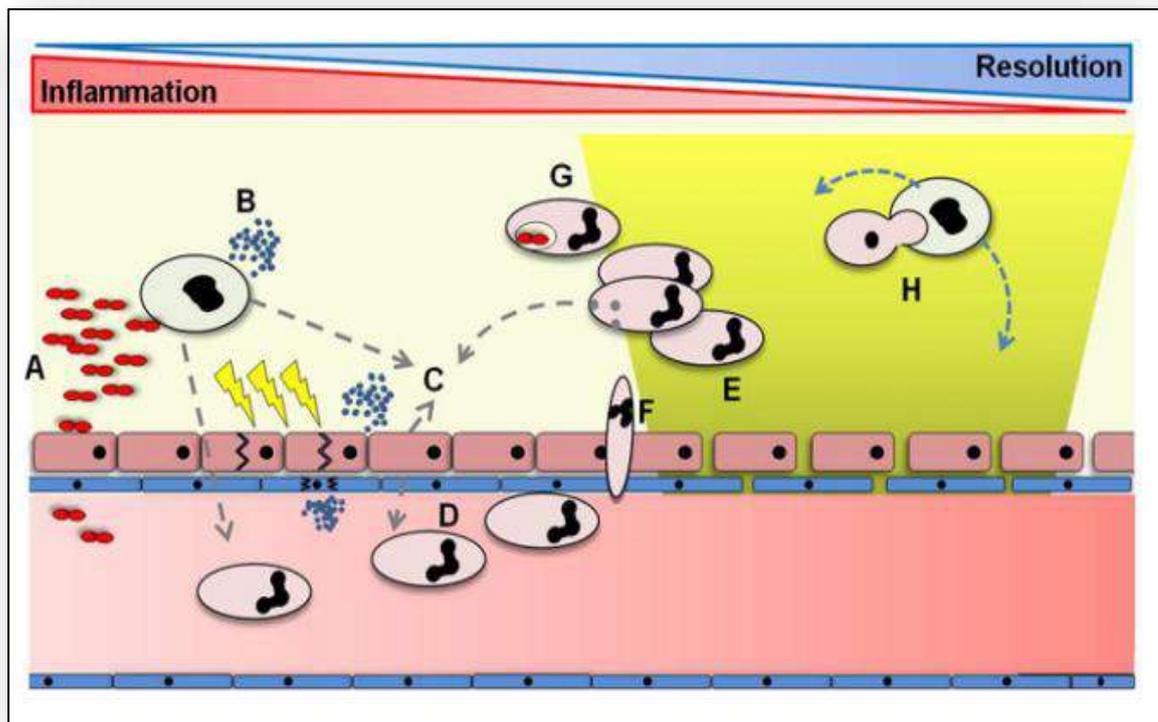


Figure 1.10 : La réponse inflammatoire aiguë (Dorward *et al.*, 2012)

Le processus inflammatoire aigu est déclenché par l'interaction d'agents pathogènes (A), ou de produits de lésion tissulaire stérile (B), avec des récepteurs de reconnaissance de forme trouvés sur les cellules inflammatoires résidentes dans les tissus affectés et les cellules épithéliales environnantes. Cette conduit à la libération de divers médiateurs pro-inflammatoires (C) entraînant l'activation des cellules endothéliales (D), la perméabilité vasculaire (E), l'adhésion des neutrophiles, la transmigration et l'activation (F) ainsi que l'activation des plaquettes et des monocytes. À l'entrée dans le les neutrophiles activés par les tissus enflammés dégranulent, libèrent des cytokines et phagocytosent des pathogènes étrangers (G). La résolution de l'inflammation nécessite l'infiltration de monocytes pour l'élimination des

agents pathogènes morts et mourants, l'élimination des neutrophiles apoptotiques, la libération de médiateurs pro-résolution et promotion de la réparation tissulaire (H). Les flèches grises indiquent la libération d'un médiateur pro-inflammatoire et les flèches bleues indiquent la libération des médiateurs pro-résolution (Figure 1.10).

3.1.2.2. Inflammation chronique

L'inflammation chronique présente de nombreuses caractéristiques d'inflammation aiguë, mais est généralement de faible grade et persistante, entraînant des réponses pathologiques qui conduisent à une dégénérescence tissulaire et peuvent déclencher une carcinogenèse (Kumar, 2020).

3.1.3. Voies d'inflammation

Une voie inflammatoire générique se compose d'inducteurs, de capteurs, de médiateurs et d'effecteurs, chaque composant déterminant le type de réponse inflammatoire.

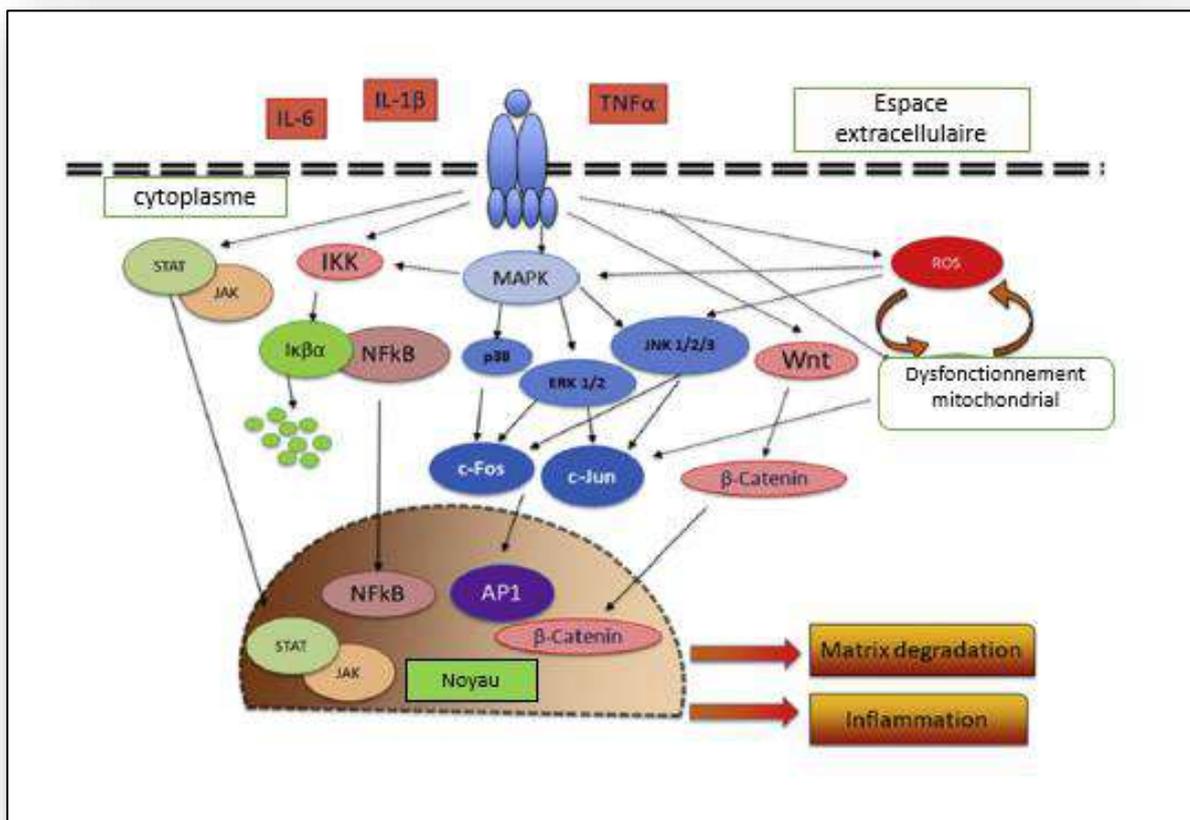


Figure 1.11 : Les principales voies de signalisation activée par des cytokines pro-inflammatoires (IL-1β, TNFα et IL-6) dans chondrocytes et leurs effets en aval (Ansari *et al.*, 2018)

Après les stimuli, le système immunitaire déclenche une orchestration complexe de cellules, cytokines et autres molécules qui agissent de manière paracrine, autocrine ou endocrine pour protéger l'organisme humain ; une réponse inflammatoire aiguë réussie devrait entraîner l'élimination des agents infectieux (ou d'autres facteurs nocifs) suivie d'une phase de résolution et de réparation. Bien que le processus inflammatoire doive être considéré comme un mécanisme protecteur, l'inflammation sous-tend une grande variété de processus non seulement physiologiques mais aussi pathologiques (Figure 1.11) (Cobo *et al.*, 2019).

La stimulation des chondrocytes avec IL-1 β , TNF α et IL-6 conduit à l'activation des voies de signalisation (JAK/STAT, MAPK, AP1, NF κ B et Wnt), ces cytokines modulent également la fonction mitochondriale et la production des ERO. L'activation de ces voies conduit à une expression accrue de molécules inflammatoires, matrice dégradant les protéases dans les chondrocytes (Ansari *et al.*, 2018).

3.1.4. Pathologies inflammatoires

Si la réponse inflammatoire aiguë n'est pas résolue, elle peut contribuer à pathologie organique et amplifier de nombreux phénotypes cliniques inflammatoires chroniques largement répandus, notamment l'arthrite, les maladies neurodégénératives, le syndrome métabolique, l'asthme, les allergies, le diabète, les processus inflammatoires du vieillissement et les cancers, la fibrose des organes, les maladies cardiovasculaires et parodontales (Serhan *et al.*, 2020). Plusieurs études biologiques fournissent des preuves que les radicaux actifs d'oxygène et d'azote produits par les tissus inflammatoires chroniques augmentaient le risque de cancer en supprimant l'activité antitumorale et en stimulant la carcinogenèse (Kumar *et al.*, 2019).

3.1.5. Traitement de l'inflammation

Il existe de nombreux anti-inflammatoires de synthèse et des antibiotiques sont disponibles, mais ils présentent plusieurs effets indésirables.

3.1.5.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont une classe de composés hétérogènes qui exercent des effets analgésiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires par l'inhibition de la biosynthèse des prostaglandines catalysée par la COX (Kumar *et al.*, 2013; Arora *et al.*, 2020).

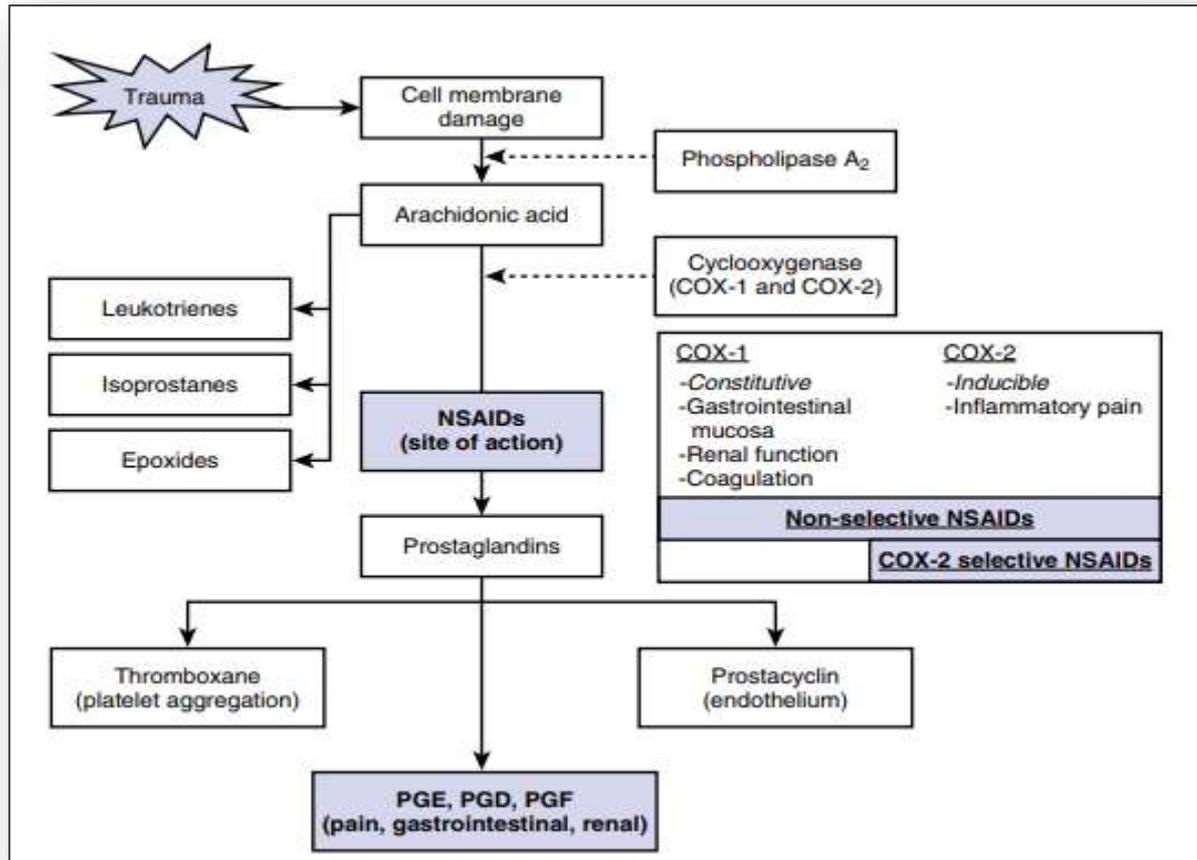


Figure 1.12 : Site d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). COX-1, cyclooxygénase-1; COX-2, cyclooxygénase-2; DPI, prostaglandine D ; PGE, prostaglandine E; PGF, prostaglandine F (Williams, 2018)

Les AINS figurent parmi les médicaments les plus fréquemment utilisés dans le monde (4.5 % de la consommation médicamenteuse des pays industrialisés), le plus souvent en automédication facilitée par leur disponibilité en vente libre dans les pharmacies (Dirou et Voiriot, 2015). L'impossibilité de dissocier les effets thérapeutiques des AINS de leurs effets indésirables s'explique par leur mécanisme d'action. En effet, les cyclooxygénases (COX) jouent un rôle clé dans la synthèse de la prostaglandine E₂ (PGE₂) à partir de l'acide arachidonique. COX a trois isomères : COX-1, COX-2 et COX-3. La COX-1 est principalement impliquée dans le maintien de la structure et de l'homéostasie de la cellule. La COX-2 est une enzyme puissante qui peut déclencher l'inflammation et favoriser la synthèse des prostaglandines après avoir été stimulée par divers facteurs inflammatoires tels que les cytokines et les bactéries. Cependant, de plus en plus de preuves montrent que la COX-2 a plus de fonctions, y compris la régulation négative des protéines de marque autophagique telles que LC2, Beclin, ATG-5 et p62, ainsi que l'inhibition de la sénescence cellulaire. Ces données

suggèrent que les rôles importants de la COX-2 peuvent jouer un rôle crucial dans l'initiation et la progression de la fibrose hépatique (Yang *et al.*, 2020). Une étude récente de Baidu et ses collaborateurs se concentre sur l'impact néfaste des AINS sur 6 organes principaux (l'estomac, l'intestin grêle, le cœur, le foie, les reins, les voies respiratoires et le cerveau) dont le fonctionnement coordonné est essentiel pour maintenir une vie saine (Bindu *et al.*, 2020).

Le mécanisme d'action des AINS est l'inhibition de la production de prostanoïdes à partir d'acide arachidonique soit par acétylation réversible ou irréversible de la COX (Figure 1.12).

L'aspirine appartient à la famille des AINS, et ses effets analgésiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires sont dus à l'inactivation des enzymes cyclooxygénase (COX)-1 et COX-2, supprimant la production de prostaglandines et de thromboxane. Cette réduction du thromboxane conduit également à une inhibition de l'agrégation plaquettaire, produisant un effet antithrombotique (Rolnik *et al.*, 2020).

3.1.5.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou glucocorticoïdes (GC) sont des molécules synthétiques dérivées d'hormones naturelles (cortisone et cortisol) ou semi-synthétiques d'extraits végétaux ou animaux. La principale caractéristique des GC est leurs puissants effets anti-inflammatoires et immunomodulateurs, qui permettent leur utilisation dans le traitement d'une variété d'affections inflammatoires telles que la polyarthrite rhumatoïde, la sclérose en plaques, l'asthme et les maladies du sein, et la dermatite (Kovačević, 2020).

Contrairement aux AINS, les GC sont capables d'inhiber toutes les phases de la réaction inflammatoire, par leur action directe sur les vaisseaux, ils diminuent les phénomènes vasculaires de l'inflammation, par leur effet antiprolifératif sur les histiocytes-monocytes-macrophages de tous les types, les lymphocytes, les plasmocytes, les fibroblastes et les neutrophiles polynucléaires, ils inhibent les phénomènes cellulaires précoces et tardifs de l'inflammation. À très fortes doses, les GC ont un effet lymphocytolytique permettant une inhibition de l'immunité à médiation cellulaire et, à un degré moindre, une capacité de bloquer la production d'anticorps via différents mécanismes (Touma *et al.*, 2021). Le tableau 1.8 explique les effets anti-inflammatoires des GC.

Tableau 1.8 : Les effets anti-inflammatoires des glucocorticoïdes (Touma *et al.*, 2021)

Effet	Cible	Conséquence
Augmenter la numération globulaire	Des neutrophiles	Diminuer leur trafic
Diminuer la numération formule sanguine	Des macrophages et des monocytes,	Le trafic et leur phagocytose et leurs effets bactéricides, et inhibent présentation de l'antigène, ce qui peut augmenter la sensibilité à infection
Diminuer le numération globulaire	Des lymphocytes	Le trafic, et la production de cytokines
	D'éosinophiles	Pour augmenter l'apoptose
	Des basophiles	La libération de médiateurs d'inflammation
Suppriment également les fibroblastes prolifération IL-1	Synthèse de métalloprotéinase induite par le facteur de nécrose tumorale	
Inhibent l'activité de plusieurs cytokines T helper de type 1	IL-1 β , IL-2, IL-3 et IL-6	
Inhiber la production de cyclooxygénase-2	La formation de métabolites d'acide arachidonique par l'induction de l'expression de la lipocortine-1 (un inhibiteur de la phospholipase A2)	
Bloquer la production d'anticorps	Une diminution de la synthèse des anticorps humoraux	

3.2. Stress oxydant

Le stress oxydatif décrit un changement dans l'équilibre complexe et étroitement contrôlé entre les antioxydants et les prooxydants, en faveur des prooxydants (Koc et Cam, 2021). Il est connu pour ses implications sur diverses progressions biologiques telles que la croissance, la prolifération, la différenciation et la mort. Les principaux acteurs du stress oxydatif sont les radicaux libres générés par le métabolisme cellulaire et les facteurs de stress externes (Kiran Kumar *et al.*, 2022).

Les ERO sont produits continuellement avec plusieurs sources par divers mécanismes. La production endogène est plus importante que celle d'origine exogène (Figure 1.13). En outre, La production contrôlée des ERO est essentiel pour assurer de nombreuses fonctions utiles ; l'élimination des pathogènes par les phagocytoses et d'autres cellules, tel que les cellules épithéliales pulmonaires et l'activation des voies de transduction du signal. Une large classe de molécules de transduction du signal sur lesquelles les ERO influencent leur fonction est les MAPK (mitogen-activated protein kinases) (Hurd *et al.*, 2012 ; Paiva et Marcelo, 2014).

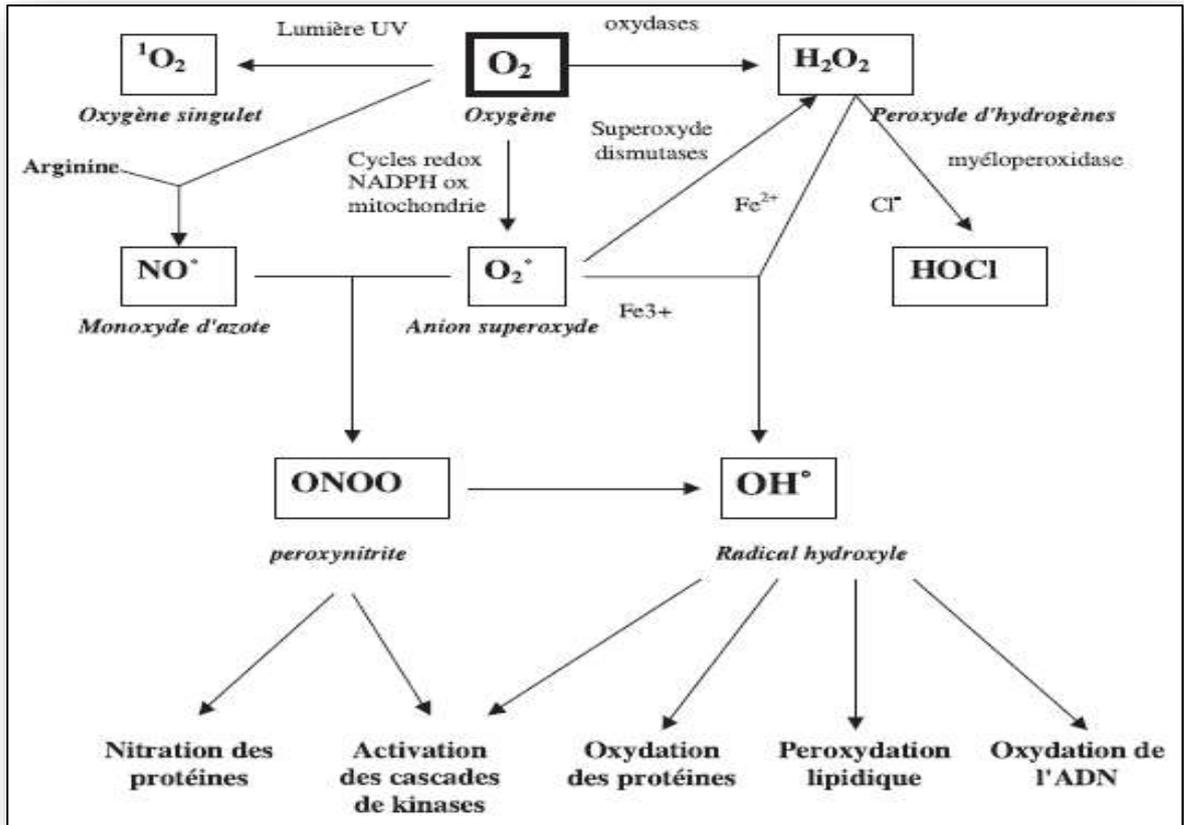


Figure 1.13 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003)

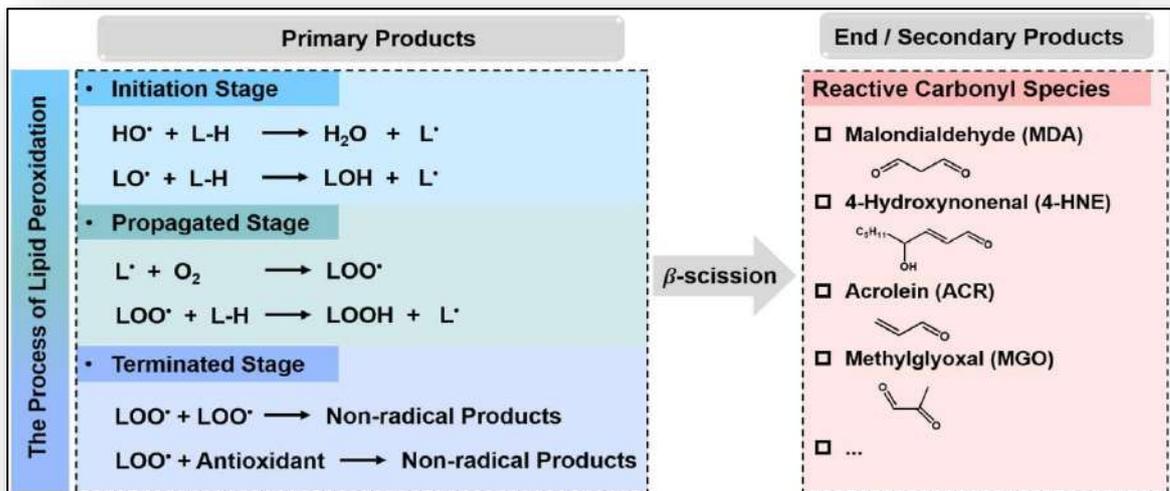


Figure 1.14 : Le processus et les produits de la peroxydation lipidique (Su *et al.*, 2022)

Cependant, la production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (Figure 1.14).

La peroxydation lipidique s'accompagne de la production d'une série de molécules bioactives, notamment des radicaux lipidiques, des radicaux peroxydes lipidiques, des hydroperoxydes lipidiques et certaines espèces carbonylées réactives. Ces molécules hautement bioactives jouent un rôle vital en biologie cellulaire (Su *et al.*, 2022).

3.2.1. Maladies liées au stress oxydatif

Le stress oxydatif est impliqué dans de très nombreuses pathologies (Tableau 1.9) telles que le cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, vieillissement accéléré (Favier, 2006).

Tableau 1.9 : Relations entre les maladies et le stress oxydant

Maladies dues à une production insuffisante de radicaux libres	Maladies où le stress oxydant est la cause primordiale	Maladies où le stress oxydant fait partie des facteurs déclencheurs	Maladies entraînant un stress oxydant secondaire
<ul style="list-style-type: none"> • Agranulomatose septique • Psoriasis 	<ul style="list-style-type: none"> • Cancers • Auto-immunité • Cataracte • Dégénérescence maculaire • Sclérose latérale amyotrophique • Photo vieillissement cutané • Photosensibilisation • Irradiation • Intoxications : CCl₄, Cd, Fe, alcool, • Hémochromatose 	<ul style="list-style-type: none"> • Maladie d'Alzheimer • Stérilités masculines • Maladies virales : EBV, HVB • Rhumatismes • Athérome • Asthme • Insuffisance respiratoire 	<ul style="list-style-type: none"> • Diabète • Insuffisance rénale • Mucoviscidose • Sida • Choc septique • Infarctus du myocarde • Ischémies/reperfusion • Parkinson • Brûlures • Thalassémie • Greffes d'organes <p style="text-align: center;">Traitements :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anticancéreux • PUVA thérapie • Oxygène hyperbare

3.2.2. Systèmes de défenses antioxydants

Tableau 1.10 : Les antioxydants avec leur mécanisme d'action sur les ERO (Ihsan *et al.*, 2018)

Antioxydant	Mécanisme d'action
Superoxyde Dismutase (SOD)	Neutralise l'anion superoxyde intra et extracellulaire, empêche la formation d' HO°
Catalase (CAT)	Conversion de H_2O_2 en O_2 et H_2O
Glutathion peroxydase (GPX)	Neutralise les anions, les peroxydes et les radicaux hydroxyles.
Peroxiredoxines (PRDX)	Piéger les hydroperoxydes (par exemple le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et les hydroperoxydes) et peroxynitrite (ONOO^-)
Co-enzyme Q10 (CoQ10)	Élimine les radicaux libres sous sa forme réduite
Carnitine / L carnitine	Élimine ainsi les anions superoxyde et les radicaux de peroxyde d'hydrogène Inhibant la peroxydation lipidique et oxydant les acides gras en les mitochondries.
Glutathion	Forme des adduits avec des aldéhydes cytotoxiques et des radicaux, par exemple H_2O_2 , anion superoxyde, radicaux hydroxyle et radicaux alcoxyle.
Vitamine E	Antioxydant brise-chaîne, neutralise les radicaux libres.
Vitamine C	Antioxydant qui brise la chaîne.
Les isoflavones	Inhibe la production de H_2O_2 .
Pentoxifylline	Inhibe la libération d'anion superoxyde
Thé vert	Réduit la peroxydation lipidique, les dommages à l'ADN, l'extinction des radicaux libres et chélatant les métaux de transition.
Polyphénol oligomérisé	Anti-inflammatoire, régule la phosphorylation des voies : Ik Ba et du NF- κ B
Quercétine	piégeur de radicaux libres, inhibiteur de la xanthine oxydase, ion chélatant, anti-cytokine.
Tempol	Réduit la fragmentation de l'ADN et la peroxydation lipidique.
N-acétyl cystéine	Regulates miR-141 and signaling of Keap1/Nrf2

Les antioxydants sont définis comme « toute substance qui retarde, prévient ou supprime les dommages oxydatifs d'une molécule cible ». Ils sont des composés d'origine endogène (enzymatiques ; SOD, CAT, GPX, La thiorédoxine ou non enzymatiques ; Le glutathion, les protéines-thiols, Acide urique,...) ou d'origine exogène (vitamines, polyphénols, N-acetylcystéine, Les oligoéléments.....) qui servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour les neutraliser et minimiser les dommages oxydatifs (Redza-Dutordoir et Averill-Bates, 2021). Le tableau 1.10 présente les différents mécanismes d'action des antioxydants sur les ERO.

3.3. Antioxydants/Anti-inflammatoires d'origine végétale

Grace à leurs diverses activités biologiques bénéfiques, les plantes médicinales sont largement utilisées par l'homme. Ces activités sont dues à leur richesse en métabolites secondaires bioactif.

❖ Les polyphénols sont une grande famille de substances bioactives provenant du thé, des fruits, des légumes, des racines, des graines, du cacao (Ma *et al.*, 2020). Le principal mécanisme d'action des polyphénols résidait dans leurs effets antioxydants directs. Cependant, un nombre d'autres mécanismes biochimiques et moléculaires possibles ont été identifiés (Figure 1.15), y compris des effets multiformes dans les voies de signalisation intracellulaires et intercellulaires, telles que la régulation des facteurs de transcription nucléaires et du métabolisme des graisses, et modulant la synthèse des médiateurs inflammatoires (Fraga *et al.*, 2019).

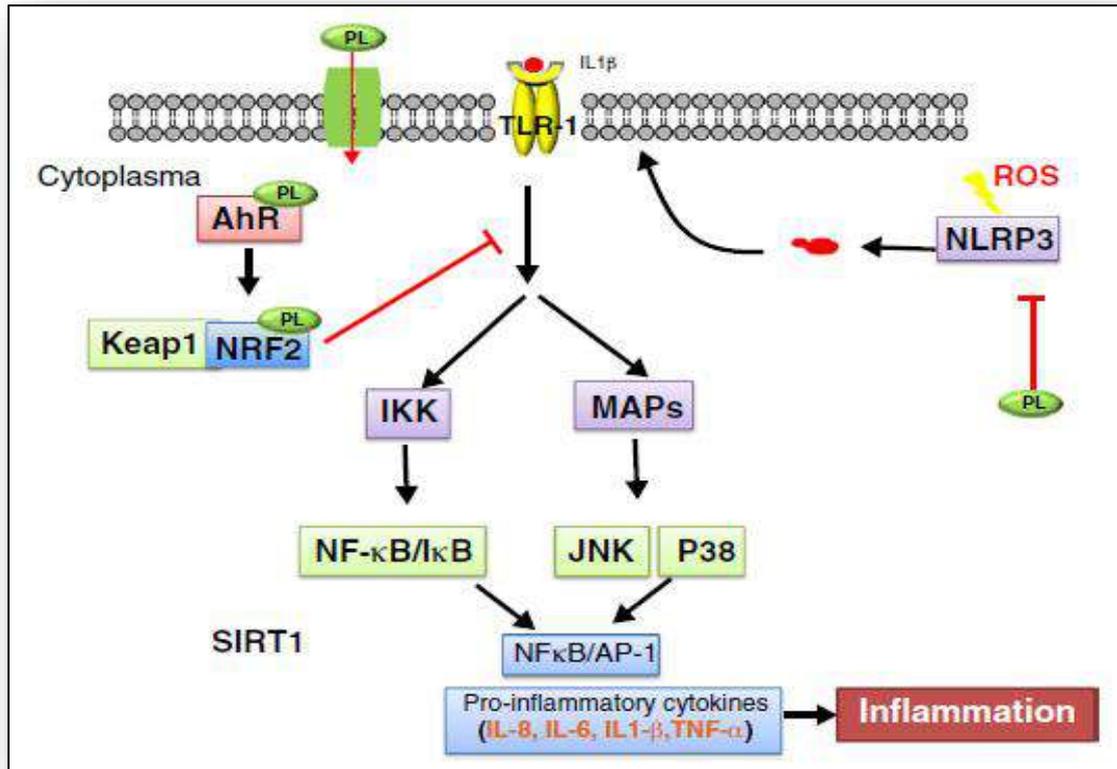


Figure 1.15 : Mécanisme illustré pour les polyphénols alimentaires atténuant l'oxydant événement de signalisation inflammatoires induits par le stress. Polyphénols alimentaires après l'interaction agoniste avec AhR (arylhydrocarbon receptor) induit l'activation de la transduction de signalisation Nrf 2 par diaphonie. PL : polyphénols. Les flèches indiquent les entrées positives (activation), tandis que les lignes perpendiculaires indiquent les entrées négatives (inhibition) (Zhang et Tsao, 2016)

❖ Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques largement présents dans le règne des plantes (Singh *et al.*, 2017). Les flavonoïdes ont des propriétés anti-inflammatoires grâce à différents mécanismes tels que l'inhibition des enzymes régulatrices et des facteurs de transcription qui ont un rôle important dans le contrôle des médiateurs impliqués dans l'inflammation. Les flavonoïdes sont également de puissants antioxydants capables de piéger les radicaux libres et de réduire leur formation. Par conséquent, les flavonoïdes ont un impact profond sur plusieurs cellules immunitaires et mécanismes immunitaires qui sont importants dans les processus inflammatoires (Tableau 1.11).

Tableau 1.11 : Propriétés antioxydants et anti-inflammatoires, mécanismes et conséquences des flavonoïdes (Maleki *et al.*, 2019)

Propriétés des flavonoïdes	Mécanisme	Conséquences
Inhibition des enzymes régulatrices	Inhibition des protéines kinases, phosphodiesterases	Diminution de la transduction du signal, diminution de l'activation cellulaire
Propriétés antioxydants	Activité de piègeur, inhibition de la production de radicaux libres	Diminution du stress oxydatif
Impact sur le métabolisme de l'acide arachidonique	Inhibition de PLA2, COX, LOX	Diminution de la libération de médiateurs pro-inflammatoires tels que les prostaglandines, thromboxanes, leucotriènes, etc.
Modulation de l'expression génique	Modulation des facteurs de transcription : NF- κ B, GATA-3, STAT-6	Diminution de la transcription des gènes pro-inflammatoires
Modulation des cellules immunitaires	Inhibition de l'activation cellulaire, de la maturation, de la signalisation transduction, processus sécrétoires	Stade cellulaire immature (CD), diminution de la prolifération cellulaire, diminution libération de cytokines pro-inflammatoires

COX, cyclooxygénase ; CD, cellules dendritiques ; LOX, lipoxygénase ; PLA2, phospholipase A2 ; STAT-6, transducteur de signal et activateur de transcription 6.

❖ Le polysaccharide est une macromolécule naturelle active isolée à partir de sources végétales, animales, microbiennes et algales qui sont construites à partir de monosaccharides liés par des liaisons O-glycosidiques (Shashidhar *et al.*, 2015). Les parois des cellules végétales sont essentielles composées de polysaccharides, expliquant la part majoritaire de ces molécules dans la biomasse. Les polysaccharides des végétaux sont divisés en deux groupes selon leur fonction en : les polysaccharides de structure, les polysaccharides de réserve (Merghem, 2009). Des études ont montré que plus de 100 plantes naturelles contiennent des polysaccharides végétaux avec une régulation bidirectionnelle (Figure 1.16), une faible toxicité et des effets secondaires, qui ont des fonctions antioxydants, immuno-

modulatrices, anti-tumorales, hépatoprotectrices, hypoglycémiques, antidiabétique et activités de protection gastro-intestinale (Zheng *et al.*, 2020).

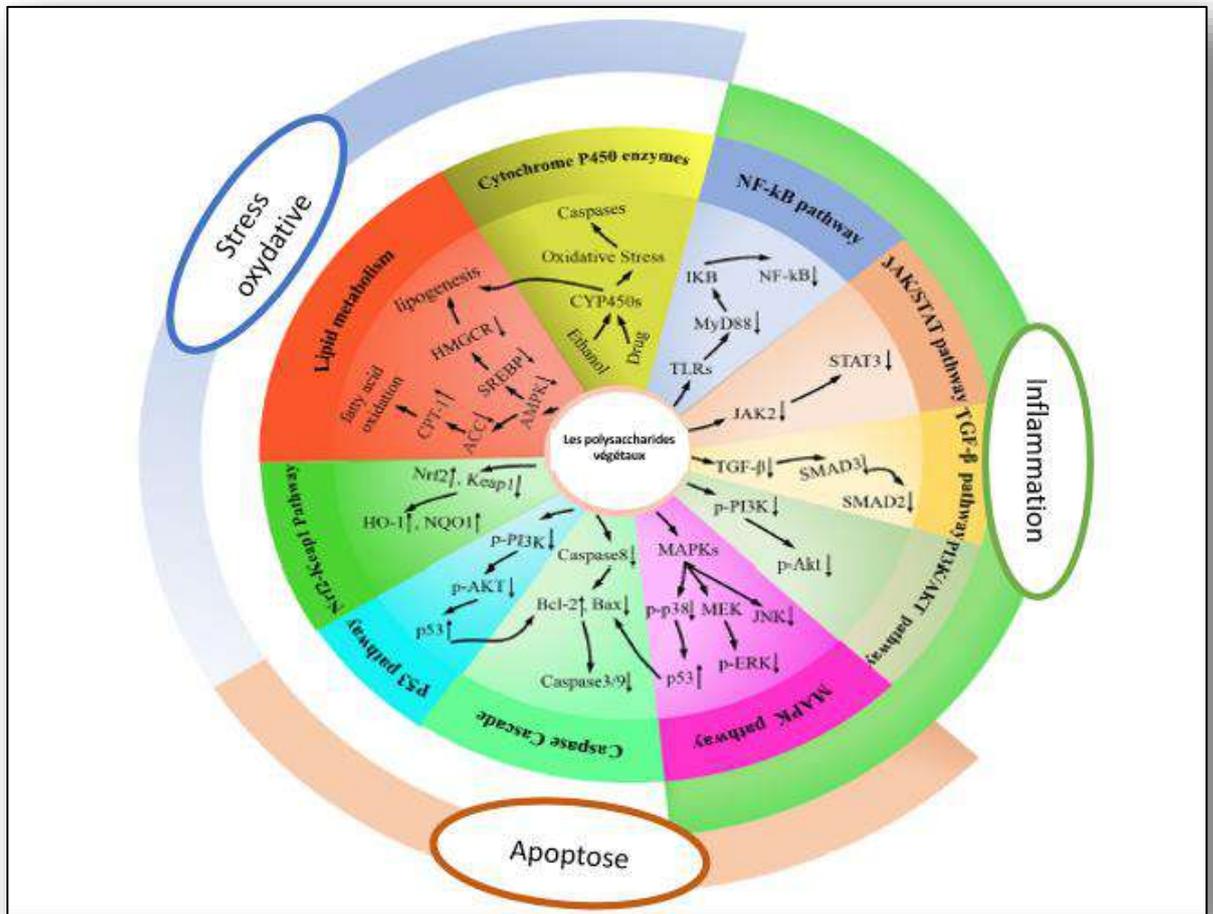


Figure 1.16 : l'activité anti-inflammatoire, antioxydante et anti-apoptose des polysaccharides d'origine végétale (Qu *et al.*, 2020)

❖ Les stéroïdes et les terpénoïdes possèdent des activités anti-inflammatoires sur plusieurs modèles expérimentaux ; l'extrait aleorésine de *Curcuma amada* possède un effet anti-inflammatoire significatif ainsi qu'une activité anti-arthrétique, le β -sitostérol isolé de *Dichrostachys cinera* possède une activité anti-inflammatoire dans le modèle de l'œdème de la patte et le granulome de pellette en coton, l'oleane de type triterpènes saponine, Zanhasonines et le cyclitol pinitol isolés de l'extrait méthanolique des racines de *Zanha Africana* inhibent la phospholipase A2 et le pentacyclique triterpènes de *Boswellia resin*, inhibe la biosynthèse des leukotriènes et la 5-lipoxygénase (Kada *et al.*, 2018). Récemment, l'étude de Bailly montre que les atractylénolides isolés des rhizomes des espèces *Atractylodes*

possèdent une activité antioxydant et anti-inflammatoire remarquable, ces produits présentent des effets anticancéreux marqués contre de multiples indications tumorales (Bailly, 2020).

4. Produits naturels et atteintes Néphro-hépatiques

4.1. Prévention de la toxicité provoquée par les médicaments antituberculeux

Afin de prévenir les effets indésirables et les toxicités mortelles suite à un traitement avec des médicaments antituberculeux, plusieurs approches ont été suivies ; l'extraction de nouveaux dérivés d'antituberculeux avec un profil pharmaco-toxicologique amélioré, l'utilisation de plantes médicinales contre *M.tb*, l'agent causal de la tuberculose, et la recherche de alternatives pour minimiser ou prévenir les lésions tissulaires après le traitement ATB.

4.1.1. Nouveaux dérivés d'isoniazide

Des études récentes ont insisté sur le fait que l'obtention de nouveaux médicaments à faible toxicité et à fort potentiel tuberculostatique est essentielle. Dragostin ses collaborateurs ont conçu ou synthétisé de nouveaux dérivés de l'isoniazide (INH), tels que la nouvelle isonicotinoylhydrazone (INH-a, INH-b et INH-c) (Figure 1.17). Ces dérivés ont démontré une bonne biocompatibilité, des propriétés antimicrobiennes similaires à celles de l'isoniazide parent et un profil pharmacotoxicologique significativement amélioré par rapport à celui de l'isoniazide (Dragostin *et al.*, 2019).

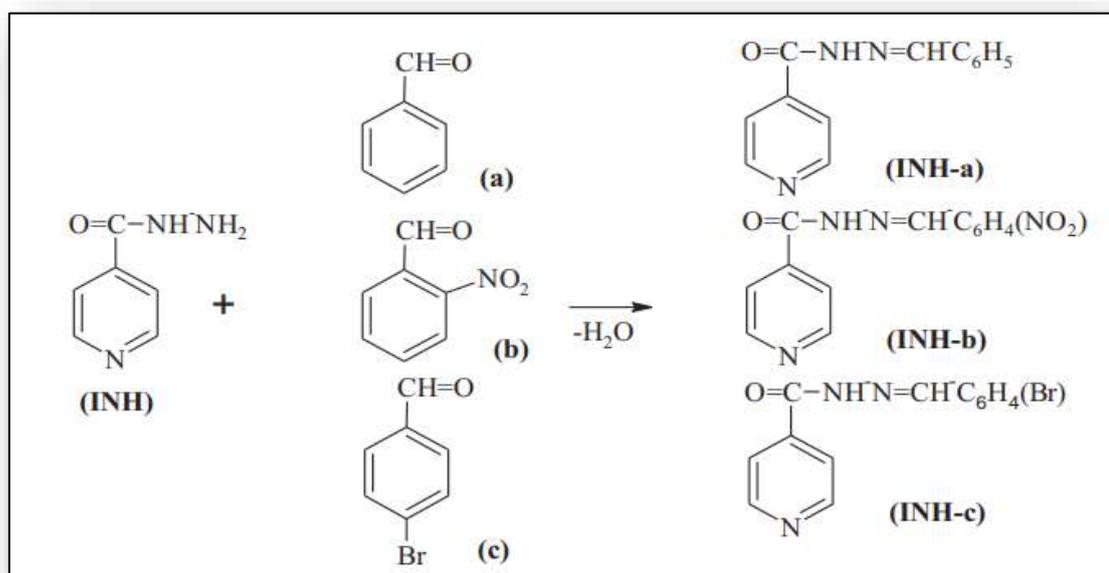


Figure 1.17 : Schéma général d'obtention des trois isonicotinoyl hydrazone (INH-a, INH-b et INH-c) (Dragostin *et al.*, 2019)

4.1.2. Plantes médicinales utilisées dans le traitement de la tuberculose

De nombreuses espèces végétales, ainsi que des organismes marins et des champignons ont été et continuent d'être utilisés dans divers systèmes de guérison traditionnels à travers le monde pour traiter la tuberculose, représentant ainsi une source presque illimitée d'ingrédients actifs. Outre leur activité antimycobactérienne, les produits naturels peuvent être utiles en thérapie adjuvante pour améliorer l'efficacité des thérapies antimycobactériennes conventionnelles, réduire leurs effets indésirables et inverser la résistance multi-médicamenteuse des mycobactéries en raison de la plasticité génétique et de l'adaptabilité environnementale de *Mycobacterium* (Sharifi-Rad *et al.*, 2020).

L'étude du Dehyab et ses collaborateurs présente de nombreuses plantes qui démontrent des propriétés actives contre *M.tb*. Ces plantes sont originaires de la région de l'Afrique du Nord et du Moyen-Orient sont membres d'un large éventail de familles et d'espèces. Leur efficacité a été clairement prouvée par des tests en laboratoire (Dehyab *et al.*, 2020).

Zanthoxylum leprieurii (la famille des Rutacées), *Lantana camara* (la famille des Verbenaceae) et *Cryptolepis Sanguinolenta* (la famille des Périplocacées) font partie des plantes qui ont une activité antimycobactérienne et également signalés pour traiter la tuberculose (Tuyiringire *et al.*, 2020).

4.1.3. Plantes médicinales utilisées dans la prévention de la toxicité provoquée par les médicaments antituberculeux

Dans la dernière décennie, l'attention a été centrée sur l'évaluation scientifique de médicaments traditionnels d'origine végétale pour le traitement de diverses maladies. En raison de leur efficacité, avec un côté probablement minimal effets en termes de traitement ainsi que des coûts relativement bas, à base de plantes les médicaments sont largement prescrits, même lorsqu'ils sont biologiquement actifs les constituants ne sont pas entièrement identifiés (Asadi-Samani *et al.*, 2015).

4.1.3.1. Prévention de la toxicité hépatique

Les constituants phytochimiques agissent sur certains processus majeurs responsables de la toxicité des médicaments antituberculeux. Ils agissent sur le cytochrome P450, les radicaux libres, ou les ERO. Ces molécules sont impliquées dans le processus de peroxydation lipidique, de stress oxydatif et de perte d'intégrité membranaire qui, collectivement, sont à la base des

lésions hépatiques (Mangwani *et al.*, 2020). Le tableau 1.12 présente une liste des sources phytochimiques hépatoprotectrices et leur mode d'action.

Tableau 1.12 : Liste des sources phytochimiques hépatoprotectrices et leur mode d'action (Mangwani *et al.*, 2020)

Phytochimique	Source	Mode d'action
Andrographolide	<i>Andrographis paniculata</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Interagir avec l'expression de l'ARNm du GSH et du CYP1A1
Berbérine	<i>Berberis aristata</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Inhibe les enzymes microsomales métabolisant les médicaments • Diminution du stress oxydatif
Curcumine	<i>Curcuma longa</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Réduire le stress oxydatif en réduisant l'expression du CYP2E1 et Prx1
Pipérine	<i>Piper longum, Piper nigrum, Acalypha indica etc.</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Diminue le TNF-α et la peroxydation lipidique • Augmentation de l'antioxydant
Quercétine	<i>Vitis vinefera, Allium cepa, Camellia sinensis etc.</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Activation de la voie Nrf2/HO-1 • expression de gènes liés au stress oxydatif
Resvératrol	<i>Paeonia lactiflora, Vitis vinifera, Arachis hypogaea etc.</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Modulation de l'expression de l'ARNm de SIRT1
Silymarine	<i>Silybum marianum</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Propriétés antioxydants • Activités anti-inflammatoires • Réguler à la baisse l'expression de NF-kB, ICAM-1 et IL-6
Thymoquinone	<i>Nidorella anomala</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Inhibition de l'activité NF-kB • Réduire le stress oxydatif
Acide ursolique	<i>Bouvardia ternifolia, Byrsonima crassa, Calendula officinalis, etc.</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Antioxydant et inhibe la production des ERO • Supprime l'activation des MAPK, CYP2E1 et NF-kB

Dans ce contexte, les composés phytochimiques de plusieurs plantes peuvent réduire l'hépatotoxicité. Le tableau 1.13 présente des plantes médicinales ont prouvé un effet hépatoprotecteur contre les dommages causés par les médicaments INH-RIF.

Tableau 1.13 : Extraits des plantes médicinales à effet hépatoprotecteur contre les dommages causés par les médicaments INH-RIF (Jiménez-Arellanes *et al.*, 2016)

Famille de plantes	Nom botanique	Partie utilisée : Préparation des fractions
Acanthaceae	<i>Asteracantha longifolia</i> (A. <i>longifolia</i> ; syn. <i>Hygrophila auriculata</i>)	La partie aérienne : L'extrait EtOH (95%).
Annonaceae	<i>Annona squamosa</i>	Feuilles : L'extrait MeOH
Convolvulaceae	<i>Cuscuta reflexa</i>	La partie aérienne : L'extrait MeOH
Euphorbiaceae	<i>Cnidocolus chayamansa</i>	Feuilles : L'extrait EtOH
Fabaceae	<i>Tamarindus indica</i>	Fruit : L'extrait aqueux
Liliaceae	<i>Allium sativum</i>	L'extrait aqueux
Malvaceae	<i>Hibiscus vitifolius</i>	Les racines : Les extraits d'éther de pétrole, de CHCl ₃ , de MeOH et l'extrait aqueux
Menispermaceae	<i>Cissampelos pareira</i>	L'extrait EtOH
Moraceae	<i>Ficus religiosa</i>	Feuilles : L'extrait MeOH
Nyctaginaceae	<i>Pisonia aculeata</i>	L'extrait MeOH (95%)
Punicaceae	<i>Punica granatum</i>	Fruit: L'extrait acétonique (70%)
Rhamnaceae	<i>Ziziphus oenoplia</i> (L.) Mill	Les racines : L'extrait EtOH (50%)
Solanaceae	<i>Solanum xanthocarpum</i>	Plante entière : L'extrait EtOH
Ucubitaceae	<i>Cucumis trigonus</i>	Fruit : L'extrait EtOH
Diverses plantes	Le propolis	Une matière résineuse collectée par les abeilles à partir de diverses plantes : L'extrait EtOH

CHCl₃ ; chloroforme, MeOH ; méthanol et EtOH ; éthanol.

4.1.3.2. Prévention de la toxicité rénale

Peu d'études ont été menées qui se concentrent sur évaluer l'effet néphroprotecteur de certains des composés obtenus des plantes médicinales ou produits naturels en ce qui concerne les dommages rénaux causés par médicaments antituberculeux (INH et RIF) ; *Spirulina fusiformis*, Cyanobacterium appartenant à la famille des *Oscillatoriaceae* (Martin et Sabina, 2016). En outre, les résultats de l'étude de Sahu et al. ont clairement montré que la naringénine, un bioflavonoïde végétal principalement présent dans le raisin, fruits, tomates et agrumes possède un effet protecteur contre les lésions hépato-rénales induites par les ATB par rapport à la silymarine et une supplémentation en naringénine en tant qu'aliment peut être utile pour réduire les lésions hépato-rénales induites par les ATB (Sahu *et al.*, 2019).

4.2. Données bibliographiques sur les plantes étudiées

4.2.1. *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur.

4.2.1.1. Généralité sur la famille des Lamiacées

Les Lamiacées est la plus grande famille de l'ordre des Lamiales, un ordre comprenant 26 familles et plus de 20 000 espèces (Li *et al.*, 2016) se produisant dans les régions tropicales et tempérées du monde entier (Harley *et al.*, 2004). Elle est classée en 12 sous-familles, qui sont composés de 295 genres et 7775 espèces (Basílio *et al.*, 2006). Leurs espèces sont généralement représentées par des herbes et les arbustes répartis dans le monde entier dans les régions tropicales et tempérées (Li *et al.*, 2016; Monteiro *et al.*, 2018).

Cette famille accumule des substances aux structures très diverses et nombre d'entre elles sont signalées comme marqueurs chimiotaxonomiques à tous les niveaux : sous-famille, genre et espèce. Les principaux métabolites secondaires isolés des espèces de Lamiacées sont les monoterpènes, les diterpènes, les triterpènes, les pyrones, les iridoïdes, les sesquiterpènes, les composés phénoliques et les flavonoïdes. Parmi ceux-ci, les diterpènes sont plus importants en tant que marqueurs chimiotaxonomiques car ils sont facilement trouvés dans la plupart des espèces de cette famille (Barbosa Silva Cavalcanti *et al.*, 2019).

Le genre *Saccocalyx* appartient à cette famille, il comprend plusieurs espèces. L'espèce *S. satureioides* est la seule espèce de ce genre en Algérie, elle est endémique au Sahara septentrional (Mohamadi, 2016). Notre étude bibliographique révèle que plusieurs études s'intéressent à cette plante en décrivant l'isolement et l'élucidation structurale des composants photochimiques et des activités biologiques de cette plante.

4.2.1.2. Description botanique

S. satureioides est un arbuste odorant à tiges robustes, rameuses, présent dans le Sahara septentrional, mesure de 2 à 12 dm ; feuilles petites, oblongues ou étroites, en petits fascicules et ciliées à la base ; fleurs par quatre à six à l'aisselle des feuilles, à calice régulier et velu ; corolle blanche, rosée ou pourpre à quatre lobes, les supérieures bifides ; plante a odeur de thym (Khaldi, 2017).

- **Nom français :** Sariette indigène.
- **Nom en Arabe :** زعتر الصحراء- زعتر الرمال-ازير الابل



Figure 1.18 : *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur (Mohamadi, 2016 ; Khaldi, 2017)

4.2.1.3. Distribution géographique

Cette espèce est caractéristique de l'Algérie (endémique). Elle pousse naturellement période de mars. Elle est répandue dans les dunes de région présaharienne : dunes à Boussaâda et Aïn-Sefra dans la région de Naâma, le sous-secteur du Hodna, de l'Atlas Saharien Oranais, de l'Atlas Saharien Constantinois et de l'Atlas Saharien Algérois. Mais elle est rare dans le secteur du Sahara septentrional (Quezel et Santa, 1963).

4.2.1.4. Classification botanique

Tableau 1.14 : Classification botanique de *Saccocalyx satureioides* Coss et Dur
(Ozenda, 2004 ; Dupont et Guignard, 2012)

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermaphyte
Division	Magnoliophyta
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Sous-famille	Stachyoideae
Genre	<i>Saccocalyx</i> Coss. et Dur
Espèce	<i>Saccocalyx satureioides</i> Coss & Durand

4.2.1.5. Composition chimique

Dans une étude de Mohamadi et ses collaborateurs, des extraits de chloroforme, d'acétate d'éthyle et de *n*-butanol obtenus à partir de la partie aérienne cette espèce collecté près de Béchar dans le sud-ouest de l'Algérie, ont été étudiés en utilisant une chromatographie liquide avec réaction post-colonne. Dix-sept capteurs de radicaux libres ont été identifiés pour la première fois à partir ces extraits; piceol 1, vanilline 2, aldéhyde férulique 3, 3,3'-bis (3,4-dihydro-4-hydroxy-6,8-diméthoxy-2H-1- benzo-pyran) 4, 3,3'-bis (3,4-dihydro-4-hydroxy-6-méthoxy-2H-1-benzo-pyran) 5, acide dime-thylcaféique 6, balanophonine 7, 7-méthyl-sudachitine 8, caféiqueacide 9, acide p-coumarique 10, isoscutellaréine-7-O- [allopyranosyl- (1 → 2)] - -d-glucopyranoside 11, isoscutellaréine-7-O- [-d-allopy- ranosyl- (1 → 2)] - 6 -O- acétyl- -d-glucopyranoside 12, isoscutellaréine-7-O- [6 -O-acétylallopyranosyl- (1 → 2)] - -d-glucopyrano- côté 13, quercétine 14, isoscutellaréine-7-O- [6 -O-acétyl- -d-allopyranosyl- (1 → 2)] - 6 -O-acétyl- -d-glucopyranoside) 15, apigénine 7-O- [6 -O-trans-p-coumaroyl] - -d-glucopyranoside 16 et sidéritiflavone 17 (Mohamadi *et al.*, 2015).

Dans une autre étude phytochimique, l'extrait d'acétate d'éthyle obtenu à partir de la partie aérienne de *S. satureioides* a donné l'acide indole-3-carboxylique- (6'-O-caféoyl) -bD-glucoside 1, un nouveau dérivé d'indole, ainsi que huit composés connus 2-9 constitués de deux indoles,

cinq flavones aglycones méthylées et un monoterpène glucoside, détecté pour la première fois dans le genre *Saccocalyx*. Les deux indoles 2 et 3 isolés ont été identifiés pour la première fois dans la famille des Lamiacées (Kherkhache *et al.*, 2018).

L'analyse chimique de l'huile essentielle de *S. satureioides* a fait l'objet de quelques travaux en raison de sa richesse et de ses composants importants. Le tableau 1.15 présente la composition chimique des huiles essentielles de *S. Satureioides* récoltées dans différentes régions d'Algérie.

Tableau 1.15 : Composition chimique des huiles essentielles de *Saccocalyx Satureioides*

Lieu	Compositions chimiques	Références
Nord-est algérien	Borneol (56%), thymol (11.5%), α -terpineol (7.9%) et p-cymene (2.6%).	Laouer <i>et al.</i> , 2004
Nord central de l'Algérie	α -terpineol (32.7%), thymol (22.8%), borneol (11.6%) et carvacrol (6.9%), p-cymene (5.0%), camphene (2.9%), γ -terpinene (2.8%), α -pinene (1.8%) et limonene (1.5%).	Biondi <i>et al.</i> , 2006
l'ouest de l'Algérie	Borneol (28%), thymol (18%), α -terpineol (17%) et camphene (6% à 8%).	Bendahou <i>et al.</i> , 2008
Sud-ouest de l'Algérie	Borneol (24.7%), thymol (21%), α -terpineol (19.1%) et camphene (6.3%).	Bendimerad <i>et al.</i> , 2009
Centre de l'Algérie (Djelfa)	α -terpineol (35.9%), thymol (15.6%) et borneol (12.4%), pcymene (7.2%), camphene (4.3%), γ -terpinene (4.0%)	Zerroug <i>et al.</i> , 2011
Mecheria région de Naâma	α -terpineol (32.65%), thymol (22.26%), borneol (11.04%), isoborneol (8.15%), p-cymene (3.62%), camphene (3.00%) et carvacrol (2.79%).	Khaldi , 2017
El Houamed (M'sila)	Thymol (25.6 ± 4.9), α -terpineol (24.6 ± 4.8), borneol (17.4 ± 3.4), p-cymene (11.4 ± 2.1), camphene (3.8 ± 0.7) γ -terpinene (3.1 ± 0.6), α -Pinene (2.2 ± 0.5) et carvacrol (2.1 ± 0.4).	Ammar <i>et al.</i> , 2020
Bousaada, M'Sila	Borneol (25.71 ± 0.37), α -terpineol(25.61 ± 0.27), thymol(12.8 ± 0.15), Camphene(10.26 ± 0.11), α Pinene(5.68 ± 0.06), p-Cymene(5.61 ± 0.33). γ -terpinene (3.89%).	Aouf <i>et al.</i> , 2020
Zaafran (Djelfa)	α -terpineol (32.48–45.15%), borneol (20.55–25.31%) et Thymol (12.42–21.08%).	Souadia <i>et al.</i> , 2020

4.2.1.6. Activités biologiques

Les parties aériennes de *S. Satureioides* sont utilisées en médecine traditionnelle populaire sous forme des infusions pour guérir bon nombre de maladies, les troubles gastriques et spasmes, anti-inflammatoires, analgésiques, antimicrobiens (Ziani *et al.*, 2015). Elles ont fait l'objet de plusieurs études (Tableau 1.16).

Tableau 1.16 : Les activités biologiques *Saccocalyx Satureioides*

Extrait	Activités biologiques	Références
Huile essentielle	Antimicrobienne	Laouer <i>et al.</i> , 2004 ; Biondi <i>et al.</i> , 2006 ; Bendahou <i>et al.</i> , 2008 ; Bendimerad <i>et al.</i> , 2009 ; Zerroug <i>et al.</i> , 2011 ; Khaldi , 2017
CHCl ₃ , acétate d'éthyle et <i>n</i> -BuOH	Antioxydant	Mohamadi <i>et al.</i> , 2015
Infusion	Antioxydant Antitumoral Antimicrobienne	Ziani <i>et al.</i> , 2015 ; Ziani <i>et al.</i> , 2018
Extrait de pétrole, CHCl ₃ , EtOAc et <i>n</i> -BuOH	Antioxydant Antibactérien	Khachkhech <i>et al.</i> , 2018
Huile essentielle	Potentiel insecticide	Ammar <i>et al.</i> , 2020
L'huile hydrodistillée	Antioxydants Anticancéreux	Aouf <i>et al.</i> , 2020
Hydro-méthanolique	Antioxydant	Mehlous <i>et al.</i> , 2020
Huile essentielle	Antioxydant	Souadia <i>et al.</i> , 2020

4.2.2. *Genista vepres* Pomel

4.2.2.1. Généralités sur la famille des Fabacées

La famille des Fabacées, communément appelées légumineuses, est l'une des familles de plantes les plus importantes en termes économiques et médicaux. Étant la troisième plus grande famille d'angiospermes après les orchidaceae et les astéracées avec 630 genres et plus de 18 860 espèces, cette famille peut être trouvée dans de nombreux climats (Aminfar et Tohidfar,

2018). Le genre *Genista* appartient à cette famille, il est présent en Algérie avec 25 espèces et sous-espèces dont 11 sont endémiques (Guettaf *et al.*, 2016).

Différentes classes du métabolisme secondaire ont été identifiées dans le genre de *Genista* : alcaloïdes, terpènes, les composés phénoliques notamment les flavonoïdes et les isoflavonoïdes (Tableau 1.17).

Tableau 1.17 : Quelques composés isolés du genre *Genista*.

Espèces	Partie utilisée	Composés isolés	Références
<i>G. tridentata</i> L	Racines, tiges et feuilles.	Isoflavonoid-Flavonol et Flavanonol	Simões <i>et al.</i> , 2020
<i>G. halacsyi</i>	Parties aérienne	Isoflavones	Fokialakis <i>et al.</i> , 2019
<i>G. numidica</i> Spach	Parties aérienne	Triterpene	Benayache <i>et al.</i> , 2018
<i>G.cilentina</i> Vals	Fleurs	Flavonoïde, isoflavonoïde aglycones, génistéine et aromadendrine	Venditti <i>et al.</i> , 2016
<i>G.tenera</i>	Parties aérienne	Flavonoides diglycosides	Batista <i>et al.</i> , 2015
<i>G.saharae</i>	Racine, tiges, fleurs, gousses de fruits et graines de fruits	Isoflavone aglycones et glucoisoflavone	Meriane <i>et al.</i> , 2014
<i>G. sessilifolia</i> DC	Parties aériennes	Genistin - isoprunitin,	Bontempo <i>et al.</i> , 2013
<i>G. aspalathoides</i> Lamk ssp.	Parties aériennes	Isoflavones	Kerkatou <i>et al.</i> , 2013
<i>G. ulicina</i>	Parties aériennes	Triterpenes- saponins	Boutaghane <i>et al.</i> , 2012
<i>G. cilentina</i> <i>G. sulcitana</i>	La plante entière	Isoflavones - flavones	Nocciol <i>et al.</i> , 2012
<i>G. vuralii</i> <i>G. sandrasica</i>	Parties aériennes	Genistein – daidzein	Orhan <i>et al.</i> , 2011
<i>G. tenera</i>	Parties aériennes	Isoflavones - isoflavone	Borges <i>et al.</i> , 2011
<i>G. tenera</i>	Parties aériennes	Flavonoides	Rauter <i>et al.</i> , 2009
<i>G. sessilifolia</i> <i>G. tinctoria</i> ,	Parties aériennes	Isoflavones	Rigano <i>et al.</i> , 2009
<i>G.tricuspidata</i>	Parties aériennes	Flavonoids- isoflavonoids	Boumaza <i>et al.</i> , 2006
<i>G. tenera</i>	Parties aériennes	Quinolizidine alkaloids	Martins <i>et al.</i> , 2005
<i>G. morisii</i> <i>G. ephedroides</i>	Parties aériennes	Isoflavones - flavones	Garritano <i>et al.</i> , 2005
<i>G.Saharae</i>	Parties aériennes	Isoflavone	Mekkiou <i>et al.</i> , 2005
<i>G. morisii</i>	Parties aériennes	Flavonoïde, isoflavonoïde	Giachi <i>et al.</i> , 2002
<i>G. corsica</i>	Parties aériennes	Isoflavone , alcaloïdes	Pistelli <i>et al.</i> , 2000
<i>G. rumelica</i> vel	La plante entière	Luteoline- genistine	Rainova <i>et al.</i> , 1988
<i>G.lydia</i>	Fleurs	Flavones - isoflavones	Ulubelen et Doguc ,1974

Le genre *Genista* a fait l'objet de nombreux travaux scientifiques mettant en évidence des activités variées (Tableau 1.18).

Tableau 1.18 : Activités biologiques du genre *Genista*.

Espèces	Extrait	Activités biologiques	Références
<i>G. aspalathoides</i>	Aqueux	Antioxydant	Selmi <i>et al.</i> , 2020
<i>G. tridentata</i> L	Ethanol	Antioxydant Anti-inflammatoire	Simões <i>et al.</i> , 2020
<i>G. saharae</i>	Brut, Chloroforme, Acétate d'éthyle et <i>n</i> -butanol	Antioxydant Antibactérienne	Barek <i>et al.</i> , 2019
<i>G. halacsyi</i>	Méthanol	Œstrogéniques	Fokialakis <i>et al.</i> , 2019
<i>G. numidica</i> Spach	Chloroforme et Acétate d'éthyle	Antiprolifératif	Benayache <i>et al.</i> , 2018
<i>G. microcephala</i> Coss. & Dur	Acétate d'éthyle et <i>n</i> -butanol	Antioxydant Antibactérienne	Maanani <i>et al.</i> , 2018
<i>G. ferox</i> Poirret	Ethanol	Antioxydant Antiprolifératif	Sebaihi-Harzoun <i>et al.</i> , 2018
<i>G. ferox</i>	Acétate d'éthyle	Antioxydant Antiprolifératif	Bencherchar <i>et al.</i> , 2017
<i>G. quadriflora</i> Munby	<i>n</i> -butanol	Antioxydant Anti-inflammatoire	Boubekri <i>et al.</i> , 2016 Boubekri <i>et al.</i> , 2014
<i>G. ulicina</i> Spach	Acétate d'éthyle et <i>n</i> -butanol	Antioxydant	Chebbah <i>et al.</i> , 2016
<i>G. saharae</i> Coss et Dur	Aqueux	Antioxydant	Guettaf <i>et al.</i> , 2016
<i>G. tinctoria</i> <i>G. sagittalis</i>	Ethanol	Antioxydant	Hanganu <i>et al.</i> , 2016
<i>G. ulicina</i> Spach	<i>n</i> -butanol	Antioxydant	Latreche <i>et al.</i> , 2016
<i>G. tenera</i>	<i>n</i> -butanol	Hypoglycémiant	Batista <i>et al.</i> , 2015
<i>G. saharae</i>	Méthanol	Antioxydant	Meriane <i>et al.</i> , 2014
<i>G. sessilifolia</i>	Méthanol	Anti- apoptotique	Bontempo <i>et al.</i> , 2013
<i>G. quadriflora</i> Munby	Acétate d'éthyle	Antioxydant	Boukaabache <i>et al.</i> , 2013
<i>G. aspalathoides</i> Lamk <i>ssp.</i>	<i>n</i> -butanol	Antioxydant	Kerkatou <i>et al.</i> , 2013
<i>G. saharae</i>	Hexane, Acétate d'éthyle et Aqueux	Antioxydant Antibactérienne	Bouchouka <i>et al.</i> , 2012
<i>G. vuralii</i> <i>G. sandrasica</i>	Méthanol	Antioxydant	Orhan <i>et al.</i> , 2011
<i>G. microcephala</i>	Huile essentielle	Antibactérienne	Lograda <i>et al.</i> , 2010
<i>G. tenera</i>	Ether diéthylique -Acétate d'éthyle	Antidiabétique Antioxydant	Rauter <i>et al.</i> , 2010
<i>G. numidica</i> Spach <i>G. saharae</i> Coss et Dur	Huile essentielle	Antibactérienne	Lograda <i>et al.</i> , 2009
<i>G. sessilifolia</i> <i>G. tinctoria</i> ,	Méthanol	Anti-apoptotique antioxydant	Rigano <i>et al.</i> , 2009
<i>G. morisii</i> <i>G. ephedroides</i>	Purifié	Oestrogénique	Garritano <i>et al.</i> , 2005
<i>G. rumelica</i>	Aqueux	Anti- ulcère gastrique	Rainova <i>et al.</i> , 1988

4.2.2.2. Description botanique

Genista vepres Pomel (synonyme : *G. kabylica* Coss), c'est un arbrisseau qui peut atteindre 1.5 m de hauteur, très épineux, vert, à tronc grêle et ramifié dès la base. Les rameaux sont anguleux et côtelés, lâchement hirsutes, très feuillés. Les épines axillaires plus ou moins fortes presque toujours simples, pouvant atteindre 3.5 cm. Les feuilles sont sessiles, vertes presque toutes trifoliolées ; les folioles plus ou moins luisantes et coriaces, linéaires lancéolées, entières sub-sessiles à la base (Lograda, 2010).

4.2.2.3. Distribution géographique

Floraison : Mai-Juin.

Aire géographique : Endémique.

Répartition géographique : rare en Numidie (Petite Kabylie, Aokas, Months Babors à Khérata) (Lograda, 2010).

4.2.2.4. Classification botanique

Tableau 1.19 : Classification botanique de *Genista vepres* Pomel

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Subdivision	Magnoliophytina
Classe	Dicotylédones (Magnoliopsida)
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae (Légumineuse)
Sous-famille	Faboideae
Tribu	Genisteae
Genre	<i>Genista</i>
Espèce	<i>Genista vepres</i> Pomel (<i>G. kabylica</i> Coss)

4.2.2.5. Composition chimique

L'huile essentielle de *Genista vepres* Pomel est riche en acide gras (54.53%) du total de (85.9%), les alcanes (10.2%), les monoterpènes, avec 8 composants, sont très peu abondants avec un taux de 0.98%, les sesquiterpènes (0.48%), les hydrocarbures aromatiques sont très faiblement concentrés (0.09%) (Lograda *et al.*, 2010). En outre, l'analyse phytochimique de la partie aérienne de *G. vepres* Pomel montre que cette espèce renferme une quantité importante d'alcaloïdes et de flavonoïdes (Dob, 2007).

4.2.2.6. Activités biologiques

L'huile essentielle obtenue de la partie aérienne de *Genista vepres* Pomel, possède une activité antibactérienne contre trois souches bactériennes ; *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* (Lograda *et al.*, 2010). Cependant, notre étude bibliographique n'a révélé aucun rapport publié sur les activités biologiques de cette espèce endémique.

Partie 2 :

PROTOCOLES EXPERIMENTAUX

Etudes in vitro et in vivo

2. PROTOCOLES EXPERIMENTAUX

2.1. Matériel végétal et l'étude phyto-chimique

2.1.1. Préparation des extraits *n*-butanol

L'extraction des deux plantes a été effectuée selon le protocole utilisé habituellement dans les laboratoires de l'Unité de Recherche Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et Analyses Physicochimiques et Biologiques. Département de Chimie, Université Frères Mentouri, Constantine 1. Elles sont réalisées par les doctorantes en chimie : Sabrina MOHAMADI et Wafa KERKATOU. Les figures illustrent les étapes d'obtention de la phase *n*-butanol à partir des parties aériennes des deux plantes sélectionnées pour l'étude (Annexes p174-175).

2.1.1.1. *Saccocalyx satureioides*

➤ Récolte du matériel végétal

La plante a été récoltée dans la région de Mogheul près de Bechar (sud algérien), au mois de mai 2010. La détermination botanique de cette plante a été réalisée par BENABDELHAKEM. M (Agence nationale de préservation des ressources naturelles de Bechar). La plante séchée pendant plusieurs jours à l'abri de la lumière directe du soleil, pesée et broyée grossièrement (2295.1 g).

➤ Extraction

La poudre du matériel végétal (feuilles, fleurs et tiges, 2295.1 g) est mise à macérer à température ambiante dans un mélange hydro alcoolique (Eau/ Ethanol ; 30/70 ; v/v). Cette macération est répétée 3 fois avec renouvellement du solvant et dure dans chaque cas de 24 à 48 heures. Après concentration à une température n'excédant pas 35 °C, l'extrait éthanolique dilué avec de l'eau distillée (400 mL pour 1kg de matière sèche). Après filtration, la solution est devenue rouge-brune. Cette dernière a subi des extractions successives de type liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par le chloroforme, puis l'acétate d'éthyle et en dernier le *n*-butanol. La figure 1 (Annexes p174) résume les différentes étapes de l'extraction jusqu'à l'obtention des extraits bruts. Les trois phases organiques ainsi obtenues sont filtrées, concentrées à sec sous pression réduite, puis pesées : CHCl₃ (6.66 g), EtOAc (11 g) et *n*-BuOH (40.41g) (Mohamadi *et al.*, 2015).

2.1.1.2. *Genista vepres* Pomel

➤ Récolte du matériel végétal

Des parties aériennes de *Genista vepres* Pomel (synonyme *Genista kabylica* Cosson), ont été collectées en juin 2016 dans la région de Médée en Algérie et authentifiées par le professeur Hocine LAOUER (Université Ferhat Abbas, Sétif 1, Algérie) selon la méthode de Quezel et Santa (1962).

➤ Extraction

Des parties aériennes séchées à l'air (2 kg) ont été macérées à température ambiante avec MeOH-H₂O (70:30, v / v) pendant 24 h, trois fois. Les filtrats ont été combinés, concentrés sous pression réduite (jusqu'à 35 ° C), dissous dans H₂O distillée (800 mL) sous agitation magnétique et maintenus à 4 ° C pendant une nuit pour précipiter un maximum de chlorophylles. Après filtration, la solution résultante a été successivement extraite avec CHCl₃, EtOAc et *n*-BuOH. Les phases organiques ont été séchées avec Na₂SO₄, filtrées en utilisant du papier filtre commun et concentrées sous vide jusqu'à 35 ° C pour obtenir les extraits suivants : CHCl₃ (35.07 g), EtOAc (13.04 g) et *n*-BuOH (44.56 g). La figure 2 (Annexes p175) résume les différentes étapes de l'extraction.

2.2. L'étude phyto-chimique

2.2.1. Détermination de la teneur totale en phénols

La teneur totale en phénols dans les extraits *n*-butanol des plantes ; *S. satureioides* et *G. vepres* Pomel, a été déterminé en utilisant la méthode modifiée de Folin – Ciocalteu de Singleton et Rossi, 1965. Un échantillon de 20 µL (1 mg / mL) a été mélangé avec 100 µL de réactif Folin – Ciocalteu (dilué dix fois) et 75 µL (75 g / L) le carbonate de sodium. L'absorbance a été mesurée à 740 nm dans le lecteur de microplaques après 2 h d'incubation dans l'obscurité à température ambiante. De l'acide gallique (25 à 500 µg / mL) a été utilisé comme standard pour la courbe d'étalonnage et la construction d'une ligne de régression linéaire. La teneur totale en phénols est exprimée en µg d'équivalent d'acide gallique (GAE) / mg d'extrait (Müller *et al.*, 2010).

2.2.2. Détermination de la teneur totale en flavonoïdes

La teneur totale en flavonoïdes dans les extraits *n*-butanol des deux plantes a été déterminée en utilisant la méthode modifiée de Topçu *et al.*, 2007. 50 µL de l'extrait (1 mg / mL) ont été ajoutés à 10 µL de nitrate d'aluminium à 10%, 10 µL d'acétate de potassium (1 M) et 130 µL de

méthanol. L'absorbance a été lue par spectrophotométrie à 415 nm après 40 min incubation à température ambiante, la quercétine a été utilisée comme standard. La teneur totale en flavonoïdes est exprimée en équivalent quercétine (QE) / mg d'extrait.

2.2.3. Détermination de la teneur totale en flavonols

La teneur en flavonols a été déterminée par la méthode de Kumaran et Karunakaran (2007). 50 µL de solution méthanolique de l'un des extraits des deux plantes avec 50 µL (20 mg / mL) de trichlorure d'aluminium et 150 µL (50 mg / mL) d'acétate de sodium. L'absorbance a été lue à 440 nm après 150 min en utilisant un spectrophotomètre. La teneur en flavonols a été calculée en utilisant une courbe d'étalonnage de standard la quercétine.

2.3. Évaluation de l'activité antioxydant

2.3.1. Activité antiradicalaire au DPPH

La capacité des extraits *n*-butanol des deux plantes à piéger le radical DPPH[•] (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) a été évaluée par la méthode de Blois, 1958. La méthode DPPH consiste en l'ajout d'une certaine quantité (potentiels) d'antioxydants à une solution de DPPH[•] et la mesure par spectrophotomètre du pourcentage de DPPH[•] résultant des réactions DPPH-antioxydant. L'électron de valence non apparié de l'atome d'azote dans DPPH[•] est réduit en recevant un atome d'hydrogène (H) des antioxydants (l'atome H fait don), provoquant la formation de l'hydrazine DPPH-H avec un changement de couleur de la solution du violet au jaune pâle (Chen *et al.*, 2020).

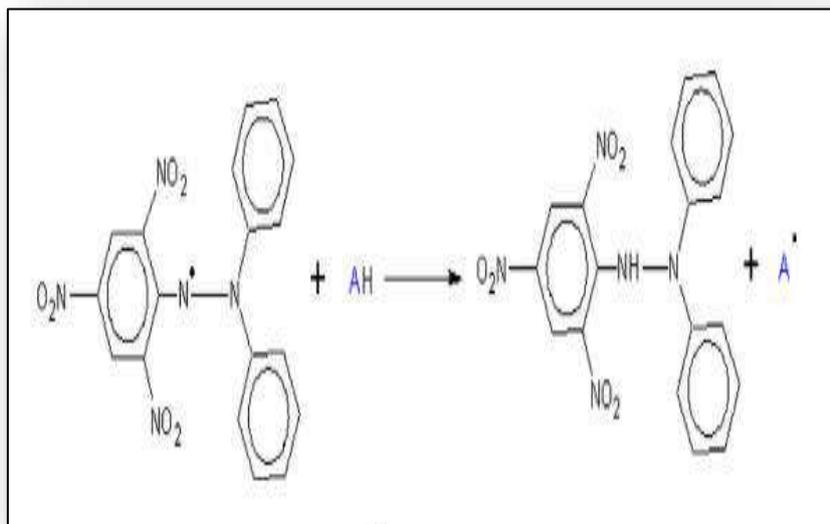


Figure 2.1 : La réaction du radical libre DPPH avec un antioxydant où AH est une molécule donneuse et A est un radical libre produit (Musa *et al.*, 2016)

L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Majhenič *et al.*, 2007 et Popovici *et al.*, 2009). Brièvement, 160 μL de solution méthanolique du DPPH (0.06 mg/mL) est ajouté à 40 μL de solution d'extrait de chaque dilution, la microplaque est incubée à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min. Le témoin négatif est composé de 160 μL de solution méthanolique de DPPH et 40 μL du solvant utilisé pour les dilutions. Le BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants. Le pourcentage de l'activité anti radicalaire de DPPH a été calculé comme suit :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{Echantillon}}) / A_{\text{Contrôle}}] \times 100$$

2.3.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS^{•+}

Le radical ABTS^{•+} est généré par l'oxydation de la molécule stable d'ABTS avec persulfate de potassium (Ilyasov *et al.*, 2020). La solution d'ABTS présente une coloration bleu turquoise lorsque le radical (ABTS^{•+}) reste dans un état libre. Cependant, la forme réduite du radical confère à la solution une coloration jaune lorsque le radical est piégé par les substances antioxydants présentes dans l'extrait ; l'intensité de la coloration dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance anti radicalaire (Re *et al.*, 1999; Hsu *et al.*, 2010; Konan *et al.*, 2016 et Ilyasov *et al.*, 2020).

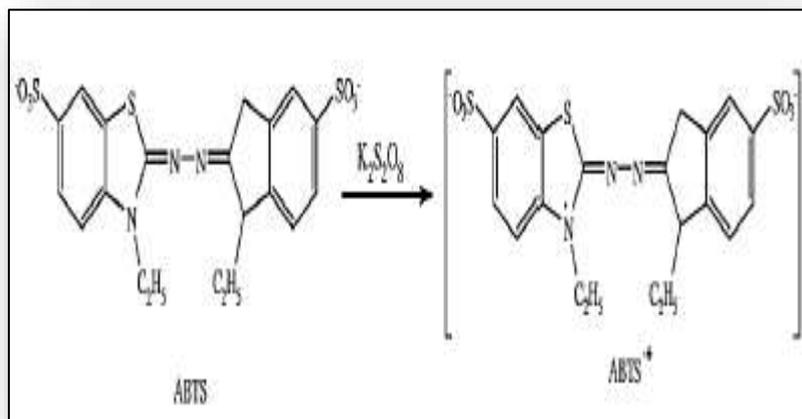


Figure 2.2 : Oxydation de l'ABTS par le persulfate de potassium et génération de ABTS^{•+}
(Konan *et al.*, 2016)

L'activité de récupération ABTS^{•+} a été déterminée par spectrophotométrie selon la méthode modifiée de Re *et al.*, (1999). En bref, 160 μL de solution ABTS^{•+} ont été ajoutés à 40 μL d'échantillon (les extraits *n*-butanol des plantes) dans l'éthanol à différentes concentrations.

Après 10 min, l'absorbance a été mesurée à 734 nm. L'équation ci-dessus a été utilisée pour calculer le balayage du radical ABTS^{•+}. Où un le contrôle est la concentration initiale de l'ABTS^{•+} et un échantillon est l'absorbance de l'ABTS^{•+} en présence de l'échantillon. Le BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants. Le pourcentage de l'activité anti radicalaire est calculé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{Echantillon}}) / A_{\text{Contrôle}}] \times 100$$

2.3.3. L'activité Galvinoxyl radical (GOR) scavenging assay

Galvinoxyl ou radical «Coppinger» a été synthétisé pour la première fois par Galvin M. Coppinger 1957 (Lampp *et al.*, 2019). Le radical galvinoxyle (GO•) est un radical phénolique relativement stable, il est largement utilisé pour évaluer l'activité anti-radicalaire des composés phénoliques et déterminer leur capacité à transférer des protons H labiles aux radicaux libres. Il peut être réduit de manière irréversible, en raison de son électron impair, le radical galvinoxyle présente une bande d'absorption puissante à 428 nm, dans son état radical et à une faible concentration, une solution de galvinoxyle apparaît en jaune. Sa couleur est dégradée du jaune foncé en jaune pâle en présence d'un antioxydant et son absorbance diminue (Lampp *et al.*, 2019; Zeng *et al.*, 2019).

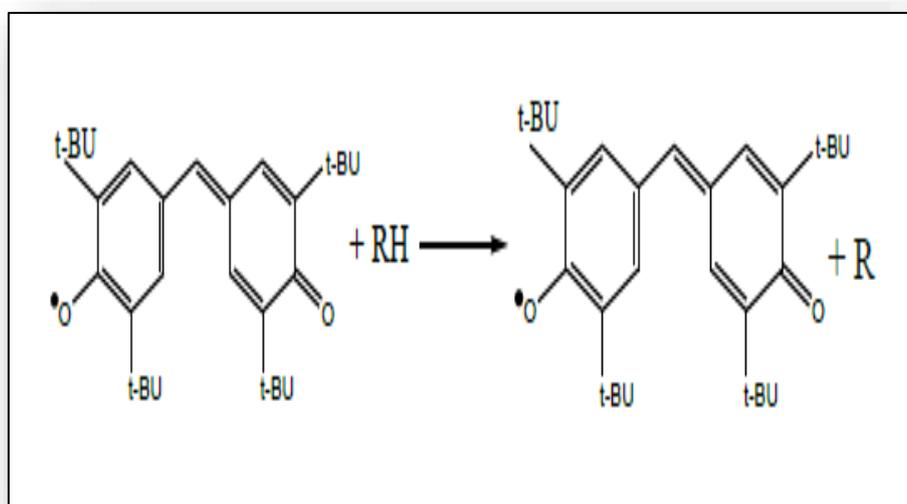


Figure 2.3 : Mécanisme de la réaction de Galvinoxyl avec un antioxydant (Shi *et al.*, 2001)

L'activité Galvinoxyl radical (GOR) scavenging assay est déterminée par la méthode décrite par : Shi et ses collaborateurs on 2001. Brièvement, 160 µL de solution méthanolique (0.1 mM) de Galvinoxyl ont été ajoutés à 40 µL de différentes concentrations d'échantillons dans le

méthanol. L'absorbance a été lue à 428 nm après une incubation de 120 minutes dans l'obscurité à température ambiante. Une solution de Galvinoxyle dans du méthanol a été utilisée comme un contrôle, le BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants. L'équation suivante a été utilisée pour calculer le piégeage du radical Galvinoxyl:

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{Echantillon}}) / A_{\text{Contrôle}}] \times 100$$

2.3.4. Activité de réduction par la formation du complexe Fe⁺²-phenanthroline

Le fer aqueux, sous sa forme ferreuse réduite (Fe⁺²), peut être déterminé par spectrophotométrie à partir de son complexe intensément coloré avec la 1,10-phénanthroline en solution acide (pH 3-4), par la réaction suivante :

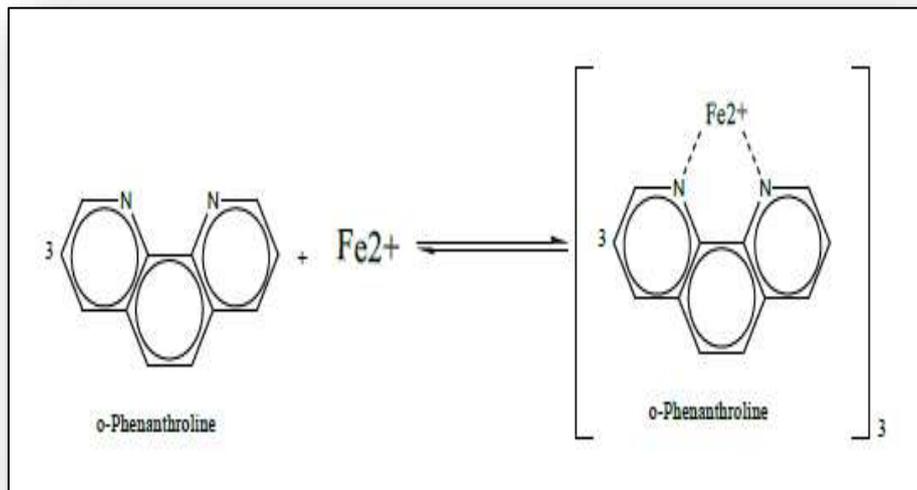


Figure 2.4 : Formation du complexe Fe⁺²-phenanthroline

Seul le fer ferreux Fe(II) ou Fe²⁺ forme un complexe stable avec l'orthophénanthroline et donne une couleur rouge. On nomme ce complexe ferroïne et il se quantifie à une longueur d'onde de 510 nm. (Adhikamsetty *et al.*, 2008). L'activité de phenanthroline est déterminée par la méthode de Szydłowska-Czerniaka (2008). Brièvement, 10 µL d'extrait *n*-BuOH + 50 µL FeCl₃ (0.2%) + 30 µL Phenanthroline (0.5%) + 110µL MeOH + incubation à l'obscurité pendant 20 min à 30°C + lecture à 510 nm. Le BHA et le BHT sont utilisés comme standard.

2.3.5. Activité de réduction du complexe cuivre-neocuproïne (CUPRAC)

Le test CUPRAC ayant un potentiel rédox de 0.6 V pour la réduction de $\text{Cu}(\text{Nc})^{2+} / \text{Cu}(\text{Nc})^{+}$ peut oxyder sélectivement la plupart des composés antioxydants, y compris les polyphénols en solution neutre, en raison de la stabilisation sélective de la néocuproïne cuivreuse vis-à-vis du cuivre néocuproïne (Özyürek *et al.*, 2011 ; Akar *et al.*, 2019). L'espèce colorée produisant la réaction rédox est réalisée à un pH presque physiologique (pH 7 du tampon d'acétate d'ammonium), Dans des conditions plus acides que le pH physiologique, la capacité de réduction peut être supprimée du fait de la protonation sur des composés antioxydants, alors que dans des conditions plus alcalines, la dissociation des phénols par des protons augmenterait la capacité de réduction de l'échantillon (Apak *et al.*, 2004).

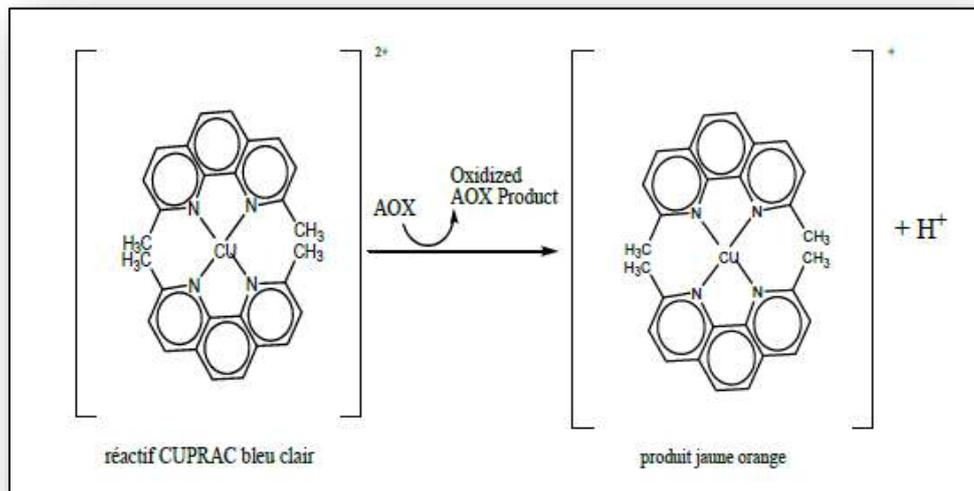


Figure 2.5 : Réduction du complexe chromogène de $\text{Cu}^{+2}\text{-Nc}$

La méthode de mesure des antioxydants CUPRAC (capacité de réduction d'antioxydant CUPric), est basée sur la mesure d'absorbance du chélate de Cu (I) -Néocuproïne (Nc) formé à la suite de la réaction d'oxydo-réduction des antioxydants briseurs de chaîne avec le réactif CUPRAC. $\text{Cu}(\text{II})\text{-Nc}$, où l'absorbance est enregistrée à la longueur d'onde d'absorption maximale de la lumière de 450 nm (Bener *et al.*, 2018 ; Bayarsaikhan *et al.*, 2019).

La capacité antioxydante réductrice des ions cuivriques des extraits a été déterminée selon la méthode CUPRAC d'Apak *et al.*, (2004). 50 μL de CuCl_2 (10 mM), 50 μL de néocuproïne (7.5 mM) et 60 μL de solutions de tampon NH_4Ac (1 M, pH 7.0) ont été ajoutés à chaque puits, dans une plaque à 96 puits. 40 μL de fractions à différentes concentrations ont ensuite été ajoutés au du mélange et bien mélangés. L'absorbance contre un blanc réactif a été mesurée à 450 nm après

1 h. Les résultats ont été donnés sous forme d'absorbances et comparés aux standards (BHT et BHA).

2.3.6. Pouvoir réducteur du Fer

L'activité Reducing power est déterminée par la méthode d'Oyaizu (1986) avec une légère modification. Le principe de la technique est basé sur la capacité à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le $(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6)$ en sel de fer ferreux (Fe^{2+}). La réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+}) en couleur bleu vert du fer ferreux (Fe^{2+}). L'augmentation de l'absorbance est proportionnelle au pouvoir réducteur de la fraction testée (Oyaizu, 1986). 10 μL de solutions d'échantillons à différentes concentrations, 40 μL de tampon phosphate 0,2 M (pH 6.6) et 50 μL de ferricyanure de potassium (1%) ont été mélangés et incubés à 50 ° C dans un bain-marie pendant 20 min. Après refroidissement, 50 μL d'acide trichloracétique à 10% (TCA) ont été ajoutés et le mélange a été centrifugé pendant 10 min à 1000 tr / min. 40 μL de couche supérieure de solution ont été mélangés avec de l'eau distillée (40 μL) et 10 μL de chlorure ferrique (0.1%). La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à $\lambda=700$ nm contre un blanc où la fraction est substitué par de l'eau distillée dont le BHT, le BHA et la vitamine C ont été utilisé comme références. Le pourcentage de pouvoir réducteur de fer est calculé par l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{Echantillon}}) / A_{\text{Contrôle}}] \times 100$$

2.3.7. Inhibition de la peroxydation lipidique (LPO)

La capacité des extraits *n*-butanol des deux plantes à inhiber la peroxydation lipidique a été évaluée par le dosage de la concentration de MDA, qui résulte de la peroxydation lipidique suivant la méthode de Banerjee *et al.*, (2005) qui est basée sur la réaction de jaune d'œuf et l'acide thiobarbiturique. A 0.5 mL d'homogénat de vitellus d'œuf à 10%, 50 μL de FeSO_4 (0.07 M) ont été ajouté. Le mélange a été incubé ensuite avec des concentrations croissantes des deux extraits ou de la vitamine C (0.1, 0.2, 0.3, 0.4 et 0.5 mg/mL) à 37 ° C pendant une heure. Après incubation, on ajoute successivement 1 mL de TCA 20% (acide trichloracétique) et 1.5 mL de TBA 1% (acide thiobarbiturique). Les échantillons ont été mélangés puis incubé une deuxième fois pendant 15 minutes à 95°C. Après centrifugation des échantillons à 400 g pendant 20 min, les substances réactives thiobarbiturique résultantes (TBARS) ont été mesurées dans le surnageant à 532 nm. La vitamine C a été utilisée comme contrôle positif et le pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique (I %) a été calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{Echantillon}}) / A_{\text{Contrôle}}] \times 100$$

Les concentrations inhibitrices médianes (IC₅₀) des extraits *n*-BuOH des deux plantes et de la vitamine C ont été calculées à partir des équations des courbes de tendances linéaires obtenues des graphiques de la variation du pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique (I %) en fonction des concentrations croissantes des extraits *n*-BuOH et de la vitamine C.

2.4. Détermination de l'activité photoprotectrice

L'activité photoprotectrice des deux plantes a été estimée par la détermination du facteur de protection solaire (SPF ; Sun protection factor) selon la méthode de Mansur *et al.*, (1986). Les extraits *n*-butanol ont été dilués dans du méthanol absolu pour obtenir une concentration de 2 mg / mL. L'aliquote préparée a été scannée par spectrophotométrie entre 290 et 320 nm, à 5 nm intervalles, en prenant le méthanol comme blanc, en utilisant *Shimadzu UV / VIS-Spectrophotometer*. La valeur SPF a été calculée par l'application à l'équation développée par Mansur *et al.*, (1986):

$$SPF \text{ spectrophotomérique} = CF \times \sum_{290}^{320} 0EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

Où EE (λ) est le spectre de l'effet érythémal; I (λ) est le spectre d'intensité solaire; Abs (λ) est l'absorbance; et CF est le facteur de correction (= 10). Les valeurs de EE (λ) × I (λ) sont des constantes déterminées par Sayre *et al.*, (1979).

2.5. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire

2.5.1. Inhibition de la dénaturation de l'albumine

L'activité Anti-inflammatoire *in vitro* est déterminée par la méthode de Sunmathi *et al.* (2016) avec de légères modifications. Le principe consiste à l'inhibition de dénaturation du BSA provoquée par la chaleur (72°C) par les extraits *n*-BuOH des plantes. Le mélange réactionnel (2.5 mL) était composé de 0.1 mL d'albumine d'œuf (à partir d'œuf de poule frais), 1.4 mL de solution saline tamponnée au phosphate (PBS, ph 6.4) et 1 mL de concentration en varryts d'échantillon afin que la finale la concentration devient 100 - 500 ug / mL. Un volume similaire d'eau bi-distillée a servi de contrôle, puis les mélanges ont été incubés à 37 °C dans un incubateur pendant 15 min puis chauffés à 70 °C pendant 5 min Après refroidissement, leur absorbance a été mesurée à 660 nm par un véhicule utilisé comme blanc, de l'acide acétylsalicylique a été utilisé comme médicament de référence et traité de manière similaire pour la détermination de l'absorbance. Chaque expérience a été réalisée en triple et les résultats ont été enregistrés en moyenne (valeurs ± SD).

$$\text{Inhibition (\%)} = 100 \times [(A_{\text{Echantillon}}/A_{\text{Contrôle}} - 1)]$$

2.5.2. Activité anti-hémolytique ou stabilisation membranaire

L'activité stabilisante de la membrane plasmique a été évaluée à l'aide d'une solution hypotonique et d'une hémolyse érythrocytaire induite par la chaleur selon la méthode d'Abe *et al.* 1991 comme décrit précédemment (Shinde, 1999). En suivant ces étapes :

Pour préparer la suspension érythrocytaire, le sang des rats a été recueilli dans des tubes héparines pour empêcher la coagulation, de suite il a été centrifugé et les cellules sanguines ont été séparées et lavées trois fois avec du NaCl à 0.9%. Le volume de la solution saline a été mesuré et reconstitué sous la forme d'une suspension à 40% (v / v) avec une solution tampon isotonique.

2.5.2.1.L'hémolyse induite par la chaleur

L'échantillon de test est constitué de la suspension érythrocytaire qui est mélangée avec la solution isotonique contenant les extraits des plantes ou de l'acide acétylsalicylique. Les tubes sont ensuite préparés en doubles paires. Une paire des tubes a été incubée à 54 ° C pendant 20 minutes dans un bain-marie. L'autre paire a été maintenue dans un bain de glace à 0-4 °C. De suite le mélange a été centrifugé pendant 3 minutes et l'absorbance du surnageant a été mesuré à 540 nm.

2.5.2.2.L'hémolyse induite par une solution hypotonique

L'échantillon de test contenant la suspension érythrocytaire mélangée à la solution hypotonique, contient les extraits *n*-BuOH des plantes ou l'acide acétylsalicylique. L'échantillon témoin constitué de la suspension érythrocytaire a été mélangé avec une solution saline tamponnée hypotonique. Ensuite le mélange a été incubé pendant 10 minutes à une température ambiante, et centrifugé et l'absorbance du surnageant a été ensuite mesurée à 540 nm.

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse ou de la stabilisation membranaire a été calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Inhibition de l'hémolyse (\%)} = 100 \times [(1 - (\text{OD}_2 - \text{OD}_1 / \text{OD}_3 - \text{OD}_1))]$$

Où OD₁ = densité optique de l'échantillon non chauffé ou en solution isotonique, OD₂ = Densité optique de l'échantillon testé chauffé ou en solution hypotonique et OD₃ = densité optique de l'échantillon témoin chauffé ou en solution hypotonique.

2.5.3. Effet sur la lignée cellulaire (U937)

2.5.3.1.Culture cellulaire et préparation de la suspension cellulaire

Des cellules U937 (*ICLC HTL94002-Interlab Cell Line Collection*) ont été cultivées dans un milieu Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 supplémenté avec 10% de FBS, 2 mM de L-glutamine, 100 U / mL de pénicilline et 100 µg / mL de streptomycine à 37 ° C dans 5% de

CO₂ dans une atmosphère saturée en eau. Les cellules U937 ont été différenciées avec 10 ng / mL de phorbol-12-myristate-13-acétate (PMA, Sigma – Aldrich, St Louis, MO, USA) et / ou activées avec 400 ng / mL de lipopolysaccharide de *Salmonella enterica* sérotype typhimurium (LPS, Sigma – Aldrich). Les cellules ont été traitées avec un extrait *n*-BuOH de *S. satureioides* à différentes concentrations (25, 50, 100 et 200 µg/mL).

2.5.3.2. Test de viabilité cellulaire

Le test MTT est un test de cytotoxicité colorimétrique qui est utilisé pour déterminer indirectement le nombre de cellules présentes à travers les niveaux de métabolisme cellulaire et donc, par implication, la viabilité ou la prolifération cellulaire (Abel *et al.*, 2018). Il est basé sur la réduction par l'enzyme succinate déshydrogénase mitochondriale du «3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5 diphényltétrazolium bromide (MTT)» en un précipité «formazan», réduction qui n'intervient que dans les cellules métaboliquement actives. L'addition d'une solution du DMSO dissout ces cristaux donnant une solution homogène (Pascua-Maestro *et al.*, 2018).

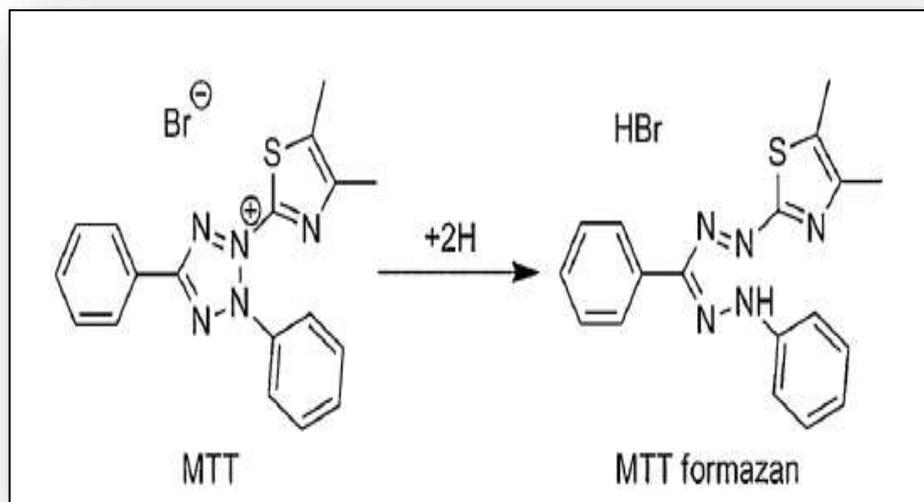


Figure 2.6: Réduction du bromure de MTT en son formazan (Grela *et al.*, 2018)

La viabilité cellulaire a été évaluée par un test MTT modifié (*CellTiter 96@Non-Radioactive Cell Proliferation Assay*, Promega, Madison, WI, USA) selon les instructions du fabricant. En bref, les cellules U937 ont étéensemencées dans une plaque à 96 puits (4 x 10⁴ cellules / puits) et traitées avec l'extrait *n*-butanolde *S. satureioides* à 25, 50, 100 et 200 µg / mL pendant 72 heures. L'absorbance du produit formazan a été quantifiée à 560 nm en utilisant un lecteur de microplaques (*GloMax*, Promega).

2.5.3.3. Détection ROS, NO et PGE2

Il existe plusieurs façons de détecter les concentrations de ROS à la fois en solution et dans les cellules, avec le plus cohérent et accepté étant un marquage fluorescent (Wiegand *et al.*, 2019). Hydrogène peroxyde (H_2O_2), radicaux hydroxyles (OH^\bullet) et peroxy radical (ROO $^\bullet$) peuvent être mesurés après coloration avec Diacétate de 5-(et-6)-carboxy-2', 7'-dichlorodihydrofluorescéine (DCFDA). Cette sonde perméable aux membranes diffuse dans les cellules où elle devient hydrolysée par l'estérase intracellulaire en 5-(et-6)-carboxy-2', 7'-dichlorodihydrofluorescéine (DCFH). Cette dernière reste piégée dans les cellules et réagit avec H_2O_2 , générant la 2', 7'-dichlorofluorescéine (DCF) fluorescente. Par conséquent, le montant de peroxyde produit par les cellules peut être estimé par l'intensité de fluorescence du DCF ($\lambda_{excitation} = 488 \text{ nm}$ et $\lambda_{émission} = 530 \text{ nm}$) analysé par cytométrie en flux ou par utilisation d'un lecteur de plaques à fluorescence (Katerji *et al.*, 2019).

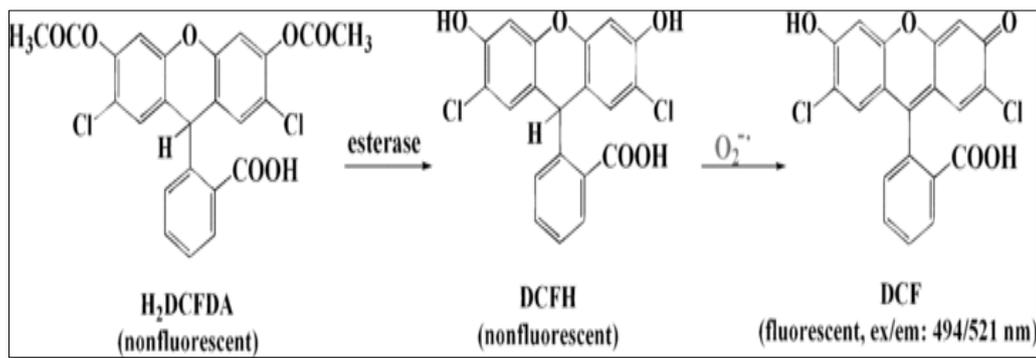


Figure 2.7 : Les structures de H₂DCFDA, DCFH et DCF ; et la voie de réaction de la détection de superoxyde (Lü *et al.*, 2009)

Les niveaux d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et d'oxyde nitrique (NO) ont été mesurés en utilisant du diacétate de 6-carboxy-2', 7'-dichlorodihydrofluorescéine (DCF-DA, Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA) et de 4-amino- Diacétate de 5-méthylamino-2', 7'-difluorofluorescéine (diacétate de DAF-FM, Thermo Fisher Scientific), respectivement, selon les instructions du fabricant. La fluorescence a été révélée par un lecteur de plaques *GloMax (Promega)*. Pour la détection de la prostaglandine E2 (PGE2), les cellules U937 ont été différenciées en macrophages en ajoutant 10 ng / mL de PMA (U937 / PMA). Ensuite, les cellules U937 / PMA ont été traitées avec 50 ou 100 µg / mL de l'extrait de *n*-BuOH de *S. saturoioides* pendant 1 heure avant de déclencher une inflammation avec le LPS. Quarante-huit heures plus tard, les niveaux de PGE2 ont été quantifiés dans des milieux de culture cellulaire à

l'aide du kit d'immunoanalyse DetectX Prostaglandin E2 haute sensibilité (*Arbor Assays, Ann Arbor, MI, USA*) selon le protocole du fabricant (Convertini *et al.*, 2016).

2.5.3.4. *Western blot*

Le *Western blot* est une technique biochimique utilisée pour identifier les protéines spécifiques dans un mélange d'échantillons complexe. Il combine le tamisage électrophorétique avec un immunodosage pour fournir des dosages semi-quantitatifs des protéines. Il a été décrit pour la première fois en 1979. Repose sur l'interaction spécifique des anticorps avec les antigènes cibles présents dans le mélange d'échantillons. Après que les protéines de l'échantillon soient séparées sur un gel de protéines et transférées à la membrane, des anticorps primaires et secondaires sont utilisés pour se lier et visualiser la protéine cible (Jin et Kennedy, 2015; Pillai-Kastoori *et al.*, 2020). Pour l'analyse par immunoblot, les cellules U937 ont été stimulées avec du LPS en présence ou en l'absence de *S. satereioides* à 50 ou 100 µg / mL. Les cellules ont été collectées, lysées dans un tampon de chargement d'échantillon et bouillies à 100 ° C pendant 5 minutes. Trente microgrammes de protéines ont été soumis à une électrophorèse SDS / PAGE sur des gels de polyacrylamide SDS à 10% et ensuite électroblotés sur des membranes de nitrocellulose. Les membranes ont été bloquées pendant 1 heure dans une solution de TBS contenant 5% de lait écrémé en poudre et 0,5% de Tween 20, puis incubées avec de l'anti-NF-κB / p65 (*ab7970, abcam, Cambridge, MA*) et de l'anti-β-actine (*ab8227, abcam*) anticorps. Les immunoréactions ont été détectées en utilisant l'anticorps HRP Goat anti-Rabbit IgG (H + L) (Thermo Fisher Scientific). L'intensité des bandes de protéines immunomarquées a été quantifiée par balayage densitométrique à l'aide du logiciel *ImageJ*.

2.5.4. **L'effet anti-inflammatoire *in vivo*: Effet sur l'œdème dans la patte de rat induite par la carragénine**

L'expérience a été effectuée selon le protocole de Winter *et al.*, 1962 cité par Bouriche *et al.*, 2016. L'étude a été réalisée sur des rats mâles de la souche *Wistar Albino* (170-190 g) provenant de l'élevage au niveau de l'animalerie de l'Université Frères Mentouri Constantine. Les rats sont regroupés par lot de cinq. L'inflammation aigüe a été provoquée par l'injection de 0.1 ml de carragénine (1%) sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure droite du rat. Une heure avant l'induction de l'œdème, les rats traités reçoivent oralement 200 ou 400 mg/kg de l'extrait *n*-BuOH de *G. verpes* Pomel et *S. satereioides*.

L'aspirine (100 mg/kg) est utilisé comme anti-inflammatoire de référence. Le volume des pattes enflammées est mesuré à l'aide d'un pléthysmomètre (*Ugo Basile, Italie*) avant l'administration de la carragénine et 30 min après traitement, puis chaque heure jusqu'à 6 h.

Le pourcentage d'inhibition de l'œdème est défini par rapport au groupe témoin selon la formule :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(\Delta \text{ Témoin} - \Delta \text{ Traité}) / \Delta \text{ Témoin}] \times 100$$

Δ Témoin : moyenne de volume pour le groupe témoin.

2.6. Évaluation de l'activité anti-hyperglycémiant

2.6.1. Test de tolérance au glucose

L'activité anti-hyperglycémiant est mesurée afin de déterminer la dose la plus efficace des deux plantes : *S.satureioides* et *G.vepres* Pomel. L'hyperglycémie est provoquée par l'administration par voie orale de glucose aux rats femelles de la souche *Wistar Albino* à la dose de 4 g/kg de poids corporel.

Pour cette étude, 60 rates (170-190 g) sont repartis en 10 lots de 6 rates.

Groupe 1 : Contrôles négatifs qui reçoivent par voie orale de l'eau distillée (5 mL/kg) uniquement.

Groupe 2 : Contrôles positifs qui reçoivent par voie orale de l'eau distillée, et 30 minutes après, 4 g/kg de glucose.

Groupe 3 : Groupe standard négatif, ces rates reçoivent par voie orale de Glibanclamide (5 mg/kg), uniquement.

Groupe 4 : Groupe standard positif, des rates qui reçoivent par voie orale le Glibanclamide (médicament hypoglycémiant) à la dose de 5 mg/kg, puis 4 g/kg de glucose 30 minutes après.

Groupes 5 - 10 : Les deux extraits sont administrés à des rates par voie orale (100, 200 et 400 mg / kg) 30 minutes avant le gavage gastrique d'une solution de glucose à la dose de 4 g/kg.

La glycémie des rates de chaque groupe est mesurée à l'aide de bandelettes de test de glycémie et d'un glucomètre juste avant l'administration des substances ou de l'eau distillée puis, après le traitement, à des intervalles de 30 minutes, pendant 4 heures de traitement. Le pourcentage d'induction et de réduction de l'hyperglycémie provoquée sont ensuite calculés.

2.7. Évaluation de l'activité hépato-néphroprotectrice

2.7.1. Soins aux animaux et conception expérimentale

Les animaux utilisés dans cette expérimentation sont des rats mâles de la souche *Wistar Albino* pesant environ (175 -200 g) (au début de l'étude), issus d'un élevage au niveau de l'animalerie de l'Université Frères Mentouri Constantine 1. Ils sont placés aléatoirement dans des cages. Ils ont accès libre à l'eau et à la nourriture de type standard et ils sont maintenus dans une animalerie à température constante (22 ± 2) C° et soumis à un cycle de lumière/obscurité de 12/12h.

2.7.2. Induction de la toxicité et traitement des rats

2.7.2.1. Effet préventif de *S. satureioides* sur la toxicité aigüe induite par l'INH (75 mg/kg) et la RIF (150 mg/kg)

Pour évaluer l'effet protecteur de l'extrait *n*-BuOH de *S. satureioides* (*S.s*) sur les rats durant 07 jours. Les rats sont répartis en huit groupes de 7 rats chacun de la manière suivante :

- **Groupe témoin** : reçoit l'eau distillée (5 mL) par gavage pendant 07 jours
- **Groupe *S.s* 50 mg/kg** : reçoit l'extrait par gavage à la dose (50 mg/kg) pendant 07 jours.
- **Groupe *S.s* 100 mg/kg** : reçoit l'extrait par gavage à la dose (100 mg/kg) pendant 07 jours.
- **Groupe Vit E 100mg/kg** : reçoit la vitamine E par gavage à la dose (100 mg/kg) pendant 07 jours.
- **Groupe INH-RIF** : reçoit quotidiennement par gavage une dose d'un traitement combinée constitué de l'isoniazide (INH à 75mg/kg) et de la rifampicine (RIF à 150 mg /kg) pendant 07 jours (Chen *et al.*, 2011; Enriquez-Cortina *et al.*, 2013).
- **Groupe INH-RIF/ *S.s* 50 mg/kg** : reçoit l'extrait par gavage à la dose (50 mg/kg). Puis après 1h, une dose d'un traitement combinée constitué de l'isoniazide (INH à 75 mg/kg) et de la rifampicine (RIF à 150mg /kg) pendant 07 jours.
- **Groupe INH-RIF/ *S.s* 100 mg/kg** : reçoit l'extrait par gavage à la dose (100 mg/kg). Puis après 1h, une dose d'un traitement combinée constitué de l'isoniazide (INH à 75mg/kg) et de la rifampicine (RIF à 150mg /kg) pendant 07 jours.
- **Groupe INH-RIF/Vit E 100 mg/kg** : reçoit la vitamine E par gavage à la dose (100 mg/kg). Puis après 1h, une dose d'un traitement combinée constitué de l'isoniazide (INH à 75mg/kg) et de la rifampicine (RIF à 150mg /kg) pendant 07 jours.

2.7.2.2.Effet préventif de *G. vepres* Pomel sur la toxicité chronique induite par l'INH (100 mg/kg) et la RIF (100 mg/kg)

Pour évaluer l'effet protecteur de l'extrait *n*-BuOH de la plante *G. vepres* Pomel (*G.vp*) sur les rats durant 21 jours. Les rats sont répartis en huit groupes de 8 rats chacun de la manière suivante :

- **Groupe témoin** : reçoit l'eau distillée (5 mL) par gavage pendant 21 jours
- **Groupe *G.vp* 50 mg/kg** : reçoit l'extrait par gavage à la dose (50 mg/kg) pendant 21 jours.
- **Groupe *G.vp* 100 mg/kg** : reçoit l'extrait par gavage à la dose (100 mg/kg) pendant 21 jours.
- **Groupe Vit E 100mg/kg** : reçoit la vitamine E par gavage à la dose (100 mg/kg) pendant 21 jours.
- **Groupe INH-RIF** : reçoit par gavage ; une dose (100 mg/kg) d'INH et après une demi-heure une dose (100 mg/kg) de la RIF pendant 21 jours (Thattakudian *et al.*, 2011 ; Wu *et al.*, 2015).
- **Groupe INH-RIF/ *G.vp* 50 mg/kg** : reçoit par gavage ; l'extrait à la dose (50 mg/kg), une dose de (100 mg/kg) d'INH et une dose (100 mg/kg) de la RIF pendant 21 jours.
- **Groupe INH-RIF/ *G.vp* 100 mg/kg** : reçoit par gavage ; l'extrait à la dose (100 mg/kg), une dose de (100mg/kg) d'INH et une dose (100 mg/kg) de la RIF pendant 21 jours.
- **Groupe INH-RIF/Vit E 100 mg/kg** : reçoit par gavage ; la vitamine E à la dose (100 mg/kg), une dose de (100mg/kg) d'INH et une dose (100 mg/kg) de la RIF pendant 21 jours.

La dose des extraits *n*-BuOH des deux plantes a été choisie sur la base des observations *in vivo* et des recherches menées dans notre laboratoire sur l'effet de différents extraits de plantes sur la toxicité hépatique induite par des xénobiotiques (Zama *et al.*, 2007; Boubekri *et al.*, 2014; Latreche *et al.*, 2016, Djebbari *et al.*, 2017; Lahnech *et al.*, 2017 et), tandis que la dose de toxine a été choisie sur la base d'études antérieures (Chen *et al.*, 2011; Thattakudian *et al.*,2011 ; Enriquez-Cortina *et al.*, 2013 et Wu *et al.*, 2015).

- Dissection des rats, prélèvement du sang et des organes

Après les différents traitements, les rats sont anesthésiés en utilisant le chloroforme. La collecte du sang s'effectue à partir de la veine porte dans des tubes héparines, puis centrifugé à

3000 tours/10 min pour récupérer le sérum afin d'effectuer le dosage des paramètres biochimiques.

➤ Préparation d'homogénat et de cytosol

Après le sacrifice des rats, une perfusion aura lieu avec une solution froide de NaCl (0.9%) afin de drainer tout le sang restant dans les organes. En suite les organes sont coupés en petits morceaux, pesés, homogénéisés pour doser l'MDA, le GSH et l'activité enzymatique de GPx. L'homogénat est centrifugé pendant 45 min à 4°C pour obtenir le surnageant qui sera utilisé comme une source de CAT.

2.7.3. Evaluation des paramètres biochimique et les paramètres du stress

2.7.3.1.Méthodes de dosage des paramètres biochimiques du sang

Les activités enzymatiques : AST, ALT, ALP, GGT et le taux des triglycérides et de cholestérol (qui sont des bio-marqueurs de la fonction hépatique) sont mesurées. Aussi bien les bio-marqueurs de la fonction rénale (l'urée, l'acide urique et la créatinine) ont été estimés. Les paramètres cités précédemment sont déterminés par des méthodes colorimétriques en utilisant des Kits commerciale (*Spinreact, Espagne*) sur un automate multiparamétrique dans un laboratoire de biologie et d'analyses médicales.

a. Dosage des transaminases

Les transaminases (ou amino transférases) sont des enzymes hépatocytaires dont la fonction est de catalyser des réactions de transfert d'un groupe aminé d'un acide alpha-aminé à un acide α -cétonique. Il existe 2 transaminases dont le coenzyme est la vitamine B₆ (phosphate de pyridoxal) AST et ALT. Le dosage des indicateurs de la fonction hépatique AST et ALT est réalisé selon la méthode de (Murray *et al.*, 1984).

b. Dosage de la phosphatase alcaline (ALP)

Le dosage du phosphate alcalin est réalisé selon la méthode de Wenger (1984). Les phosphatases alcalines(ALP) sont des enzymes présentes partout dans l'organisme mais surtout dans le foie, l'os, l'intestin et les reins. L'élévation de ce bio-marqueur traduit une atteinte cholestatique caractérisée par la libération de l'enzyme du tissu hépatocytaire vers le compartiment plasmatique. L'évaluation de la concentration plasmatique de l'ALP a été réalisée avec un analyseur en mesurant de manière photométrique la vitesse d'apparition du para-Nitrophénol, qui est proportionnelle à l'activité de l'ALP et les valeurs sont exprimées en (UI/l).

c. Dosage de la Gamma Glutamyl Transférase

Le dosage du Gamma Glutamyl Transférase est réalisé selon la méthode de Gendler (1984). La « γ GT » est une enzyme de la classe des transférases découvertes en 1950, principalement trouvée dans les membranes des cellules ayant une activité importante de sécrétion et d'absorption, aussi dans les tissus et les organes, et particulièrement abondante dans le tube proximal rénal, le corps ciliaire, les vésicules séminales, le foie, le pancréas, la glande mammaire et les villosités intestinales. Elle catalyse le transfert d'un groupement « γ -Glutamyl » vers un accepteur d'acide aminé, beaucoup plus active au niveau rénal et au pancréas, et moins active au niveau du foie. Lors de la pathologie hépatobiliaire, comme : Cholestase, hépatites, métastase hépatique, tumeurs primitives du foie et cirrhose alcoolique le taux de cette enzyme augmente significativement.

d. Dosage des triglycérides (TG)

Le dosage des triglycérides est réalisé selon la méthode enzymatique et colorimétrique de Buccolo (1973). Le principe repose sur le dosage enzymatique du glycérol libre après action de la lipase. Les triglycérides sont hydrolysés enzymatiquement par la lipase afin de libérer les AG et le glycérol. Ce dernier est phosphorylé par l'ATP et le glycérol Kinase (GK) pour produire du Glycérol- 3-phosphate et de l'ADP. Le Glycérol-3-phosphate est oxydé en dihydroxyacétone phosphate par le glycérol phosphate oxydase (GOP) en produisant le H_2O . Lors d'une réaction colorée catalysée par la peroxydase, le H_2O_2 réagit avec le 4-aminoantipyrine (4-AAP) et le 4-chlorophénol (4-CP) pour produire un colorant rose.

e. Dosage du cholestérol

Le dosage du cholestérol est réalisé selon la méthode de Naito (1984). Ce dosage est basé sur la transformation des esters de cholestérol au cholestérol libre, ensuite leur oxydation donne la naissance de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 qui réagit avec le phénol et le 4-Aminophénazone dont la présence de l'enzyme de peroxydase pour donner un composant de couleur rose.

f. Dosage de l'acide urique

Le dosage de l'acide urique se fait à l'aide de la méthode de Schultz (1984). L'acide urique est oxydé par l'uricase en allantoïne et peroxyde d'hydrogène ($2H_2O_2$) lequel, en présence de peroxydase (POD), 4-aminophénazone (4-AF) et 2-4 Dichlorophénol Sulfonate (DCPS), forme un composé rosacé.

g. Dosage de l'urée

Le dosage de l'urée est réalisé par la méthode de Kaplan (1984). L'échantillon d'urée est hydrolysé de manière enzymatique dans l'ammoniac (NH_4^+) et le dioxyde de carbone (CO_2). Les ions d'ammoniac réagissent avec α -cétoglutarique dans une réaction catalysée par le glutamate

déshydrogénase (GLDH) avec une oxydation simultanée de NADH à NAD⁺ composant un complexe coloré en vert leur densité lue à 590 nm.

h. Dosage de la créatinine

La créatinine est mesurée selon la méthode de Spierto et al. (1979). Dans un milieu basique, en utilisant l'acide picrique qui va réagir avec la créatinine pour former un complexe coloré, sa densité lue à 510 nm.

2.7.3.2. Mesure des paramètres du stress

a. Dosage de MDA au niveau d'homogénat

La peroxydation lipidique est estimée par le dosage de malondialdéhyde (MDA) selon la méthode d'Uchiyama et Mihara (1978). L'MDA est l'un des produits terminaux de l'oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) par les radicaux libres libérés au cours de stress. En milieu acide et à chaud (100°C) une molécule d'MDA est condensée avec deux molécules de l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un complexe coloré en rose. Le principe de cette méthode est résumé dans la figure ci-dessous (Figure 2.8) :

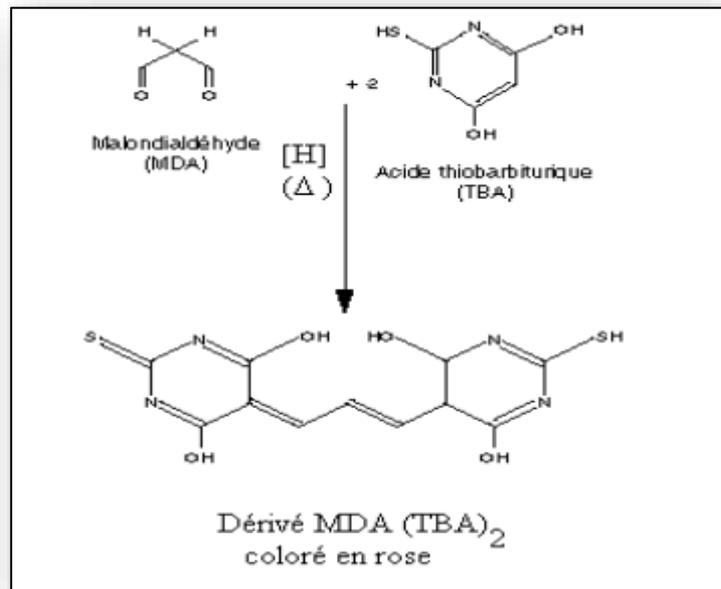


Figure 2.8 : Principe de dosage du malondialdéhyde

La densité optique du complexe formé entre le MDA de l'échantillon et le TBA est mesurée à 532 nm et la concentration du MDA est exprimée en nmol/g tissu.

b. Dosage de glutathion (GSH)

Le dosage du GSH est réalisé selon la méthode colorimétrique d'Ellman (1959). Son principe est basé sur la réaction d'oxydation du GSH par l'acide 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoïque) (DTNB), libérant ainsi l'acide thionitrobenzoïque (TNB) selon la réaction suivante (Figure 2.9) :

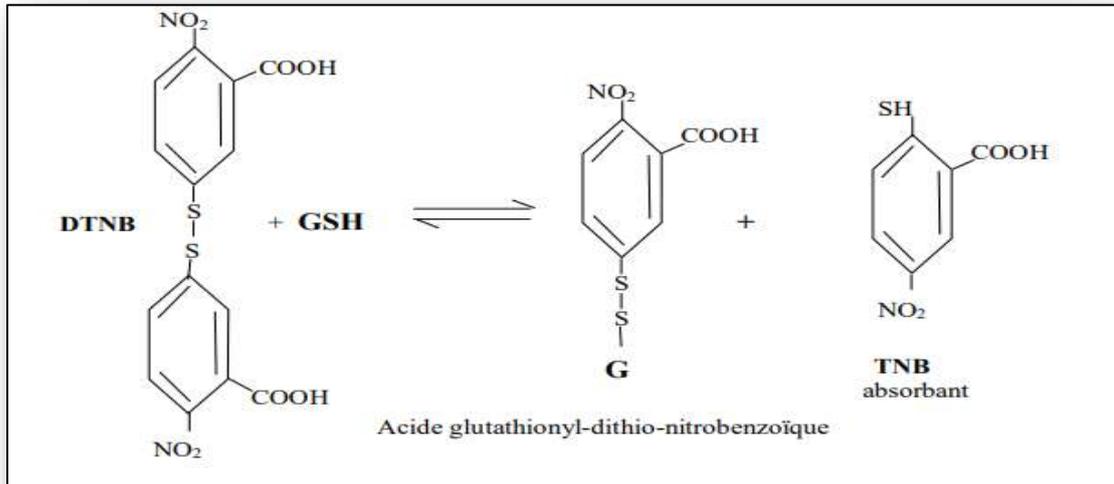


Figure 2.9 : Principe de dosage de glutathion

Les concentrations sont exprimées en nmol/gramme d'organe.

c. Evaluation de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx)

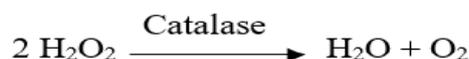
L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de Flohe et Gunzler (1984). Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène H₂O₂ en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence du GPx selon la réaction suivante :



La densité optique a été mesurée à 412 nm et l'activité de l'enzyme GPx a été exprimée en µmol GSH / mg protéine).

d. Evaluation de l'activité enzymatique du catalase (CAT)

L'activité de la catalase a été estimée selon la méthode de Claiborne (1985). Le principe est basé sur la disparition du peroxyde d'hydrogène H₂O₂ du fait de l'activité de la catalase présente dans l'échantillon selon la réaction suivante :



Un volume de 25 μL du cytosol a été mélangé avec 1 ml de tampon phosphate (0.1 M, pH 7.4) et 975 μL du peroxyde d'hydrogène (0.019 M). La densité optique est mesurée trois fois successive chaque 60 secondes à 560 nm. L'activité de la catalase a été exprimée en unité internationale par minute et par gramme de protéine (UI/min/g de protéine).

Le dosage des protéines totales est réalisé par la méthode de Koller (1984) en utilisant un kit commercial (*Spinreact, Espagne*). Les protéines de l'échantillon donnent une couleur violette/bleue avec le réactif de Biuret. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de protéines totales dans l'échantillon.

2.7.3.3. Préparation des coupes histologiques

Après le sacrifice des animaux et leurs dissections, une perfusion aura lieu avec une solution de NaCl (0.9%) afin de drainer tout le sang restant dans les organes. Un morceau de l'organe visé (foie et reins) de chaque rat est immédiatement prélevé, coupé en petits morceaux, et conservé dans le fixateur formol (10%). L'étude histologique s'effectue dans les laboratoires d'anatomie pathologique de CHU / Centre Hospitalo-Universitaire Ben Badis de Constantine, par un microscope photonique *Leica ICC 50 HD*.

2.8. Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel *GraphPad Prism 5*. Les résultats des tests effectués *in vitro* sont exprimés en moyenne \pm SD, et en moyenne \pm SEM pour les tests *in vivo*. Les corrélations entre les données des tests ont été calculées en utilisant les coefficients de corrélation de Pearson (r^2). La détermination des taux de signification sont faites par le test *t* de *Student*. Les différences sont considérées comme significatives lorsque $p < 0.05$:

ns ; $p > 0,05$ = la différence n'est pas significative.

* ; $0.05 > p > 0.01$ = la différence est significative.

** ; $0.05 > p > 0.001$ = la différence est hautement significative.

*** ; $p < 0.001$ = la différence est très hautement significative.

Partie 3:

RESULTATS

Etudes in vitro et in vivo

3. RESULTATS

3.1. Analyse phytochimique

Comme le montre le tableau (3.1), la teneur totale en phénol des deux extraits *n*-butanol ont été quantifiée. L'équation de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique était : $y = 0.0034x + 0.1044$ avec $R^2 = 0.9972$. Les résultats ont montré une bonne relation linéaire dans la portée de détection. L'extrait *n*-BuOH de *S. satureioides* présente une teneur phénolique plus élevée (257.43 ± 5.14 μg d'extrait équivalents d'acide gallique / mg d'extrait), comparativement à *G. vepres* Pomel (216.74 ± 11.01 μg de l'extrait d'équivalents d'acide gallique / mg d'extrait).

Alors que la teneur en flavonoïdes dans les deux extraits est déterminée en utilisant la méthode spectrophotométrique avec l' AlCl_3 et exprimée en termes d'équivalent quercétine, μg QE / mg d'extrait (l'équation de la courbe standard : $y = 0.0048x$, $R^2 = 0.997$). Dans la présente étude, la teneur totale en flavonoïdes présent dans *G. vepres* Pomel et *S. satureioides* se sont avérées être de 121.46 ± 6.92 et 67.36 ± 0.73 μg d'équivalent quercétine / mg d'extrait respectivement.

De plus, la teneur en flavonols des plantes est déterminée en équivalent quercétine (QE). Les résultats de la présente étude ont montré des teneurs variés en flavonols concernant les extraits *n*-BuOH des deux plantes. La teneur la plus élevée en flavonols est celle de la plante *G. vepres* Pomel (102.65 ± 2.98 μg QE/mg d'extrait) comparativement à *S. satureioides* (58.23 ± 1.99 μg QE/mg d'extrait). Où, l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de la quercétine était $y = 0.0071x + 0.0225$ avec $R^2 = 0.9986$. Ces résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3.1 : Teneur totale en phénol, flavonoïdes et flavonols

Extrait <i>n</i> -BuOH	Teneur totale en phénol ^a	Teneur totale en flavonoïdes ^b	Teneur en flavonol ^b
<i>S. satureioides</i>	257.43 ± 5.14	67.36 ± 0.73	58.23 ± 1.99
<i>G. vepres</i> Pomel	216.74 ± 11.01	121.46 ± 6.92	102.65 ± 2.98

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SD de trois mesures. ^a La teneur totale en phénols est exprimée en mg d'équivalents d'acide gallique par mg d'extrait de plante (μg GAE / mg d'extrait). ^b La teneur totale en flavonoïdes et flavonols est exprimée en μg d'équivalents de quercétine par mg d'extrait de plante (μg QE / mg d'extrait).

3.2. Activité antioxydant

L'extrait *n*-BuOH des plantes sont des sources possibles de composants chimiques naturels responsables de l'activité antioxydant. C'est dans ce contexte que nous avons évalué l'activité antioxydant des deux plantes ; *S. satureioides* et *G. vepres* Pomel par sept méthodes différentes. L'acide ascorbique, BHA et BHT sont connus pour leurs propriétés antioxydants et ils sont utilisés comme control positif.

3.2.1. Activité antiradicalaire DPPH

L'activité anti-radicalaire des extraits *n*-BuOH des deux plantes vis-à-vis du radical DPPH^{•+} a été évaluée par la spectrophotométrie à 517 nm, en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune. Dans ce test les résultats ont été comparés aux étalons de référence (BHA et BHT).

D'après les résultats reportés dans le tableau (3.2), l'extrait *n*-BuOH de la plante *G. vepres* Pomel est la moins active vis-à-vis le DPPH avec un $IC_{50} = 80.27 \pm 3.83 \mu\text{g/mL}$ comparativement à la même phase de la plante *S. satureioides* ($IC_{50} = 47.02 \pm 5.34 \mu\text{g/mL}$). Ces résultats se concordent avec le contenu phénolique de chaque plante mentionnés dans le tableau (3.1). Le BHA et BHT ont montré une activité anti-radicalaire très importante avec des valeurs des $IC_{50} = 5.73 \pm 0.41$ et $IC_{50} = 22.32 \pm 1.19 \mu\text{g/mL}$ respectivement.

Tableau 3.2 : Inhibition du radical DPPH par les extraits *n*- BuOH de *S. satureioides* et *G. vepres* Pomel

Concentration $\mu\text{g/mL}$	% Inhibition			
	<i>S.satureioides</i>	<i>G. vepres</i> Pomel	BHT	BHA
3.125	4.44±0.88	<i>na</i>	11.69±1.88	28.95±1.16
6.25	9.92±2.8	0.75±0.21	22.21±1.30	54.33±1.59
12.5	15.34±2.69	11.51±1.3	37.12±1.80	76.76±1.65
25	29.93±2.96	20.81±0.43	52.63±2.70	84.09±0.35
50	53.27±5.04	33.91±1.38	56.02±0.53	87.53±0.82
100	85.83±0.7	60.57±2.45	83.60±0.23	87.73±0.15
200	<i>nt</i>	82.09±1.78	87.28±0.26	88.43±0.23
IC₅₀ $\mu\text{g/mL}$	47.02±5.34	80.27±3.83	22.32±1.19	5.73±0.41

Les valeurs exprimées sont des moyennes \pm SD de trois mesures parallèles. *nt*: non testé. *na*: pas d'absorbance.

3.2.2. Activité antiradicalaire ABTS

L'ABTS (acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) est un composé organique stable utilisé dans l'évaluation de l'activité anti-radicalaire avec un pic d'absorption à 734 nm. En présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène, le cation ABTS^{•+} subit une réduction et passe de la couleur bleu-vert à un état neutre incolore. Les résultats du test ABTS reportés dans le tableau (3.3), ont révélé que *S. satureioides* présente la meilleure activité anti-radicalaire (IC₅₀ = 42.94±0.92 µg/mL) en comparant avec *G. vepres* Pomel (IC₅₀ = 66.46±2.43 µg/mL). Cependant, cette activité est considérée comme modérée en la comparant aux deux standards : BHT et BHA (IC₅₀ = 1.29±0.30 et 1.81±0.10 µg/mL respectivement).

Les résultats des tableaux 3.8 et 3.9 montrent des fortes corrélations ont été observées entre les Activités anti-radicalaires DPPH et ABTS dans les deux plantes ($r^2 = 1$ et 0.999, $p < 0.001$ et $p < 0.05$).

Tableau 3.3 : Inhibition du cation radical ABTS par les extraits *n*- BuOH de *S. satureioides*. *G. vepres* Pomel

Concentration µg/mL	% Inhibition			
	<i>S. satureioides</i>	<i>G. vepres</i> Pomel	BHT	BHA
3.125	na	na	59.22±0.59	83.42±4.09
6.25	na	na	78.55±3.43	93.52±0.09
12.5	3.95±1.1	na	90.36±0.00	93.58±0.09
25	28.05±1.13	17.54±0.45	92.18±1.27	93.63±0.16
50	58.90±1.44	42.48±2.64	93.37±0.86	93.63±0.95
100	87.35±0.48	72.60±1.81	94.87±0.87	94.20±0.90
200	92.73±0.36	83.58±1.19	96.68±0.39	95.39±2.62
IC₅₀ µg/mL	42.94±0.92	66.46±2.43	1.29±0.30	1.81±0.10

Les valeurs exprimées sont des moyennes ± SD. des trois mesures parallèles. *nt*: non testé. *na*: pas d'absorbance.

3.2.3. Activité du piégeage du radical Galvinoxyl

L'activité du piégeage du radical Galvinoxyl a été évaluée par spectrophotomètre à 428 nm, en suivant la réaction par son passage de la couleur jaune foncé en jaune pâle. Dans ce test les résultats ont été comparés aux standards de références (BHA. BHT). D'après les résultats illustrés dans le tableau 3.4, on remarque que *S. satureioides* a montré le pourcentage d'inhibition le plus élevé avec une valeur de (IC₅₀ = 37.19±2.97 µg /mL) en comparaison avec *G. vepres* Pomel (IC₅₀ = 80.94±4.72 µg /mL), et en comparant avec les molécules de référence : BHT (IC₅₀ = 3.32±0.18 µg/mL) et BHA (IC₅₀ = 5.38 ±0.06 µg/mL).

Une bonne corrélation a été trouvée entre les données de cette activité anti-radicalaire (GOR) et la teneur totale en phénol de *G. vepres* Pomel ($r^2 = -0.997$, $p < 0.05$) (Tableau 3.9).

Tableau 3.4 : Inhibition du radical Galvinoxyl par les extraits *n*- BuOH de *S. satureioides* et *G. vepres* Pomel

Concentration µg/mL	% Inhibition			
	<i>S.satureioides</i>	<i>G. vepres</i> Pomel	BHT	BHA
3.125	<i>nt</i>	<i>nt</i>	49.23±0.77	39.15±0.88
6.25	0.02±10.33	<i>na</i>	61.29±0.69	54.16±0.27
12.5	25.57±5.88	5.21±5.38	68.89±0.26	65.02±1.26
25	51.15±1.96	29.54±1.43	70.02±0.50	70.19±0.51
50	55.54±1.05	47.76±1.89	70.49±0.55	70.32±0.65
100	54.60±0.33	53.23±1.16	71.13±0.74	70.60±0.10
IC₅₀ µg/mL	37.19±2.97	80.94±4.72	3.32±0.18	5.38 ±0.06

Les valeurs exprimées sont des moyennes ± SD de trois mesures parallèles. *nt*: non testé. *na*: pas d'absorbance.

3.2.4. Activité de réduction par la formation du complexe Fe⁺²-phenanthroline

En présence d'un antioxydant, le fer ferrique (Fe³⁺) est réduit en fer ferreux (Fe²⁺). Ce dernier forme un complexe stable avec la phénanthroline de couleur rouge orange, qui a un maximum d'absorbance à 510 nm. L'analyse des résultats de l'activité antioxydant montre que tous les deux plantes sont actives : *S.satureioides* (A_{0.5} = 14.36±1.99 µg/mL) et *G. vepres* Pomel (A_{0.5} = 22.9±3.68 µg/mL). Mais moins efficace par rapport au BHA (A_{0.5} = 0.93±0.07 µg/mL) et BHT (A_{0.5} = 2.24±0.17 µg/mL) qui sont utilisés comme références et sont illustré dans le tableau (3.5).

Tableau 3.5 : Réduction du fer par la méthode phénanthroline

Concentration µg/mL	Absorbance			
	<i>S.satureioides</i>	<i>G. vepres</i> Pomel	BHT	BHA
3.125	0.37±0.02	0.35±0.00	0.53±0.03	0.73±0.02
6.25	0.39±0.01	0.37±0.01	1.23±0.02	0.93±0.01
12.5	0.50±0.02	0.43±0.04	1.84±0.01	1.25±0.04
25	0.64±0.09	0.52±0.02	3.48±0.03	2.10±0.05
50	1.16±0.41	0.70±0.04	4.84±0.01	4.89±0.06
100	1.90±1.08	0.96±0.09	<i>nt</i>	<i>nt</i>
200	3.11±0.93	1.72±0.24	<i>nt</i>	<i>nt</i>
A_{0.5} µg/mL	14.36±1.99	22.9±3.68	2.24±0.17	0.93±0.07

Les valeurs exprimées sont des moyennes ± SD de trois mesures parallèles. *nt*: non testé. *na*: pas d'absorbance.

3.2.5. Activité de réduction du complexe cuivre-neocuproéne (CUPRAC)

L'évaluation de l'activité antioxydant par la méthode (CUPRAC) est basée sur la mesure de l'absorbance à 450 nm de la réduction en présence d'un antioxydant du complexe stable Neocuproinecuivre (II) de couleur bleu en complexe stable Neocuproine-cuivre (I) de couleur orange. Les résultats illustrés dans le tableau (3.6), révèlent que *S. satureioides* exerce la plus

grande activité inhibitrice avec une valeur de $A_{0.5} = 27.96 \pm 0.46 \mu\text{g/mL}$, suivi par *G. vepres* Pomel avec une valeur de $A_{0.5}$ égale à $53.92 \pm 1.68 \mu\text{g/mL}$. En comparant avec le BHT ($A_{0.5} = 9.62 \pm 0.87 \mu\text{g/mL}$) et le BHA ($A_{0.5} = 3.64 \pm 0.19 \mu\text{g/mL}$), molécules utilisés comme références.

Tableau 3.6 : Réduction du complexe néocuproïne par la méthode CUPRAC

Concentration $\mu\text{g/mL}$	Absorbance			
	<i>S.satureioides</i>	<i>G. vepres</i> <i>pomel</i>	BHT	BHA
3.125	0.20±0.05	0.15±0.00	0.19±0.01	0.46±0.00
6.25	0.22±0.00	0.17±0.00	0.33±0.04	0.78±0.01
12.5	0.29±0.00	0.21±0.01	0.66±0.07	1.34±0.08
25	0.47±0.02	0.29±0.00	1.03±0.07	2.36±0.17
50	0.79±0.01	0.49±0.01	1.48±0.09	3.45±0.02
100	1.47±0.04	0.80±0.02	2.04±0.14	3.76±0.03
200	2.56±0.14	1.41±0.05	2.32±0.28	3.93±0.01
$A_{0.50} \mu\text{g/mL}$	27.96±0.46	53.92±1.68	9.62±0.87	3.64±0.19

Les valeurs exprimées sont des moyennes \pm SD de trois mesures parallèles.

Les résultats reportés dans les tableaux (3.8) et (3.9) montrent que des fortes corrélations ont été observées entre l'activité de réduction du complexe cuivre-neocuproïne (CUPRAC) et les activités anti-radicalaires DPPH et ABTS de la plante *G. vepres* Pomel ($r^2 = 0.999$ et 0.996 , $p < 0.05$) d'une part et l'activité ABTS de la plante *S. satureioides* d'autre part ($r^2 = 0.996$, $p < 0.05$).

3.2.6. Activité du pouvoir réducteur

Le ferricyanide de potassium est réduit en présence d'un antioxydant pour former le ferrocyanide de potassium qui va réagir ensuite avec le chlorure ferrique pour former un complexe fer ferreux de couleur bleu-vert, qui a un maximum d'absorbance à 700 nm. *S.satureioides* avec une valeur de ($A_{0.5} = 86.67 \pm 5.45 \mu\text{g/mL}$) a montré la meilleure activité par rapport à *G. vepres* Pomel ($173.19 \pm 16.02 \mu\text{g/mL}$). En comparant avec les deux standards ; le BHA ($A_{0.5} = 8.41 \pm 0.67 \mu\text{g/mL}$) et l'acide ascorbique ($A_{0.5} = 9.01 \pm 1.46 \mu\text{g/mL}$) (Tableau 3.7).

Tableau 3.7 : Pouvoir réducteur les extraits *n*- BuOH de *S. saturoioides* et *G.vepres* Pomel

Concentration µg/mL	Absorbance				
	<i>S.</i> <i>saturoioides</i>	<i>G.vepres</i> Pomel	BHT	BHA	A.ascorbique
3.125	0.13±0.02	0.12±0.01	0.10±0.01	0.18±0.02	0.16±0.01
6.25	0.14±0.01	0.12±0.01	0.13±0.02	0.36±0.04	0.33±0.04
12.5	0.20±0.03	0.14±0.02	0.22±0.04	0.78±0.07	0.76±0.16
25	0.24±0.03	0.19±0.02	0.28±0.05	1.74±0.07	2.02±0.23
50	0.34±0.05	0.25±0.03	0.43±0.02	3.53±0.19	3.87±0.27
100	0.65±0.12	0.32±0.07	<i>nt</i>	<i>nt</i>	<i>nt</i>
200	0.60±0.11	0.57±0.03	<i>nt</i>	<i>nt</i>	<i>nt</i>
A_{0.50} µg/mL	86.67±5.45	173.19±16.02	>50	8.41±0.67	9.01±1.46

Les valeurs exprimées sont des moyennes ± SD de trois mesures parallèles. *nt*: non testé. *na*: pas d'absorbance.

Une bonne corrélation a été trouvée entre les données de l'activité du pouvoir réducteur et la teneur totale en phénol et en flavonol de la plante *S. satureioides* ($r^2 = -0.99$ et -0.999 , $p < 0.05$, respectivement) (Tableau 3.8).

Tableau 3.8 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre l'activité antioxydant (IC_{50} et $A_{0.5}$) et photoprotéctrice (SPF) et le contenu phytochimique de l'extrait *n*- BuOH de *S. satureioides*

	TTP	TTF	TF	DPPH	ABTS	GOR	FCP	CUPRAC	PR	LPO	SPF
TTP	1										
TTF	0.984	1									
TF	0.999**	0.986	1								
DPPH	-0.959	-0.892	-0.954	1							
ABTS	-0.960	-0.894	-0.956	1***	1						
GOR	-0.879	-0.950	-0.887	0.708	0.712	1					
FCP	-0.867	-0.942	-0.875	0.690	0.693	0.999	1				
CUPRAC	-0.930	-0.850	-0.924	0.996	0.996*	0.644	0.624	1			
PR	-0.998*	-0.993	-0.999*	0.940	0.941	0.907	0.896	0.906	1		
LPO	-0.908	-0.817	-0.901	0.989	0.989	0.598	0.577	0.998*	0.880	1	
SPF	0.968	0.907	0.963	-0.999*	-1*	-0.731	-0.713	-0.993	-0.950	-0.984	1

Statistiques : Les valeurs sont significativement différentes (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ et *** $p < 0.001$) par coefficient de corrélation de Pearson. TTP, Teneur totale en phénol ; TTF, Teneur totale en flavonoïdes ; TF, Teneur en flavonol, FCP, Activité de réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phenanthroline ; CUPRAC, Activité de réduction du complexe cuivre-neocuproïne ; PR, Activité du pouvoir réducteur ; LPO, Le pouvoir d'inhibition de la peroxydation lipidique et SPF, Facteur de protection solaire.

Tableau 3.9. Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre l'activité antioxydant (IC_{50} et $A_{0.5}$) et photoprotéctrice (SPF) et le contenu phytochimique de l'extrait *n*- BuOH de *G. vepres* Pomel

	TTP	TTF	TF	DPPH	ABTS	GOR	FCP	CUPRAC	PR	LPO	SPF
TTP	1										
TTF	0.946	1									
TF	0.884	0.988	1								
DPPH	-0.984	-0.870	-0.785	1							
ABTS	-0.990	-0.888	-0.808	0.999*	1						
GOR	-0.997*	-0.966	-0.916	0.967	0.976	1					
FCP	-0.828	-0.966	-0.994	0.712	0.739	0.867	1				
CUPRAC	-0.974	-0.845	-0.754	0.999*	0.996*	0.954	0.678	1			
PR	-0.795	-0.950	-0.987	0.672	0.701	0.838	0.998*	0.636	1		
LPO	-0.992	-0.896	-0.818	0.998*	0.999*	0.980	0.750	0.995	0.712	1	
SPF	0.968	0.997	0.973	-0.907	-0.922	-0.984	-0.942	-0.885	-0.922	-0.929	1

Statistiques : Les valeurs sont significativement différentes (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ et *** $p < 0.001$) par coefficient de corrélation de Pearson. TTP, Teneur totale en phénol ; TTF, Teneur totale en flavonoïdes ; TF, Teneur en flavonol, FCP, Activité de réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phenanthroline ; CUPRAC, Activité de réduction du complexe cuivre-neocuproéne ; PR, Activité du pouvoir réducteur ; LPO, Le pouvoir d'inhibition de la peroxydation lipidique et SPF, Facteur de protection solaire.

3.2.7. Le pouvoir d'inhibition de la peroxydation lipidique

L'évaluation des capacités des extraits des deux plantes d'inhiber la peroxydation lipidique (non enzymatique dans le jaune d'œuf est provoqué par le FeSO_4) est illustrée dans la figure (3.1). Une diminution dose-dépendante de la peroxydation lipidique a été observé avec les deux extraits *n*-BuOH: *S. satureioides* et *G. vepres* Pomel ($\text{IC}_{50} = 249.09 \pm 6.60$ et $422.18 \pm 24.94 \mu\text{g/mL}$ respectivement, alors que l' IC_{50} de la vitamine C est de $20 \pm 0.17 \mu\text{g/mL}$). Ces résultats montrent que *S. satureioides*, a une capacité importante d'inhiber la peroxydation lipidique. Alors que la capacité de *G. vepres* Pomel a été modérée.

Les résultats reportés dans les tableaux (3.8) et (3.9) montrent que des fortes corrélations ont été observées entre le pouvoir d'inhibition de la peroxydation lipidique et les activités anti-radicalaires ; DPPH et ABTS dans la plante *G. vepres* Pomel ($r^2 = 0.998$ et 0.999 , $*p < 0.05$) d'une part et l'activité de réduction du complexe cuivre-neocuproéne (CUPRAC) dans la plante *S. satureioides* d'autre part ($r^2 = 0.998$, $p < 0.05$).

L'analyse de la relation entre le contenu photochimique des deux plantes (*S. satureioides* et *G. vepres* Pomel) et les tests *in vitro* de l'activité antioxydant a indiqué des bonnes corrélations qui peut atteindre : $r^2 = -0.999^*$ chez *S. satureioides* et $r^2 = -0.997^*$ chez *G. vepres* Pomel.

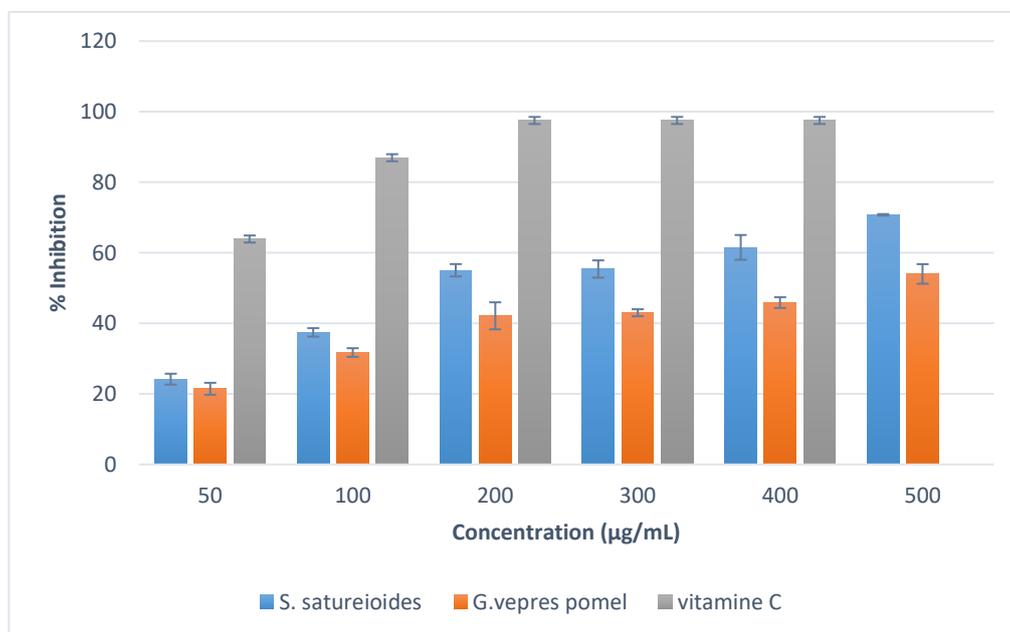


Figure 3.1 : Inhibition de la peroxydation lipidique induite par FeSO_4 par les extraits *n*- BuOH de *S. satureioides*, *G. vepres* Pomel et de la vitamine C. Les valeurs sont exprimées en tant que moyenne des triplicats \pm SD

3.3. Activité photoprotectrice

L'activité photoprotectrice de *S. satureioides* et *G. vepres* Pomel a été évaluée *in vitro* par le calcul de son facteur de protection solaire (SPF). Les résultats résumés dans le tableau (3.10) sont l'absorbance de chaque plante dans les bandes d'ondes UV-B et UV-A et éliminent directement les photons UV. Des valeurs d'absorbance élevées comprises entre 3.69-3.53 et 3.62-3.50 respectivement à 290-320 nm ont été détectées et des facteurs de protection solaire ont été estimés à 36.47 ± 0.56 et 36.61 ± 0.30 respectivement.

Une forte corrélation a été trouvée entre le contenu photochimique des deux plantes (polyphénol, flavonoïdes et flavonol) et l'activité photoprotectrice de *S. satureioides* ($r^2 = 0.968$, 0.907 et 0.963 respectivement) et de *G. vepres* Pomel ($r^2 = 0.968$, 0.997 et 0.973 respectivement). En outre, cette activité photoprotectrice est corrélée positivement avec l'activité antioxydant des deux plantes (Tableaux 3.8 et 3.9).

Tableau 3.10. Calcul du facteur de protection solaire (SPF) pour l'extrait *n*-BuOH obtenu à partir de *S. satureioides* et *G. vepres* Pomel

λ (nm)	EE (λ)x I(λ) (Normalisé)	Les extraits <i>n</i> -BuOH			
		<i>S. satureioides</i>		<i>G. vepres</i> Pomel	
		Absorbance	SPF	Absorbance	SPF
290	0.015	3.69±0.046	0.55±0.006	3.62±0.07	0.54±0.01
295	0.0817	3.63±0.025	2.96±0.020	3.72±0.08	3.04±0.07
300	0.2874	3.67±0.056	10.54±0.161	3.70±0.01	10.65±0.04
305	0.3278	3.65±0.161	11.97±0.528	3.63±0.05	11.91±0.16
310	0.1864	3.62±0.062	6.76±0.116	3.64±0.04	6.78±0.07
315	0.0837	3.61±0.038	3.02±0.032	3.62±0.13	3.03±0.11
320	0.018	3.53±0.060	0.63±0.010	3.50±0.09	0.63±0.016
Total	1	-	36.47±0.56	-	36.61±0.30

3.4. Activité anti-inflammatoire

3.4.1. Activité anti-inflammatoire *in vitro*

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* de *S. satureioides* et *G. vepres* Pomel ont été évaluée par la méthode de dénaturation de l'albumine d'œuf et les résultats sont présentés en figure (3.2).

Les présents résultats ont noté que les deux plantes et l'acide acétylsalicylique ont la capacité d'inhiber la dénaturation des protéines induite thermiquement d'une manière dose-dépendante. A une concentration de 500 mg / mL, l'AAS, *S. satureioides* et *G. vepres* Pomel possédaient un effet anti-inflammatoire important avec un pourcentage d'inhibition maximale à 78.91%, 69.04% et 48.85% respectivement retenue à la concentration de 500 µg/mL.

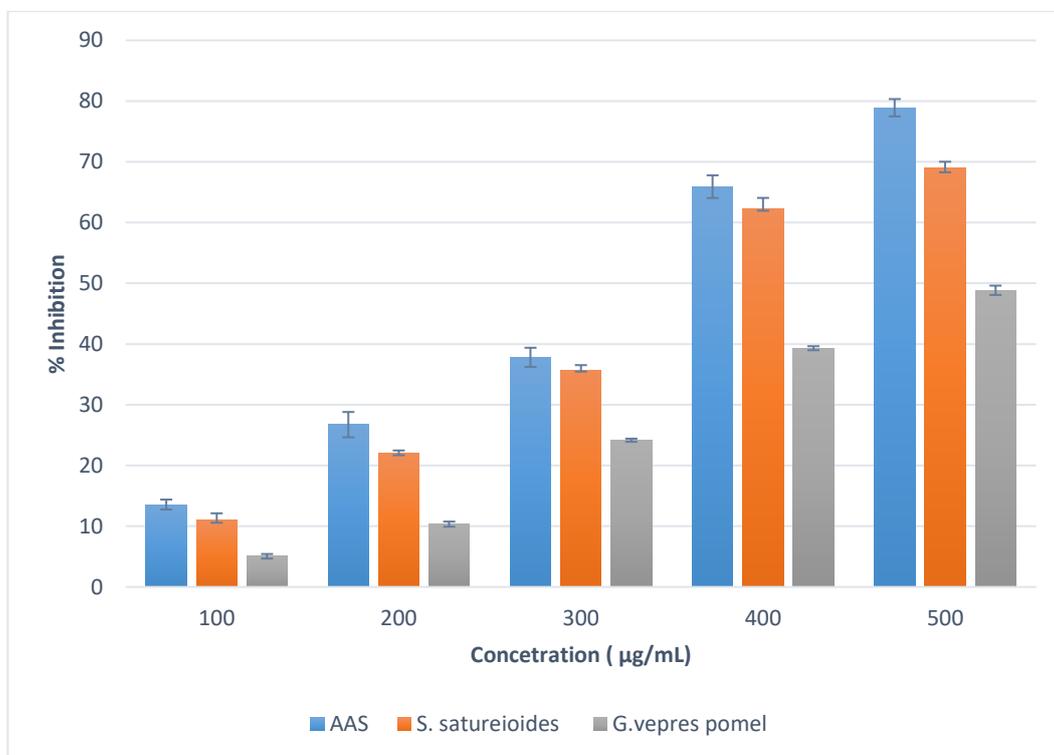


Figure 3.2 : Effet anti-inflammatoire *in vitro* des extraits *n*- BuOH des deux plantes ; *S. satureioides* et *G. vepres* Pomel et d'acide acétylsalicylique (AAS). Les valeurs sont exprimées en tant que moyenne des triplicats \pm écart type (SD)

3.4.2. Activité de stabilisation membranaire

Pour confirmer l'action sur la stabilisation membranaire de *S. saturoioides* et *G. vepres* Pomel. Deux expériences ont été réalisées sur la membrane érythrocytaire. L'hémolyse est induite par la chaleur et par une solution hypotonique. Les deux extraits ont été capables d'inhiber la lyse des membranes d'une manière dose-dépendante.

Les tableaux (3.11) et (3.12) illustrent que *S. saturoioides* a montré une activité élevée ou similaire de stabilisation membranaire par rapport à l'AAS. En outre, *G. vepres* Pomel a montré une activité modérée de stabilisation membranaire.

L'inhibition maximale (88.94 ± 0.62 et 80.18 ± 1.23 %) exercée par *S. saturoioides* a été retenue à une concentration de (200 $\mu\text{g/mL}$). Alors que, *G. vepres* Pomel n'a montré aucune activité à la concentration 25 $\mu\text{g/mL}$.

Tableau 3.11 : Effet des extraits *n*- BuOH de *S. saturoioides* et *G. vepres* Pomel et de l'acide acétylsalicylique (AAS) sur l'hémolyse induite par la chaleur de la membrane érythrocytaire

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	% d'inhibition de l'hémolyse induite par la chaleur		
	AAS	<i>S. saturoioides</i>	<i>G. vepres</i> Pomel
25	24.58 \pm 0.28	23.36 \pm 1.23	na
50	50.94 \pm 1.02	34.56 \pm 0.4	26.95 \pm 0.61
100	55.88 \pm 0.48	52.41 \pm 0.88	49.53 \pm 1.88
200	82.53 \pm 0.74	88.94 \pm 0.62	61.32 \pm 1.30

Les valeurs exprimées sont des moyennes \pm SD de trois mesures parallèles. *nt*: non testé. *na*: pas d'absorbance.

Tableau 3.12 : Effet des extraits *n*- BuOH de *S. saturoioides* et *G. vepres* Pomel et de l'acide acétylsalicylique (AAS) sur l'hémolyse induite par la solution hypotonique de la membrane érythrocytaire

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	% d'inhibition de l'hémolyse induite par une solution hypotonique		
	AAS	<i>S. saturoioides</i>	<i>G. vepres</i> Pomel
25	21.11 \pm 0.75	27.5 \pm 1.02	na
50	58.41 \pm 0.04	43.47 \pm 0.78	30.84 \pm 0.69
100	78.35 \pm 0.35	78.11 \pm 0.83	54.52 \pm 0.63
200	83.81 \pm 0.44	80.18 \pm 1.23	68.47 \pm 0.57

Les valeurs exprimées sont des moyennes \pm SD de trois mesures parallèles. *nt*: non testé. *na*: pas d'absorbance.

3.4.3. Évaluation de l'effet de *S. saturoioides* sur la lignée cellulaire (U937)

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait *n*-BuOH de *S. saturoioides* a été évaluée sur les macrophages humains U937.

3.4.3.1. Mesure de la viabilité cellulaire

L'effet de *S. saturoioides* sur la viabilité cellulaire des U937 a été testé à différentes concentrations, allant de 25 à 200 µg / mL, pour s'assurer qu'il a un effet non cytotoxique. Comme le montre la figure (3.3.A), Aucune différence significative entre les cellules traitées et non traitées (0) n'a été trouvée lorsque *S. saturoioides* (*S.s*) a été utilisée jusqu'à 100 µg / mL; pourtant une réduction de 30% de la viabilité cellulaire a été observée à 200 µg / mL ($p < 0.001$). Donc, les concentrations moyennes et non toxiques de 50 et 100 µg / mL ont été sélectionnées pour les expériences ultérieures.

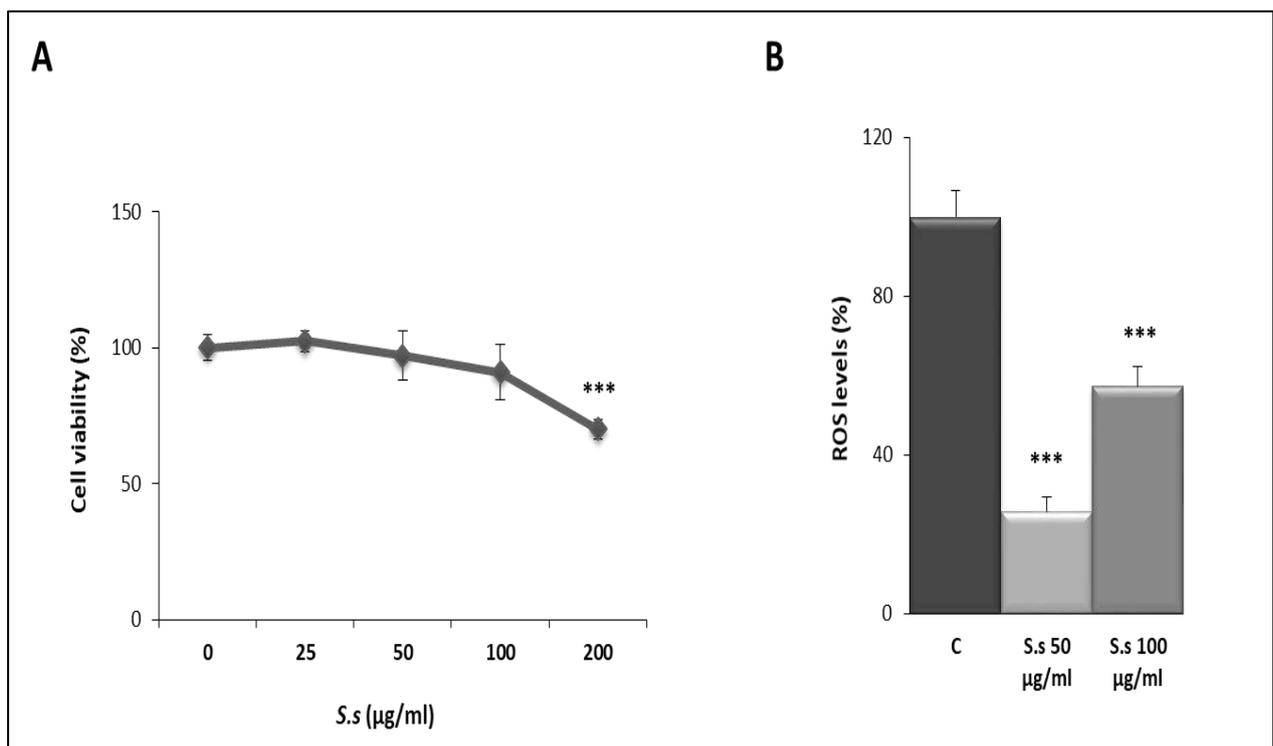


Figure 3.3: Effet de l'extrait *n*- BuOH de *S. saturoioides* sur la viabilité cellulaire U937 et la libération de ROS. (A) La viabilité cellulaire des U937. (B) Mesure la production des ROS dans les cellules U937. Les résultats sont exprimées moyen \pm SD de trois expériences indépendantes répliquées sont présentées. les différences entre les échantillons et les témoins relatifs (fixés à 100%) (***) ($p < 0.001$, Test *t* de Student) étaient significatives

3.4.3.2. Mesure de la production des espèces réactives de l'oxygène

La figure (3.3) montre l'évaluation de l'effet de *S. satureioides* sur la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans un système de culture cellulaire représenté par les macrophages U937. L'extrait *n*-BuOH des parties aériennes de *S. satureioides* a pu réduire la production de ROS après 24 heures de traitement (Figure 3.3.B). Étonnamment, l'extrait utilisée à 50 µg / mL avait un effet plus fort que 100 µg / mL, avec des diminutions significatives d'environ 75% et 40% ($p < 0.001$) respectivement dans les niveaux ROS.

3.4.3.3. L'effet de *S. satureioides* sur sécrétion de médiateurs inflammatoires ROS, NO et PGE2 dans les cellules U937 induite par LPS

Comme le montre la figure (3.4), les cellules U937 ont été stimulées avec *S. satureioides* 50 µg / mL (*S. s* 50 µg / mL) ou 100 µg / mL (*S. s* 100 µg / mL) puis induite par le LPS pour évaluer l'effet de cet extrait sur les médiateurs de l'inflammation ROS, NO et PGE2.

S. satureioides était capable de réduire les niveaux de ROS par rapport aux cellules activées uniquement avec le LPS lorsqu'il était utilisé à 50 µg / mL ($p < 0.05$). Pourtant. Aucun effet inhibiteur n'a été trouvé à la concentration la plus élevée de 100 µg / mL. Mais même une augmentation des niveaux de ROS par rapport aux cellules U937 non stimulées et stimulées par LPS ($p < 0.001$ vs C. $p < 0.05$ vs LPS). Au contraire, une réduction dépendante de la dose a été observée lorsque le NO (Figure 3.4.B) et la PGE2 (Figure 3.4.C) ont été quantifiés. En particulier. *S. s* 50 µg / mL a rapporté des niveaux de NO à des valeurs similaires à celles des cellules non stimulées (C) (Figure 3.4.B) et une concentration réduite de PGE2 d'environ 40% par rapport aux cellules induite par le LPS ($p < 0.001$. Figure 3.4.C). Tandis que, 100 µg / mL de *S. satureioides* ont réduit de moitié les quantités de ces deux derniers médiateurs de l'inflammation NO et PGE2 dans les cellules U937 activées avec LPS ($p < 0.001$. Figures 3.4.B et 3.4.C).

3.4.3.4. L'effet de *S. satureioides* sur le niveau d'expression NF-κB dans les cellules U937 induite par LPS

Prenant en considération le fort effet répressif de l'extrait *n*-BuOH de *S. satureioides* sur les ROS, NO et PGE2 et à la recherche d'un mécanisme d'action moléculaire putatif, la capacité de cet extrait à inhiber NF-κB (Un facteur de transcription clé dans l'inflammation) a été évalué. NF-κB contrôle différents gènes impliqués dans la réponse inflammatoire. Parmi lesquels ceux requis dans ROS et la biosynthèse de NO et PGE2. Dans les cellules U937, les

niveaux de protéines de la sous-unité p65 de NF- κ B ont été augmentés par exposition au LPS et *S. saturoioides* a réduit les niveaux de NF- κ B d'une manière dose-dépendante comme le montre la figure (3.4.D).

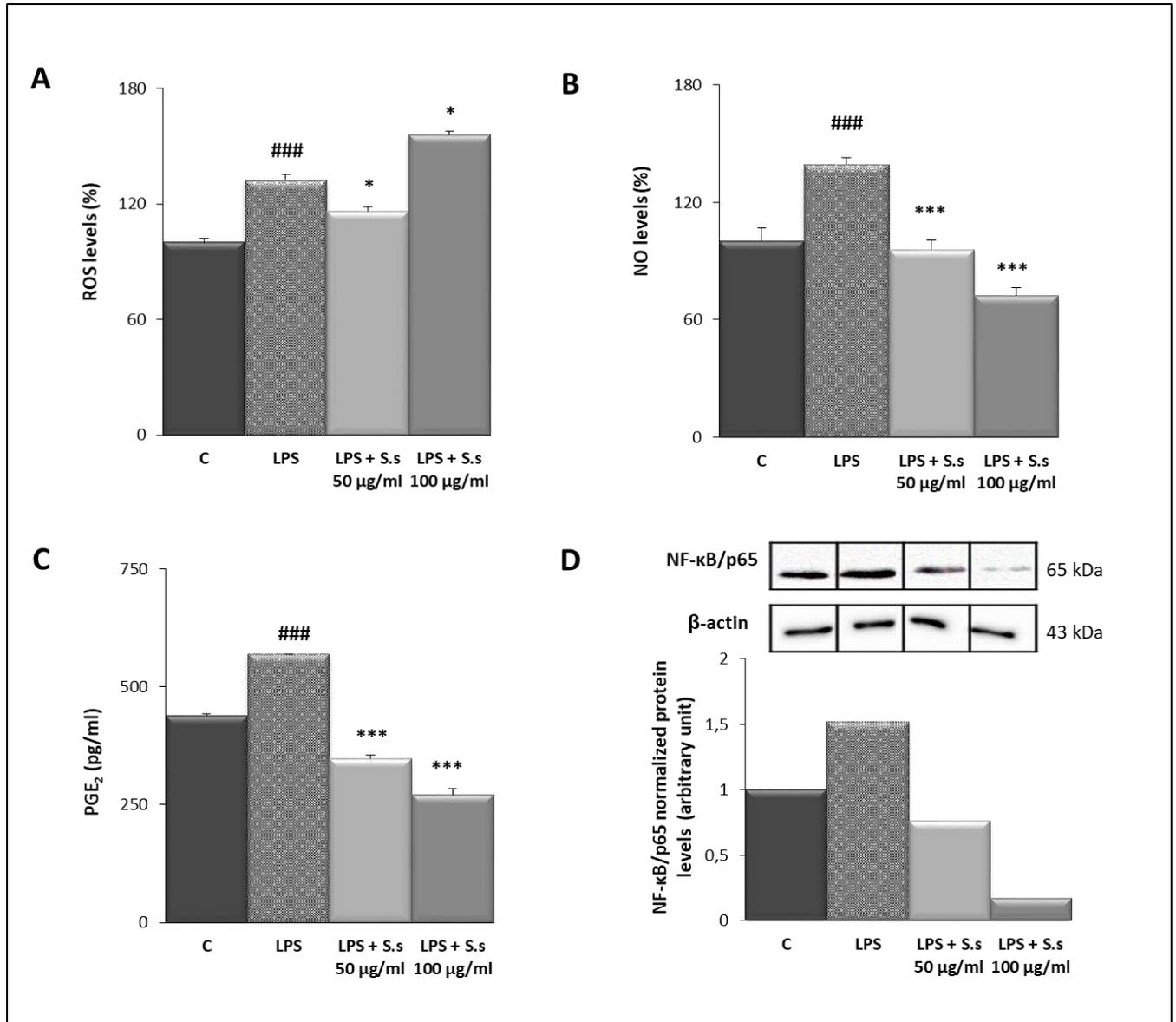


Figure 3.4: Activité anti-inflammatoire de l'extrait *n*- BuOH des parties aériennes de *S. saturoioides* sur les cellules U937 induite par le LPS sur les médiateurs de l'inflammation; (A) ROS, (B) NO et (C) PGE₂ et (D) sur le niveau d'expression de NF- κ B

3.4.4. Effet sur l'œdème de la patte induit par la carragénine chez le rat

L'œdème induit par la carragénine est un modèle expérimental très utilisé dans les études de l'inflammation aiguë. Dans la présente étude, la progression de volume d'œdème inflammatoire, qui indique les niveaux d'inflammation, a été suivis entre les (0 et 6 heures). L'injection sous-plantaire de la carragénine a provoqué un œdème dont le maximum du volume après 4 heures. L'induction de l'inflammation est de 1.05 ± 0.30 mL, soit un taux d'œdème de 77 % (Figure 3.5). Les deux extraits ont exercé des effets anti-œdémateux d'une manière dose-indépendante. En effet, le prétraitement des rats par *S. satureioides* aux doses de 200 et 400 mg/kg prévient de façon significative l'œdème avec 65 et 74% d'inhibition successivement. Tandis que *G. vepres* Pomel a diminué l'œdème avec des taux d'inhibition de 48 et 57 % respectivement. L'aspirine (AAS à 100 mg/kg) utilisée comme anti-inflammatoire de référence a montré une inhibition très élevée (87%).

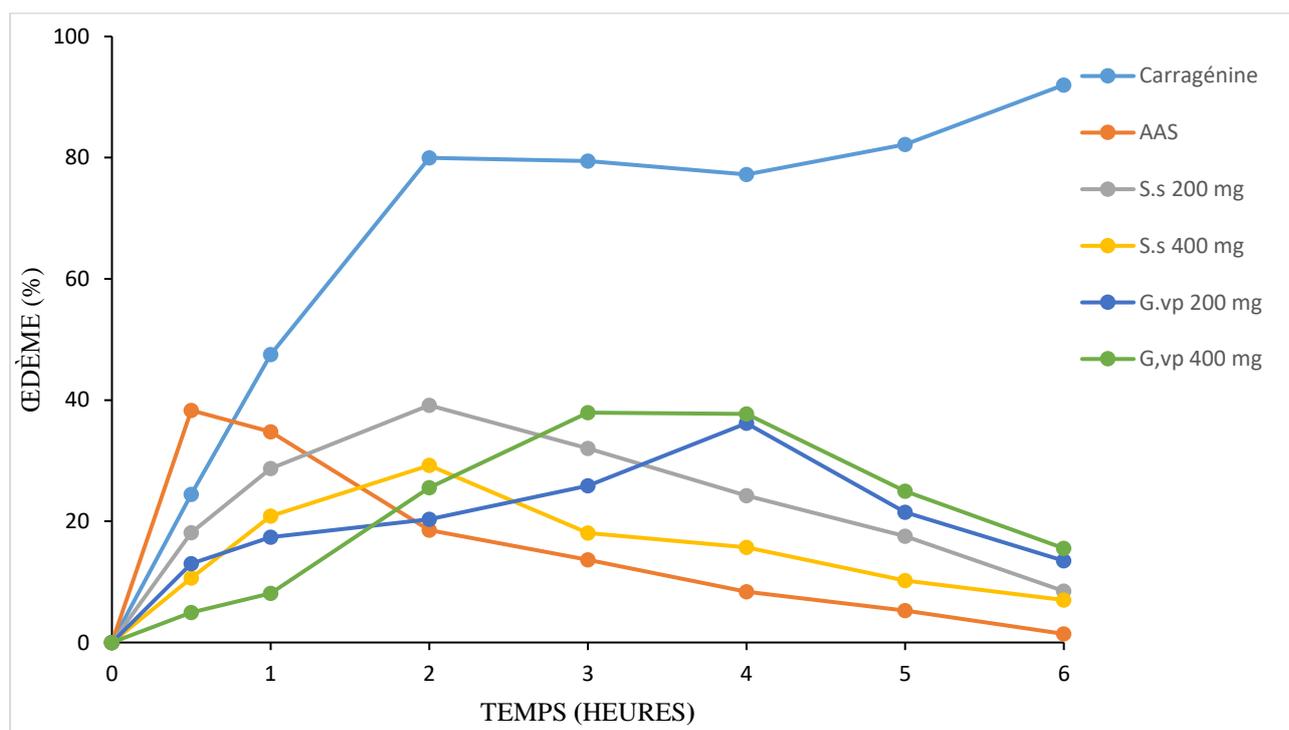


Figure 3.5 : Effets des extraits *n*- BuOH de *S.saturreioides* (*S.s*) et *G.vepres* Pomel (*G.vp*) (200 et 400 mg/kg) sur l'œdème de la patte induit par la carragénine chez le rat. L'œdème est induit par l'injection sous-plantaire de 0.1 mL de carragénine à 1% chez les rats prétraités oralement par l'aspirine (100 mg/kg). Les rats du groupe témoin sont injectés par la carragénine et non traités. Chaque valeur représente la moyenne \pm SEM (n=6)

Les deux doses (200 et 400) des deux extraits des plantes (*S. satureioides* et *G. vepres* Pomel) ont prouvé 86, 92, 77 et 86 % de réduction après 6 heures. Ces résultats pourraient être clairement comparables à ceux de l'aspirine (100 mg/kg), qui a prouvé (92%) de réduction après 6 heures.

3.5.Évaluation de l'activité anti-hyperglycémiant

La figure (3.6) présente les variations de la glycémie des rats hyper glycémiques dans un test de tolérance au glucose. L'hyperglycémie est provoquée par l'administration par voie orale de glucose aux rats à la dose de 5 g/kg, 30 minutes après l'administration orale des différentes doses de *S. satureioides* (100, 200 et 400 mg/kg) et *G. vepres* Pomel (50, 100, 200 et 400 mg/kg), de la Glibenclamide (5 mg/kg) ou de l'eau distillée (Contrôle). La glycémie est mesurée toutes les 30 minutes, pendant 4 heures.

Les résultats montrent Le groupe témoin négatif avait les taux de glucose sanguin les plus élevés. Tandis que l'administration par voie oral de l'eau distillée à la dose de 5 mL/kg ne modifie pas la glycémie de base des rats normoglycémiques. Le glucose sanguin reste en effet stable au bout de 4 heures d'observation (0.71 ± 0.02 contre 0.80 ± 0.07 g/L). Aussi, la Glibenclamide (substance de référence) à la dose de 2.5 mg/kg entraîne une nette diminution de la glycémie des rats traités. Cette anti-hyperglycémie est au maximum 4 heures après l'administration de la Glibenclamide (0.71 ± 0.05 g/L contre 0.80 ± 0.03 g/L au début du traitement).

D'un autre côté, l'administration par voie orale de *S. satureioides* aux doses de 100 – 400 mg/kg s'accompagne d'une baisse de la glycémie. Les résultats montrent une tendance vers une augmentation du glucose sanguin. Par contre l'administration selon le même protocole de *G. vepres* Pomel aux doses de 50 – 400 mg/kg induit une diminution importante de la glycémie au bout de 30 minutes.

En outre, les deux plantes et le médicament de référence dès 90 min d'administration, ont continué à baisser le taux de glycémie telle que l'a bien montrée les courbes de l'effet temps des échantillons sur la glycémie des animaux traités.

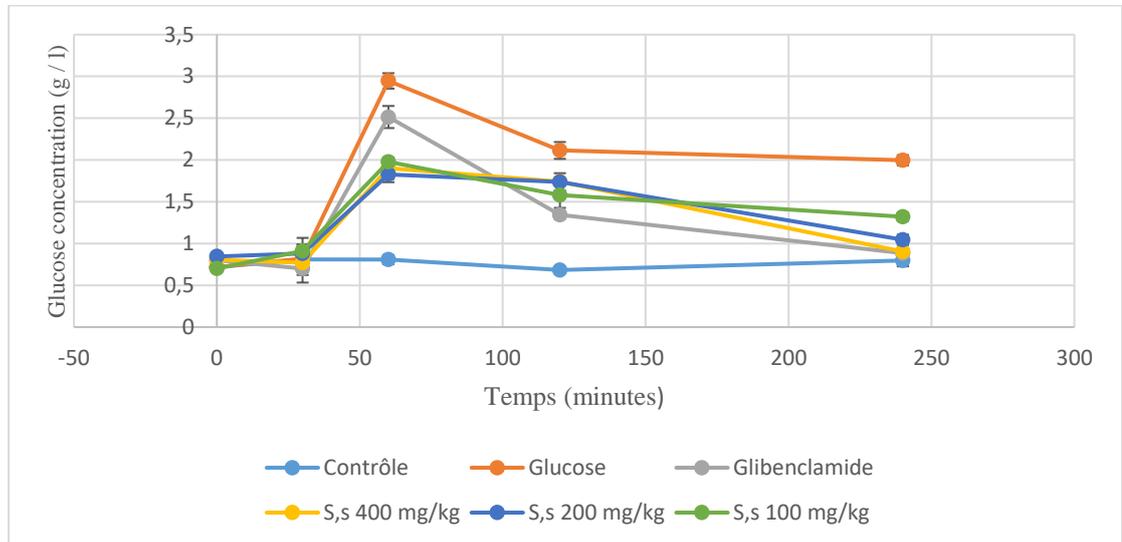
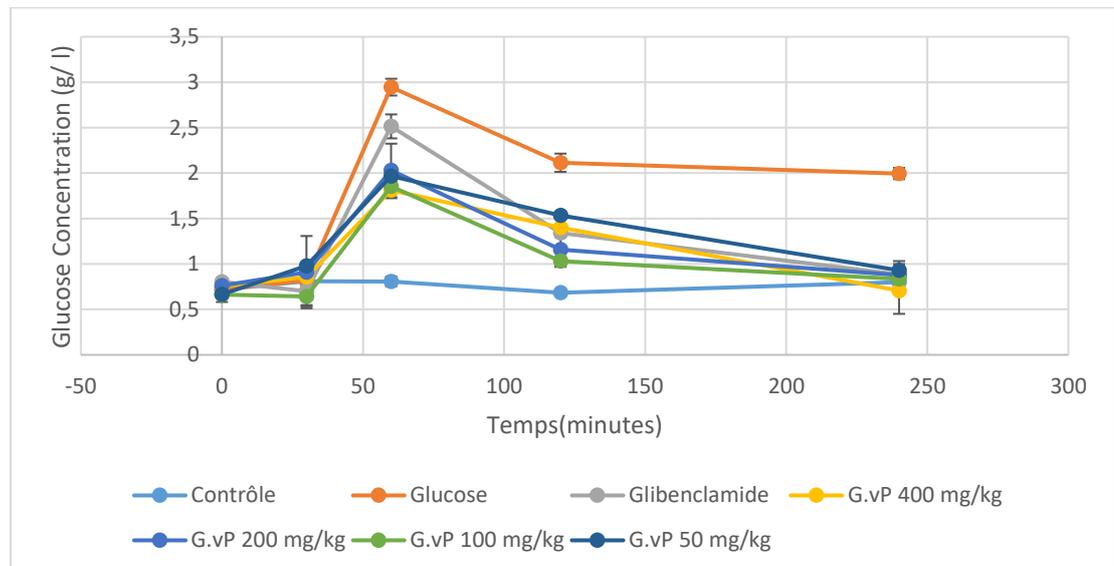
(A) *S. satureioides*(B) *G. vepres Pomel*

Figure 3.6 : Évolution en fonction du temps de la glycémie chez des rats hyperglycémiques prétraités par l'extrait *n*- BuOH de *S. satureioides* (100 - 400 mg/kg), *G. vepres Pomel* (50 - 400 mg/kg) et du Glibenclamide (5 mg/kg)

3.6. Résultats de l'étude expérimentale *in vivo*

3.6.1. L'Effet protecteur de *S. satureioides*

3.6.1.1. L'effet des différents traitements sur les marqueurs biochimiques

a. Les enzymes transaminase AST et ALT

Comme le montre les résultats illustrés dans la figure (3.7), l'administration d'une dose toxique d'INH (75 mg / kg) et de la RIF (150 mg / kg) a induit une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) des enzymes hépatiques (AST = 26.11 % et ALT= 38.21%) par rapport au groupe témoin. Une corrélation positive a été trouvée entre des niveaux accrus de ces enzymes hépatiques ($r^2 = 0.990^{**}$). Cependant, la combinaison de INH-RIF avec l'extrait *n*-BuOH de la plante *S. satureioides* (50 mg/kg) vitamine E (100 mg/kg) ont une atténuation significative ($p < 0.05$ et $p < 0.01$ respectivement) du taux d'AST, par contre une diminution non significative a été remarquée à la dose (100 mg/kg) de cet extrait.

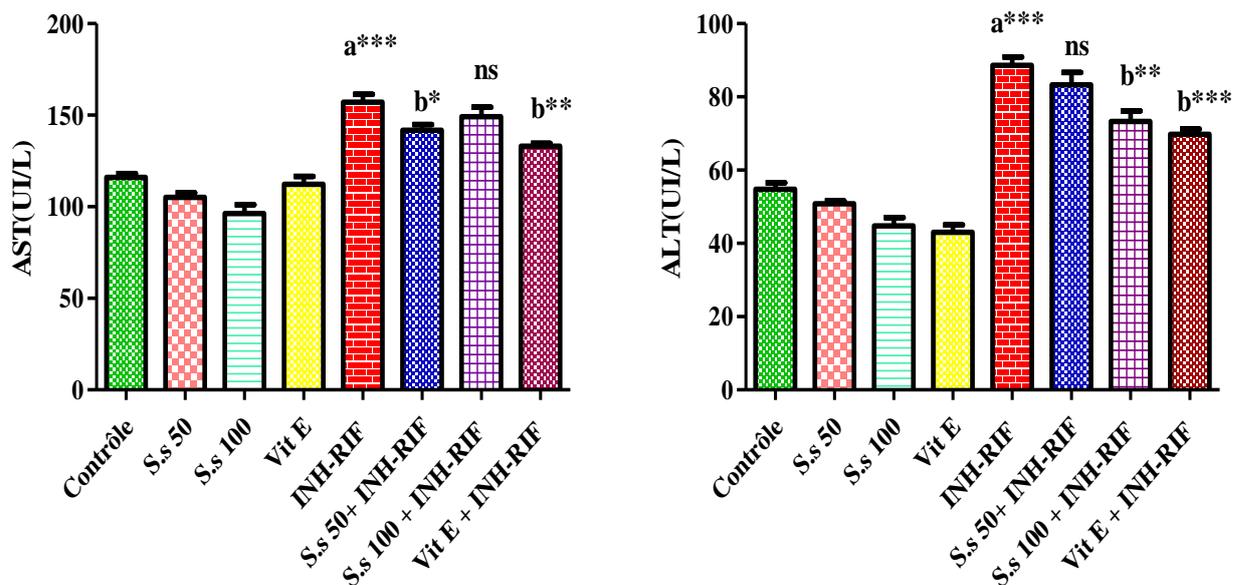


Figure 3.7 : Effet de l'INH (75mg/kg) + RIF (150 mg/kg), l'extrait *n*- BuOH de la plante *S. satureioides* (50,100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur la concentration sérique des aminotransférases : AST et ALT. Les valeurs sont des moyennes \pm SEM. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ et *** : $p < 0.001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe INH-RIF. *ns* : non significative

Alors que la combinaison INH-RIF avec *S. saturoioides* (100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) ont une atténuation significative ($p < 0.01$ et $p < 0.001$ respectivement) du taux d'ALT, par contre une diminution non significative a été remarquée à la dose (50 mg/kg) de l'extrait *n*-BuOH. Des corrélations positives ont été trouvées entre des niveaux diminués de ces enzymes hépatiques après les différents traitements : *S. saturoioides* (100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) ($r^2 = 0.952^*$ et 0.928).

b. L'effet sur les taux des triglycérides et le cholestérol

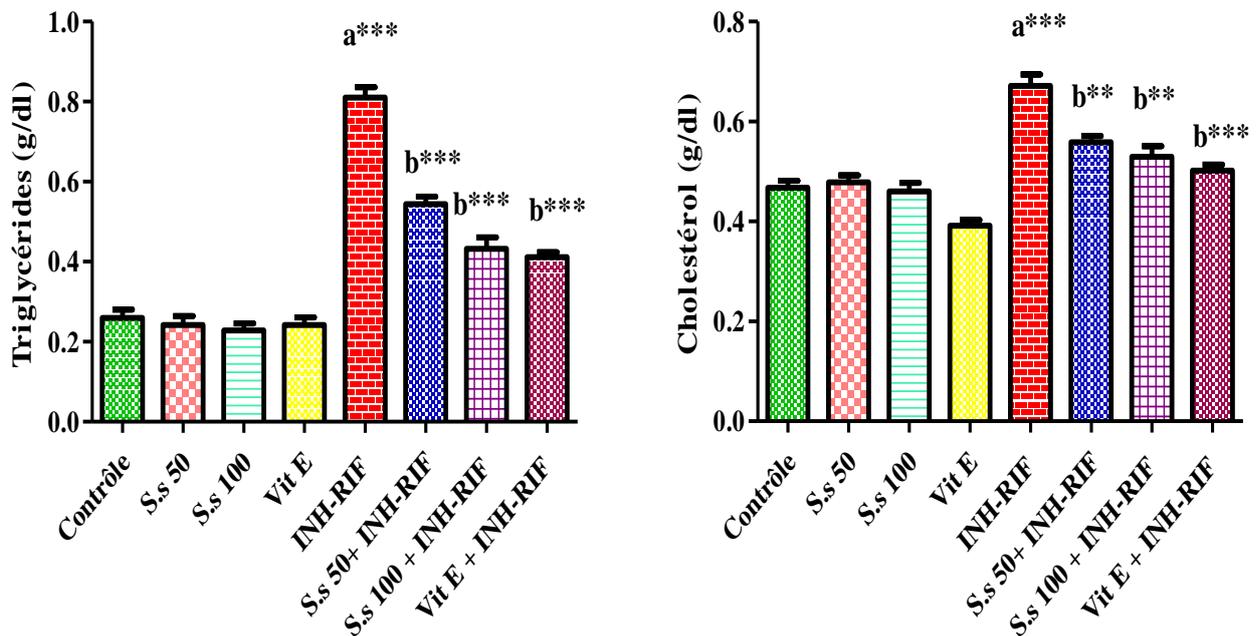


Figure 3.8 : Effet de l'INH (75mg/kg) + RIF (150 mg/kg), l'extrait *n*- BuOH de la plante *S. saturoioides* (50, 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur la concentration sérique des triglycérides et du cholestérol. Les valeurs sont des moyennes \pm SEM. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ et *** : $p < 0.001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe INH-RIF. ns : non significative

Le traitement INH-RIF a provoqué une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) des taux sériques de cholestérol et de triglycérides (67.90 et 30.32 % respectivement) par rapport au groupe témoin. Une corrélation positive a été trouvée entre l'augmentation des triglycérides et le taux de cholestérol ($r^2 = 0.831$).

Le co-traitement avec les deux doses de *S. satureioides* et de la vitamine E (100 mg/kg) a diminué de manière hautement significative ($p < 0.001$ et $p < 0.001$) dans les niveaux de triglycérides par rapport au groupe INH-RIF (32.84, 46.67 et 49.18 %). Une réduction hautement significative ($p < 0.01$ et $p < 0.001$) des taux de cholestérol a été observée chez les rats co-traités avec de l'extrait *n*-butanol (50 et 100 mg / kg) (83.08 et 78.91 % respectivement) et de la vitamine E (74.74%) par rapport aux rats traités par INH-RIF. Des corrélations positives ont été trouvées entre des niveaux diminués de ces enzymes hépatiques après les différents traitements ($r^2 = 0.892^*$, 0.937 et 0.959** respectivement).

c. L'effet sur la concentration sérique de l'urée, la créatinine et l'acide urique

La figure (3.9) présente les concentrations sériques de l'urée, la créatinine et l'acide urique chez les rats traités par l'INH (75 mg/kg) et la RIF (150 mg/kg) seule ou combiné avec l'extrait *n*-butanol (50 et 100 mg/kg) ou avec la vitamine E (100 mg/kg). Chez les rats traités seulement avec l'INH-RIF, on a observé une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de l'urée et l'acide urique plasmatique (31.63 et 72.51% respectivement) par rapport au groupe témoin. Cependant, la combinaison de l'INH-RIF avec *S. satureioides* (50 et 100 mg/kg) ou avec la vitamine E (100 mg/kg) ont une atténuation très hautement significative ($p < 0.001$) de l'acide urique (66.30, 73.17 et 67.52% respectivement). Ainsi la combinaison de l'INH-RIF avec *S. satureioides* (100 mg/kg) ou avec la vitamine E (100 mg/kg) ont une atténuation très hautement significative ($p < 0.001$) de l'urée (25.17 et 22.45 %), par contre une diminution significative ($p < 0.05$) a été remarquée à la dose (50 mg/kg) de l'extrait *n*-BuOH (10.20%).

Aussi bien, les rats traités avec l'INH-RIF ont montré une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique de la créatinine (10.23%) par rapport aux témoins non traité. Cependant, chez les rats traités par *S. satureioides* (100 mg/kg), ou qu'avec la vitamine E (100 mg/kg), on a observé une diminution significative ($p < 0.05$ et $p < 0.01$) respectivement du taux sérique de la créatinine plasmatique (8.62 et 10.17%). Par contre une diminution non significative a été remarquée à la dose (50 mg/kg) de l'extrait *n*-BuOH (3.75%). Des bonnes corrélations ont été trouvées entre l'augmentation du niveau de l'urée, l'acide urique la créatinine ($r^2 = 0.998^*$, 0.984 et 0.987*) avec des fortes liaisons (99.54, 96.85 et 97.51%). Ainsi qu'entre leurs niveaux diminués après les différents traitements.

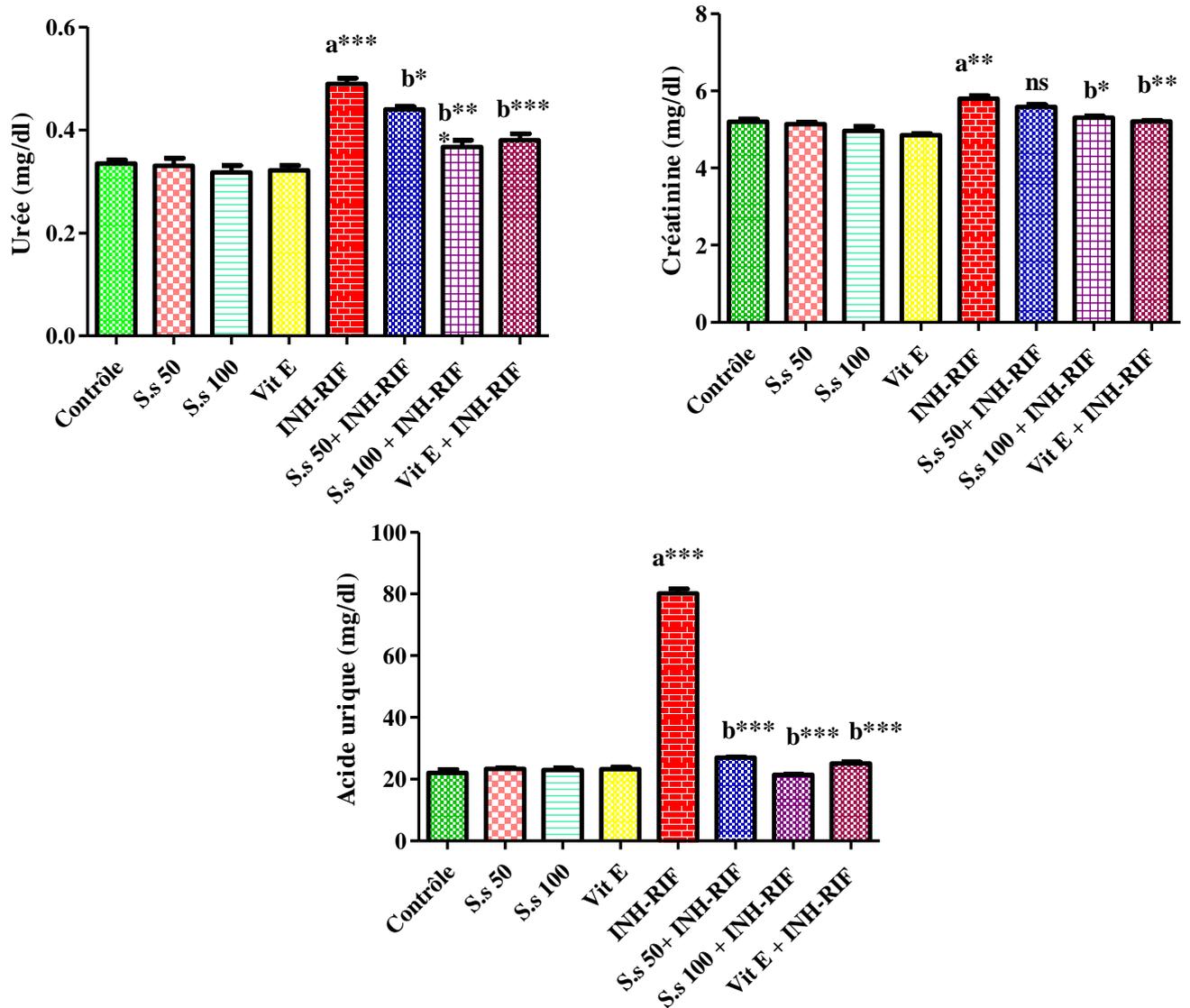


Figure 3.9 : Influence de l'administration de l'INH (75mg/kg) + RIF (150 mg/kg), l'extrait *n*-BuOH de la plante *S. satureioides* (50, 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur la concentration sérique de l'urée, la créatinine et l'acide urique chez les différents groupes. Les valeurs sont des moyennes \pm SEM. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ et *** : $p < 0.001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe INH-RIF. ns : non significative

3.6.1.2.L'effet des différents traitements sur les paramètres du stress

a. L'effet sur la peroxydation lipidique (taux d'MDA) du foie et des reins

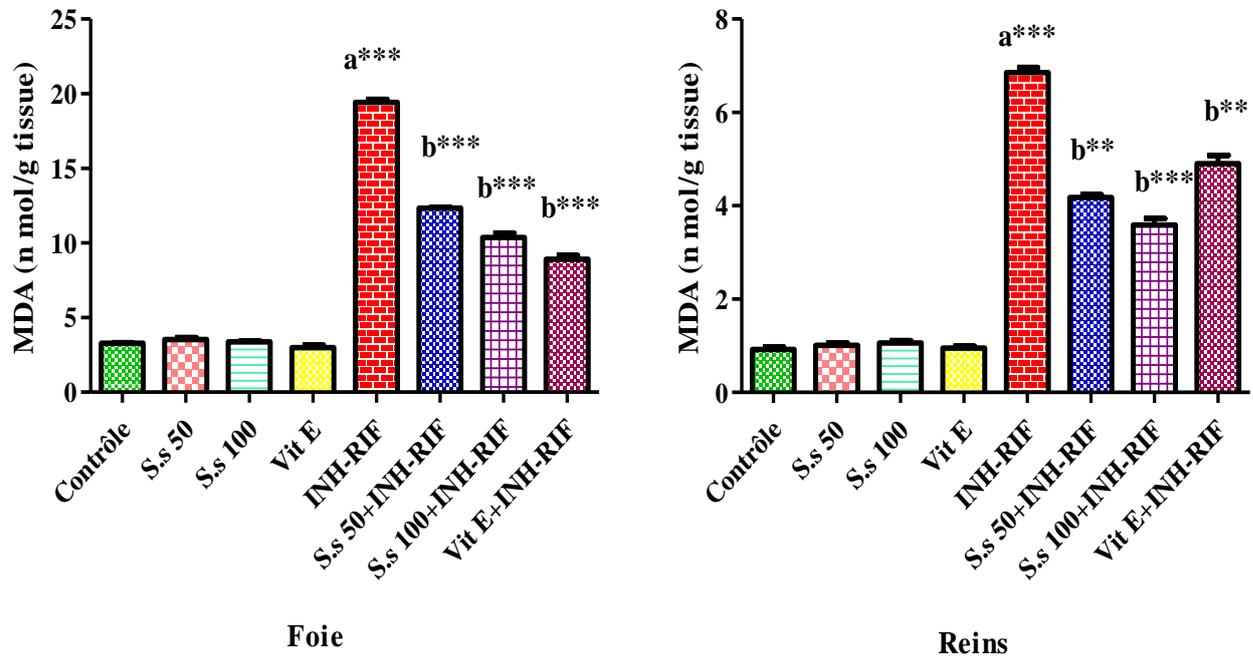


Figure 3.10 : Influence de l'administration de l'INH (75mg/kg) + RIF (150 mg/kg), l'extrait *n*-BuOH de la plante *S. satureioides* (50, 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur le taux d'MDA du foie et des reins chez les différents groupes. Les valeurs sont des moyennes \pm SEM. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ et *** : $p < 0.001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe INH-RIF. ns : non significative

L'administration d'INH-RIF a induit une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de la peroxydation lipidique dans les tissus hépatique (83.15%) et rénaux (86.56%) par rapport au contrôle. Alors que le co-traitement avec de *S. satureioides* (50, 100 mg/kg) et de la vitamine E (100 mg/kg) a induit une diminution très significative ($p < 0.001$, $p < 0.001$) de la peroxydation lipidique dans le foie (36.42, 46.66 et 54.15 % respectivement) et les reins (39.09, 47.65 et 28.48% respectivement) par rapport au groupe INH-RIF (Figure 3.10).

b. L'effet sur le GSH du foie et des reins

Comme le montre la figure (3.11), une diminution hautement significative des taux de GSH dans les tissus hépatiques (40.09%) et rénaux (63.64 %) a été observée dans les groupes INH et RIF ($p < 0.01$, $p < 0.001$) par rapport aux rats témoins. Alors que la co-administration de *S.*

satureioides (50, 100 mg/kg) ou la vitamine E (100mg/kg) avec INH-RIF a augmenté de manière hautement significative ($p < 0.01$, $p < 0.01$) le niveau de GSH par rapport au groupe INH-RIF. Par contre une augmentation non significative a été remarquée à la dose (50 mg/kg) de cette plante au niveau des reins.

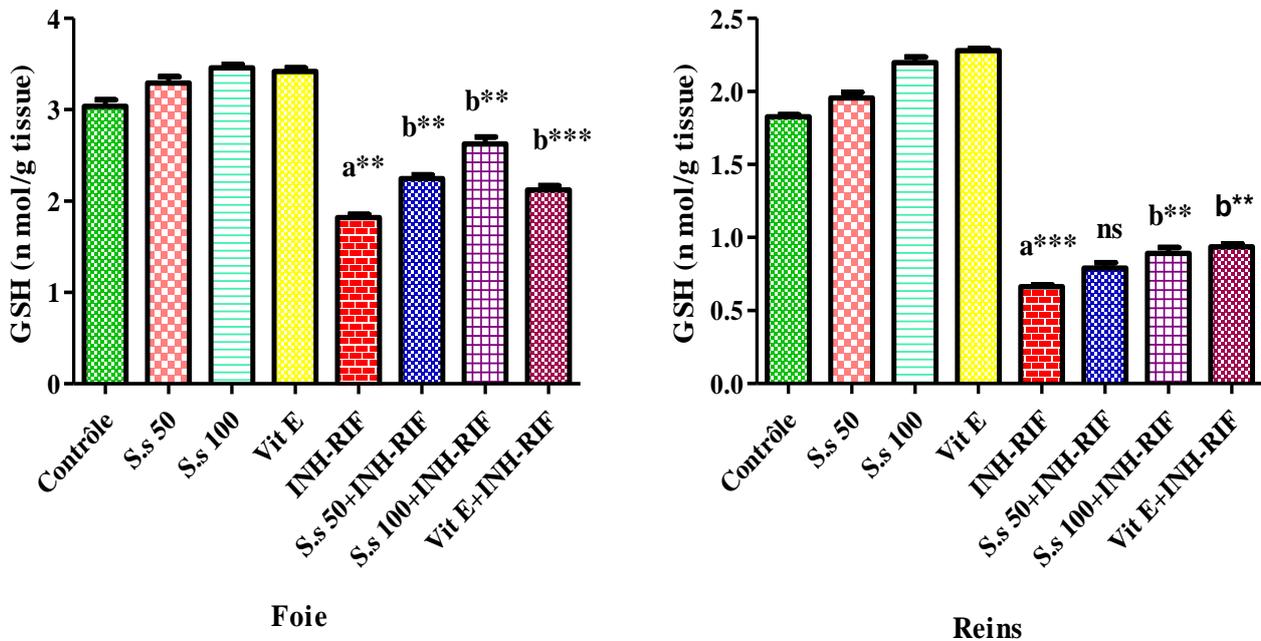


Figure 3.11 : Influence de l'administration de l'INH (75mg/kg) + RIF (150 mg/kg), l'extrait *n*-BuOH de la plante *S. saturoioides* (50, 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur le niveau de GSH du foie et des reins chez les différents groupes. Les valeurs sont données en moyenne \pm SEM. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ et *** : $p < 0.001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe INH-RIF. ns : non significative

c. L'effet sur l'activité de la GPx du foie et des reins

Les données ont montré que le traitement à l'INH et au RIF induisait une très forte diminution ($p < 0.001$) de l'activité GPx par rapport au groupe témoin dans le tissu hépatique (45.72%) et rénal (59.49 %). Cependant, au niveau du foie une augmentation hautement significative ($p < 0.01$, $p < 0.001$) de l'activité GPx a été observée après co-traitement avec *S. saturoioides* (100 mg/kg) et de la vitamine E (100 mg/kg) par rapport au groupe INH-RIF (Figure 3.12). Mais rien n'est constaté chez le groupe co-traité par la dose (50 mg/kg) de la fraction. Par contre, au niveau des reins une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité GPx a été observée après co-traitement avec la vitamine E (100 mg/kg) par rapport au

groupe INH-RIF (Figure 3.12). Mais une augmentation non significative de l'activité GPx a été observée après co-traitement avec les deux doses de cette plante par rapport au groupe INH-RIF.

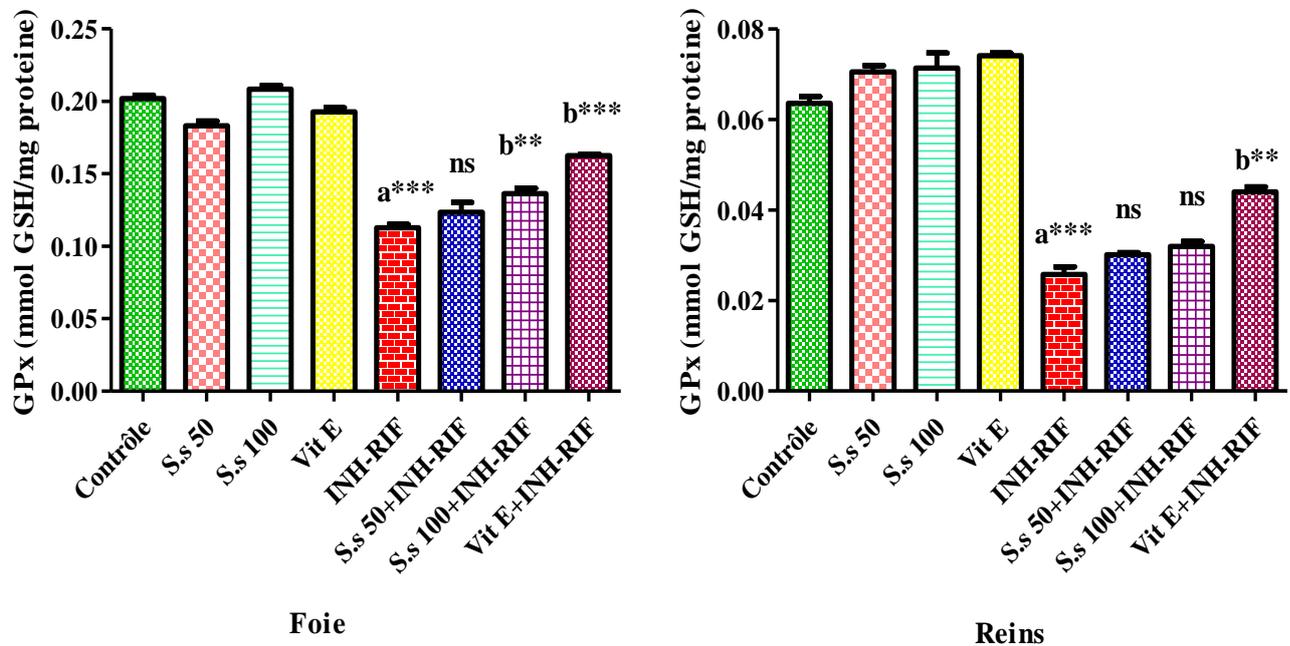


Figure 3.12 : Influence de l'administration de l'INH (75mg/kg) + RIF (150 mg/kg), l'extrait *n*- BuOH de la plante *S. saturoioides* (50, 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur l'activité de GPx du foie et des reins chez les différents groupes. Les valeurs sont des moyennes \pm SEM. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ et *** : $p < 0.001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe INH-RIF. ns : non significative

d. L'effet sur l'activité de la catalase du foie et des reins

Au niveau du foie (Figure 3.13), l'activité enzymatique de la CAT présente une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) après administration d'INH-RIF par rapport au contrôle (76.03%). De plus, *S. saturoioides* (50 et 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) ont montré une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité catalase par rapport à son activité dans le groupe INH-RIF (52.43, 61 et 62.68 % respectivement).

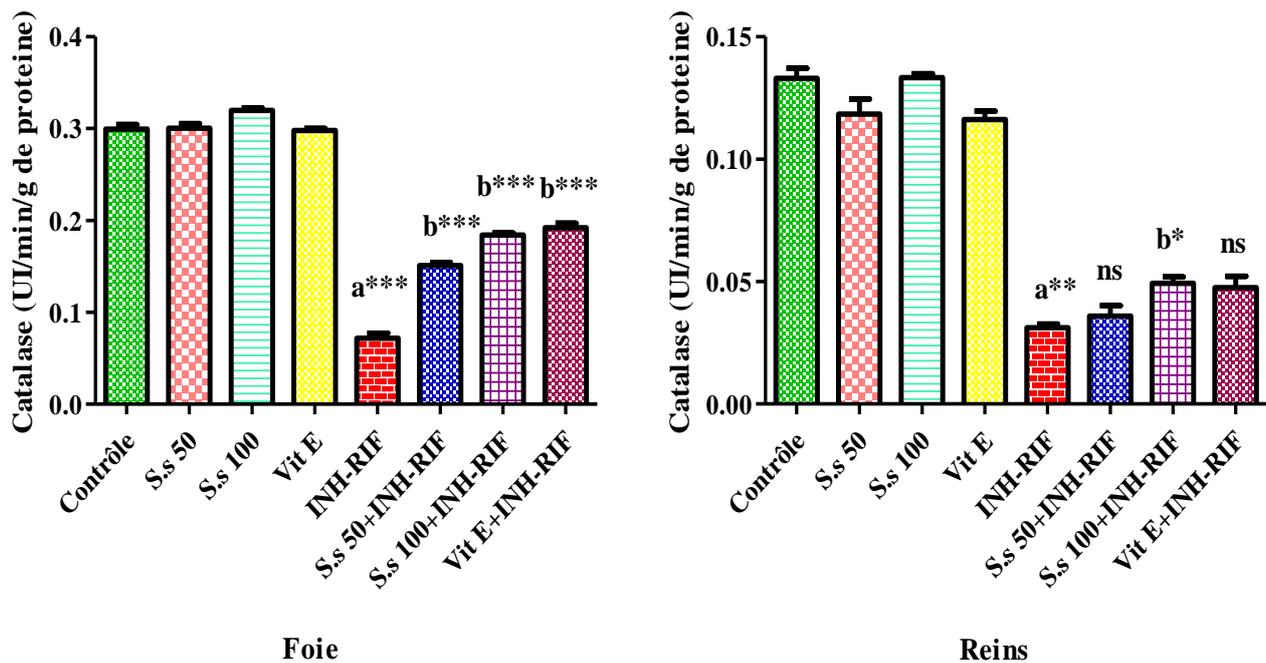


Figure 3.13 : Influence de l'administration de l'INH (75mg/kg) + RIF (150 mg/kg), l'extrait *n*-BuOH de la plante *S. satureioides* (50,100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur l'activité de la catalase du foie et des reins chez les différents groupes. Les valeurs sont des moyennes \pm SEM. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ et *** : $p < 0.001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe INH-RIF. *ns* : non significative

Aussi bien, au niveau des reins, l'activité CAT présente une diminution très hautement significative ($p < 0.01$) après administration d'INH-RIF par rapport au contrôle (76.53%). De plus, *S. satureioides* (100 mg/ kg) a montré une augmentation significative ($p < 0.05$) de l'activité catalase par rapport à son activité dans le groupe INH-RIF (36.66 %). Cependant, il n'y a pas d'augmentation significative de l'activité CAT chez les rats prétraités avec de la plante à 50 mg / kg et de la vitamine E à 100 mg/kg par rapport au groupe INH-RIF.

Les tableaux (3.13) et (3.14) montrent que de fortes corrélations ont été trouvées entre des niveaux accrus d'enzymes hépatiques et rénales qui peuvent atteindre 0.990** et 0.967** (ALT vs AST et cholestérol respectivement) et 0.987* et 0.998* (urée vs créatinine et acide urique respectivement) d'une part et ces enzymes vis-à-vis des paramètres de statut oxydant/antioxydant d'autre part. Par exemple MDA vs AST (0.957**), ALT (0.972*), triglycéride (0.900*) et cholestérol (0.913*) ; ou urée vs CAT (-0.962*).

Par ailleurs, des associations positives ont été trouvée entre les niveaux réduits de ces paramètres biochimique et de l'MDA et les niveaux accrus de GSH, GPx et CAT après le co-

traitement avec les deux doses de *S. saturoioides* et la vitamine E (100 mg/kg) (Annexes ; Tableaux 1-6).

Tableau 3.13 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques de la fonction hépatique et les paramètres de statut oxydant/ antioxydant de groupe traité par INH (75 mg/kg) et RIF (150 mg/kg) pendant 7 jours

	AST	ALT	TRI	CHOL	MDA	GSH	GPx	CAT
AST	1							
ALT	0.990**	1						
TRI	0.817	0.822	1					
CHOL	0.966**	0.967**	0.831	1				
MDA	0.957*	0.972**	0.900*	0.913*	1			
GSH	-0.562	-0.735	-0.465	-0.544	-0.722	1		
GPx	-0.970**	-0.967*	-0.927*	-0.970**	-0.968**	-0.526	1	
CAT	-0.958*	-0.924	-0.978*	-0.899	-0.955*	-0.518	0.993**	1

Les valeurs sont significativement différentes (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ et *** $p < 0.001$) par coefficient de corrélation de Pearson

Tableau 3.14 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques de la fonction rénale et les paramètres de statut oxydant/ antioxydant de groupe traité par INH (75 mg/kg) et RIF (150 mg/kg) pendant 7 jours

	Urée	Créa	A. urique	MDA	GSH	GPx	CAT
Urée	1						
Créa	0.987*	1					
A. urique	0.998*	0.984	1				
MDA	0.806	0.712	0.898	1			
GSH	-0.857	-0.773	-0.977	-0.995**	1		
GPx	-0.876	-0.810	-0.975	-0.968*	0.986*	1	
CAT	-0.962*	-0.908	-0.992	-0.934	0.961*	0.953*	1

Les valeurs sont significativement différentes (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ et *** $p < 0.001$) par coefficient de corrélation de Pearson.

3.6.1.3. Etude histologique

➤ Au niveau du foie

Les coupes histologiques des fragments du foie des rats de groupe témoin ont montré une architecture cellulaire normale ou l'architecture du parenchyme hépatique est conservée et qui se caractérise par l'arrangement des hépatocytes autour de la veine centrale avec triade portale et espaces sinusoidaux normaux (Figure 3.14.A).

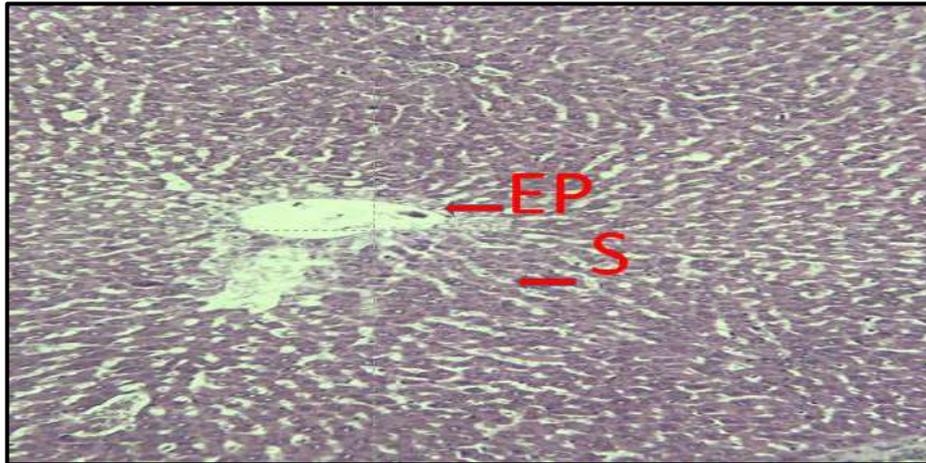


Figure 3.14.A : Coupe histologique du foie d'un rat témoin.

EP, espace porte et S ; sinusoides. H&E (x100)

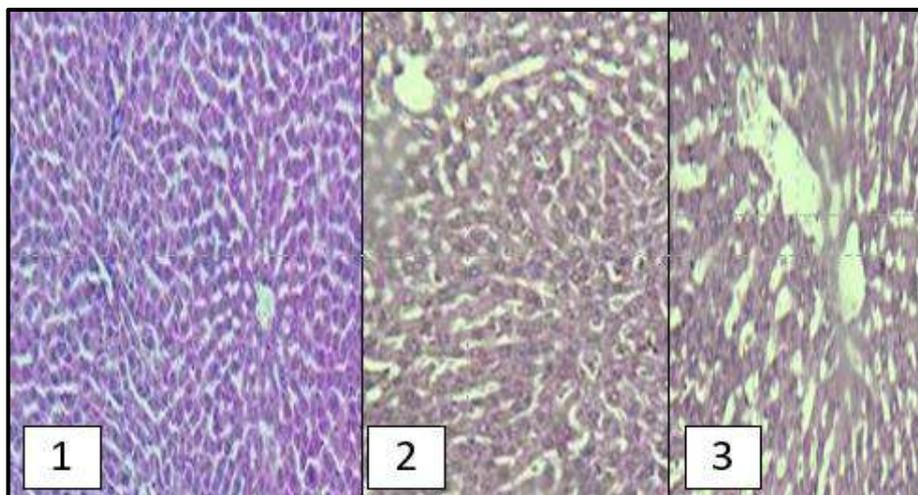


Figure 3.14.B : Coupes histologiques des foies des rats traités avec l'extrait *n*-BuOH de *S. satureioides* seule à 50 mg/kg (1) et 100 mg/kg (2) ou de la vitamine E à 100 mg/kg (3) respectivement. H&E (x100 et x400)

En plus, Les coupes histologiques des foies des rats traités avec *S.satureioides* seule (50 et 100 mg / kg) ou de la vitamine E (100 mg / kg) respectivement ont montré une histologie normale presque similaire à celle du groupe témoin. (Figure 3.14.B).

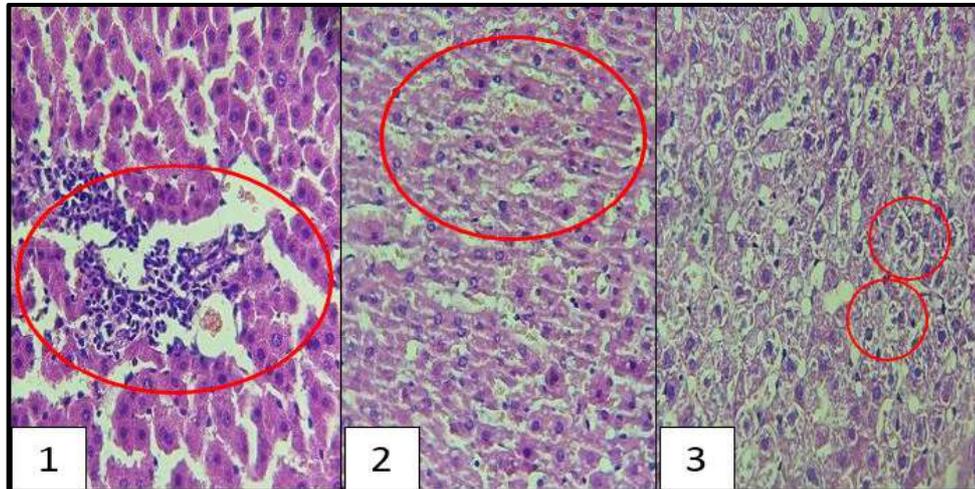


Figure 3.14.C : Coupes histologiques des foies des rats du groupe toxique ; groupe traité par INH (75 mg/kg) –RIF (150 mg/kg) présentant une distorsion de l'architecture normale et des hépatocytes de forme irrégulière comme ; (1) Infiltrat lymphocytaire central péri-vésiculaire, (2) Stéatose micro-vésiculaire discrète et focale, (3) Clarification des hépatocytes à la limite de normale. H&E (x100 et x400)

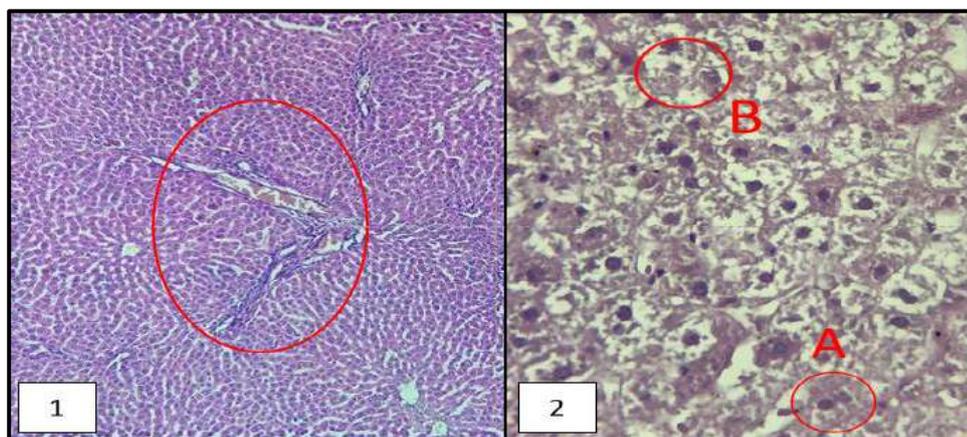


Figure 3.14.D : Coupes histologiques des foies des rats traités par INH (75 mg/kg) -RIF (150 mg/kg) et *S.satureioides* n-BuOH extrait (50 mg / kg ; 100 mg / kg) ou vitamine E (100 mg / kg) ont respectivement montré un tableau histologique comparable à celui du groupe témoin avec un dommage minimal des hépatocytes. (1) Congestion hépatique, (2) A : Binucléation des hépatocytes et B : Ballonnement des hépatocytes. H&E (x100 et x400)

Figure 3.14 : L'analyse histopathologique, l'effet protecteur de l'extrait *n*-BuOH de *S.satureioides* vis-à-vis la hépatotoxicité induite par l'INH-RIF

Cependant, les coupes histologiques du foie des rats intoxiqués par l' INH (75 mg/kg) et RIF (150 mg/kg) pendant 7 jours ont présenté des altérations histopathologies sévères, On note : Infiltrat lymphocytaire central péri- vésiculaire, stéatose micro-vésiculaire discrète et focale et clarification des hépatocytes à la limite de normale (Figure 3.14.C).

Le co-traitement avec 50 et 100 mg / kg de *S.satureioides* a réduit les changements histopathologiques induits par l'INH / RIF, ils ont montré une forme histologique comparable à celui du groupe témoin avec la présence des cellules binucléées, congestion hépatique et une légère ballonnisation. Le co-traitement à la vitamine E (100 mg/kg) améliore également les modifications histopathologiques induits par l'INH / RIF, les coupes de foies ont présenté des hépatocytes conservés. (3.14.D). L'observation histologique du foie confirme les résultats des mesures des paramètres biochimiques et du profil antioxydant et confirme encore l'effet hépatoprotecteur de *S.satureioides*.

➤ **Au niveau du rein**

Les coupes histologiques des fragments des reins des rats de groupe témoin ont montré un aspect morphologique normale (Figure 3.15.A). En outre, la figure (3.15.B) montre qu'il n'y avait pas des changements morphologiques dans les reins du groupe témoin et les groupes traités par les deux doses de *S.satureioides* (50 et 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) dans l'examen microscopique. Alors qu'il y avait des altérations histopathologies ; une légère contraction des glomérules, des cellules tubulaires en début de nécrose et des vaisseaux sanguins encombrés dans les reins du groupe INH-RIF (75/150 mg/kg, pendant 7 jours).

En comparant avec le groupe traité par l'INH et la RIF, l'examen microscopique des coupes histologiques du rein des rats prétraités par les deux doses (50 et 100 mg/kg) de *S.satureioides* ou la vitamine E à la dose de 100mg /kg a montré des tubules et des glomérules presque normaux.

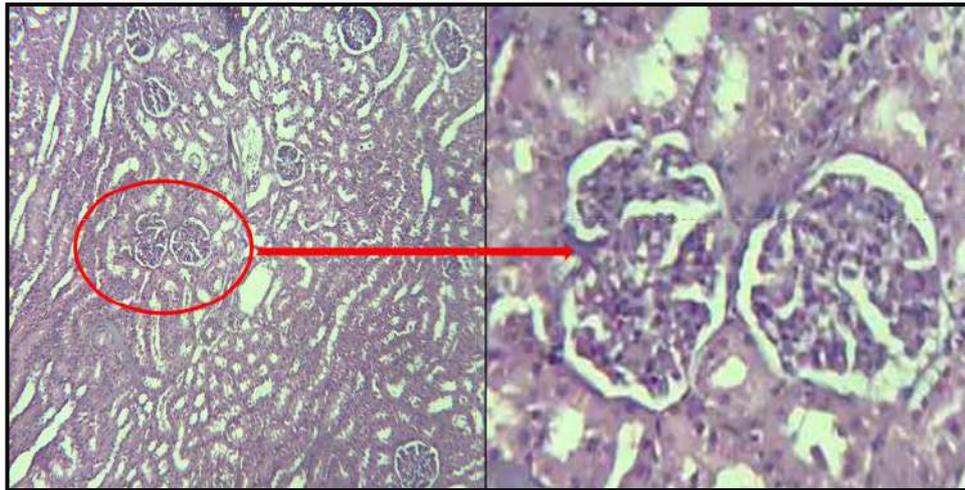


Figure 3.15.A : Coupe histologique du rein d'un rat du groupe témoin
Glomérule normal et tubes rénaux sains. H&E (x100 et x400)

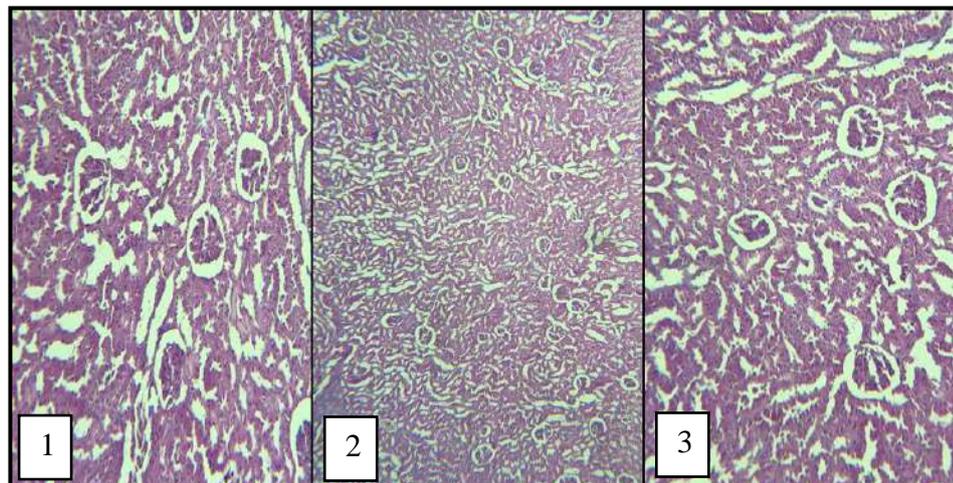


Figure 3.15.B : Coupes histologiques des reins des rats traités par *S. satureioides* à 50 mg/kg (1) et 100 mg/kg (2) et la vitamine E à 100 mg/kg (3). Glomérule normal et tubes rénaux sains. H&E (x100 et x400)

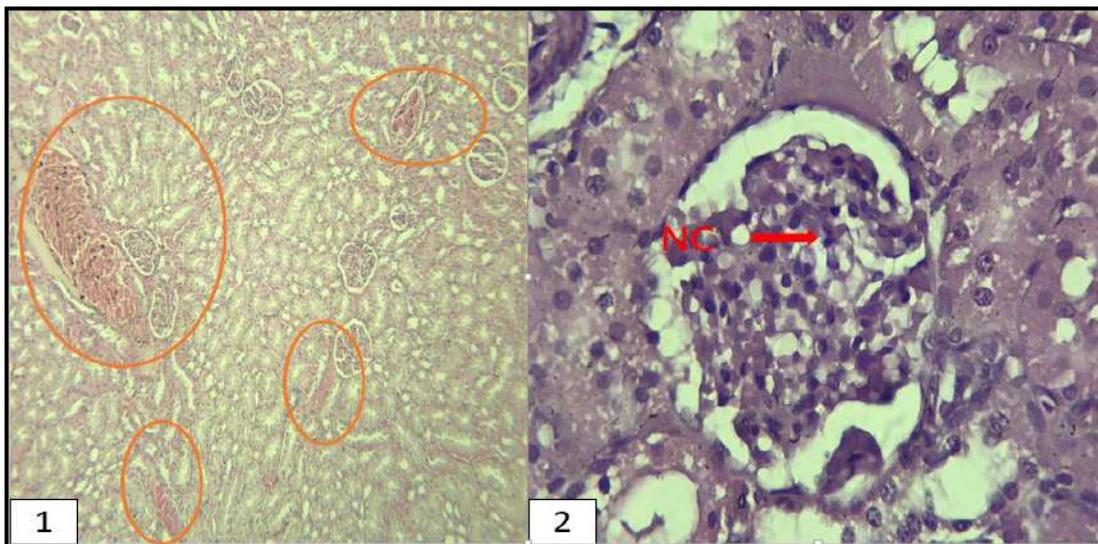


Figure 3.15.C : Coupes histologiques des reins des rats du groupe toxique ; groupe traité par INH (75 mg/kg) –RIF (150 mg/kg) présentant une congestion (1), début de nécrose (2) H&E (x100 et x400)

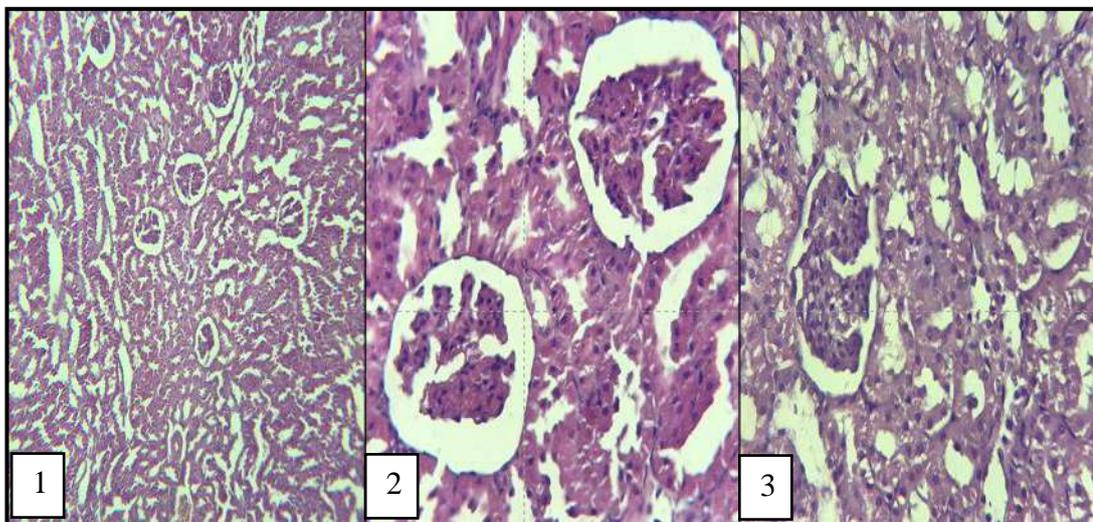


Figure 3.15.D : Coupes histologiques des reins des rats traités par *S. satureioides* à 50 mg/kg (1) et 100 mg/kg (2) et la vitamine E à 100 mg/kg (3) + INH et RIF (75/150 mg/kg) .Glomérule normal et tubes rénaux sains. H&E (x100 et x400)

Figure 3.15 : L'analyse histopathologique : l'effet protecteur de l'extrait *n*-BuOH de *S. satureioides* vis-à-vis la néphrototoxicité induite par l'INH-RIF

3.7.2. L'effet protecteur de *G.vepres* Pomel

3.7.2.1.L'effet des différents traitements sur les marqueurs biochimiques

a. L'effet sur les enzymes transaminase AST et ALT

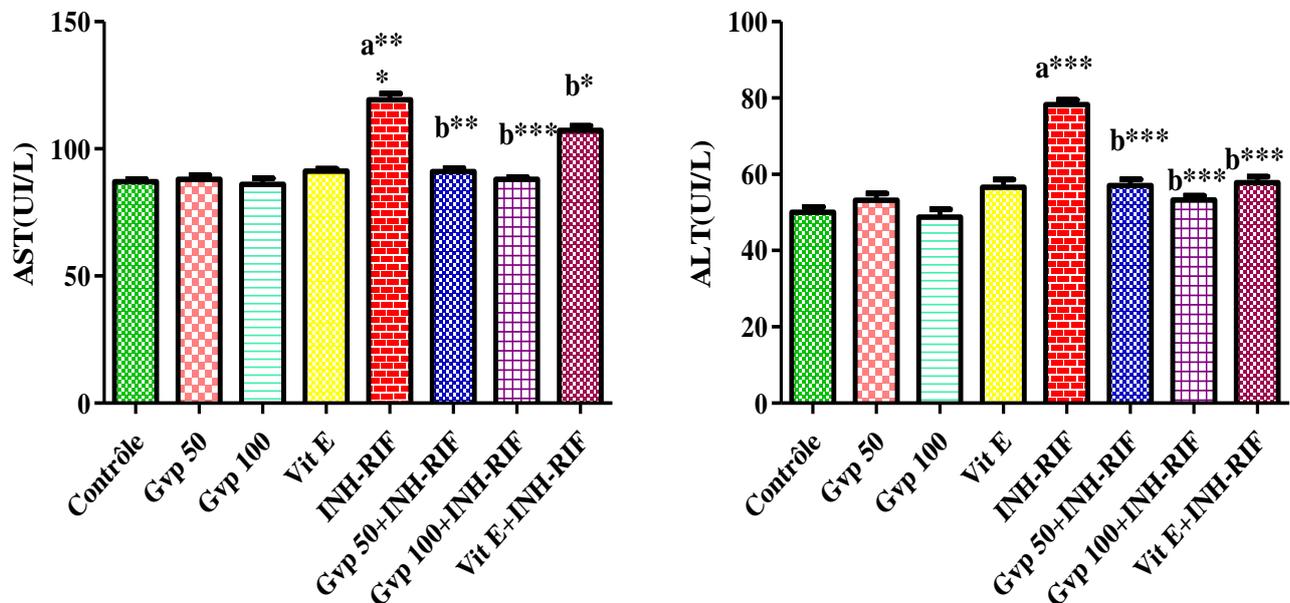


Figure 3.16 : Effet de l'INH (100 mg /kg) + RIF (100 mg/kg), l'extrait *n*- BuOH de la plante *G.vepres* Pomel (50, 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur la concentration sérique des aminotransférases : AST et ALT. Les valeurs sont des moyennes \pm SEM. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ et *** : $p < 0.001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe INH-RIF. *ns* : non significative

L'administration d'une dose toxique d'INH (100 mg / kg) et de la RIF (100 mg / kg) a induit une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) des enzymes hépatiques (AST = 27.05 et ALT = 36.10 %) par rapport au groupe témoin. Une corrélation positive a été trouvée entre des niveaux augmentés de ces enzymes hépatiques ($r^2 = 0.618$).

De plus, une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) du taux de ALT a été observée chez les rats co-traités avec de *G.vepres* Pomel (50 et 100 mg / kg) ou de la vitamine E à 100 mg/kg (27.16, 31.95 et 26.20 %) par rapport au groupe toxique. Cependant, une diminution significative du taux de AST a été observée chez les rats co-traités avec de l'extrait de *n*-BuOH à 50 mg/kg ($p < 0.01$) ou à 100 mg/kg ($p < 0.001$) et de la vitamine E ($p < 0.05$) par rapport aux rats traités à l'INH et au RIF. Des corrélations positives ont été trouvées entre des

niveaux diminués de ces enzymes hépatiques après les différents traitements ($r^2= 0.693, 0.823$ et 0.933 respectivement).

b. L'effet sur la phosphatase alcaline (ALP) et gamma-glutamyl transférase (GGT)

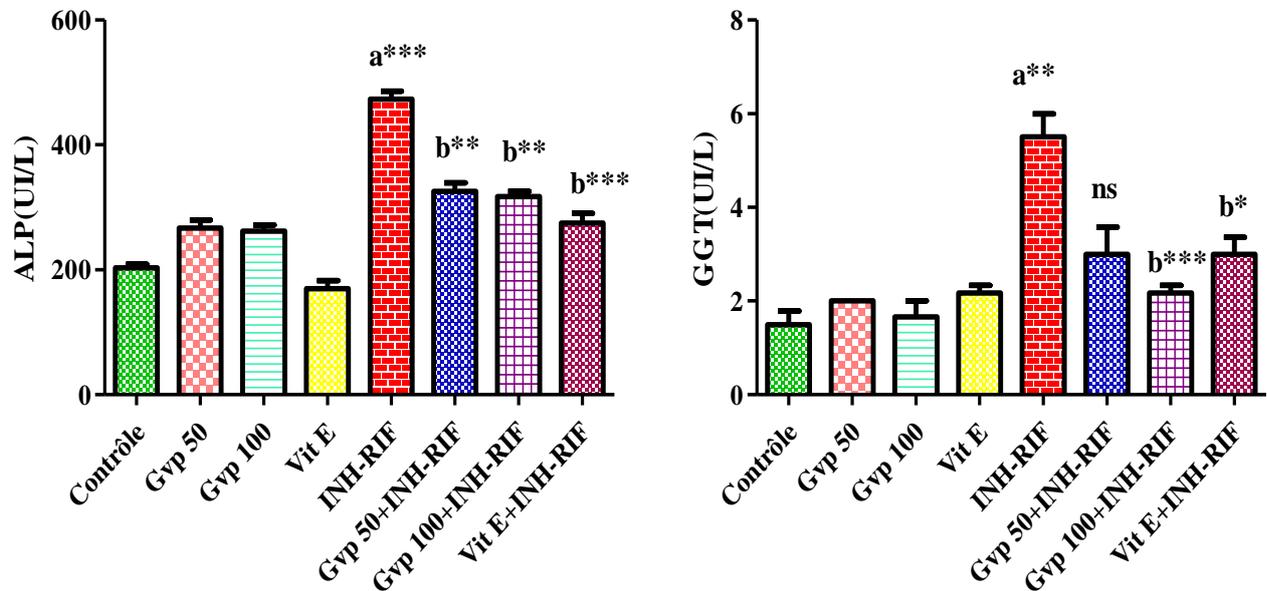


Figure 3.17 : Effet de l'INH (100 mg /kg) + RIF (100 mg/kg), l'extrait *n*- BuOH de la plante *G. vepres* Pomel (50, 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur la concentration sérique de la phosphatase alcaline (ALP) et gamma-glutamyl transférase (GGT). Les valeurs sont des moyennes \pm SEM. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ et *** : $p < 0.001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe INH-RIF. ns : non significative

Comme l'illustre la figure 3.17, les rats traités à l'INH-RIF ont présenté une augmentation significative des taux sériques de phosphatase alcaline et de gamma-glutamyl transférase ($p < 0.001$ et $p < 0.01$) comparées au groupe témoin (57.01 et 72.73 % respectivement). Le co-traitement avec les deux doses de la fraction de plante et de la vitamine E (100 mg/kg) a diminué de manière significative ($p < 0.01$ et $p < 0.001$) dans les niveaux de phosphatase alcaline par rapport au groupe INH-RIF (31.20, 33.02 et 41.91 % respectivement). Chez le groupe co-traité avec l'extrait (100 mg/kg) ou la vitamine E (100 mg/kg), on constate une diminution significative ($p < 0.001$, $p < 0.05$) dans le niveau de gamma-glutamyl transférase (60.61 et 45.45 % respectivement) par rapport au groupe INH-RIF. En outre aucun changement significatif n'est observé dans le groupe co-traité avec l'extrait de la plante (50 mg/kg).

c. L'effet sur les triglycérides et le cholestérol

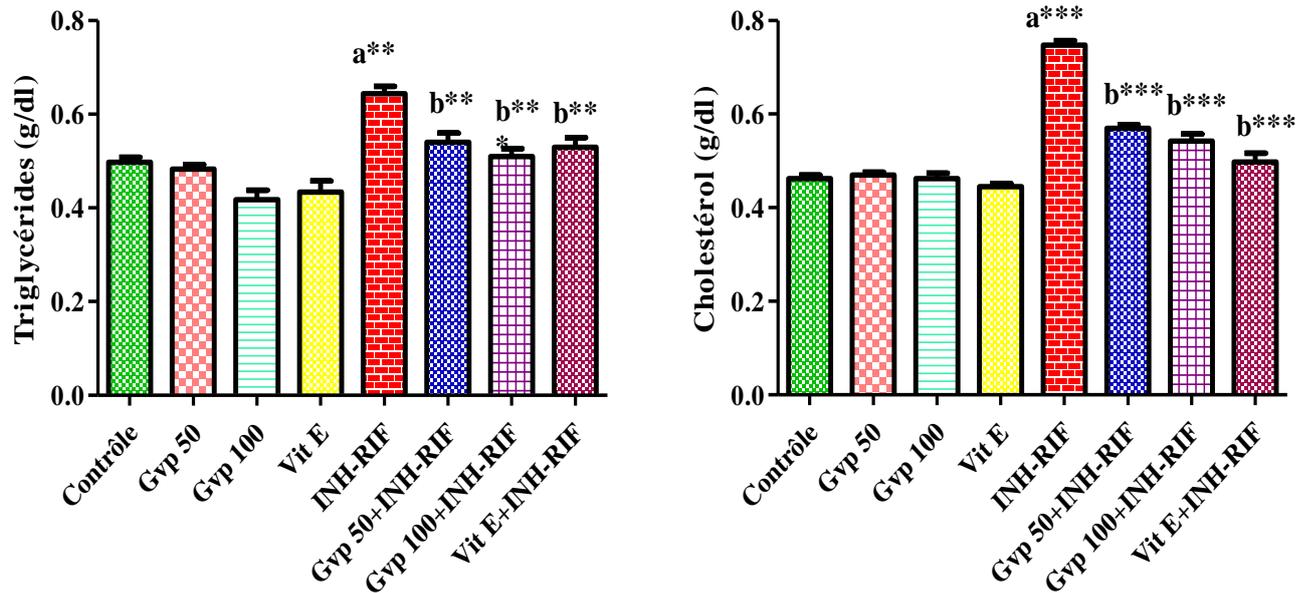


Figure 3.18 : Effet de l'INH (100 mg /kg) + RIF (100 mg/kg), l'extrait *n*- BuOH de la plante *G. vepres* Pomel (50,100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur la concentration sérique des triglycérides et du cholestérol. Les valeurs sont des moyennes \pm SEM. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ et *** : $p < 0.001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe INH-RIF. ns : non significative

Le traitement INH-RIF a provoqué une augmentation significative des taux sériques de cholestérol et de triglycérides ($p < 0.001$, $p < 0.01$) par rapport au groupe témoin (38.13, 22.75 % respectivement). Une corrélation positive a été trouvée entre l'augmentation des triglycérides et le taux de cholestérol ($r^2 = 0.911$). Le co-traitement avec les deux doses de *G. vepres* Pomel et de vitamine E (100 mg/kg) a diminué de manière significative ($p < 0.01$, $p < 0.001$) dans les niveaux de triglycérides par rapport au groupe INH-RIF (16.15, 20.81 et 17.78 % respectivement). Une réduction très hautement significative ($p < 0.001$) des taux de cholestérol a été observée chez les rats co-traités avec les traitements précédentes (23.75, 27.42 et 33.44 % respectivement).

d. L'effet sur la concentration sérique de l'urée, la créatinine et l'acide urique

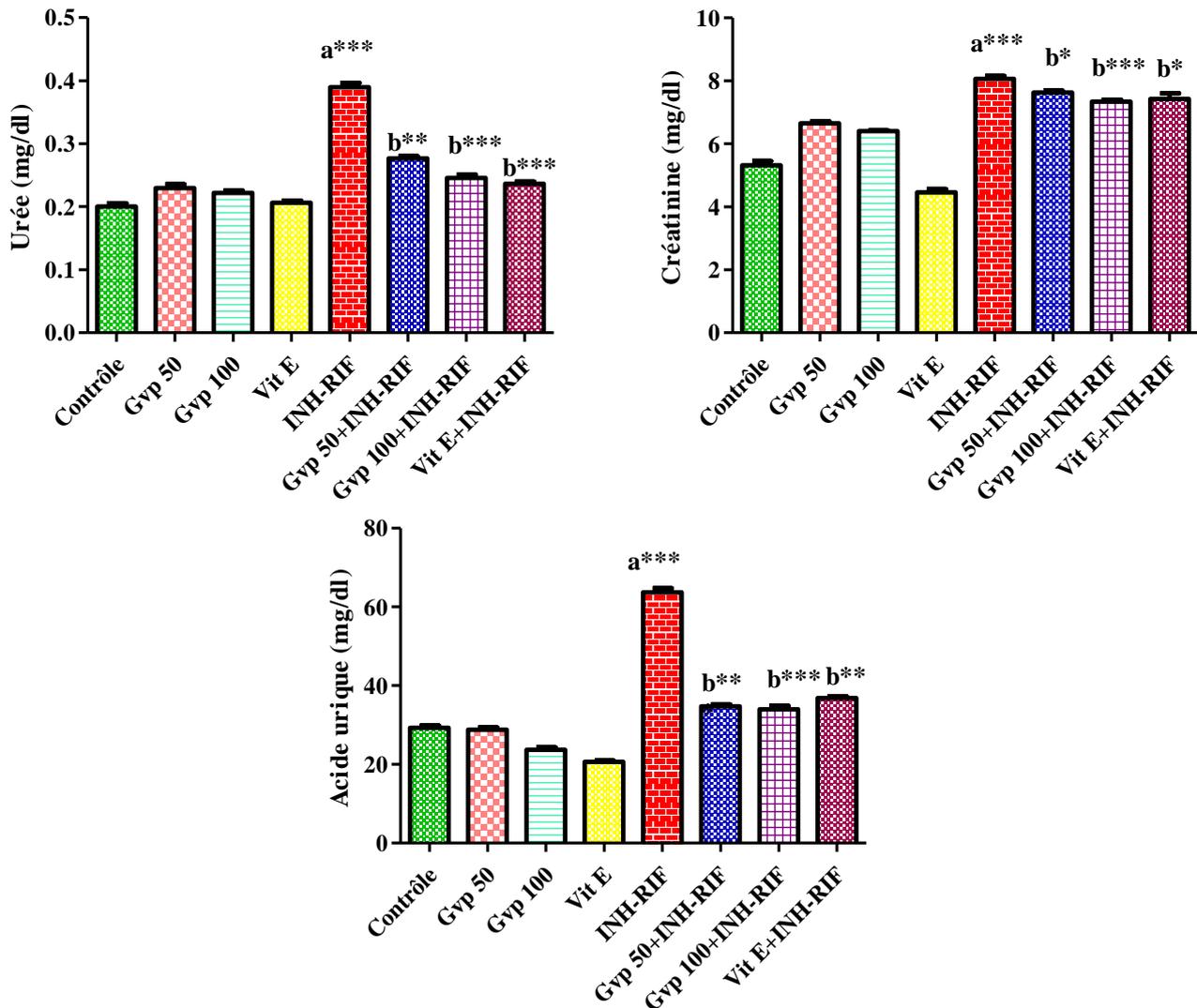


Figure 3.19 : Influence de l'administration de l'INH (100 mg /kg) + RIF (100 mg/kg), l'extrait n-BuOH de la plante *G. vepres* Pomel (50, 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur la concentration sérique de l'urée, la créatinine et l'acide urique chez les différents groupes. Les valeurs sont des moyennes \pm SEM. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ et *** : $p < 0.001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe INH-RIF. ns : non significative

Le traitement INH-RIF a provoqué une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) des taux sériques de l'urée, la créatinine et l'acide urique (48.72, 33.99 et 53.99 % respectivement). Des bonnes corrélations ont été trouvées entre l'augmentation du niveau de l'urée, l'acide urique la créatinine ($r^2 = 0.471, 0.704$ et 0.958^*) avec des fortes liaisons qui

atteint 91.76%. Cependant, la combinaison de l'INH-RIF avec *G. vepres* Pomel (100 mg/kg) a une atténuation très hautement significative ($p < 0.001$) sur la concentration de l'urée (36.92 %), l'acide urique (46.68 %) et la créatinine (8.88%).

En outre, la combinaison de l'INH-RIF avec *G. vepres* Pomel (50 mg/kg) ou la vitamine E (100 mg/kg) a diminué significativement la concentration de l'urée (29.06, 39.32 %), l'acide urique (45.54, 42.10 %) et la créatinine (5.47, 7.95 %). Des bonnes corrélations ont été trouvées entre la diminution du niveau de l'urée, l'acide urique la créatinine.

3.7.2.2.L'effet des différents traitements sur les paramètres de stress

a. L'effet sur la peroxydation lipidique (taux d'MDA) du foie et des reins

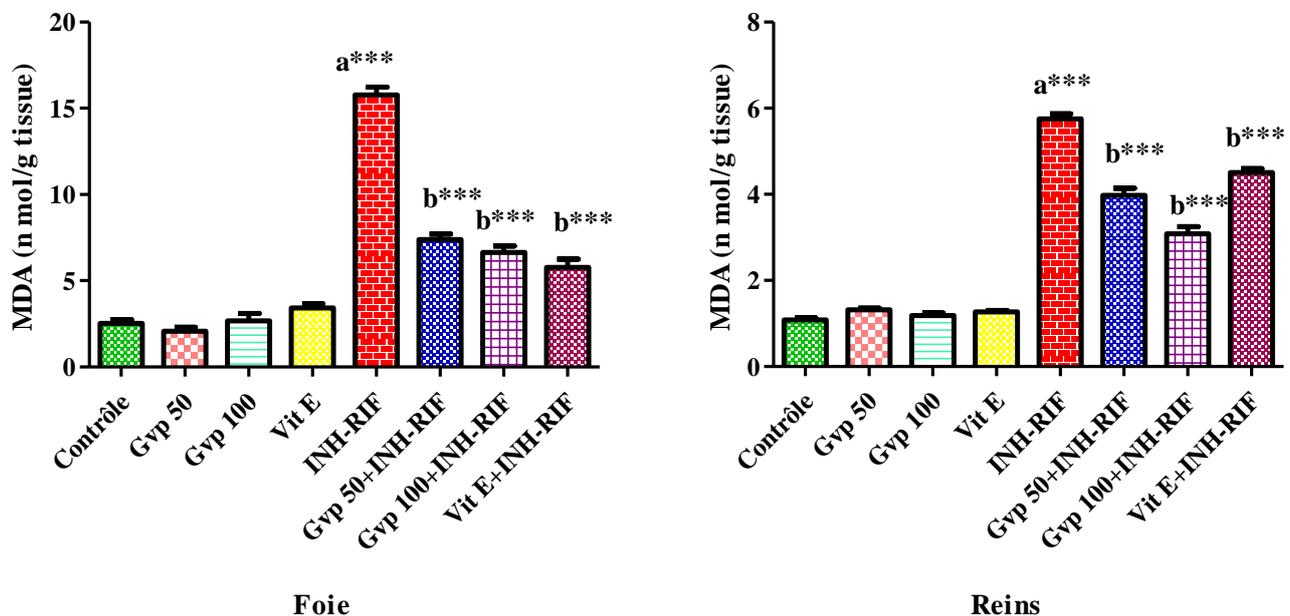


Figure 3.20 : Influence de l'administration de l'INH (100 mg /kg) + RIF (100 mg/kg), l'extrait *n*- BuOH de la plante *G. vepres* Pomel (50, 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur le taux d'MDA du foie et des reins chez les différents groupes. Les valeurs sont des moyennes \pm SEM.

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ et *** : $p < 0.001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe INH-RIF. *ns* : non significative

La figure 3.20 montre une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) d'MDA dans le foie (83.99%) et les reins (81.15%) chez les rats recevant l'INH-RIF comparant au groupe témoin. Par ailleurs, une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) du taux d'MDA est aussi constatée dans le foie et les reins chez les rats recevant l'INH-RIF et traités

par *G. vepres* Pomel à 50 mg/kg (53.11 et 30.87 %), à 100 mg/kg (57.89 et 46.39 %) ou la vitamine E à 100 mg/kg (63.35 et 21.69%).

b. L'effet sur le GSH du foie et des reins

Une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) du taux de GSH au niveau du foie (61.81%) et des reins (83.81%) chez les rats traités par l'INH-RIF par rapport au groupe non traité. Aussi bien, au niveau du foie et des reins, une variation significative ($p < 0.05$, $p < 0.001$) du GSH est observée chez les rats recevant l'INH-RIF et co-traités par les deux doses de *G.vepres* Pomel (50 et 100 mg/kg). D'autre part, une augmentation non significative de GSH est constatée au niveau du foie (14.16%) des rats recevant l'INH-RIF et co-traités par la vitamine E (100 mg/kg) comparant à celui du groupe toxique. Alors que, au niveau des reins, une augmentation hautement significative ($p < 0.001$) atteint 65.06 %.

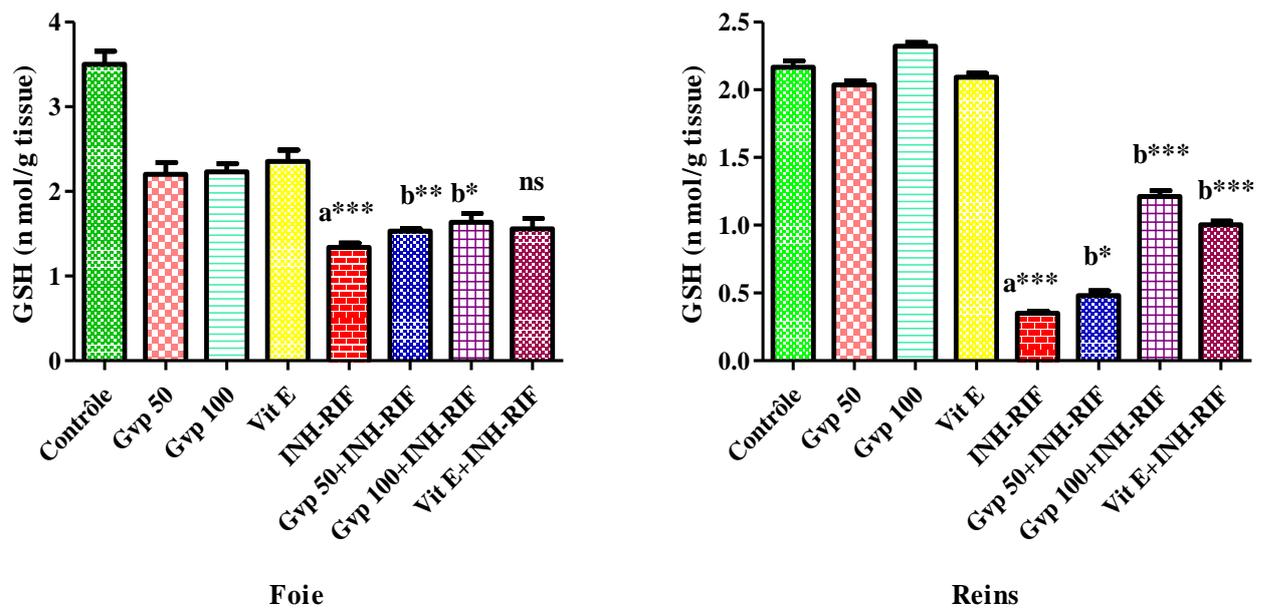


Figure 3.21 : Influence de l'administration de de l'INH (100 mg /kg) + RIF (100 mg/kg), l'extrait *n*- BuOH de la plante *G. vepres* Pomel (50. 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur le niveau de GSH du foie et des reins chez les différents groupes. Les valeurs sont données en moyenne \pm SEM. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ et *** : $p < 0.001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe INH-RIF. ns : non significative

c. L'effet sur l'activité de la GPx du foie et des reins

Les données obtenus ont montré que le traitement à l'INH et au RIF induisait une très forte diminution ($p < 0.001$) de l'activité GPx par rapport au groupe témoin au niveau du foie (66.70%). Cependant, une augmentation significative ($p < 0.001$) de l'activité GPx a été observée après co-traitement avec la plante (50 et 100 mg/kg) et de la vitamine E (100 mg/kg) par rapport au groupe INH-RIF (44.16, 54.38 et 58.73% respectivement). Par contre, au niveau des reins le traitement à l'INH et au RIF induisait une diminution significative ($p < 0.05$) de l'activité GPx par rapport au groupe témoin (56.95%). Cependant, une augmentation significative ($p < 0.05$) de l'activité GPx a été observée après co-traitement avec la plante (100 mg/kg) et de la vitamine E (100 mg / kg) par rapport au groupe INH-RIF (34.21 et 32.06 %). En outre aucun changement significatif n'est observé dans le groupe co-traité avec l'extrait *n*-BuOH de cette plante (50 mg/kg) (Figure 3.22).

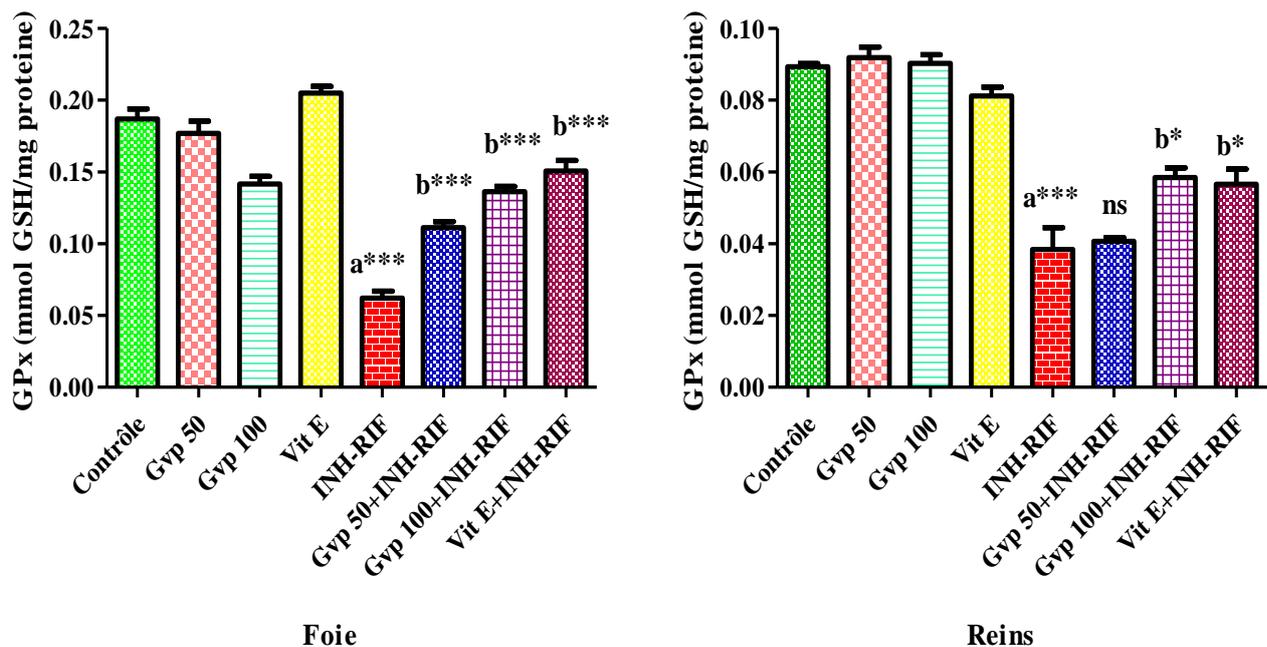


Figure 3.22 : Influence de l'administration de l'INH (100 mg /kg) + RIF (100 mg/kg), l'extrait *n*-BuOH de la plante *G. vepres* Pomel (50, 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur l'activité de GPx du foie et des reins chez les différents groupes. Les valeurs sont des moyennes \pm SEM. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ et *** : $p < 0.001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe INH-RIF. ns : non significative

d. L'effet sur l'activité de catalase du foie et des reins

Les résultats obtenus révèlent une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité de la CAT dans l'homogénat du foie et des reins chez les rats traités par l'INH-RIF comparant à celle mesurée chez les rats non traités (83.87 et 82.50%) (Figure 3.23). Par contre on note une augmentation significative ($p < 0.05$ et $p < 0.001$) chez les rats recevant la INH-RIF et co-traités par l'extrait de cette plante (50, 100 mg/kg) ou la vitamine E (100 mg/kg) au niveau des reins en comparant avec le groupe INH-RIF (46.28, 59.70 et 54.05% respectivement). Cependant, au niveau du foie il y a une augmentation significative ($p < 0.01$) de l'activité CAT chez les rats co-traités avec la plante à 100 mg / kg par rapport au groupe INH-RIF (34.11%). Mais, il n'y a pas d'augmentation significative de l'activité CAT chez les rats prétraités avec la plante à 50 mg / kg et de la vitamine E à 100 mg/kg.

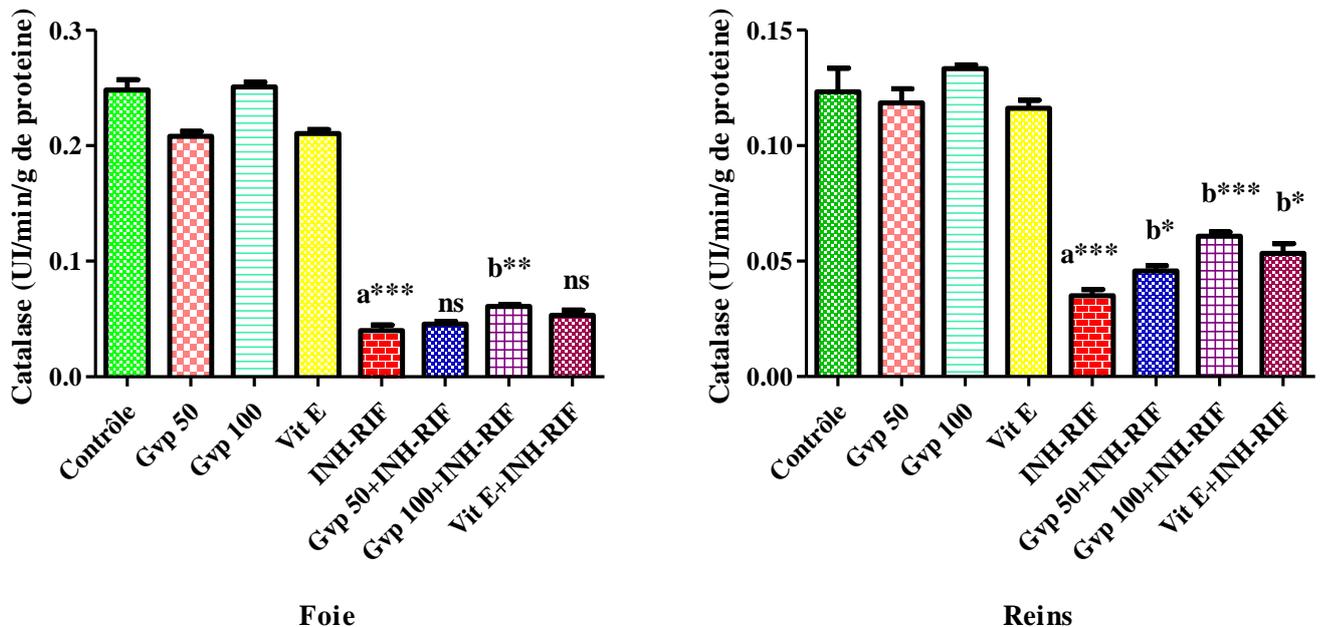


Figure 3.23 : Influence de l'administration de l'INH (100 mg /kg) + RIF (100 mg/kg), l'extrait *n*- BuOH de la plante *G. vepres* Pomel (50,100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) sur l'activité de la catalase du foie et des reins chez les différents groupes. Les valeurs sont des moyennes \pm SEM. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ et *** : $p < 0.001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe INH-RIF. ns : non significative

Les tableaux (3.15) et (3.16) montrent que de fortes associations ont été trouvées entre des niveaux augmentés d'enzymes hépatiques et rénales qui peuvent atteindre 0.978*(ALT vs ALP) et 0.958* (créatinine vs acide urique) d'une part et ces enzymes vis-à-vis des paramètres de statut oxydant/antioxydant d'autre part. Par exemple Triglycéride vs MDA (0.966**) et AST vs GPx (-0.999***) ou vs CAT (-0.989*), et Acide urique vs CAT (-0.997**).

En plus, des corrélations positives ont été trouvée entre les niveaux réduits de ces paramètres biochimique et de l'MDA et les niveaux accrus de GSH, GPx et CAT après le co-traitement avec les deux doses (50 et 100 mg/kg) de *G. verpes* Pomel et la vitamine E (100 mg/kg) (Annexes ; Tableaux 7-12).

3.7.3.2. Etude histologique

➤ Au niveau du foie

Les coupes histologiques des fragments du foie des rats de groupe témoin ont montré une architecture cellulaire normale ou l'architecture du parenchyme hépatique est conservée et qui se caractérise par l'arrangement des hépatocytes autour de la veine centrale avec triade portale et espaces sinusoïdaux normaux (Figure 3.24.A). En plus, Les coupes histologiques des foies des rats traités avec *G. verpes* Pomel seule (50 et 100 mg/kg) ou de la vitamine E (100 mg/kg) respectivement ont montré une histologie normale presque similaire à celle du groupe témoin (Figure 3.24.B).

Cependant, les coupes histologiques du foie des rats intoxiqués par l'INH et la RIF (100 mg/kg chacun, pendant 21 jours) ont présenté des altérations histopathologies sévères, On note : une dilatation et congestion de la veine centrolobulaire, une dilatation des sinusoides, une binucléation des hépatocytes et u ballonnement des hépatocytes (Figure 3.24.C).

Le co-traitement avec 50 et 100 mg / kg de *G.verpes* Pomel a réduit les changements histopathologiques induits par l'INH / RIF. Ils ont montré une forme histologique comparable à celui du groupe témoin avec un dommage minimal des hépatocytes, on note : un léger ballonnement, quelques noyaux hyperchromatiques. Le co-traitement à la vitamine E (100 mg/kg) améliore également les modifications histopathologiques induits par l'INH/RIF, les coupes de foies ont présenté des hépatocytes conservés. L'observation histologique du foie confirme les résultats des mesures des paramètres biochimiques et du profil antioxydant et confirme encore l'effet hépatoprotecteur de *G.verpes* Pomel.

Tableau 3.15 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques de la fonction hépatique et les paramètres de statut oxydant/ antioxydant de groupe traité par INH (100 mg/kg) et RIF (100 mg/kg) pendant 21 jours

	AST	ALT	ALP	GGT	TRI	CHOL	MDA	GSH	GPx	CAT
AST	1									
ALT	0.618	1								
ALP	0.737	0.978*	1							
GGT	0.957*	0.816	0.888	1						
TRI	0.916	0.666	0.807	0.889	1					
CHOL	0.971*	0.440	0.596	0.863	0.911	1				
MDA	0.866	0.764	0.882	0.887	0.966**	0.833	1			
GSH	-0.304	0.181	0.192	-0.204	0.123	-0.286	0.170	1		
GPx	-0.999***	-0.588	-0.710	-0.945	-0.881*	-0.978*	-0.760	0.254	1	
CAT	-0.989*	-0.511	-0.635	-0.913	-0.862	-0.978*	-0.790	0.419	0.994**	1

Les valeurs sont significativement différentes (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ et *** $p < 0.001$) par coefficient de corrélation de Pearson.

Tableau 3.16 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques de la fonction rénale et les paramètres de statut oxydant/ antioxydant de groupe traité par INH (100 mg/kg) et RIF (100 mg/kg) pendant 21 jours

	Urée	Créa	A. Urique	MDA	GSH	GPX	CAT
Urée	1						
Créa	0.471	1					
A. Urique	0.704	0.958*	1				
MDA	0.887	0.774	0.900	1			
GSH	-0.810	-0.677	-0.797	-0.966*	1		
GPx	-0.698	-0.960*	-0.999	-0.896	0.793	1	
CAT	-0.680	-0.962*	-0.997**	-0.869	0.751	0.998**	1

Les valeurs sont significativement différentes (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ et *** $p < 0.001$) par coefficient de corrélation de Pearson.

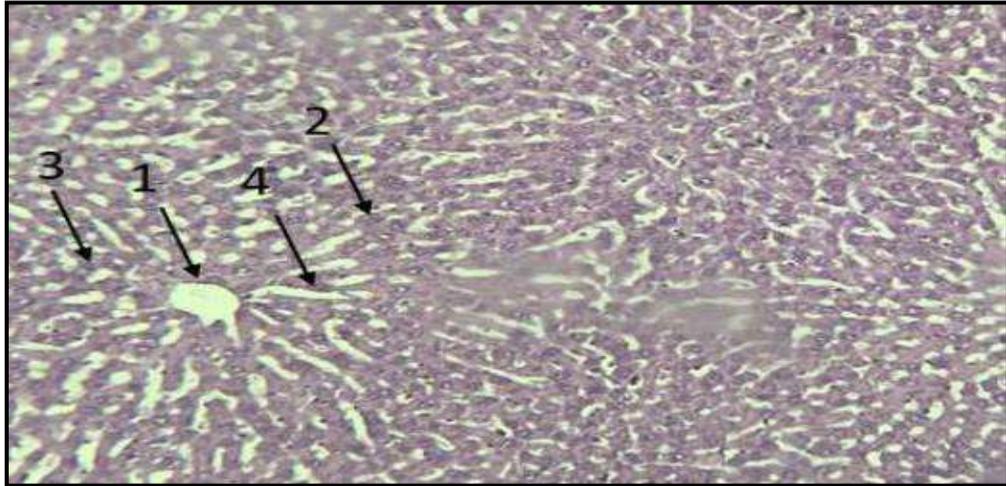


Figure 3.24.A : Coupe histologique du foie d'un rat du groupe témoin. (1): Architecture normale avec veine centrale, (2): Hépatocytes polygonaux, (3): Noyaux arrondis et (4): Sinusoïdes sanguins. H&E (x100 et x400)

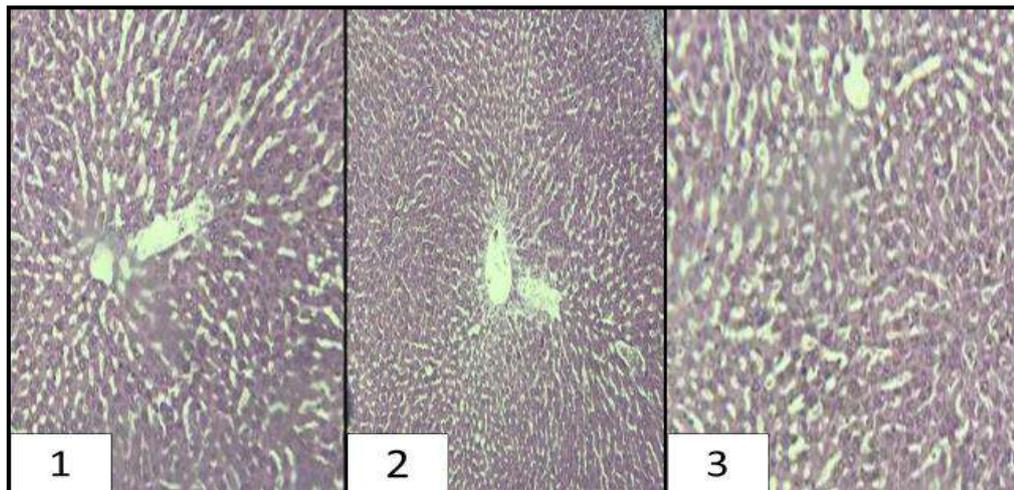


Figure 3.24.B : Coupes histologiques des foies des rats traités avec l'extrait *n*-BuOH de *G. vepres* Pomel seule à 50 mg/kg (1) et à 100 mg/kg (2) ou de la vitamine E à 100 mg/kg (3) respectivement. H&E (x100 et x400)

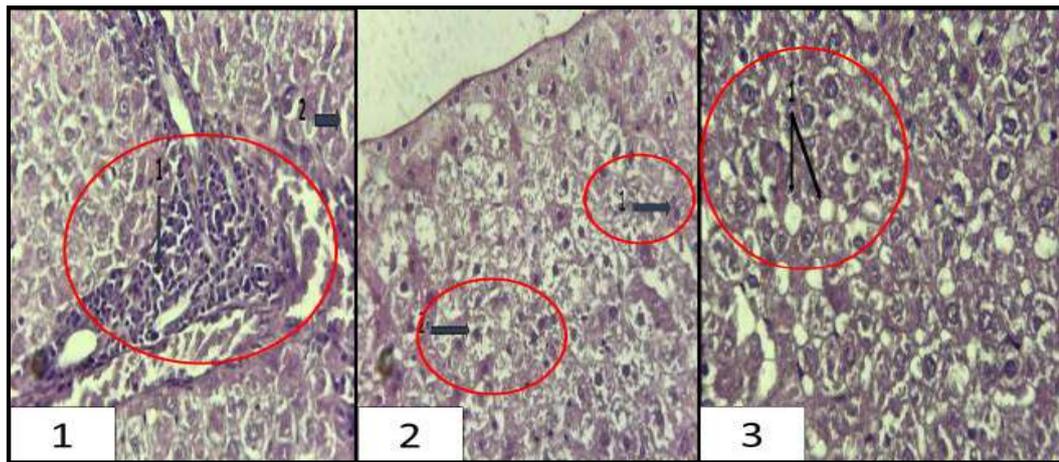


Figure 3.24.C : Coupes histologiques des foies des rats du groupe toxique. Groupe traité par INH-RIF présentant une distorsion de l'architecture normale et des hépatocytes de forme irrégulière comme ; (1) : Dilatation et congestion de la veine centrolobulaire, (2) : Dilatation des sinusoides (C1), ($\times 400$) ; (1) : Binucléation des hépatocytes, (2) : Ballonnement des hépatocytes. (C2), ($\times 400$) microvésicules (C3), ($\times 400$)

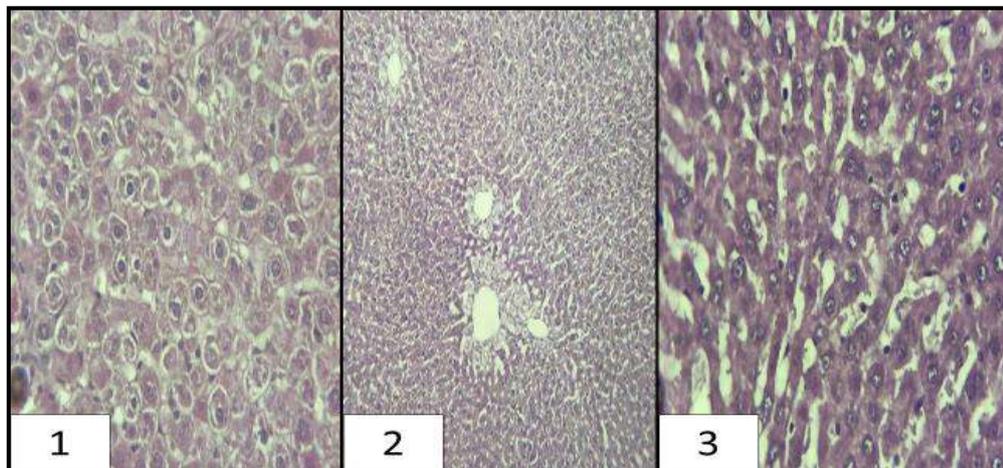


Figure 3.24.D : Coupes histologiques des foies des rats traités par INH-RIF (100 mg/kg chacun) et l'extrait *n*-BuOH de *G. vepres* Pomel à 50 mg/kg (1) ; 100 mg/kg (2) ou vitamine E à 100 mg/kg (3) ont respectivement montré un tableau histologique comparable à celui du groupe témoin avec un dommage minimal des hépatocytes (D1) : Un léger ballonnement ($\times 400$) et (D2) : Quelques noyaux hyperchromatiques ($\times 100$). (J3) : Coupe de foies de rats traités par INH-RIF (100 mg / kg chacun) et vitamine E (100 mg / kg) présentant des hépatocytes conservés ($\times 400$)

Figure 3.24: L'analyse histopathologique : l'effet protecteur de l'extrait *n*-BuOH de *G.vepres* Pomel vis-à-vis l'hépatotoxicité induite par l'INH-RIF

➤ **Au niveau du rein**

La figure (3.25) illustre les observations microscopiques des coupes histologiques du rein des rats des différents groupes. La figure (3.25.A-B) montre qu'il n'y avait pas des changements morphologiques dans les reins du groupe témoin et les groupes traités par les deux doses de *G.verpes* Pomel (50 et 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) dans l'examen microscopique. Alors qu'il y avait des lésions rénales, des cellules tubulaires en début de nécrose et des vaisseaux sanguins encombrés dans les reins du groupe INH-RIF (100 mg/kg pendant 21 jours).

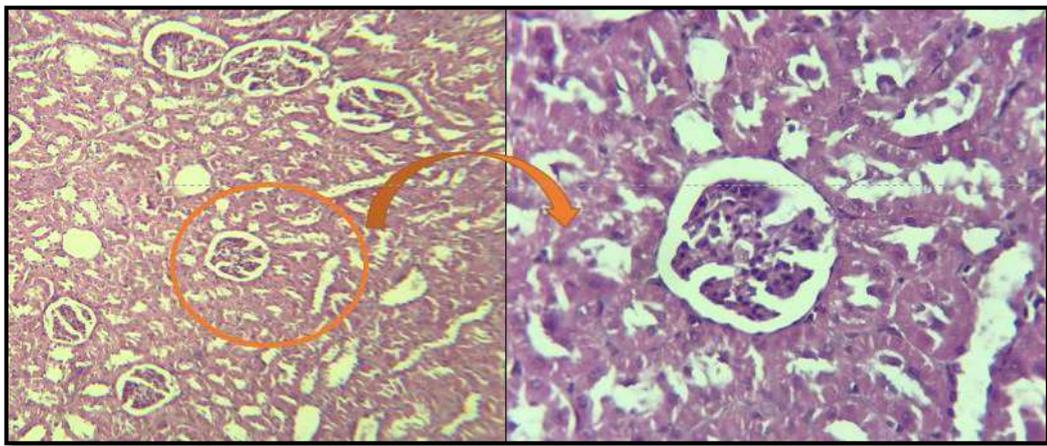


Figure 3.25.A : Coupe histologique d'un rein d'un rat du groupe témoin.
Glomérule normal et tubes rénaux sains G (x100 et x400)

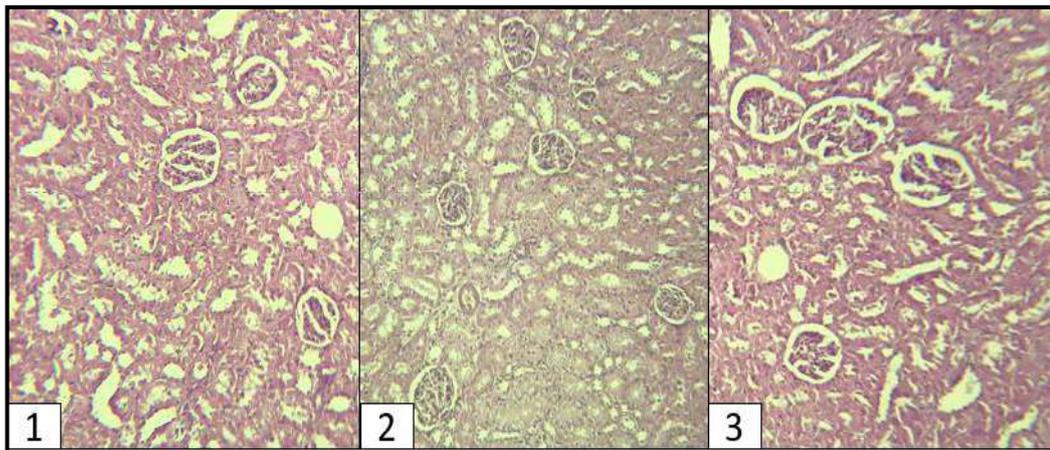


Figure 3.25.B : Coupes histologiques des reins des rats traités par *G.verpes* Pomel à 50 mg/kg (1) et 100 mg/kg (2) et la vitamine E à 100 mg/kg (3) + INH et RIF (100 mg/kg) .Glomérule normal et tubes rénaux sains .G (x100)

En comparant avec le groupe traité par l'INH et la RIF, l'examen microscopique des coupes histologiques du rein des rats prétraités par les deux doses (50 et 100 mg/kg) de *G.vepres* Pomel ou la vitamine E à la dose de 100mg /kg a montré des tubules et des glomérules presque normaux.

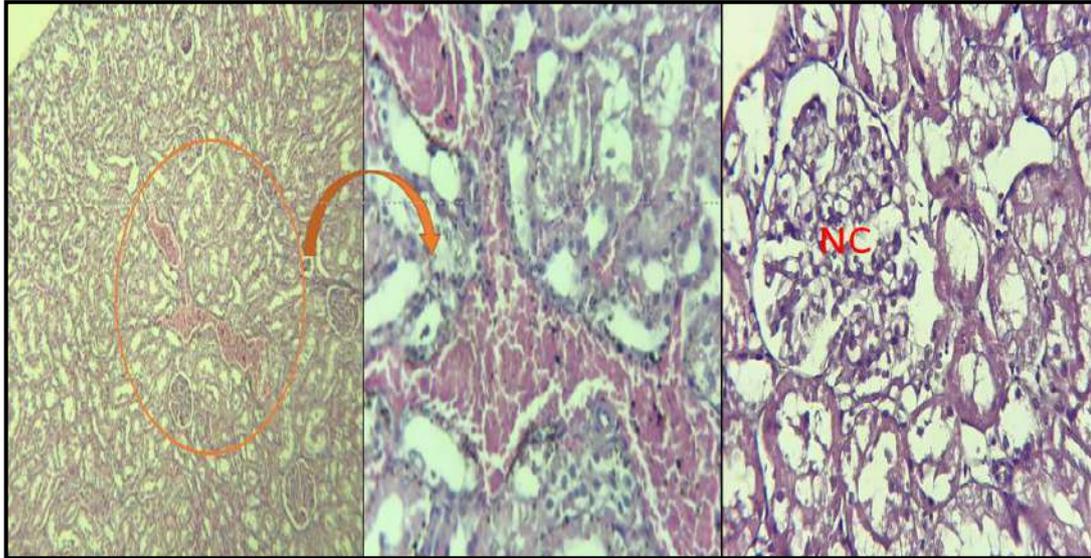


Figure 3.25.C : Coupes histologiques des reins d'un rat du groupe toxique .G (x100 et x400). Congestion, début de nécrose

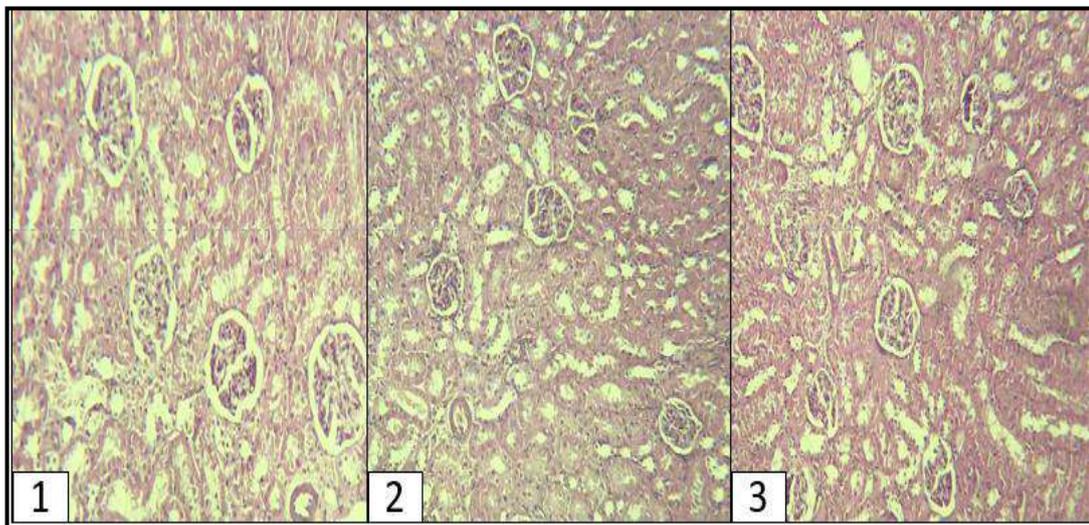


Figure 3.25.D : Coupes histologiques des reins des rats traités par *G.vepres* Pomel à 50 mg/kg (1) et 100 mg/kg (2) et la vitamine E à 100 mg/kg (3) + INH et RIF (100 mg/kg) .Glomérule normal et tubes rénaux sains .G (x100)

Figure 3.25 : L'analyse histopathologique, l'effet protecteur de l'extrait *n*-BuOH de *G.vepres* Pomel vis-à-vis la néphrototoxicité induite par l'INH-RIF

PARTIE 4 :

DISCUSSION

Etudes in vitro et in vivo

4. DISCUSSION

Les plantes médicinales en tant qu'élément important de la médecine traditionnelle ont été populaires auprès des gens du monde entier comme traitements alternatifs diverses affections, en particulier lorsque leurs effets bénéfiques ont été approuvés par des preuves scientifiques (Shabab *et al.*, 2020). Elles sont une source précieuse d'une grande variété de molécules chimiques ayant différentes structures et fonctionnalités qui présentent des activités biologiques importantes et sont liées à une multitude de propriétés bénéfiques, telles qu'antimicrobiennes, anticancéreuses, antivirales, antioxydants et inhibitrices d'enzymes, anti-vieillesse, effets anti-inflammatoires, antihypertenseurs, neuroprotecteurs et anticoagulants (Kalyniukova *et al.*, 2021).

Dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne notre travail a compris l'étude de l'effet protecteur des extraits *n*-butanol des deux plantes médicinales endémiques « *Saccocalyx satureioides* de la famille des Lamiacées et *Genista vepres* Pomel de la famille des Fabacées » vis-à-vis de l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité induite par l'isoniazide et la rifampicine.

Différents mécanismes ont été proposés pour expliquer la toxicité des antituberculeux mais le mécanisme exact reste une source de débat. Plusieurs tests ont été menés pour révéler les propriétés pharmacologiques des deux plantes et leur effet protecteur. De même, pour élucider les mécanismes potentiellement impliqués dans la toxicité des médicaments antituberculeux.

Le criblage phytochimique de *S. satureioides* et *G.vepres* Pomel a permis d'obtenir trois extraits différents qui sont les phases EtOAc, *n*-BuOH et CHCl₃. L'extrait *n*-butanol donne le rendement le plus élevé (40.41g et 44.56 g respectivement) par rapport au rendement des deux autres extraits qui est si faible (EtOAc = 11 g et 13.04g et CHCl₃ = 6.66g et 35.07g respectivement). L'extraction de métabolites secondaires tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes est difficile en raison de leur nature insoluble. Alors que les méthodes d'extraction conventionnelles telles que le Soxhlet, le reflux thermique et la macération sont des procédures réussies dans l'extraction de composés bioactifs et les équipements impliqués dans ces méthodes sont distincts les uns des autres (Kumar Jha et Sit, 2022). Selon la nature chimique, divers composés phytochimiques sont extraits dans des solvants de polarité différente car aucun solvant peut être fiable pour extraire tous les composés phytochimiques et des composés antioxydants présents dans la matière végétale (Nawaz *et al.*, 2020).

L'analyse phytochimique est menée sur le dosage des composés phénoliques, des flavonoïdes totaux et flavonols. Les extraits *n*-butanol des deux plantes montrent une grande richesse envers ces composés. (*S. satureioides* = 257.43 ± 5.14 , 67.36 ± 0.73 et 58.23 ± 1.99 respectivement par rapport à *G. vepres* Pomel = 216.74 ± 11.01 , 121.46 ± 6.92 et 102.65 ± 2.98 respectivement). Les polyphénols représentent une classe de métabolites secondaires omniprésents distribués dans le règne végétal. De nombreuses sous-classes ont été distinguées principalement des flavonoïdes, qui présentent un grand intérêt en raison de leurs effets pharmacologiques stupéfiants sur l'organisme humain, y compris l'effet antioxydant, anti-inflammatoire, antidiabétique, anticancéreux et antimicrobien en plus de nombreuses autres activités (Suwal et Marciniak, 2019).

Dob (2007) a réalisé pour la première fois l'analyse phytochimique de la partie aérienne de *G. vepres* Pomel, il montre que cette espèce contient une quantité importante d'alcaloïdes et de flavonoïdes. En comparant les données dans notre laboratoire, nos résultats étaient trop proches d'autres études. L'étude de Latreche *et al.* (2016) a rapporté que le contenu phénolique total de l'extrait *n*-butanol de *G. ulicina* Spach a été estimé à (260 ± 0.002 μg GAE /mg). Cependant, la teneur en flavonoïdes était également élevée (318 ± 0.01 μg QE /mg). En plus, Boubekri *et al.* (2014) ont découvert que les extraits *n*-butanol et acétate d'éthyle de *G. quadriflora* Munby sont riches en composés phénoliques (245 ± 0.16 et 254 ± 0.18 GAE / mg respectivement).

D'autre part, l'extrait hydro-méthanolique de *S. satureioides* obtenue à partir de la partie aérienne a montré une richesse en composés phénoliques et flavonoïdes (Mehlous *et al.*, 2020). Aussi, dans une autre étude, 1 g des feuilles et des fleurs obtenues à partir de la plante *S. satureioides* a été ajouté à 200 mL d'eau distillée bouillante. L'infusion lyophilisée a une teneur élevée en phénols, flavonoïdes, esters et flavonols (Ziani *et al.*, 2015).

En raison de la complexité des processus d'oxydation et de la diversité chimique des antioxydants, à la fois hydrophiles et composants hydrophobes, la capacité antioxydant totale ne peut pas être pleinement évaluée par une seule réaction chimique. Par conséquent, plus d'un type de système radicalaire est nécessaire pour étudier l'activité antioxydant totale des extraits naturels (Hadjadj *et al.*, 2020). Sept méthodes différentes ont été effectuées pour étudier l'activité antioxydant *in vitro* de *S. satureioides* et *G. vepres* Pomel et les résultats ont été rapportés comme IC₅₀ et A_{0.5}.

Le DPPH⁺, ABTS⁺ et GOR⁺ sont des radicaux libres synthétiques largement utilisés pour évaluer le pouvoir anti-radicalaire des extraits de plantes et des composés purs (Fidrianny *et al.*,

2014; Zeng *et al.*, 2019). En présence de molécules antioxydants, ces radicaux libres peuvent accepter un électron ou un atome d'hydrogène du composé antioxydant et sera ainsi converti en un composé plus stable molécules. Spectrophotométriquement, cette réduction a été observée par le commutateur de couleur pour le radical DPPH⁺ (du violet au jaune), décoloration pour le radical ABTS⁺ et la dégradation du couleur de la solution de galvinoxyle (du jaune foncé en jaune pâle) (Carmona-Jiménez *et al.*, 2014; Zeng *et al.*, 2019). L'activité anti-radicalaire des deux plantes a été évaluée par la diminution du taux de DPPH⁺, d'ABTS⁺ et de GOR⁺ en présence de l'extraits *n*-butanol des plantes à différentes concentrations. En comparaison avec le BHT (IC₅₀ = 22.32±1.19, 1.29±0.30 et 3.32±0.18 µg/mL respectivement) et le BHA (IC₅₀ = 5.73±0.41, 1.81±0.10 et 5.38 ±0.06 µg/mL respectivement), *S. satureioides* a montré un effet de piégeage plus puissant (IC₅₀ = 47.02±5.34, 42.94±0.92 et 37.19±2.97 µg/mL respectivement) par rapport *G. vepres* Pomel (IC₅₀ = 80.27±3.83, 66.46±2.43 et 80.94±4.72 µg/mL respectivement) contre ces radicaux.

Le pouvoir réducteur est un mécanisme important impliqué dans la voie antioxydant. Ce test est basé sur le transfert d'électrons par transformation de Fe⁺³ en Fe⁺² (Bachir bey *et al.*, 2014). Tandis que, l'activité de réduction par la formation du complexe Fe⁺²-phénanthroline est basée sur la réaction de l'ion ferreux (Fe⁺²) avec 1,10-phénanthroline. Ion ferreux forme spécifiquement un complexe de triphénanthroline rouge-orange qui absorbe au maximum à 508-510 nm (Mukhopadhyay *et al.*, 2016). En plus, la capacité antioxydant réductrice cuivrique (CUPRAC) est basée sur la réduction du complexe néocuproïne-cuivre, entraînant la formation d'un complexe chromogène de Cu (II) -Nc, qui absorbe à 450 nm (Saci *et al.*, 2020). L'activité réductrice des deux plantes a été évaluée par des dosages FRAP et CUPRAC et par l'évaluation de la formation du complexe Fe⁺²-phenanthroline.

Les résultats obtenus ont été comparés aux étalons de référence. Les deux plantes ont montré une excellente capacité de réduction, autre fois celle de *S. satureioides* a été supérieure. L'évaluation de la formation du complexe Fe⁺²-phenanthroline montre que tous les deux plantes sont actives (*S.s* ; A_{0.5} = 14.36±1.99 µg/mL et *G.vP* ; A_{0.5} = 22.9±3.68 µg/mL), mais moins efficace par rapport au BHA (A_{0.5} = 0.93±0.07 µg/mL) et BHT (A_{0.5} = 2.24±0.17 µg/mL). La méthode de CUPRAC révèle que *S. satureioides* exerce la plus grande activité inhibitrice avec une valeur de A_{0.5} = 27.96±0.46 µg/mL, suivi par *G. vepres* Pomel avec une valeur de A_{0.5} égale à 53.92±1.68 µg/mL. En comparant avec le BHT (A_{0.5} = 9.62±0.87µg/mL) et le BHA (A_{0.5} = 3.64±0.19 µg/mL). En plus, dans la méthode de FRAP, *S.satureioides* avec une valeur de (A_{0.5} = 86.67±5.45µg/mL) a montré la meilleure activité par rapport à *G. vepres* Pomel

(173.19±16.02 µg/mL). En comparant avec les deux standards ; le BHA ($A_{0.5} = 8.41 \pm 0.67$ µg/mL) et l'acide ascorbique ($A_{0.5} = 9.01 \pm 1.46$ µg/mL).

Le dosage de la substance réactive à l'acide thiobarbiturique (TBARS) est une autre méthode de détection de l'oxydation des lipides. Ce test mesure le malondialdéhyde (MDA), qui réagit avec l'acide thiobarbiturique (TBA) formant un chromogène rose (TBARS), qui est mesuré à 532-535 nm. La formation réduite de chromogène indique la capacité antioxydant (Kumar *et al.*, 2019). Cette étude a mesuré le potentiel de *S. satureioides* et *G. vepres* Pomel pour inhiber la peroxydation lipidique dans l'homogénat d'œuf vitellus induit par le système FeSO₄, en comparaison avec la vitamine C.

De toute évidence, les deux plantes et la vitamine C (standard) ont inhibé la peroxydation des lipides de manière dose-dépendante. La vitamine C ($IC_{50} = 20 \pm 0.17$ µg/mL) a produit une plus grande inhibition par rapport à *S. satureioides*, qui a montré un potentiel remarquable ($IC_{50} = 249.09 \pm 6.60$ µg/mL). Tandis que *G. vepres* Pomel a montré un effet peroxydant anti-lipidique modéré ($IC_{50} = 422.18 \pm 24.94$ µg/mL).

Les résultats des différents tests précédents indiquent l'existence d'une multitude de mécanismes antioxydants simultanés caractérisant les deux plantes différemment. En plus, une relation entre l'activité antioxydant et le total phénolique contenu a été remarqué. En effet, les composés phénoliques étaient considérés comme les plus composés efficaces comme antioxydant, en raison de son comportent au moins un cycle aromatique portant un ou plusieurs groupes hydroxyle capables de donner un atome d'hydrogène (Maqsood *et al.*, 2014; Roleira *et al.*, 2015). L'efficacité des antioxydants phénoliques augmente avec le nombre de groupes hydroxyle dans leur structure. La position des groupes hydroxyle sur le cycle aromatique est également pertinente car elle affecte fortement la stabilité des radicaux résultants (Losada-Barreiro et Bravo-Díaz, 2017). Ces découvertes sont en accord avec un vaste corpus de recherche où la récupération des radicaux l'activité s'est avérée être en bonne corrélation avec le total contenu phénolique (Mazouz *et al.*, 2020).

L'activité antioxydant des flavonoïdes dépend du nombre et de la position des groupes hydroxyle dans la structure. Par exemple, certains radicaux sont réduits par transfert de protons via le clivage homolytique du groupe catéchol (3'-OH et 4'-OH) présent dans certaines structures flavonoïdes. Cependant, certains flavonoïdes dépourvus de groupements catéchol présentent également des performances de piégeage radicalaire remarquables dues à la capacité

de transférer des atomes d'hydrogène, ou le transfert simultané hydrogène/électron ou le transfert séquentiel d'électrons avec perte de protons (Rodríguez-Arce et Saldías, 2021).

Parmi les antioxydants exogènes, nous avons utilisé l'hydroxytoluène butylé (BHT), l'hydroxyanisole butylé (BHA), l'acide ascorbique (Asc). Le BHA et le BHT sont des antioxydants synthétiques couramment utilisés par l'industrie alimentaire comme additifs, l'Asc ou vitamine C est un antioxydant hydrophile naturel présent dans divers aliments. En raison de leurs propriétés antioxydants et de leurs structures simples, le BHT, le BHA et l'Asc sont largement utilisés comme témoins positifs dans l'évaluation de l'activité antioxydant (Boulebd, 2019).

L'activité photoprotectrice est liée au rayonnement émis par la lumière du soleil, appelé les radiations ultraviolets. L'exposition continue aux rayons ultraviolets peut avoir des effets positifs et négatifs sur la vie humaine (Fardiyah *et al.*, 2020). Les rayons UVB sont responsables de dommages directs à la peau, tels que des brûlures et des éruptions cutanées, tandis que les rayons UVA causent des dommages indirects, dans la plupart des cas, en raison de la formation d'ERO (Baldisserotto *et al.*, 2018). Les dommages photooxydants affectent les lipides cellulaires, les protéines et l'ADN en plus d'être impliqués dans la pathobiochimie de la formation de l'érythème, du vieillissement prématuré de la peau, du développement des photodermatoses et du cancer de la peau (Nunes *et al.*, 2018).

Le facteur de protection solaire (SPF) est l'un des indicateurs les plus fréquemment utilisés pour la classification des niveaux de protection offerts par les produits solaires contre les coups de soleil. Les écrans solaires à SPF plus élevés offrent une meilleure protection contre les coups de soleil (Mishra et Chattopadhyay, 2011).

Cette étude visait à évaluer les effets dermatoprotecteurs des deux plantes endémiques. Le facteur de protection solaire de *S. satureioides* et *G. vepres pomel* est estimé par rapport à l'absorption du rayonnement UVB. L'effet photoprotecteur a été évalué à l'aide de la méthodologie développée par Mansur (1986) et à corrélérer les résultats avec leur activité antioxydant, ainsi qu'avec la teneur totale en polyphénol, en flavonoïdes et en flavonols.

Les résultats indiquent que les deux plantes ont présenté une activité photoprotectrice élevée (SPF= 36.47 ± 0.56 et 36.61 ± 0.30 respectivement). Une corrélation positive a été trouvée entre les teneurs phénoliques dans les deux plantes (polyphénol, flavonoïdes et flavonol) et l'augmentation du SPF (*S. satureioides* = 0.968, 0.907 et 0.963 respectivement et de *G. vepres*

Pomel = 0.968, 0.997 et 0.973 respectivement). En outre, cette activité photoprotectrice est corrélée positivement avec l'activité antioxydant des deux plantes.

Les flavonoïdes, en plus de leur absorption UV, peuvent contribuer à stabiliser les filtres UV par de multiples mécanismes, y compris l'élimination des radicaux oxygène, l'inhibition de la peroxydation lipidique (Wróblewska *et al.*, 2019). Costa *et al.* (2015) a rapporté que les polyphénols et les flavonoïdes d'origine végétale absorbent les rayonnements ultraviolets (UV-A et UV-B) et ont donc un potentiel en tant que filtres solaires dans le développement de nouvelles formulations de protection solaire. Des rapports similaires sur l'activité photoprotectrice contre les rayonnements UV-B ont été documentés par d'autres chercheurs (Bose *et al.*, 2017; Almeida *et al.*, 2019).

L'inflammation est la réponse de défense naturelle du corps contre les agents pathogènes et les stimuli nocifs et se produit en deux étapes : inflammation aiguë et chronique. L'inflammation aiguë est un fait partie de la réponse immunitaire innée et est initiée par les cellules immunitaires. Cela peut être considéré comme le mécanisme de défense de première ligne contre les agents nocifs. Normalement, l'inflammation aiguë ne persiste que pendant une courte période. Cependant, si l'inflammation persiste, plus de composants de défense sont mobilisés pour créer un système immunitaire non résolu à long terme réponse connue sous le nom d'inflammation chronique qui provoque diverses maladies chroniques, y compris les maladies cardiovasculaires, l'arthrite, les cancers et le diabète (Broom et Kogut, 2017 ; Wang *et al.*, 2019). Cependant, les médicaments anti-inflammatoires commercialisés (stéroïdiens, non stéroïdiens...) sont insatisfaisants, contraignants et entraînant beaucoup d'effets indésirables (Maund *et al.*, 2011; Shettar *et al.*, 2015).

Les composés naturels ont longtemps été utilisés à des fins anti-inflammatoires. La contribution des études phytochimiques et ethnopharmacologiques a joué un rôle clé qui a conduit à l'identification, l'isolement, la caractérisation et la recherche du mécanisme d'action d'une variété de composés actifs naturels (Tasneem *et al.*, 2018). Dans la présente étude, les propriétés anti-inflammatoires des extraits *n*-butanol obtenues à partir de la partie aérienne de *S. satureioides* et *G. vepres* Pomel ont été étudiées dans différents modèles d'inflammation *in vivo* et *in vitro*.

En raison de facteurs externes ou internes, les protéines peuvent subir des processus perturbateurs tels qu'un mauvais pliage, un dépliage ou des agrégations. Dans ces cas, les protéines atteignent dénaturées état, c'est-à-dire qu'une dénaturation des protéines se produit,

c'est le processus dans lequel les protéines perdent leurs structures secondaires et tertiaires en raison de l'altération de leur hydrogène, liaisons hydrophobes, électrostatiques et disulfures. La plupart des protéines perdent leurs fonctions biologiques après dénaturation et induisent la production d'auto-antigènes provoquant plusieurs dysfonctionnements auto-immuns y compris les maladies rhumatismales et inflammatoires (Mouffouk *et al.*, 2018; Senthil *et al.*, 2020).

Dans cette étude les résultats montrent que les deux plantes possèdent un effet anti-inflammatoire se traduit par l'inhibition de la dénaturation des protéines induite par la chaleur (72°C) de manière dose-dépendante. L'effet était comparable à celui d' l'acide acétylsalicylique, anti-inflammatoire classique, utilisé comme référence. Un effet anti-inflammatoire important avec un pourcentage d'inhibition maximale été enregistré à la concentration de 500 µg/mL pour les trois échantillons (AAS= 78.91%, *S.satureioides*= 69.04% et *G. vepres* Pomel = 48.85%).

La membrane érythrocytaire est considérée comme équivalente à la membrane lysosomale cellulaire. Par conséquent, la stabilisation de la membrane érythrocytaire est un indicateur de l'effet stabilisateur de la membrane lysosomale qui est important dans la pathogenèse de l'inflammation car la libération extracellulaire du contenu lysosomal par les neutrophiles stimulés tels que les protéases et les enzymes bactéricides provoque des lésions tissulaires (Chippada *et al.*, 2011).

Plusieurs facteurs physiques et chimiques tels que la chaleur, les brûlures, la solution hypotonique et les médicaments comme la phénylhydrazine, la nystatine, le salicylate de méthyle provoquent la rupture de la membrane érythrocytaire (Miah *et al.*, 2018). Cependant, Sabiu et Ashafa ont rapporté que les plantes médicinales dotées de bons attributs antioxydants et anti-inflammatoires apportent un secours en annihilant l'activité ravageuse des enzymes lysosomales ou en améliorant la stabilisation des biomembranes via le maintien de la fluidité membranaire et des gradients ioniques (Sabiou et Ashafa, 2016).

Les résultats ont montré que les deux plantes ont présenté un effet anti-hémolytique avec une manière dose-dépendante comparable au médicament standard, l'acide acétylsalicylique (AAS). En effet, de nombreuses études antérieures ont rapporté que la présence des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits des plantes améliore la stabilité de la membrane érythrocytaire et inhibe l'hémolyse (Besbas *et al.*, 2020). Des composés phytochimiques antioxydants tels que les flavonoïdes et les tanins ont été signalés pour prévenir les dommages oxydatifs. Le mode d'action des extraits avec des potentiels de stabilisation membranaire

pourrait être attribué à leur liaison aux membranes érythrocytaires avec une modification ultérieure des charges de surface cellulaire. Cela peut empêcher l'interaction physique avec les agents d'agrégation ou favoriser la dispersion par répulsion mutuelle de charges similaires impliquées dans l'hémolyse des globules rouges (Anosike *et al.*, 2018).

L'œdème induit par la carragénine, un mucopolysaccharide, représente le modèle le plus largement utilisé pour tester l'efficacité d'un extrait d'une plante contre la réponse inflammatoire aiguë (Elion Itou *et al.*, 2014; Khan *et al.*, 2017), où le processus est un événement biphasique. L'histamine et la sérotonine ont été libérées pendant la phase initiale de l'inflammation. La libération de lysozyme de la prostaglandine et de la bradykinine a été médiée au cours de la deuxième phase de gonflement (Jisha *et al.*, 2019). Cette phase est sensible à la plupart des anti-inflammatoires commerciaux (Kumar et Jain, 2014). La réaction inflammatoire aiguë induite par la carragénine est caractérisée par l'exsudation de protéines liquides et plasmatiques. Il a été démontré que l'injection de carragénine dans la patte arrière induit un œdème progressif qui atteint son maximum en 3 h. (Matsumoto *et al.*, 2015; Bouriche *et al.*, 2016).

Le traitement des rats par *S. satureioides* et *G. vepres* Pomel conduit à une réduction significative de la taille de l'œdème par rapport à celle obtenue chez les témoins et similaire à l'acide acétylsalicylique. Ceci peut aussi nous conduire à suggérer que notre plante renferme probablement des substances qui semblent inhiber l'œdème d'une manière semblable à celle du médicament de référence, l'acide acétylsalicylique est un anti-inflammatoire non stéroïdien qui inhibe l'activité de l'enzyme appelée cyclooxygénase (COX), conduit à la formation de prostaglandines responsables de l'inflammation, de l'enflure, de la douleur et de la fièvre. De plus, la première phase l'inflammation induite par la carragénine est sensible aux inhibiteurs de la COX-1 tandis que la seconde phase aux inhibiteurs de la Cox-2 (Ialenti *et al.*, 2017).

En conséquence, les résultats de cette étude suggèrent que l'activité d'inhibition significative observée dans la première phase peut être due à la suppression de la libération de médiateurs précoces comme l'histamine, la sérotonine et la bradykinine, tandis que l'activité observée dans la deuxième phase peut être due à l'inhibition de la cyclooxygénase (Tekulu *et al.*, 2020).

En effet, notre résultat était attendu, puisque plusieurs études ont rapporté le potentiel anti-inflammatoire considérable des plantes appartenant au même genre (*Genista*) ou à la même famille (Lamiacées). Dans une étude de notre laboratoire. L'effet anti-inflammatoire de *G. quadriflora* (100 et 200 mg/kg) sur l'œdème induit par la carragénine dans les pattes

postérieures des rats expérimentaux est évalué. Les résultats ont montré que l'extrait *n*-BuOH présentait une réduction significative ($p < 0.01$) du volume de la patte d'œdème d'une manière dose-dépendante avec un maximum d'attention à 100 et 200 mg/kg, par rapport à l'aspirine (100 mg/kg), utilisée comme étalon de référence qui a produit un effet inhibiteur significatif comparable au groupe témoin ($p < 0.001$) (Boubekri *et al.*, 2014). Une étude récente menée par Khouya et ses collaborateurs a montré que l'extrait aqueux de *Thymus atlanticus* (Lamiacées) peut être utilisée de manière raisonnée dans le traitement de l'inflammation (Khouya *et al.*, 2019). Makni et ses collaborateurs ont rapporté l'inhibition des médiateurs inflammatoires par extraits de plantes polyphénoliques (Makni *et al.*, 2018).

L'inflammation peut être provoquée par différents stimuli, tels que les endotoxines (par exemple : LPS, un composant structurel intégral de la membrane externe de Bactéries à Gram négatif), changements dans les niveaux des ERO, virus, acides gras, statut redox cellulaire, cytokines, facteurs de croissance et cancérogènes (Gasparrini *et al.*, 2021). Dans le processus d'inflammation, les ERO sont critiques pour l'inflammation induite par le LPS en activant de nombreuses voies de signalisation. Lors de la stimulation du LPS, les macrophages actifs peuvent produire une grande quantité des ERO, molécules pro-inflammatoires et cytokines, telles qu'iNOS, PGE2, IL-1 β , MCP-1, IL-6, TNF- α . Alternativement, les ERO sont également de puissants stimuli pour le système immunitaire. Les ERO activent plusieurs voies de transduction du signal, comme NF- κ B, conduisant à l'expression de médiateurs pro-inflammatoires (Dobrovolskaia et Vogel, 2002 ; Zhang *et al.*, 2008; Youn *et al.*, 2016; Kohoutková *et al.*, 2017).

L'inhibition de la production des ERO et l'activation de la capacité antioxydant sont des stratégies potentielles pour supprimer l'inflammation. Dans cette étude, l'impact de l'extrait *n*-butanol de *S.satureioides* sur le niveau intracellulaire des ERO (ROS) dans les cellules U937 induites par le LPS a été examiné.

D'abord, la cytotoxicité de cet extrait a été testée par la viabilité cellulaire d'U937 et la production des ROS par les macrophages U937 non activées. Les résultats montrent qu'aucune différence significative entre les cellules traitées et non traitées, n'a été trouvée lorsque *S. satureioides* a été utilisée jusqu'à 100 μ g / mL. Donc, les concentrations moyennes et non toxiques de 50 et 100 μ g / mL. En plus, cette plante a pu réduire la production de ROS après 24 heures de traitement. L'extrait utilisée à 50 μ g / mL avait un effet plus fort que 100 μ g / mL, avec des diminutions significatives d'environ 75% et 40% ($p < 0.001$) respectivement dans les

niveaux ROS. En revanche, *S. satureioides* réduit la sécrétion de médiateurs inflammatoires, les niveaux de ROS, NO et PGE2 dans les cellules U937 déclenchées par LPS.

Prenant en considération cet effet sur les ROS, NO et PGE2 et à la recherche d'un mécanisme d'action moléculaire putatif, la capacité de cet extrait à inhiber NF- κ B a été évaluée. Dans les cellules U937, les niveaux de protéines de la sous-unité p65 de NF- κ B ont été augmentés par exposition au LPS et *S. satureioides* a réduit les niveaux de NF- κ B d'une manière dose-dépendante.

Avec l'induction de mitogènes, de cytokines inflammatoires, ionisantes rayonnement et LPS bactérien, les macrophages libèrent diverses cytokines et des molécules pro-inflammatoires, telles que NO, PGE2, TNF- α , MCP-1, IL-1 β et IL-6. NO, qui est synthétisé par l'azote inductible l'oxyde synthase (iNOS) est un important médiateur régulateur impliqué dans la survie et la mort des cellules. Il exerce également un certain nombre d'effets pro-inflammatoires au cours de plusieurs processus physiologiques et pathologiques. De même, la PGE2, qui est produite par la COX-2 à partir de l'acide arachidonique, modulent également le processus inflammatoire (Li *et al.*, 2018). Par conséquent, la réduction de l'inflammation est due par l'inhibition des expressions d'iNOS et de COX-2 (Zhang *et al.*, 2021).

NF- κ B est un facteur de transcription ubiquitaire qui est activé lors de la réponse inflammatoire induite par le LPS et déclenche la transcription de médiateurs pro-inflammatoires et de gènes cibles associés, tels que iNOS, COX-2 et TNF- α . Lors de l'activation, la protéine NF- κ B p65 libérée est transloquée dans le noyau où elle induit l'expression d'une large gamme de cytokines, d'enzymes et de molécules d'adhésion (Wang *et al.*, 2019). Dans la présente étude, les niveaux de protéines de la sous-unité p65 de NF- κ B dans les cellules U937 ont été augmentés par exposition au LPS. *S. satureioides* a réduit les niveaux de NF- κ B d'une manière dose-dépendante. La diminution de la quantité de protéines NF- κ B mesurée à l'intérieur du noyau cellulaire correspondait à une diminution de l'état inflammatoire et à un contrôle possible de l'inflammation cellulaire (Martins *et al.*, 2020).

Dans l'ensemble, nos résultats ont indiqué que *S. satureioides* atténuait l'inflammation induite par le LPS par la régulation de médiateurs pro-inflammatoires. Cet effet anti-inflammatoire s'explique par sa richesse en flavonoïdes qui ont des propriétés anti-inflammatoires grâce à différents mécanismes tels que l'inhibition des enzymes régulatrices et des facteurs de transcription qui ont un rôle important dans le contrôle des médiateurs impliqués dans l'inflammation. Les flavonoïdes sont également de puissants antioxydants capables de

piéger les radicaux libres et de diminuer leur formation. Par conséquent, les flavonoïdes ont un impact profond sur plusieurs cellules immunitaires et mécanismes immunitaires qui sont importants dans les processus inflammatoires (Maleki *et al.*, 2019).

Nos constatations sont en accord avec d'autres recherches sur l'effet anti-inflammatoire des extraits de plante sur les macrophages humains (U937) ou murins (RAW264.7) stimulés par le LPS. L'étude de Haque *et al.* a montré que l'extrait de *Zingiber zerumbet* a supprimé la libération de médiateurs pro-inflammatoires, l'expression de la protéine COX-2 et a régulé à la baisse l'expression de l'ARNm des marqueurs pro-inflammatoires. Il a également bloqué l'activation de NF- κ B en empêchant la phosphorylation d'IKK α/β et NF- κ B (p65) ainsi que la phosphorylation et la dégradation d'I κ B α (Haque *et al.*, 2018). D'autres études ont également signalé que les extraits isolés du lichen antarctique, *Amandinea* sp; les prolamines de millet extraites de farine de millet (*Setaria italica*) pourrait être une alternative anti-inflammatoire possible pour le traitement des maladies inflammatoires (Kim *et al.*, 2020; Ji *et al.*, 2020).

En prenant ces données ensemble, on peut résumer que l'extrait *n*-butanol des deux plantes étudiées comprend des composés exerçant un effet anti-inflammatoire via la réduction de la production de médiateurs inflammatoires impliqués dans le développement des stades de la réaction inflammatoire aiguë et empêcher sa persistance et sa conversion en inflammation chronique. Par conséquent, une double action de composés ayant des effets anti-inflammatoires et antioxydants peut être une bonne base pour le développement d'anti-inflammatoires car les ERO sont produits lors de l'inflammation, ce qui pourrait endommager les tissus adjacents et favoriser une réponse inflammatoire durable (Liu *et al.*, 2022 ; Puangraphant *et al.*, 2022).

Une association étroite entre l'inflammation et le stress oxydatif a été rapportée. Le stress oxydatif peut activer une variété de facteurs de transcription, qui conduisent à l'expression différentielle de certains gènes impliqués dans les voies inflammatoires. Ainsi, des agents oxydants excessifs induisent un stress oxydatif, qui conduit à des protéines, de l'ADN et des lipides oxydés, altérant ses propriétés structurelles, biologiques et physiques (Holanda *et al.*, 2020). Par ailleurs, l'inflammation déclenchée par le stress oxydatif est à l'origine de nombreuses maladies, comme le diabète (Griffiths *et al.*, 2017).

Des taux de glucose sanguin plus élevés et une dégradation des ERO sont liés à une activation accrue du MDA. Grâce à la glycation non enzymatique des protéines et à l'auto-oxydation, le glucose peut améliorer la production des ERO. Ces événements sont considérés comme des mécanismes intermédiaires pour les complications de l'hyperglycémie telles que la

rétinopathie, la néphropathie et les maladies coronariennes (Abdel-Haleem *et al.*, 2017 ; Gilani *et al.*, 2021). Le modèle de test de tolérance au glucose par voie orale a été utilisé pour évaluer l'effet des extraits des plantes sur le métabolisme du glucose (Tesfaye *et al.*, 2016).

Les résultats obtenus dans l'étude des activités antioxydants et anti-inflammatoires, nous ont conduits à évaluer l'effet anti-hyperglycémiant des deux plantes sur un test de tolérance au glucose. Une réduction de l'hyperglycémie chez les rats traités avec les deux plantes a été observée. La meilleure activité est obtenue par *G. vepres* Pomel donnant un effet comparable à celui de l'agent hypoglycémiant oral, le Glibenclamide ; une sulfonurée orale, abaisse la glycémie dans le sang en stimulant la libération d'insuline par la cellule bêta pancréatique (Sahu *et al.*, 2018). En effet, dès 30 min après le gavage, les deux plantes et le Glibenclamide ont ralenti l'augmentation de la glycémie, l'empêchant ainsi d'atteindre le pic glycémique obtenu avec le contrôle anti-hyperglycémique 90 minutes après le gavage et en le déplaçant dans le temps à 60 min. Plus encore, ces extraits ont provoqué une hypoglycémie plus ou moins importante à partir de 90 min de l'administration.

L'augmentation de la tolérance des tissus au glucose est mentionné dans des rapports de plusieurs travaux sur les extraits polyphénoliques (Soto-Covasich *et al.*, 2020). Une étude récente a suggéré que l'amélioration de la tolérance au glucose par les extraits des plantes pourrait être due à l'effet de sensibilisation à l'insuline de ces plantes, probablement par l'activation du récepteur gamma activé par les proliférateurs peroxyosomes ou par la simulation de cellules β pancréatiques pour libérer de l'insuline conduisant à une utilisation accrue du glucose par les tissus périphériques (Chávez-Silva *et al.*, 2018). Plusieurs mécanismes sont impliqués dans la diminution de l'hyperglycémie postprandiale tel que l'inhibition d'enzymes telles que l' α -amylase et la α -glycosidase dans le système gastro-intestinal, ce qui évite l'hyperglycémie postprandiale (Tekulu *et al.*, 2019). Notre étude révèle donc que les deux plantes ont un bon potentiel anti-hyperglycémiant. Le traitement a augmenté la consommation de glucose, de sorte que les taux de glucose dans le sang ont été considérablement réduits chez les rats chargés de glucose (Konda *et al.*, 2019). Ce qui justifie son utilisation en médecine traditionnelle dans le traitement du diabète.

Dans l'étude de Demelash Kifle *et al.* *Hagenia abyssinica* a exercé une activité antidiabétique sur le test de tolérance au glucose par voie orale peut être secondaire à la disponibilité de phytoconstituants comme les flavonoïdes, qui sont connus pour régénérer les cellules β

pancréatiques, inhiber la α -glycosidase et le transporteur de glucose dans le l'intestin et améliorent l'utilisation périphérique du glucose (Demelash Kifle *et al.*, 2021).

Les lésions hépatorénales ont été très préoccupantes au cours de traitement de la tuberculose. L'administration d'isoniazide, de pyrazinamide, la rifampicine et l'éthambutol provoquent des aberrations et dysfonctionnement du foie et des reins car ces médicaments sont biotransformés dans le foie, tandis que les reins sont impliqués dans l'excrétion des déchets du métabolisme et les métabolites actifs de ces médicaments. Ainsi, ces organes sont affecté lorsque la substance est métabolisée et génère plus de toxicité produits comme les radicaux libres qui conduisent à l'induction de l'oxydation stress, inhibition du système de défense antioxydant, inflammation dès les cellules donnent lieu à des conditions telles que la nécrose (Sahu *et al.*, 2019). Donc, l'objectif principal de la présente étude était d'explorer un nouvel agent thérapeutique efficace pour inverser les lésions hépatorénales induites par les médicaments antituberculeux. En induisant une toxicité hépatorénale par l'INH et la RIF dans les animaux en tant que modèle déjà établi (Pal *et al.*, 2008; Mujahid *et al.*, 2013; Martin et Sabina, 2016).

L'administration d'INH seul pendant 9 mois provoque 1.6 % des dommages hépatiques cependant qui augmentent à 2,6 % en combinaison avec la RIF (Luangchosiri *et al.*, 2015). Au cours du métabolisme de l'INH, de l'hydrazine est produite directement (à partir de l'INH) ou indirectement (à partir de l'acétylhydrazine). Une étude antérieure, il est évident que l'hydrazine joue un rôle dans l'INH induite lésions hépatiques chez le rat. L'INH est métabolisé dans le foie principalement par acétylation et hydrolyse, et ce sont ces métabolites acétylés que l'on pense être des hépatotoxines (Jyothi Reddy *et al.*, 2013). La RIF est connu par son effet inducteur qui provoque une formation accru des métabolites toxiques (Adithan et Subathra, 2016).

En plus des métabolites toxiques, le stress oxydatif, la peroxydation lipidique et le dysfonctionnement mitochondrial ont été sélectionnés pour être impliqués dans l'hépatotoxicité induite par l'INH et la RIF (John et Kale, 2019, Pan *et al.*, 2020).

Notre étude a pour but d'évaluer l'effet protecteur des extraits *n*-butanol des plantes médicinales endémiques *S.satureioides* et *G.vepres* Pomel sur la toxicité aigüe et chronique provoquée par l'INH et la RIF pendant une semaine et trois semaines avec des doses de (75-150 mg/kg et 100-100 mg/kg respectivement), au niveau du foie et reins des rats mâles de la race *Wistar Albino*.

Les animaux traités avec l'INH et la RIF à deux doses différentes (75-150 mg/kg et 100-100 mg/kg) pendant 7 ou 21 jours, ont développé une lésion hépatique qui s'est manifestée par une

augmentation significative ($p < 0.001$, $p < 0.01$) du taux sérique d'enzymes hépatiques AST, ALT, ALP et GGT par rapport aux animaux normaux non traités. Cette augmentation est attribuée à des dommages structuraux hépatiques. Comme les transaminases hépatiques (AST et ALT) sont disponibles en grande quantité dans le foie que dans d'autres organes, ce sont des biomarqueurs de choix et restent des mesures de référence dans l'évaluation des lésions hépatiques (Metushi *et al.*, 2012; Senthilkumar *et al.*, 2014). L'ALT est plus spécifique au foie et constitue un meilleur paramètre pour détecter une atteinte hépatique. L'AST est localisée dans le cœur, le cerveau, le squelette tissu musculaire et hépatique. Un niveau élevé d'AST indique des dommages au foie, mais cela peut aussi être dû à un infarctus cardiaque ou à une lésion musculaire. En plus, la concentration d'ALP dans le sérum augmente lorsque les voies biliaires sont bloquées. Bien qu'il ne s'agisse pas d'une enzyme spécifique du foie, le foie est la principale source de cette enzyme (Araya *et al.*, 2019). En revanche, La GGT est une enzyme omniprésente qui joue un rôle crucial dans le métabolisme du glutathion (G-SH) - l'antioxydant cellulaire le plus important chez l'homme. La mesure de l'activité GGT circulante est largement utilisée pour le diagnostic des maladies hépatiques et biliaires obstructives (Ndrepepa *et al.*, 2018).

De plus, une hypercholestérolémie et une hypertriglycéridémie ($p < 0.001$, $p < 0.01$) ont été observées chez les animaux traités avec l'INH et la RIF. Cette constatation confirme également que l'administration du INH et de RIF causé des changements dans le profil lipidique qui conduisent à un ballonnement de cellules hépatiques (Darvin *et al.*, 2018). Des travaux antérieurs ont indiqué que l'administration de RIF et d'INH réduisait la synthèse des protéines par hypométhylation de l'ARN ribosomique et précipitait des défauts dans le métabolisme des lipides et des protéines (Basheer *et al.*, 2017).

Les taux sériques de l'urée, l'acide urique et la créatinine ont été utilisés comme facteur pronostique rénal. L'acide urique est un puissant piègeur de peroxy-nitrite, par conséquent, l'hyperuricémie conditionne une production accrue d'espèces réactives endogènes de l'oxygène (Hooper *et al.*, 1998). Le taux de créatinine dans le sérum a été utilisé pour prédire le taux de filtration glomérulaire. Le test de la fonction rénale a indiqué de manière significative ($p < 0.001$, $p < 0.01$) l'augmentation du taux d'urée, d'acide urique et de créatinine dans les groupes qui recevoir l'INH et la RIF par rapport au groupe témoin, ce qui a indiqué augmentation de la conversion de l'ammoniac en urée, augmentation de la production de radicaux libres et faible taux de filtration glomérulaire dus à la dystrophie changements dans les reins. Ces résultats ont corroboré d'autres études (Jaswal *et al.*, 2013; Shukla *et al.*, 2014).

Le traitement avec différentes doses (50 et 100 mg/kg) de *S.satureioides* et *G.vepres* Pomel a protégé efficacement le foie et les reins d'une manière dose-dépendante contre les lésions induites par l'ATB, comme indiqué par une restauration significative des taux sériques d'ALT, AST, ALP, GGT, urée, acide urique et créatinine. Aussi, il a été démontré qu'une réduction significative ($p < 0.001$, $p < 0.01$) du taux de cholestérol des triglycérides par co-traitement avec les deux herbes affecte positivement les dommages au foie induits par l'INH et le RIF.

Ces résultats sont cohérents avec ceux de (Chen *et al.*, 2011; Thattakudian *et al.*, 2011; Martin et Sabina, 2016). Les travaux de Chen et ses collaborateurs montrent que le prétraitement de l'acide ursodésoxycholique, un acide biliaire dihydroxylé hydrophile qui a été trouvé dans la bile de ours noir à des doses de 15, 50 et 150 mg/kg atténue de manière significative l'élévation des taux sériques d'ALT et d'ALP chez les souris traitées avec l'INH (75 mg/kg) et de la RIF (150 mg/kg) pendant une semaine. Dans l'étude de Thattakudian et ses collaborateurs l'extrait méthanolique des feuilles d'*Annona squamosa* (Annonacées) a montré un effet hépatoprotecteur sur le foie induit par RIF/INH dommages (100 mg/kg chacun) chez les rats de la souche *Wistar*; le traitement était administré pendant 21 jours par voie orale. L'extrait d'*A. squamosa* à 250 et 500 mg/kg a réduit le taux de : ALT, AST, ALP, et GGT. Également, Martin et Sabina ont établi que le traitement à l'INH et au RIF (50 mg/kg, chacun) pendant 28 jours a entraîné une augmentation significative ($p < 0.05$) des taux de créatinine, d'urée et d'acide urique, montrant une altération de la fonction rénale. *Spirulina fusiformis*, cyanobacterium appartenant à la famille des Oscillatoriacées a amélioré cet effet d'une manière dépendante de la dose indiquant l'inversion des lésions rénales induites par l'INH et le RIF.

Des études similaires ont été réalisées sur des rats de la même souche traités avec l'extrait éthanolique des racines de *Ziziphus oenoplia* dans un modèle d'hépatotoxicité induite par INH/RIF (50 mg/kg chacun); *Z.oenoplia* a été administré par voie orale pendant 21 jours. Les résultats aux doses de 300 mg/kg montrent une restauration des taux sériques d'AST, d'ALT, d'ALP et de bilirubine (Rao *et al.*, 2012). Le même extrait des feuilles de *Cnidocolus chayamansa* administré par voie orale a démontré un effet protecteur contre l'hépatotoxicité induite par le mélange INH-RIF (100 mg/kg chacun), cette fraction diminuant les taux d'AST, ALT et ALP (Kulathuran *et al.*, 2012). Les auteurs attribuant ces protections aux flavonoïdes présents dans ces fractions.

En outre, le traitement des rats avec les deux doses de l'INH et la RIF (75-150 mg/kg et 100-100 mg/kg) augmente significativement ($p < 0.001$) le taux d'MDA au niveau du foie et au niveau des reins par rapport au les rats non traités. Les lipides sont très sensibles à l'attaque des oxydants et à ce jour, le malondialdéhyde (MDA) est le principal biomarqueur pour l'évaluation de la peroxydation lipidique, reflète que la production extrême de radicaux libres et la peroxydation lipidique sont impliquées dans de nombreuses maladies (Messarah *et al.*, 2013 ; Mas-Bargues *et al.*, 2021).

Au même temps, le stress oxydatif a été aggravé par les ATB depuis la réduction de l'activité du GSH, GPx et CAT dans le foie et les reins après un traitement à l'INH et au RIF, ce qui peut être la conséquence de l'accumulation de radicaux peroxyde d'hydrogène et superoxyde.

Les antioxydants sont un mécanisme de défense produit par le corps pour neutraliser les effets des ROS. Ils peuvent être enzymatiques et non enzymatiques (Mulgund *et al.*, 2015). Parmi les systèmes antioxydants enzymatiques cellulaires figurent en première ligne la SOD et la CAT. La CAT est une enzyme antioxydant unique en ce qu'elle a une structure très rigide et stable la rendant relativement plus résistante aux changements de pH et de température, ainsi qu'à la protéolyse. Sa fonction dans le corps humain est de décomposer le H_2O_2 en eau et en oxygène, et c'est un composé partenaire essentiel de la SOD, car cette dernière crée du H_2O_2 à partir du superoxyde. Sans CAT, un excès de H_2O_2 , par exemple converti à partir de superoxyde par SOD, peut réagir avec les ions métalliques pour former le radical hydroxyle très dommageable. Pourtant, bien que l'encapsulation CAT ait été couramment étudiée pour la modulation du stress oxydatif (Van Lith et Ameer, 2016).

Le système enzymatique GSH/GPx élimine les ERO et les espèces réactives de l'azote (RNS). L'épuisement du GSH peut entraîner une augmentation de la génération d'ERO et de RNS, une augmentation de l'activité du complexe mitochondrial et de l'oxydation du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH), une diminution de la viabilité cellulaire et une altération de la génération d'adénosine triphosphate (ATP). Le GPX catalyse la réduction de nombreuses espèces oxydantes dont le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le peroxydinitrite (ONOO-) et utilise le GSH comme substrat. La déplétion en GPX potentialise le stress oxydatif et conduit à un dysfonctionnement endothélial et à l'apoptose (Panday *et al.*, 2020).

Le traitement avec *S.satureioides* et *G.vepres* Pomel a montré une dépression significative ($p < 0.001$) de la MDA avec des augmentations significatives ($p < 0.001$, $p < 0.01$) de GSH, GPx et CAT par rapport aux groupes toxiques. Les mécanismes antioxydants possibles des deux plantes comprennent leurs capacités à éliminer les ERO ou à améliorer les niveaux des enzymes antioxydants endogènes. Cette activité de piégeage des radicaux des extraits pourrait être liée à la nature des composés phénoliques, contribuant ainsi à leur capacité de transfert d'électrons/donneur d'hydrogène (Li *et al.*, 2009). Les composés phénoliques contribuent aux activités antioxydants globales des plantes. Généralement, les mécanismes des composés phénoliques pour l'activité antioxydant inactivent les radicaux libres lipidiques et empêchent la décomposition des hydroperoxydes en radicaux libres (Kumar *et al.*, 2006).

Cela suggère que nos plantes étudiées possèdent la possibilité d'inhiber la génération des ERO soit par inhibition des enzymes responsables ou par piégeage de ces espèces; ceci a été confirmé lors des travaux *in vitro* mentionnés précédemment et a qualifié leur importance biologique dans l'exclusion des ERO.

L'étude de Nwidu et Oboma corrobore nos constatations, l'administration de l'extrait de pulpe de *Telfairia occidentalis* (*Cucurbitacées*), diminue le développement de l'anion superoxyde, conduisant à l'observation régulation à la hausse des niveaux d'enzymes antioxydantes SOD et CAT dans le foie. Par conséquent, l'administration de ce extrait prévient les blessures aux les hépatocytes et maintient la teneur en GSH, protégeant ainsi le foie du stress oxydatif en augmentant l'activité de la GPx (Nwidu et Oboma, 2018).

Les résultats de notre étude histologique montrent que le traitement des rats mâles par les deux doses de l'INH et la RIF provoque des changements morphologiques au niveau du foie et des reins. L'administration de RIF et d'INH a provoqué une nécrose centrolobulaire sévère, un gonflement des hépatocytes et une infiltration des tissus inflammatoires (Miglani *et al.*, 2016: R). Par ailleurs, la néphrotoxicité induite par l'INH et la RIF a été confirmée par les altérations histologiques enregistrées, y compris atrophie de la touffe glomérulaire, tubules rénaux dysplasiques et infiltration de cellules inflammatoires (Mahmoud *et al.*, 2015). Les résultats obtenus sont conformes avec les recherches de (Pal *et al.*, 2008; Muzika *et al.*, 2016).

D'autre part, le co-traitement avec l'extrait butanolique de *S.satureioides* et *G.vepres* Pomel avec ses deux doses (50 et 100 mg/kg) a diminué les changements morphologiques provoqués par L'INH et la RIF (75-150 et 100-100 mg/kg) au niveau du foie et au niveau des reins par rapport au groupe témoin.

Finalement, ces résultats confirment les travaux de (Jyothi Reddy *et al.*, 2013; Hussein *et al.*, 2016). Dans l'étude de Jyothi Reddy, les animaux traités par l'INH et le RIF à la dose de 100 mg/kg pendant 21 jours, ont présenté une hépatotoxicité sévère mise en évidence par une stéatose profonde, une nécrose centrolobulaire, une congestion, une dégénérescence gonflée, une formation nodale et une fibrose par rapport à l'architecture hépatique normale des animaux de groupe non traité. Cependant, le co-traitement avec l'extrait éthanolique d'*Ixora pavetta* à 200 et 400 mg/kg a pu faire disparaître ces lésions hépatiques. Dans une autre étude, Les rats expérimentaux ont reçu de l'INH et de la RIF à une dose de 50 mg/kg, et de l'extrait de feuilles de *Ruta graveolens* à 50 ou 100 mg/kg/jour par voie orale pendant 45 jours. Les résultats de cette étude indiquent que les rats induits par l'INH et de la RIF ont présenté plusieurs modifications et dommages aux reins, Cependant, le co-traitement avec 50 ou 100 mg/kg de *Ruta graveolens* a produit une nette amélioration de structure histologique du rein et a empêché les altérations induites par ces ATB (Hussein *et al.*, 2016).

La vitamine E est probablement l'antioxydant lipidique le plus important dans l'alimentation humaine (Wallert *et al.*, 2014). Dans notre étude, elle est utilisée comme un standard. On a constaté que le rôle protecteur de la vitamine E à la dose (100 mg/kg) sur la toxicité hépatorénale induite par l'INH et la RIF à deux doses (75-150 et 100-100 mg/kg) résulte une diminution significative ($p < 0.001$, $p < 0.01$) du taux des transaminases (AST et ALT), d'ALP et de GGT, de Cholestérol et des triglycérides, d'urée, d'acide urique de la concentration plasmatique de la créatinine. La même dose de la vitamine E (100 mg/kg) provoque une réduction significative ($p < 0.001$, $p < 0.01$) du taux d'MDA et au même temps une augmentation significative de l'activité des enzymes antioxydants telle que le GSH, la GPx et la CAT aux niveaux des deux organes étudiés. L'étude histologique sur les organes affectés confirme clairement leur effet protecteur.

Notre constatations concorde avec les résultats de (Djebbari, 2017 ; Lahnech, 2018 ; Bekhouche *et al.*, 2019), l'effet de la vitamine E avec une dose journalière de 100 mg/kg/jour est observé aux découvertes précédentes dans lesquelles la vitamine E a été rapportée pour protéger les rats *Wistar Albino* vis-à-vis l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité induites par le Valproate de sodium, le Doxorubicine et la Pentachlorophénol.

La vitamine E élimine non seulement les radicaux libres, mais aussi le superoxyde. Elle joue un rôle dans la protection des AGPI dans les membranes cellulaires et les LDL contre l'oxydation en donnant l'hydrogène du groupe hydroxyle, bloquant ainsi l'initiation et la propagation de la peroxydation lipidique (Nakamura et Omaye, 2009).

D'autres antioxydants endogènes ont été utilisés contre la toxicité induite par l'ATB ; le N-trans-Caffeoyldopamine, l'acide Caffeique et la silymarine (Wu *et al.*, 2015). La silymarine est une combinaison standardisée avec une forte capacité antioxydante, qui est considérée comme la méthode par laquelle elle protège le foie contre les dommages causés par les radicaux libres créés par les médicaments antituberculeux, l'éthanol, l'acétaminophène, le CCl₄ et d'autres produits chimiques. La silymarine est obtenue à partir de *Silybum marianum* et est fréquemment utilisée pour le traitement des maladies du foie dans le monde entier ; il est doté d'une activité antioxydante, anti-inflammatoire, immunomodulatrice, antiproliférative, antivirale et antifibrotique (Eminzade *et al.*, 2008). Deux doses de la silymarine ont établi leurs efficacités contre les lésions induites par les ATB, 100 mg/kg (Samuel *et al.*, 2012) et 200 mg/kg (Nasim *et al.*, 2011).

Plusieurs études ont suggéré que la silymarine agit en piégeant les molécules de superoxyde produites en réponse à la toxicité induite par les antituberculeux (Pari et Kumar, 2002 ; Kumar et Pari, 2003). L'extrait MeOH obtenu de la partie aérienne de *Cuscuta reflexa* (Cuscutacées) est une autre plante médicinale avec des effets hépatoprotecteur contre l'hépatotoxicité induite par l'INH (100 mg/kg) et la RIF (100 mg/kg). Cet extrait a été administré à des rats *Wistar Albino* à 100, 200 et 400 mg/kg, et la silymarine a été utilisée comme contrôle positif. L'extrait MeOH a montré que les taux de ALT, AST, ALP et GGT étaient similaires à ceux de le groupe silymarine (Balakrishman *et al.*, 2010).

Un autre composé naturel qui montre un effet hépatoprotecteur *in vivo* est le naringénine, une flavanone incolore et insipide dérivée du métabolisme rapide de la naringine par les enzymes hépatiques appelées naringinase (Moghaddam *et al.*, 2020). Dans l'étude de Sahu et ses collaborateurs, Des rats de la race *Wistar Albino* ont reçu des ATB (pyrazinamide, éthambutol, isoniazide et rifampicine aux doses de 210, 170, 85 et 65 mg/kg respectivement) pendant 8 semaines (3 jours/semaine) suivi de naringénine à trois doses différentes (10, 20 et 40 mg/kg) conjointement pendant 8 semaines (3 jours/semaine) par voie orale. La silymarine (50 mg/kg) a été utilisée comme témoin positif dans l'étude. Les résultats de cette étude ont clairement montré que la naringénine possède un rôle protecteur contre les lésions hépatorénales induites par les ATB (Sahu *et al.*, 2019).

Cette étude a montré que les deux plantes ont un effet protecteur important contre les toxicités hépatiques et rénales induites par les médicaments utilisés (INH et RIF) dans le traitement de la tuberculose. Le rôle hépato-néphroprotecteur des deux plantes est dû à son mécanisme potentiel antioxydant et anti-inflammatoire. Ces résultats est d'accord avec l'étude

menée par Wali et al. en 2015, l'activité hépatoprotectrice d'extrait EtOH de propolis de Kashmir Himalaya (200 et 400 mg/kg) a été évaluée contre les dommages oxydatifs du foie induits par le mélange INH/RIF (100 mg/kg chacun) sur des rats pendant 14 jours. Les résultats ont montré un effet protecteur en inhibant le stress oxydatif, en maintenant l'équilibre des antioxydants (enzymatiques et non enzymatiques) et une nette diminution des expressions de COX-2 et NF- κ B.

L'extrait de *S. satureioides* atténue l'hépatotoxicité du traitement à l'INH et au RIF grâce à sa richesse en flavonoïdes présents à fortes concentrations notamment : les dérivés de l'isoscutellaréine (Mohamadi *et al.*, 2015). Selon les recherches d'He et de ses collègues, les dommages hépatiques induits par l'INH et la RIF dépendent de l'activation du facteur nucléaire- κ B (NF- κ B) (He *et al.*, 2020).

En bloquant l'activation induite par LPS du NF- κ B, les flavonoïdes inhibent l'activité du promoteur COX2 conduisant à une diminution des niveaux d'ARNm et de protéines de COX2. Cela peut être dû au fait que les flavonoïdes peuvent réduire considérablement la capacité de liaison à l'ADN de NF- κ B (Slika *et al.*, 2022). Cela pourrait expliquer pourquoi *S. satureioides* a modulé la toxicité de l'INH et du RIF. En plus, autres résultats suggèrent que la quercétine régule l'inflammasome NLRP3 via la voie SIRT1 dans l'hépatotoxicité induite par l'INH (Zhang *et al.*, 2020 b).

En revanche, l'extrait de *G. vepres* Pomel atténue l'hépatotoxicité du traitement à l'INH et au RIF grâce à sa richesse en flavonoïdes et alcaloïdes présents à fortes concentrations (Dob, 2007). Verma et ses collaborateurs ont associé l'effet hépatoprotecteur de l'extrait EtOH de *Solanum xanthocarpum* vis-à-vis l'hépatotoxicité induite avec INH/RIF (50 mg/kg de chaque) pendant 28 jours au contenu de métabolites secondaires tels que les alcaloïdes et les flavonoïdes, qui diminuer les dommages oxydatifs sur les cellules hépatiques (Verma *et al.*, 2015). De même, l'extrait MeOH riche en alcaloïdes d'*A. longifolia* a démontré un effet hépatoprotecteur modèle *in vitro* [carcinome hépatocellulaire humain (HepG2)] et *in vivo* (chez des rats *Wistar*) sur l'induction de lésions avec CCl₄ (Raj *et al.*, 2010).

En effet, les alcaloïdes ont des propriétés anti-inflammatoires grâce à différents mécanismes qui ont un rôle important dans le contrôle des médiateurs impliqués dans l'inflammation (Debnath *et al.*, 2018).

Pris ensemble, *S.satureioides* et *G.vepres* Pomel présentaient une variété d'activités pharmacologiques. Les extraits *n*-butanol obtenues à partir des parties aériennes des deux plantes font l'objet d'un examen critique pour leurs utilisations en médecine populaire. Les activités antioxydants, dermatoprotective, anti-inflammatoires, anti-hyperglycémiques et hépato-néphroprotectrices sont en corrélation avec les usages traditionnels de ces plantes endémiques.



CONCLUSION ET PRESPECTIVES

CONCLUSION ET PRESPECTIVES

Notre travail a été motivé d'abord, par le souci de valoriser et de promouvoir les plantes médicinales Algériennes, par la recherche des composés qui peuvent avoir une utilisation thérapeutique. Le but de cette recherche était d'adopter des bases scientifiques pour la validation de certaines propriétés biologiques attribuées aux ces plantes endémiques. Deux plantes ont été choisies sur la base de leur usage traditionnel : *Saccocalyx satureioides* Coss et Dur (Lamiacées) et *Genista vepres* Pomel (Fabacées), afin de trouver de nouvelles voies d'application tant dans le domaine médical et pharmaceutique que dans le domaine alimentaire et cosmétique.

Dans cette étude, les extraits *n*-BuOH obtenues à partir la partie arienne de ces plantes à (50 et 100 mg/kg) peuvent préserver la fonction hépatique et la fonction rénale en neutralisant le stress oxydant induit par les antituberculeux (Isoniazide et Rifampicine), par une diminution significative aux niveaux des paramètres biochimiques (ALT, AST, APL, GGT, cholestérol, triglycérides, créatinine, urée et l'acide urique) et au taux d'MDA. Cet effet protecteur est exprimé par la normalisation des paramètres antioxydants tels que (GSH, GPx et CAT) et une modulation de la nécrose hépatocytaire et rénale à un degré comparable à celui de la vitamine E.

Dans cette étude *in vivo*, les plantes obtenues à partir la partie arienne de ces plantes semblent présenter un intérêt réel et potentiel dans le traitement de l'inflammation aigue et la protection contre les effets du stress oxydatif. L'analyse phytochimique montre la richesse de ces plantes en polyphénols avec un taux important des flavonoïdes et flavonols. Les composés phénoliques renfermés dans ces plantes sont dotés d'un pouvoir antioxydant/anti-inflammatoire important, révélée par plusieurs tests *in vitro* qui reflètent les différents mécanismes probables impliqués dans cette activité.

À cet égard, les propriétés pharmacologiques des deux plantes ont été étudiées dans les événements physiopathologiques induits par divers agents. L'évaluation de l'activité photoprotectrice des deux plantes a permis d'élucide les effets dermatoprotecteurs et l'estimation de leurs facteur de protection solaire par rapport à l'absorption du rayonnement UVB. En plus, les extraits *n*-butanol des deux plantes présentent un effet anti-hyperglycémiant. Les deux plantes aussi présentent un effet antioxydant remarquable en utilisant sept méthodes différentes.

En plus, les résultats obtenus montrent une importante activité anti-inflammatoire des deux plantes, élucidées via plusieurs tests. Les deux plantes exercent des effets anti-œdémateux importants par administration par voie orale. Et inhibent la dénaturation des protéines et protègent les membranes érythrocytaires contre l'hémolyse induite par la chaleur ou l'hypotonie. Particulièrement, *S. satureioides* diminue la production de ROS dans les cellules U937 et réduit la sécrétion de médiateurs inflammatoires ROS, NO et PGE2 et les niveaux d'expression de NF- κ B dans les cellules U937 déclenchées par le LPS.

En résumé, il s'agit de la première étude à rationaliser l'utilisation traditionnelle de *S.satureioides* Coss et Dur et *G.vepres* Pomel. Les deux plantes contiennent des substances intéressantes en thérapeutique, par leur pouvoir antioxydant, anti-inflammatoire, et protecteur dans deux organes (foie et reins), et leurs potentiels impacts sur les effets secondaires indésirables.

Cette contribution a permis d'ouvrir plusieurs perspectives dont les plus importants se résument dans ce qui suit :

- Une étude phytochimique visant l'identification et la purification des principes actifs de diverse phases, extraits, et parties de ces plantes.
- Une étude concernant leurs biodisponibilités après administration orale, en mettant en œuvre des techniques analytiques dans les fluides biologiques.
- Réalisation des études avec des différentes doses et voies d'administration afin de trouver la dose préventive ou thérapeutique adéquate de chaque plante pour l'utilisation humaine.
- D'autres investigations sont nécessaires pour explorer exactement les mécanismes moléculaires intervenant dans les effets pharmacologiques observés.
- Valorisation d'autres plantes médicinales endémiques.
- Evaluer l'effet protecteur d'autres plantes contre la toxicité induite par les autres médicaments antituberculeux ou bien d'autres xénobiotiques.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdel-Haleem S. A., Ibrahim A. Y., Ismail R. F., Shaffie N. M., Hendawy S. F., Omer E. A. (2017).** *In-vivo* hypoglycemic and hypolipidemic properties of *Tagetes lucida* alcoholic extract in streptozotocin-induced hyperglycemic *Wistar albino* rats. *Annals of Agricultural Sciences*, 62(2), 169–181. Doi:10.1016/j.aoas.2017.11.005.
- Abe H., Katada K., Orita M., Nishikibe M. (1991).** Effects of calcium antagonists on the erythrocyte membrane. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 43- 22. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1991.tb05441.x>.
- Abel S. D .A., Baird S.K. (2018).** Honey is cytotoxic towards prostate cancer cells but interacts with the MTT reagent: Considerations for the choice of cell viability assay. *Food Chemistry*. 241:70–78. Doi: 10.1016/j.foodchem.2017.08.083.
- Adhikamsetty R.K., Gollapalli N.R., Jonnalagadda S. B. (2008).** Complexation kinetics of Fe²⁺with 1, 10-phenanthroline forming ferriox in acidic solutions. *International Journal of Chemical Kinetics*. 40(8): 515–523. <https://doi.org/10.1002/kin.20336>.
- Adithan C., Subathra A. (2016).** NAT2 gene polymorphism: covert drug interaction causing phenytoin toxicity. *Indian Journal of Medical Research*. 143(5):542-4.
- Advani D., Sharma S., Tripathi R., Gupta R., Jaiswal A., Ambasta R.K., Kumar P. (2021).** Chapter 4 - Mitochondrial dysfunction in metabolic disorders, Editor(s): Marcos Roberto de Oliveira, *Mitochondrial Dysfunction and Nanotherapeutics*, Academic Press, 91-137, <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85666-9.00015-2>.
- Akar Z., Burnaz N.A. (2019).** A new colorimetric method for CUPRAC assay with using of TLC plate. *LWT*. 112-108212. Doi:10.1016/j.lwt.2019.05.110.
- Alban F.T. E., Gyamfi D., van Golen R. F., Heger M. (2018).** Reactive Oxygen and Nitrogen Species and Liver Ischemia-Reperfusion Injury: An Overview. *The Liver*, 79–96. Doi:10.1016/b978-0-12-803951-9.00008-2.
- Alfaddagh A., Martin S. S., Leucker T. M., Michos E. D., Blaha M. J., Lowenstein, C. J., Jones S.R., Toth, P. P. (2020).** Inflammation and cardiovascular disease: From mechanisms to therapeutics. *American Journal of Preventive Cardiology*, 4, 100130. Doi:10.1016/j.ajpc.2020.100130.
- Almeida W. A. da S., Antunes A. A., Penido R. G., Correa H. S. da G., Nascimento A. M. do, Andrade Â. L., Santos V.R., Cazati T., Amparo T.R., Bianco de Souza G.H., Freitas K.F., dos Santos O.D.H ., Sousa L.R.D., dos Santos V. M. R. (2019).** Photoprotective activity and increase of SPF in sunscreen formulation using lyophilized red propolis extracts from Alagoas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. Doi:10.1016/j.bjp.2019.02.003.
- Aminfar Z., Tohidfar M. (2018).** *In silico* analysis of squalene synthase in Fabaceae family using bioinformatics tools. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. Doi:10.1016/j.jgeb.2018.06.001.
- Ammar S., Noui H., Djamel S., Madani S., Maggi F., Bruno M., Romano M., Canale A., Pavela R., Benelli G. (2020).** Essential oils from three Algerian medicinal plants (*Artemisia campestris*, *Pulicaria arabica*, and

Saccocalyx satureioides) as new botanical insecticides? *Environmental Science and Pollution Research*. Doi: 10.1007/s11356-020-09064-w.

- Anosike C. A., Igboegwu O. N., Nwodo O. F. C. (2018).** Antioxidant properties and membrane stabilization effects of methanol extract of *Mucuna pruriens* leaves on normal and sickle erythrocytes. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. Doi:10.1016/j.jtcme.2017.08.002.
- Ansari M. Y., Ahmad N., Haqqi T. M. (2020).** Oxidative stress and inflammation in osteoarthritis pathogenesis: Role of polyphenols. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 129, 110452. Doi:10.1016/j.biopha.2020.110452.
- Aouf A., Ali H., Al-Khalifa AR., Mahmoud K.F., Farouk A. (2020).** Influence of Nanoencapsulation Using High-Pressure Homogenization on the Volatile Constituents and Anticancer and Antioxidant Activities of Algerian *Saccocalyx satureioides* Coss. et Durieu. *Molecules*. 25(20):4756. Doi: 10.3390/molecules25204756.
- Apak R., Guclu K., Ozyurek M., Karademir S.E. (2004).** Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, Using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52: 7970–7981. Doi: 10.1021/jf048741x.
- Araya E. M., Adamu B. A., Periasamy G., Sintayehu B., Gebrelibanos Hibem M. (2019).** *In vivo* hepatoprotective and *In vitro* radical scavenging activities of Cucumis ficifolius A. rich root extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 242, 112031. Doi:10.1016/j.jep.2019.112031.
- Arora M., Choudhary S., Singh P. K., Sapra B., Silakari, O. (2020).** Structural investigation on the selective COX-2 inhibitors mediated cardiotoxicity: A review. *Life Sciences*, 117631. Doi:10.1016/j.lfs.2020.11763.
- Asadi-Samani M., Kafash-Farkhad N., Azimi N., Fasihi A., Alinia-Ahandani E., Rafieian-Kopaei M. (2015).** Medicinal plants with hepatoprotective activity in Iranian folk medicine. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 5(2). 146–157. Doi: 10.1016/s2221-1691(15)30159-3.
- Ashrafizadeh M., Ahmadi Z., Samarghandian S., Mohammadinejad R., Yaribeygi H., Sathyapalan T., Sahebkar, A. (2020).** MicroRNA-mediated regulation of Nrf2 signaling pathway: Implications in disease therapy and protection against oxidative stress. *Life Sciences*, 117329. Doi:10.1016/j.lfs.2020.117329.
- Ayala A., Muñoz M.F., Argüelles S. (2014).** Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 1-31. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/360438>.
- Babu D., Morgan A.G., Reiz B., Whittal R.M., Almas S., Lacy P., Siraki A.G. (2019).** Eosinophil peroxidase oxidizes isoniazid to form the active metabolite against *M. tuberculosis*, isoniazid-NAD+. *Chemico-Biological Interactions*, 305, 48–53. Doi:10.1016/j.cbi.2019.03.019.
- Bachir bey M, Louaileche H, Mouhoubi Z (2014).** Antioxidant Activity of Eight Tomato (*Lycopersicon Esculentum* L.) Varieties Grown in Algeria. *Journal of Food Science and Technology*. 1(2), 133–145. Doi: 10.18488/journal.58/2014.1.2/58.2.133.145.

- Bailly C. (2020).** Atractylenolides, essential components of Atractylodes-based traditional herbal medicines: antioxidant, anti-inflammatory and anticancer properties. *European Journal of Pharmacology*, 173735. Doi:10.1016/j.ejphar.2020.173735.
- Bais B., Saiju P. (2014).** Ameliorative effect of *Leucas cephalotes* extract on isoniazid and rifampicin induced hepatotoxicity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*.4 (2): S633-S638.
- Balakrishman B, Sagameswaran B, Bhaskar V.H. (2010).** Effect of methanol extract of *Cuscuta reflexa* aerial parts on hepatotoxicity induced by antitubercular drugs in rats. *International Journal of Applied Research in Natural Products*.3 (1): 18-22.
- Baldisserotto A., Demurtas M., Lampronti I., Moi D., Balboni G., Vertuani S., Manfredini S., Onnis V. (2018).** Benzofuran hydrazones as potential scaffold in the development of multifunctional drugs: Synthesis and evaluation of antioxidant, photoprotective and antiproliferative activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 156, 118–125. Doi:10.1016/j.ejmech.2018.07.001.
- Banerjee A., Dasgupta N., De B. (2005).** *In vitro* study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. *Food Chemistry* .90: 727–733. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.033>.
- Barbosa Silva Cavalcanti., A., Costa Barros., R. P., Costa., V. C. de O., Sobral da Silva., M., Fechine Tavares., J., Scotti., L., Scotti., M. T. (2019).** Computer-Aided Chemotaxonomy and Bioprospecting Study of Diterpenes of the Lamiaceae Family. *Molecules.*, 24(21), 3908. Doi : 10.3390/molecules24213908.
- Barek S., Rahmoun M.N., Aissaoui M., El Hacı I.A., Bensouici C., Et Choukchou-Braham N. (2019).** Phenolic Contents, Antioxidant and Antibacterial Activities of the Algerian *Genista saharae* Solvent Extracts. *Journal of herbs, spices & medicinal plants*. 1540-3580. <https://doi.org/10.1080/10496475.2019.1661327>.
- Basheer A.S., Siddiqui A., Paudel Y.N., Hassan M.Q., Imran M., Najmi A.K., Akhtar M., (2017).** Hepatoprotective and antioxidant effects of fish oil on isoniazid-rifampin induced hepatotoxicity in rats. *PharmaNutrition*. 5, 29–33.
- Basílio I.J.L.D., Agra M.d.F., Rocha E.A., Leal C.K.A., Abrantes H.F. (2006).** Comparative Pharmacobotanical Study of the Leaves of *Hyptis pectinata* (L.) Poit. and *Hyptis suaveolens*(L.) Poit. (Lamiaceae) [Estudo Farmacobotânico Comparativo Das Folhas de *Hyptis pectinata* (L.) Poit. e *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiaceae)]. *Acta Farmaceutica Bonaerense International Journal*. 25, 518–525.
- Batista D., Falé P. L., Serralheiro M. L., Araújo M. E., Madeira P. J. A., Borges C., Torgal I. Goulart M., Justino J. Martins A., Rauter A. P. (2015).** New *in Vitro* Studies on the Bioprofile of *Genista tenera* Antihyperglycemic Extract. *Natural Products and Bioprospecting*. 5(6). 277–285. DOI 10.1007/s13659-015-0077-z.
- Bayarsaikhan G., Avan A .N., Çekiç S. D., Apak R. (2019).** Use of modified CUPRAC and dinitrophenylhydrazine colorimetric methods for simultaneous measurement of oxidative protein damage and antioxidant defense against oxidation. *Talanta*. 204: 613–625. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.06.049>.

- Beaudeau J-L., Peynet J., Bonnefont-Rousselot D., Therond P., Delattre J., Legrand A. (2006).** Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), 373–381. Doi : 10.1016/s0003-4509(06)75332-9.
- Beebe A., Seaworth B., Patil N. (2015).** Rifampicin-induced nephrotoxicity in a tuberculosis patient. *Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases*, 1, 13–15. Doi:10.1016/j.jctube.2015.09.001.
- Begrache K., Massart J., Fromenty B. (2019).** Mitochondrial Dysfunction Induced by Xenobiotics: Involvement in Steatosis and Steatohepatitis. *Mitochondria in Obesity and Type 2 Diabetes*, 347–364. Doi:10.1016/b978-0-12-811752-1.00015-8.
- Bekhouche K., Ozen T., Boussaha S., Demirtas I., Kout M., Yildirim K., Zama D., Benayache F., Benayache S. (2019).** Hepatoprotective effects of the *n*-butanol extract from *Perralderia coronopifolia* Coss. against PCP-induced toxicity in *Wistar albino* rats. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06231-6>.
- Benayache F., D'Ambola M., Cotugno R., Chaouche M., Benayache S., Benayache F., Braca A., De Tommasi, N. (2018).** A New Triterpene Glucoside from *Genista numidica*. *Natural Product Communications*. 13(9).
- Bencherchar I., Demirtas I., Altun M., Gul F., Sarri D., Benayache F., Benayache S., Mekkiou., R. (2017).** HPLC analysis, anti-oxidant activity of *Genista ferox* and its anti-proliferative effect in HeLa cell line. *Bangladesh Journal of Pharmacology*. 12(3). 260. DOI: 10.3329/bjp.v12i3.32310.
- Bendahou M., Benyoucef M., Muselli A., Desjobet J.M., Paolini J., Bernardini A.F., Costa J. (2008).** Antimicrobial Activity and Chemical Composition of *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur. Essential Oil and Extract Obtained by Microwave Extraction. Comparison with Hydrodistillation. *Journal of Essential Oil Research*. 20(2), 174-178. doi.org/10.1080/10412905.2008.9699984.
- Bendimerad N., Bekhechi C., Belmekki N., Fernandez X. (2009).** Chemical analysis and antimicrobial activity of *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur. essential oil from southwestern Algeria. *International Journal of Essential Oil Therapeutics* .3.
- Bener M., Şen F .B., Apak R. (2018).** Heparin-stabilized gold nanoparticles-based CUPRAC colorimetric sensor for antioxidant capacity measurement. *Talanta*. 187: 148–155. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.05.021>.
- Bernardi P. (2013).** The mitochondrial permeability transition pore: a mystery solved. *Frontiers in Physiology*, 4. Doi:10.3389/fphys.2013.00095.
- Bernardi P., Rasola A., Forte M., Lippe G. (2015).** The Mitochondrial Permeability Transition Pore: Channel Formation by F-ATP Synthase, Integration in Signal Transduction, and Role in Pathophysiology. *Physiological Reviews*, 95(4), 1111–1155. Doi:10.1152/physrev.00001.2015.

- Besbas S., Mouffouk S., Haba H., Marcourt L., Wolfender J-L., Benkhaled M. (2020).** Chemical composition, antioxidant, antihemolytic and anti-inflammatory activities of *Ononis mitissima* L. *Phytochemistry Letters*, 37, 63–69. Doi:10.1016/j.phytol.2020.04.002.
- Beutner G., Alavian K. N., Jonas E. A., Porter G. A. (2016).** The Mitochondrial Permeability Transition Pore and ATP Synthase. *Pharmacology of Mitochondria*, 21–46. Doi: 10.1007/164_2016_5.
- Bhadoria S., Mishra R., Kanchan R., Tripathi C., Srivastava A., Tiwari A., Sharma, S. (2010).** Isoniazid-induced apoptosis in HepG2 cells: generation of oxidative stress and Bcl-2 down-regulation. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 20(5), 242-251. <http://dx.doi.org/10.3109/15376511003793325>.
- Bhat Z. S., Rather M. A., Maqbool M., Ahmad Z. (2018).** Drug targets exploited in *Mycobacterium tuberculosis* : Pitfalls and promises on the horizon. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 103, 1733–1747. Doi:10.1016/j.biopha.2018.04.176.
- Bindu S., Mazumder S., Bandyopadhyay U. (2020).** Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: a current perspective. *Biochemical Pharmacology*, 114147. Doi:10.1016/j.bcp.2020.114147.
- Biondi D.M., Sari M., Abdel Ghani Z., Ruberto G. (2006).** Essential oil of Algerian *Saccocalyx satureioides* Coss.et Durieu. *FLAVOUR AND FRAGRANCE JOURNAL*. 21: 546–548. Doi: 10.1002/ffj.1661.
- Blois M .S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. *Nature*. 4617 (181): 1119-1200.
- Bontempo P., Rigano D., Doto A., Formisano C., Conte M., Nebbioso A., Carafa V., Caserta G., Sica V., Molinari A.M., Altucci, L. (2013).** *Genista sessilifolia* DC extracts induce apoptosis across a range of cancer cell lines. *Cell Proliferation*. 46(2). 183–192. doi: 10.1111/cpr.12022.
- Borges C., Martinho P., Martins A., Rauter A. P., Ferreira M. A. A. (2001).** Structural characterisation of flavonoids and flavonoid-O-glycosides extracted from *Genista tenera* by fast-atom bombardment tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 15 (18). 1760–1767.
- Bose B., Choudhury H., Tandon P., Kumaria S. (2017).** Studies on secondary metabolite profiling, anti-inflammatory potential, *in vitro* photoprotective and skin-aging related enzyme inhibitory activities of *Malaxis acuminata* , a threatened orchid of nutraceutical importance. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 173, 686–695. Doi:10.1016/j.jphotobiol.2017.07.010.
- Boubekri N., Belloum Z., Boukaabache R., Amrani A., Kahoul N., Hamama W., Zama D., Boumaza O., Bouriche H., Benayache F., Benayache S .(2014)** *In vivo* anti-inflammatory and *in vitro* antioxidant activities of *Genista quadriflora* Munby extracts. *Der Pharmacia Letter*, 6 (1):1-7.
- Boubekri N., Boukaabache R., Amrani A., Belfarhi L., Zama D., Boumaza O., Benayache F., Benayache S.(2014).** Hepatoprotective effect of *Genista quadriflora* munby extract against ethanol induced toxicity. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 7 (1), 226-229.
- Bouchouka EL., Djilani A., Bekkouche A. (2012).** Antibacterial and antioxidant activities of three endemic plants from Algerian Sahara. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*. 1 (11): 61-65.

- Boukaabache R., Boubekri N., Boumaza O., Mekkiou R., Seghiri R., Sarri D., Zama D., Benayache F., Benayache S .(2013).**Phytochemical study of ethyl acetate extract and antioxidant activity of *Genista quadriflora* Munby (Fabaceae). *Der Pharmacia Lettre*. 5 (6):56-59.
- Boulebd H. (2019).** Comparative study of the radical scavenging behavior of ascorbic acid, BHT, BHA and Trolox: Experimental and theoretical study. *Journal of Molecular Structure*, 127210. Doi:10.1016/j.molstruc.2019.127210.
- Boumaza O., Mekkiou R., Seghiri R., Sarri D., Benayache S., Garcia V. P., Bermejo J., Benayache., F. (2006).** Flavonoids and isoflavonoids from *Genista tricuspidata*. *Chemistry of Natural Compounds*. 42(6). 730–731.
- Bouriche H., Kada S., Assaf A. M., Senator A., Gül F., Dimertas I. (2016).** Phytochemical screening and anti-inflammatory properties of Algerian *Hertia cheirifolia* methanol extract. *Pharmaceutical Biology*, 54(11), 2584–2590. Doi:10.3109/13880209.2016.1172318.
- Boutaghane N., Voutquenne-Nazabadioko L., Harakat D., Simon A., Kabouche Z. (2013).** Triterpene saponins of *Genista ulicina* Spach. *Phytochemistry*. 93. 176–181.
- Brik R., Magen D., Ben-Yzhak O., Grin J. (1998).** Isoniazid-Induced Crescentic Glomerulonephritis in a Child with a Positive Tuberculin Skin Test. *American Journal of Nephrology*, 18(5), 430–432. Doi: 10.1159/000013389.
- Broom L. J., Kogut M. H. (2017).** Inflammation: friend or foe for animal production? *Poultry Science*, 97(2), 510–514. Doi:10.3382/ps/pex314.
- Burkina V., Zlabek V., Rasmussen M. K., Zamaratskaia G. (2019).** End-product inhibition of skatole-metabolising enzymes CYP1A, CYP2A19 and CYP2E1 in porcine and piscine hepatic microsomes. *Toxicology Letters*, 303, 67–71. Doi:10.1016/j.toxlet.2018.12.017.
- Carmona-Jiménez Y., García-Moreno M.V., Igartuburu J.M., Garcia Barroso C. (2014).** Simplification of the DPPH assay for estimating the antioxidant activity of wine and wine by-products. *Food Chemistry*. 15 (165), 198–204.
- Çelik, H., Kucukler, S., Çomaklı, S., Caglayan, C., Özdemir, S., Yardım, A., Karaman M., Kandemir, F. M. (2020).** Neuroprotective effect of chrysin on isoniazid-induced neurotoxicity via suppression of oxidative stress, inflammation and apoptosis in rats. *NeuroToxicology*, 81, 197–208. Doi:10.1016/j.neuro.2020.10.009.
- Chapagain A., Dobbie H., Sheaff M., Yaqoob M.M. (2011).** Presentation, diagnosis, and treatment outcome of tuberculous-mediated tubulointerstitial nephritis. *Kidney Int* .79: 671-677.
- Chaussebot A., Rötig A., Paquis-Flucklinger V. (2011).** Progrès dans les pathologies mitochondriales. 5669:69-89.
- Chávez-Silva F., Cerón-Romero L., Arias-Durán L., Navarrete-Vázquez G., Almanza-Pérez J., Román-Ramos R., Ramírez-Ávila G., Perea-Arango I., Villalobos-Molina R., Estrada-Soto S. (2018).**Antidiabetic effect of *Achillea millefolium* through multitarget interactions: α -glucosidases

inhibition, insulin sensitization and insulin secretagogue activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 212, pp. 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.10.005>.

- Chebbah K ., Marchioni E ., Sarri D ., Menad A ., Mekkiou R ., Seghiri R ., Boumaza O ., Benayache S ., Benayache F .(2016).** HPLC-UV profile of *Genista ulicina* spach. (Fabaceae) extracts and *in vitro* antioxidant activity. *International Journal of Phytomedicine*. 8(3):398.
- Chen X., Liang L., Han C. (2020).** Borate suppresses the scavenging activity of Gallic acid and plant polyphenol extracts on DPPH radical: A potential interference to DPPH assay. *LWT*, 109769. Doi:10.1016/j.lwt.2020.109769.
- Chen X., Xu J., Zhang C. (2011).** The protective effects of ursodeoxycholic acid on isoniazid plus rifampicin induced liver injury in mice. *European Journal of Pharmacology*, vol. 659, no.1, pp. 53–60.
- Chen X., Xu J., Zhang C., Yu T., Wang H., Zhao M., Duan Z.-H., Zhang Y., Xu J.-M., Xu D.-X. (2011).** The protective effects of ursodeoxycholic acid on isoniazid plus rifampicin induced liver injury in mice. *European Journal of Pharmacology*, 659(1), 53–60. Doi:10.1016/j.ejphar.2011.03.007.
- Cheng J., Krausz K.W., Li F., Ma X., Gonzalez F.J. (2013).** CYP2E1- dependent elevation of serum cholesterol, triglycerides, and hepatic bile acids by isoniazid. *Toxicology and Applied Pharmacology*.266 (2), 245-253. <http://dx.doi.org/10.1016/j.taap.2012.10.024>.
- Chiba S., Tsuchiya K., Sakashita H., Ito E., Inase N. (2013).** Rifampicin-induced Acute Kidney Injury during the Initial Treatment for Pulmonary Tuberculosis: A Case Report and Literature Review. *Internal Medicine*, 52(21), 2457–2460. Doi:10.2169/internalmedicine.52.0634.
- Chippada S .C,Volluri S. S, Bammidi S. R.V., angalapati M. (2011).** *In vitro* anti-inflammatory activity methanolic extract of *Centella asiatica* by HRBC membrane stabilisation. *Rasayan Journal of Chemistry*. 4:457-460.
- Claiborne A. (1985).** Catalase activity in CRC Handbook of Methods for Oxygen Radical Research, ed. Greenwald RA. 283–284.
- Clarkson M.R., Giblin L., O’Connell F.P, O’Kelly P., Walshe J.J., Conlon P., O’Meara Y .,Dormon A., Campbell E., Donohoe J.(2014).**Acute interstitial nephritis: clinical features and response to corticosteroid therapy. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 19(11), 2778–2783. Doi:10.1093/ndt/gfh485.
- Cobo G., Jankowska M., Stenvinkel P., Lindholm B. (2019).** Inflammation in Chronic Kidney Disease. *Chronic Kidney Disease, Dialysis, and Transplantation*, 208–223.e9. Doi:10.1016/b978-0-323-52978-5.00014-8.
- Costa S.C., Detoni C.B., Branco C.R., Botura M.B., Branco A. (2015).** *In vitro* photoprotective effects of *Marcetia taxifolia* ethanolic extract and its potential for sunscreen formulations, *Revista brasileira de farmacognosia*. 25, 413–418.
- Coudert P., Rubat-Coudert C. (2017).** Les médicaments antituberculeux. *Actualités Pharmaceutiques*, 56(568), 25–29. Doi:10.1016/j.actpha.2017.05.015.

- Dangoumau J. (2006).** Pharmacologie générale. Edition 2006 Département de pharmacologie. Université Victor Segalen Bordeaux 2. <http://www.scribd.com/doc/24947187/pharmacologie-generale>.
- Darvin S. S., Esakkimuthu S., Toppo E., Balakrishna K., Paulraj M. G., Pandikumar P., Ignacimuthu S., Al-Dhabi N. A. (2018).** Hepatoprotective effect of lawsone on rifampicin-isoniazid induced hepatotoxicity in *in vitro* and *in vivo* models. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 61, 87–94. Doi:10.1016/j.etap.2018.05.006.
- Darvin S.S., Esakkimuthua S., Toppoa E., Balakrishnaa K., Paulraja M.G., Pandikumara P., Ignacimuthua S., Al-Dhabic N.A. (2018).** Hepatoprotective effect of lawsone on rifampicin-isoniazid induced hepatotoxicity *in vitro* and *in vivo* models. *Environmental Toxicology and Pharmacology* .61; 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.05.006>.
- Debnath B., Singh W. S., Das M., Goswami S., Singh M. K., Maiti D., Manna K. (2018).** Role of plant alkaloids on human health: A review of biological activities. *Materials Today Chemistry*, 9, 56–72. Doi:10.1016/j.mtchem.2018.05.001.
- Dehyab A. S., Bakar M. F. A., AlOmar M. K., Sabran S. F. (2020).** A review of medicinal plant of Middle East and North Africa (MENA) region as source in tuberculosis drug discovery. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 27(9). 2457–2478. Doi:10.1016/j.sjbs.2020.07.007.
- Desai S. K., Mondal D., Bera S. (2020).** First-line anti-tuberculosis drugs-loaded starch nanocrystals for combating the threat of *M. tuberculosis* H37Rv strain. *Carbohydrate Research*, 108070. Doi:10.1016/j.carres.2020.108070.
- Djebbari R. (2017).** L'effet protecteur des extraits des plantes *Helianthemum confertum* et *Helianthemum ruficomum* vis-à-vis de la toxicité induite par la Doxorubicine : Etude *in vitro* et *in vivo*. Thèse de doctorat. Université des Frères Mentouri Constantine.
- Dob T. (2007).** Contribution à l'étude phytochimique de quelques plantes algériennes : Huile essentielles : *Artemisia Judaica* L., *Lavandula dentata* L., *Thymus fontanessi* Boiss et Reut, *Pinus pinea* et *Pinus pinaster* Ait. Alcaloïdes et Flavonoïdes *Genista vepres* Pomel (*Genista kabylica* Coss). Thèse de Doctorat d'état en chimie. Université des sciences et de la technologie Houari BOUMEDIENNE. Algeria.
- Dobrovolskaia M. A., Vogel S. N. (2002).** Toll receptors, CD14, and macrophage activation and deactivation by LPS. *Microbes and Infection*, 4(9), 903–914. Doi: 10.1016/s1286-4579(02)01613-1.
- Dragostin I., Dragostin O. M., Samal S. K., Dash S., Tatia R., Dragan M., Confederat L., Ghiciuc C.M., Diculencu D., Lupuşoru C.E., Zamfir C. L. (2019).** New isoniazid derivatives with improved pharmacotoxicological profile: Obtaining, characterization and biological evaluation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*., 104974. Doi:10.1016/j.ejps.2019.104974.
- Drakoulis N., Pappasavva, M. (2021).** Chapter 22 - Toxicogenetics—Pharmacogenetics: Genetic variability profiling for xenobiotic response heterogeneity. *Toxicological Risk Assessment and Multi-System Health Impacts from Exposure*. 259-267. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85215-9.00009-X>.

- Dupont A., Mahaza C., Apaire-Marchais V. (2020).** Actualités sur la tuberculose. *Actualités Pharmaceutiques*, 59(593), 35–39. Doi:10.1016/j.actpha.2019.12.015.
- Ekor M. (2014).** The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. *Frontiers in Pharmacology*; 4:177. <https://doi.org/10.3389/fphar.2013.00177>.
- Elion Itou R.D.G., Sanogo R., Etou Ossibi A.W., Nsondé Ntandou F.G., Ondelé R., Pénemé, B.M., Andissa N.O., Diallo D., Ouamba J.M., Abena A.A. (2014).** Anti-inflammatory and analgesic effects of aqueous extract of stem bark of *Ceiba pentandra* Gaertn. *Pharmacology & pharmacy*.5:1113-1118. Doi : 10.4236/pp.2014.512121.
- Ellman G. L. (1959).** Plasma antioxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 82: 70-77.
- Eminzade S., Uraz F. Izzettin F.V. (2008).** Silymarin protects liver against toxic effects of anti-tuberculosis drugs in experimental animals. *Nutrition & Metabolism*. 5 (18): 1-8.
- Enriquez-Cortina C., Almonte-Becerril M, Clavijo-Cornejo D., Palestino-Domínguez M., Bello-Monroy O., Nuño N., López A., Bucio L., Souza V., Hernández-Pando R., Muñoz L., Gutiérrez-Ruiz M., Gómez-Quiroz L. (2013).** Hepatocyte Growth Factor Protects Against Isoniazid/Rifampicin-Induced Oxidative Liver Damage. *Toxicological sciences*. 135(1), 26–36. Doi:10.1093/toxsci/kft134.
- Erukainure O. L., Ijomone O. M., Chukwuma C.I., Xiao X., Salau V.F., Islam M.S. (2020).** *Dacryodes edulis* (G. Don) H.J. Lam modulates glucose metabolism, cholinergic activities and Nrf2 expression, while suppressing oxidative stress and dyslipidemia in diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 112744. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112744>.
- Espinosa E., Chillet P. (2006).** Immunologie. Ellipses. p :31.
- Evans E. P. P., Scholten J. T. M., Mzyk A., Reyes-San-Martin C., Llumbet A. E., Hamoh T., Arts G.J.M.E., Schirrhagl R., Cantineau, A. E. P. (2021).** Male subfertility and oxidative stress. *Redox Biology*, 46, 102071. Doi:10.1016/j.redox.2021.102071.
- Fatima R., Ashraf M., Ejaz S., Rasheed M.A., Altaf I., Afzal M., Batool Z., Saleem U., Anwar K. (2013).** *In vitro* toxic action potential of anti-tuberculosis drugs and their combinations. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 36(2), 501-513. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2013.05.008>.
- Favier A. (2003).** Le stress oxydant, intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique* .14 : 111-114.
- Favier A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), 390–396. Doi : 10.1016/s0003-4509(06)75334-2
- Flohé L., Gunzler W.A. (1984).** Assays of glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology*. 105:114– 121.
- Fokialakis N., Alexi X., Aligiannis N., Boulaka A., Meligova A. K., Lambrinidis G., Kalpoutzakis E., Pratsinis H., Cheilari A., Mitsiou D.J., Mitakou S., Alexis M. N. (2019).** Biological evaluation of

isoflavonoids from *Genista halacsyi* using estrogen-target cells: Activities of glucosides compared to aglycones. *PLOS ONE.*, 14(1). e0210247. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210247>.

Fraga C. G., Croft K. D., Kennedy D. O., Tomás-Barberán F. A. (2019). The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food & Function*. Doi: 10.1039/c8fo01997e.

Fubini B., Hubbard A. (2003). Reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) generation by silica in inflammation and fibrosis. *Free radical biology & medicine*. 34 (12), 1507–1516.

Garritano S., Pinto B., Giachi I., Pistelli L., Reali D. (2005). Assessment of estrogenic activity of flavonoids from Mediterranean plants using an *in vitro* short-term test. *Phytomedicine*. 12(1-2), 143–147.

Gasparrini, M., Forbes-Hernandez, T. Y., Cianciosi, D., Quiles, J. L., Mezzetti, B., Xiao, J., Giampieri F., Battino, M. (2021). The efficacy of berries against lipopolysaccharide-induced inflammation: A review. *Trends in Food Science & Technology*. Doi:10.1016/j.tifs.2021.01.015.

Gayout M., Ballouhey J., Melloni B. (2017). Modalités de traitement de la tuberculose. *Actualités Pharmaceutiques*, 56(568), 30–37. Doi:10.1016/j.actpha.2017.05.016.

Gendler S. (1984). γ -Gt Kaplan A et al .Clin Chem The C.V .Mosby Co .St .Louis.toronto.Princeton.1984, 1120.1123.

Giachi I., Manunta A., Morelli I., Pistelli L. (2002). Flavonoids and isoflavonoids from *Genista morisii*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 30(8). 801–803.

Gilani S.J., Bin-Jumah M.N., Al-Abbasi F.A., Nadeem M.S., Afzal M., Sayyed N., Kazmi I.(2021). Fustin ameliorates hyperglycemia in streptozotocin induced type-2 diabetes via modulating glutathione/Superoxide dismutase/Catalase expressions, suppress lipid peroxidation and regulates histopathological changes, **Saudi Journal of Biological Sciences**, 28(12), Pages 6963-6971,ISSN 1319-562X, <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.07.070>.

Grafakou M.-E., Barda C.,Tomou E.-M., Skaltsa H. (2021).The genus *Genista* L.: A rich source of bioactive flavonoids. *Phytochemistry*, 2021, 181, 112574. Doi:10.1016/j.phytochem.2020.112574.

Grela E., Kozłowska J., Grabowiecka A. (2018). Current methodology of MTT assay in bacteria – A review. *Acta Histochemica*. 120(4):303–311. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2018.03.007>.

Griffiths H.R., Gao D.E., Pararasa C. (2017). Redox regulation in metabolic programming and inflammation. *Redox biology*. 12, 50-57.

Guettaf S., Abidli N., Kariche S., Bellebcir L.,Bouriche H .(2016).Phytochemical screening and antioxidant activity of aqueous extract of *Genista Saharae* (Coss. & Dur.) *Der Pharmacia Lettre*. 8 (1):50-60.

Hadjadj S., Esnault M.-A., Berardocco S., Guyot S., Bouchereau A., Ghouini F., Lamini R., Ould El Hadj-Khelil A. (2020). Polyphenol composition and antioxidant activity of *Searsia tripartita* and *Limoniastrum guyonianum* growing in Southeastern Algeria. *Scientific African*, 10, e00585. Doi:10.1016/j.sciaf.2020.e00585.

- Hanganu D., Olah N ., Benedec D ., Mocan A ., Crisan G ., Vlase L ., Popica I and Oniga I .(2016).** Comparative polyphenolic content and antioxidant activities of *Genista tinctoria* L. and *Genistella sagittalis* (L.) Gams (Fabaceae). *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, Vol.29 No.1 (Suppl). 301-307.
- Haouzi D., Lekéhal M., Moreau A., Moulis C., Feldmann G., Robin M-A., Lettéron P., Fau D., Pessayre D. (2000).** Cytochrome P450-generated reactive metabolites cause mitochondrial permeability transition, caspase activation, and apoptosis in rat hepatocytes. *Hepatology*, 32(2), 303-311. <http://dx.doi.org/10.1053/jhep.2000.9034>.
- Haque M. A., Jantan I., Harikrishnan H., Ghazalee S. (2018).** Standardized extract of *Zingiber zerumbet* suppresses LPS-induced pro-inflammatory responses through NF-κB, MAPK and PI3K-Akt signaling pathways in U937 macrophages. *Phytomedicine*. Doi:10.1016/j.phymed.2018.09.183.
- Harley R.M., Atkins S., Budantsev A., Cantino P.D., Conn B.J ., Grayer R., Harley M.M ., De Kok R., Krestovskaja T ., Morales R ., Paton A.J ., Ryding O., Upson T. (2004).** Labiatae. In: The families and genera of vascular plants (*K. Kubitzki.*, ed.), vol. 7. p. 167-275.
- Hassan H.M., Guo H., Yousef B.A., Ping-Ping D., Zhang L., Jiang Z.(2017).** Dexamethasone Pretreatment Alleviates Isoniazid/ Lipopolysaccharide Hepatotoxicity: Inhibition of Inflammatory and Oxidative Stress. *Frontiers in Pharmacology*. 8(MAR), 133. <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2017.00133>.
- Hassan H.M., Guo H.L., Yousef B.A., Luyong Z., Zhengzhou J. (2015).** Hepatotoxicity mechanisms of isoniazid: A mini-review. *Journal of Applied Toxicology*.35 (12), 1427-1432. <http://dx.doi.org/10.1002/jat.3175>.
- He X., Song Y., Wang L., Xu J. (2020).** Protective effect of *pyrrolidine dithiocarbamate* on isoniazid/rifampicin-induced liver injury in rats. *Molecular Medicine Reports*. 21(1):463-469. Doi: 10.3892/mmr.2019.10817.
- Holanda B.F., Freitas de Araujo D., Da Silva J.N.R., Pereira M.G., De Freitas Pires A., Sampaio Assreuy A.M. (2020).** Polysaccharide-rich extract of *Caesalpinia ferrea* stem barks attenuates mice acute inflammation induced by zymosan: oxidative stress modulation, *Journal of Ethnopharmacology*, <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113501>.
- Hsu C .F., Peng H., Basle C., Travas-Sejdic J., Kilmartin P.A. (2010).** ABTS⁺⁺ scavenging activity of polypyrrole, polyaniline and poly (3, 4-ethylenedioxythiophene). *Polymer International*. 60(1): 69–77. Doi 10.1002/pi.2912.
- Hu X., Zhang M., Bai H., Wu L., Chen Y., Ding L., Zhao Z., Peng ., Liu T., Song J., Li Y., Lu X., Xuerong C., Zhou Y., Ying B. (2017).** Antituberculosis Drug-Induced Adverse Events in the Liver, Kidneys, and Blood: Clinical Profiles and Pharmacogenetic Predictors. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 104(2), 326–334. Doi:10.1002/cpt.924.
- Hussein O.E., Germoush M.O., Mahmoud A.M. (2016).** *Ruta graveolens* Protects Against Isoniazid/Rifampicin-Induced Nephrotoxicity through Modulation of Oxidative Stress and Inflammation. *Global journal of biotechnology and biomaterial science*. 1(1): 017-022.

- Ialenti A., Caiazzo E., Morello S., Carnuccio R., Cicala C. (2017).** Adenosine A2A Receptor Agonist, 2-p-(2-Carboxyethyl)phenethylamino-5'-N-ethylcarboxamidoadenosine Hydrochloride Hydrate, Inhibits Inflammation and Increases Fibroblast Growth Factor-2 Tissue Expression in Carrageenan-Induced Rat Paw Edema. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 364(2), 221–228. Doi:10.1124/jpet.117.244319.
- Ihsan A. U., Khan F. U., Khongorzul P., Ahmad K. A., Naveed M., Yasmeen S., Cao Y., Taleb A., Maiti R., Akhter F., Liao X., Li X., Cheng Y., Khan H.U., Alam K., Zhou X. (2018).** Role of oxidative stress in pathology of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome and male infertility and antioxidants function in ameliorating oxidative stress. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 106, 714–723. Doi:10.1016/j.biopha.2018.06.139.
- Ilyasov I.R., Beloborodov V. L., Selivanova I. A., Terekhov R.P. (2020).** ABTS/PP Decolorization Assay of Antioxidant Capacity Reaction Pathways. *International Journal of Molecular Sciences*. 21(3): 1131. <https://doi.org/10.3390/ijms21031131>.
- Ingawale D.K., Mandlik S.K., Naik S.R. (2014).** Models of hepatotoxicity and the underlying cellular, biochemical and immunological mechanism(s): a critical discussion. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 37(1), 118-133. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2013.08.015>.
- Iwalewa E.O., McGaw L.J., Naidoo V., Eloff J.N. (2007).** Inflammation: the foundation of diseases and disorders. A review of phytomedicines of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions. *African Journal of Biotechnology*. 6, 2868–2885. Doi :10.5897/AJB2007.000-2457.
- Jackson J. E., Bressler R. (1981).** Clinical Pharmacology of Sulphonylurea Hypoglycaemic Agents. *Drugs*, 22(4), 295–320. Doi : 10.2165/00003495-198122040-00003.
- Jaswal A., Sinha N., Bhadauria M., Shrivastava S., Shukla S. (2013).** Therapeutic potential of thymoquinone against anti-tuberculosis drugs induced liver damage. *Environmental toxicology and pharmacology*. 36(3):779e786.
- Jena L., Deshmukh S., Waghmare P., Kumar S., Harinath B. C. (2015).** Study of mechanism of interaction of truncated isoniazid–nicotinamide adenine dinucleotide adduct against multiple enzymes of *Mycobacterium tuberculosis* by a computational approach. *International Journal of Mycobacteriology*, 4(4), 276–283. Doi:10.1016/j.ijmyco.2015.06.006.
- Jeyakumar R., Rajesh R., Rajaprabhu D., Ganesan B., Buddhan S., Anandan R. (2009).** Hepatoprotective effect of *Picrorrhiza Kurroa* on antioxidant defense system in antitubercular drugs induced hepatotoxicity in rats. *African journal of biotechnology*. 8 (7):1314–5.
- Ji Z., Mao J., Chen S., Mao J. (2020).** Antioxidant and anti-inflammatory activity of peptides from foxtail millet (*Setaria italica*) prolamins in HaCaT cells and RAW264.7 murine macrophages. *Food Bioscience*, 100636. Doi:10.1016/j.fbio.2020.100636.
- Jiménez-Arellanes M. A., Gutiérrez-Rebolledo G. A., Meckes-Fischer M., León-Díaz., R. (2016).** Medical plant extracts and natural compounds with a hepatoprotective effect against damage caused by antitubercular

- drugs: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 9(12), 1141–1149. Doi:10.1016/j.apjtm.2016.10.010.
- Jin S., Kennedy R. T. (2015).** New developments in Western blot technology. *Chinese Chemical Letters*. 26(4): 416–418. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccllet.2015.01.021>.
- Jin, S. W., Hwang, Y. P., Choi, C. Y., Kim, H. G., Kim, S. J., Kim, Y., Chung Y.C., Lee.K.J., Jeong T.C., Jeong, H. G. (2017).** Protective effect of rutaecarpine against t-BHP-induced hepatotoxicity by upregulating antioxidant enzymes via the CaMKII-Akt and Nrf2/ARE pathways. *Food and Chemical Toxicology*, 100, 138–148. Doi:10.1016/j.fct.2016.12.031.
- Jisha N., Vysakh A., Vijeesh V., Latha M. S. (2019).** Anti-inflammatory efficacy of Methanolic extract of *Muntingia calabura* L. leaves in Carrageenan induced paw edema model. *Pathophysiology*. Doi:10.1016/j.pathophys.2019.08.002.
- John P., Kale P. P. (2019).** Prominence of oxidative stress in the management of Anti-tuberculosis drugs related hepatotoxicity. *Drug Metabolism Letters*, 13. Doi: 10.2174/1872312813666190716155930.
- Jyothi Reddy G., Prasanth Reddy V., Sreepavani M., Rajaram C., Nelson Kumar S., Kanhere R. S. (2013).** Evaluation of hepatoprotective potential of ethanolic extract of *Ixora pavetta* against isoniazid and rifampicin induced hepatotoxicity in rats. *Drug Invention Today*, 5(3), 201–206. Doi:10.1016/j.dit.2013.06.007.
- Kada S. (2018).** Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques. Thèse de Doctorat en Sciences. Université Ferhat Abbas Sétif 1.
- Kalyniukova A., Holuša J., Musiolek D., Sedlakova-Kadukova J., Plotka-Wasyłka J., Andruch V.(2021).** Application of deep eutectic solvents for separation and determination of bioactive compounds in medicinal plants, *Industrial Crops and Products*, Volume 172, 114047, ISSN 0926-6690, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114047>.
- Kanabalan R. D., Lee L. J., Lee T. Y., Chong P. P., Hassan L., Ismail R., Chin V. K. (2021).** Human tuberculosis and Mycobacterium tuberculosis complex: A review on genetic diversity, pathogenesis and omics approaches in host biomarkers discovery. *Microbiological Research*, 246, 126674. Doi:10.1016/j.micres.2020.126674.
- Kaplan A. (1984).** Urea. Kaplan A et al. Clin Chem. The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. *Princeton*. 1257-1260 and 437 and 418.
- Karan A., Bhakkiyalakshmi E., Jayasuriya R., Sarada D.V.L., Ramkumar K.M. (2020).** The pivotal role of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 in diabetes-induced endothelial dysfunction. *Pharmacological Research*. 153, 104601. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.104601>.
- Katerji M., Filippova M., Duerksen-Hughes P. (2019).** Approaches and Methods to Measure Oxidative Stress in Clinical Samples: Research Applications in the Cancer Field. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 1–29. <https://doi.org/10.1155/2019/1279250>.

- Kebieche M. (2009).** Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante *Ranunculus repens* L : effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine. Thèse de Doctorat. Université Mentouri Constantine.
- Kelly N., Byrne C. (2019).** Nephrotoxins and drugs in renal insufficiency. *Medicine*. Doi:10.1016/j.mpmed.2019.05.005.
- Kerkatou M., Menad A., SarriD., León F., Brouard I., Bouldjedj R., Chalard P., Ameddah S., Benayache S., Benayache F. (2013).** Secondary metabolites from *Genista aspalathoides* L amk ssp. aspalathoides M. *Der Pharmacia Lettre*. 5:285-289.
- Khaldi A.(2017).** Etude des effets antifongiques et antimycotoxiques des extraits des plantes médicinales de la région de Béchar. Thèse de Doctorat en Sciences. Université MUSTAPHA Stambouli Mascara.Algeria.
- Khan M. J., Saraf S., Saraf S. (2017).** Anti-inflammatory and associated analgesic activities of HPLC standardized alcoholic extract of known ayurvedic plant *Schleichera oleosa*. *Journal of Ethnopharmacology*, 197, 257–265. Doi:10.1016/j.jep.2016.08.021.
- Kherkhache H., Benabdelaziz I., Silva A. M. S., Lahrech M. B., Benalia M., Haba H. (2018).** A new indole alkaloid, antioxidant and antibacterial activities of crude extracts from *Saccocalyx satureioides*. *Natural Product Research*. 1–7. Doi:10.1080/14786419.2018.1519817.
- Khouya T., Ramchoun M., Amrani S., Harnafi H., Rouis M., Couchie D., Simmet T., Alem C. (2020).** Anti-inflammatory and anticoagulant effects of polyphenol-rich extracts from *Thymus atlanticus*: An *in vitro* and *in vivo* study, *Journal of Ethnopharmacology*. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112475>.
- Kifle Z.D., Woldeyohanin A.E., Sema F.D., Debeb S.G., Kasahun A.E., Demeke C.A., Belayneh Y.M.(2021).** *In vivo* hypoglycemic, antihyperglycemic and antidyslipidemic effects of the solvent fractions of *Hagenia abyssinica* leaves in mice, *Metabolism Open*, Volume 12,100139, ISSN 2589-9368, <https://doi.org/10.1016/j.metop.2021.100139>.
- Kim J. E., Min S. K., Hong J.-M., Kim K. H., Han S. J., Yim J. H., Park H., Kim I.-C. (2020).** Anti-inflammatory effects of methanol extracts from the Antarctic lichen, *Amandinea sp.* in LPS-stimulated raw 264.7 macrophages and zebrafish. *Fish & Shellfish Immunology*. Doi:10.1016/j.fsi.2020.10.017.
- Kiran Kumar K.M., Nagesh R., Kumar M.N., Prashanth S.J., Babu R.L. (2022).** Chapter Ten - Oxidative stress in modulation of immune function in livestock. *Emerging Issues in Climate Smart Livestock Production Biological Tools and Techniques*, 225-245. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822265-2.00008-9>.
- Koc U., Cam I. (2021).** Chapter 24 - Radiation and oxidative stress. *Toxicology Oxidative Stress and Dietary Antioxidants*, 233-241. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819092-0.00024-8>.
- Kohoutková M., Korimová A., Brázda V., Kohoutek J. (2017).** Early inflammatory profiling of schwannoma cells induced by lipopolysaccharide. *Histochemistry and Cell Biology*. 148: 607– 615.

- Koller A.** Total serum protein. Kaplan A et al. Clin Chem the C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. *Princeton*. 1984, 1316-1324 and 418.
- Konan K. V., Le Tien C, Mateescu M .A. (2016).** Electrolysis-induced fast activation of the ABTS reagent for an antioxidant capacity assay. *Analytical Methods*. 8(28): 5638–5644. Doi: 10.1039/c6ay01088a.
- Konda P.Y., Dasari S., Konanki S., Nagarajan P. (2019).** *In vivo* antihyperglycemic, antihyperlipidemic, antioxidative stress and antioxidant potential activities of *Syzygium paniculatum* Gaertn. in Streptozotocin-induced diabetic rats, *Heliyon*, 5(3), e01373, ISSN 2405-8440, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01373>.
- Kovačević A. B. (2020).** Nanotechnological approaches for delivery of antiinflammatory drugs. *Drug Delivery Aspects*, 211–226. Doi:10.1016/b978-0-12-821222-6.00010-5.
- Kulathuran P.K., Chidambaranathan N., Mohamed H., Jayaprakash S., Narayanan N. (2012).** Hepatoprotective activity of *Cni-doscolus chayamansa* against rifampicin and isoniazid induced toxicity in Wistar rats. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 3(2): 577-585.
- Kumar D. (2020).** Molecular biology of acute and chronic inflammation. *Clinical Molecular Medicine*, 389–402. doi:10.1016/b978-0-12-809356-6.00022-8.
- Kumar G.S., Nayaka H., Dharmesh S.M., Salimath P.V., (2006).** Free and bound phenolic antioxidants in amla (*Emblica officinalis*) and turmeric (*Curcuma longa*). *Journal of Food Composition and Analysis*. 19, 446–452.
- Kumar Jha A., Sit N. (2022).** Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review, *Trends in Food Science & Technology*, 119, 579-591, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.019>.
- Kumar N., Drabu S., Mondal S. C. (2013).** NSAID's and selectively COX-2 inhibitors as potential chemoprotective agents against cancer. *Arabian Journal of Chemistry*, 6(1), 1–23. Doi:10.1016/j.arabjc.2011.07.020.
- Kumar N.A., Pari L. (2003).** Antioxidant action of *Moringa oleifera* Lam. (drumstick) against antitubercular drugs induced lipid peroxidation in rats. *Journal of Medicinal Food*. 6(3): 255-259.
- Kumar S., Krishna Chaitanya R., Preedy V. R. (2018).** Assessment of Antioxidant Potential of Dietary Components. *HIV/AIDS*, 239–253. Doi:10.1016/b978-0-12-809853-0.00020-1.
- Kumar T., Jain V. (2014).** Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of *Bridelia retusa* Methanolic Fruit Extract in Experimental Animals. *The Scientific World Journal*, 2014, 1–12. Doi:10.1155/2014/890151.
- Kumar V., Mathela C. S., Kumar M., Tewari G. (2019).** Antioxidant potential of essential oils from some Himalayan Asteraceae and Lamiaceae species. *Medicine in Drug Discovery*, 1, 100004. Doi:10.1016/j.medidd.2019.100004.

- Kumaran A., Karunakaran R. J. (2007).** *In vitro* antioxidant activities of methanol extracts of five Phyllanthus species from India. *LWT*. 40: 344–352. doi.org/10.1016/j.lwt.2005.09.011.
- Lahneche A.M. (2018).** L'effet protecteur des extraits de la plante *Centaurea sphaerocephala* vis-à-vis de la toxicité induite par l'acide valproïque : Etude *in vitro* et *in vivo*. Thèse de doctorat. Université des Frères Mentouri Constantine.
- Lahneche A.M., Boucheham R., Boubekri N., Bensaci S., Bicha S., Bentamenne A., Benayache F., Benayache S., Zama D. (2017).** Sodium Valproate-Induced Hepatic Dysfunction in *Albino* Rats and Protective Role of *n*-Butanol Extract of *Centaurea sphaerocephala* L. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(10); 1335-1343. Doi: 10.25258/phyto.v9i10.10458.
- Lampp L., Azarkh M., Drescher M., Imming P. (2019).** Galvinoxyl radicals: Synthesis of new derivatives, determination of low oxygen contents, and stability studies. *Tetrahedron*. 75(18): 2737–2747. https://doi.org/10.1016/j.tet.2019.03.051.
- Laouer H., Akkal S., Debarnot C., Canard B., Meierhenrich UJ., Baldovini N. (2006).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur. *Natural Product Communications*. 8:645–650.
- Latreche A., Chebbah K., Boubekri N., Bendjedou R., Zama D., Mekkiou R., Benayache F., Benayache S. (2016).** *In Vitro* Antioxidant Activity and Hepatoprotective Effect of *Genista ulicina* Spach Extract in Chlorpyrifos-Induced Toxicity. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 38(1). Article No. 17: 102-106.
- Lee H.N., Surh Y. J. (2012).** Therapeutic potential of resolvins in the prevention and treatment of inflammatory disorders. *Biochemical pharmacology*, 84, 1340-1350.
- Lee S., Li J., Zhou X., Yin J., Yoon J. (2018).** Recent progress on the development of glutathione (GSH) selective fluorescent and colorimetric probes. *Coordination Chemistry Reviews*, 366, 29–68. Doi:10.1016/j.ccr.2018.03.021.
- Lei S., Gu R., Ma X. (2021).** Clinical perspectives of isoniazid-induced liver injury. *Liver Research*. Doi:10.1016/j.livres.2021.02.001.
- Li S., Tan H-Y., Wang N., Zhang Z-J., Lao L., Wong C-W., Feng Y. (2015).** The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*. 16(11), 26087-26124. http://dx.doi.org/10.3390/ijms161125942.
- Li B., Cantino P. D., Olmstead R. G., Bramley G. L. C., Xiang C.-L., Ma Z.-H., Tan Y.-H., Zhang D.-X. (2016).** A large-scale chloroplast phylogeny of the Lamiaceae sheds new light on its subfamilial classification. *Scientific Reports*. 6(1). Doi: 10.1038/srep34343.
- Li H., Hao Z., Wang X., Huang L., Li J. (2009).** Antioxidant activities of extracts and fractions from *Lysimachia foenumgraecum* Hance. *Bioresource Technology*, 100(2), 970–974. Doi:10.1016/j.biortech.2008.07.02.

- Liang X., Pan D.B.**, et al. Mitochondrial Dysfunction in Diabetic Myocardial Disease Progress. *International Journal of Geriatrics*. 2018; 36:46-8.
- Liu J-Z., Zhang C-C., Fu Y-J., Cui Q. (2022)**. Comparative analysis of phytochemical profile, antioxidant and anti-inflammatory activity from *Hibiscus manihot* L. flower, *Arabian Journal of Chemistry*, Volume 15, Issue 1, 2022, 103503, ISSN 1878-5352, <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103503>.
- Liu L., Chen L., Jiang C., Xie Y., Cheng Z. (2017)**. Berberine inhibits the LPS-induced proliferation and inflammatory response of stromal cells of adenomyosis tissues mediated by the LPS/TLR4 signalling pathway. *Experimental and therapeutic medicine*. 14: 6125.
- Lograda T., Ramdani M., Figueredo G., Chalchat J.C., Chalard P. (2012)**. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Genista microcephala* Coss. et Dur. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants* . 2 (1) pp.75-79 ref.33.
- Lograda T. (2010)**. Caryologique et Phytochimique de Six Espèces Endémiques du genre *Genista* L. en Algérie. Thèse de Doctorat en Sciences. Université FERHAT Abbas. Sétif. Algeria.
- Lograda T., Chaker A.N., Chalchat J. C., Ramdani M., Figueredo G. (2011)**. Composition of the essential oil of *Genista tricuspidata*. *Chemistry of Natural Compounds*. 46(6). 992–994.
- Losada-Barreiro S., Bravo-Díaz C. (2017)**. Free radicals and polyphenols: The redox chemistry of neurodegenerative diseases. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 133, 379–402. Doi:10.1016/j.ejmech.2017.03.061.
- Lü J-M., Lin P.H., Yao Q., Chen C.(2009)**. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*.14 (4): 840–860.
- Luangchosiri C., Thakkinstian A., Chitphuk S., Stitchantrakul W., Petraksa S., Sobhonslidsuk A. (2015)**. A double-blinded randomized controlled trial of silymarin for the prevention of antituberculosis drug-induced liver injury. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 15(1):334. Doi :10.1186/s12906-015-0861-7.
- Ma J., Zheng Y., Tang W., Yan W., Nie H., Fang J., Liu G. (2020)**. Dietary polyphenols in lipid metabolism: A role of gut microbiome. *Animal Nutrition*. Doi:10.1016/j.aninu.2020.08.002.
- Maanani D., Segueni N., Rhouati S., Çakmak Y. S., Asan-Ozusaglam M., May A., Zellagui A., Akkal S. (2018)**. Phenolic Contents, *in vitro* Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Genista microcephala* Coss. & Dur. *Acta Scientifica Naturalis.*, 5(2). 8–22. Doi: 10.2478/asn-2018-0016.
- Mahmoud A.M., Morsy B.M., Abdel-Hady D.S., Samy R.M. (2015)**. *Prunus armeniaca* leaves extract protects against isoniazid and rifampicin induced nephrotoxicity through modulation of oxidative stress and inflammation. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*.2: 1-6.
- Majdalawieh A. F., Fayyad M. W. (2015)**. Immunomodulatory and anti-inflammatory action of *Nigella sativa* and thymoquinone: A comprehensive review. *International Immunopharmacology*, 28(1), 295–304. doi:10.1016/j.intimp.2015.06.023.

- Majhenič L., Škerget M., Knez Ž. (2007).** Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*. 104(3):1258–1268.
- Makni S., Tounsi S., Rezgui F., Trigui M., Zouari Bouassida K. (2018).** *Emex spinosa* (L.) Campd. Ethyl acetate fractions effects on inflammatory mediators and oxidative stress markers in carrageenan induced paw oedema in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. Doi:10.1016/j.jep.2018.12.015.
- Maleki S. J., Crespo J. F., Cabanillas B. (2019).** Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food Chemistry*, 125124. Doi:10.1016/j.foodchem.2019.125124.
- Mangwani N., Singh P.K., Kumar V. (2020).** Medicinal plants: Adjunct treatment to tuberculosis chemotherapy to prevent hepatic damage. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*. 11(4). 522-528. <https://doi.org/10.1016/j.jaim.2019.02.004>.
- Mansur J.S., Breder M.N.R., Mansur M.C.A., Azulay R.D.(1986).** Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 61: 121-124.
- Maqsood S., Benjakul S., Abushelaibi A., Alam A. (2014).** Phenolic Compounds and Plant Phenolic Extracts as Natural Antioxidants in Prevention of Lipid Oxidation in Seafood: A Detailed Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(6), 1125–1140. Doi:10.1111/1541-4337.12106.
- Margham R. (2009).** Chapitre 1 : Les glucides des végétaux. Élément de la biochimie végétale. Ed, Bahaeddine. Constantine. P 13-40.
- Martin S. J., Sabina E. P. (2016).** Amelioration of anti-tuberculosis drug induced oxidative stress in kidneys by *Spirulina fusiformis* a rat model. *Renal Failure.*, 38(7). 1115–1121. Doi:10.1080/0886022x.2016.1184940.
- Martin S. J., Sabina E. P. (2016).** Amelioration of anti-tuberculosis drug induced oxidative stress in kidneys by *Spirulina fusiformis* a rat model. *Renal Failure*, 38(7), 1115–1121. Doi:10.1080/0886022x.2016.1184940.
- Martin S.J., Sabina E.P. (2016).** Amelioration of antituberculosis drug induced oxidative stress in kidneys by *Spirulina fusiformis* in a rat model, *Renal Failure*, DOI: 10.1080/0886022X.2016.1184940.
- Martins A., Wink M., Tei A., Brum-Bousquet M., Tillequin F., Rauter A.P.(2005).** A phytochemical study of the quinolizidine alkaloids from *Genista tenera* by gas chromatography-mass spectrometry. *Phytochemical Analysis*. 16: 264–266.
- Martins I. M., Macedo G. A., Macedo J. A. (2020).** Biotransformed grape pomace as a potential source of anti-inflammatory polyphenolics: Effects in Caco-2 cells. *Food Bioscience*, 100607. Doi:10.1016/j.fbio.2020.100607.
- Mas-Bargues C., Escrivá C., Dromant M., Borrás C., Viña J. (2021).** Lipid peroxidation as measured by chromatographic determination of malondialdehyde. Human plasma reference values in health and disease, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Volume 709, 108941, ISSN 0003-9861, <https://doi.org/10.1016/j.abb.2021.108941>.

- Matsumoto K., Obara S., Kuroda Y., Kizu J. (2015).** Anti-inflammatory effects of linezolid on carrageenan-induced paw edema in rats. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 21(12), 889–891. Doi:10.1016/j.jiac.2015.08.004.
- Maud E., McDaid C., Rice S., Wright K., Jenkins B., Woolacott N. (2011).** Paracetamol and selective and non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs for the reduction in morphine-related side effects after major surgery: a systematic review. *British Journal of Anaesthesia*, 106(3), 292–297. Doi:10.1093/bja/aeq406.
- Mazouz W., Haouli N. E. H., Gali L., Vezza T., Bensouici C., Mebrek S., Hamel T., Galvez J., Djeddi S. (2020).** Antioxidant, anti-alzheimer, anti-diabetic, and anti-inflammatory activities of the endemic halophyte *Limonium spathulatum* (Desf.) kuntze on LPS-stimulated RAW264 macrophages. *South African Journal of Botany*, 135, 101–108. Doi:10.1016/j.sajb.2020.08.021.
- Mebirouk R. (2017).** Recherche et évaluation des activités biologiques de trois extraits d'*Helix aspersa* (aqueux, hydro alcoolique et organique) : Activités anti-inflammatoire, anti tumorale et anti-angiogénique. Thèse de doctorat. Université des Frères MENTOURI CONSTANTINE.
- Mehlous S., Benchikh F., Benabdallah H., Loucif K., Kaoudoune C., Laouer H., Amira S.(2021).** Evaluation of Antioxidant Activity and Polyphenols Content of the Hydro-methanolic Extract from *Saccocalyx satureioides* Coss and Dur. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 10(4):188-90. Available from: <http://jddtonline.info/index.php/jddt/article/view/4166>.
- Mekkiou R., Touahar H., Dijoux-franca M. G., Mariotte A. M., Benayache S., Benayache F. (2005).** A new isoflavone from *Genista saharae* (Fabaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 33(6), 635–638. Doi:10.1016/j.bse.2004.10.015.
- Meriane D., Genta-Jouve G., Kaabeche M., Michel S., Boutefnouchet S. (2014).** Rapid Identification of Antioxidant Compounds of *Genista saharae* Coss. & Dur. by Combination of DPPH Scavenging Assay and HPTLC-MS. *Molecules.*, 19(4)., 4369–4379. Doi : 10.3390/molecules19044369.
- Messarah M., Saoudi M., Boumendjel A., Kadeche L., Boulakoud M.S., El Feki A. (2013).** Green tea extract alleviates arsenic-induced biochemical toxicity and lipid peroxidation in rats. *Toxicology and industrial health*. 29(4):349–59.
- Metushi I.G., Nakagawa T., Utrecht J. (2012).** Direct oxidation and covalent binding of isoniazid to rodent liver and human hepatic microsomes: humans are more like mice than rats. *Chemical research in toxicology*. 25: 2567-2576.
- Miah M. M., Das P., Ibrahim Y., Shajib M. S., Rashid M. A. (2018).** *In vitro* antioxidant, antimicrobial, membrane stabilization and thrombolytic activities of *Dioscorea hispida* Dennst. *European Journal of Integrative Medicine*, 19, 121–127. Doi:10.1016/j.eujim.2018.02.002.
- Miara M. D., Bendif H., Ait Hammou M., Teixidor-Toneu I. (2018).** Ethnobotanical survey of medicinal plants used by nomadic peoples in the Algerian steppe. *Journal of Ethnopharmacology*, 219, 248–256. Doi:10.1016/j.jep.2018.03.011.

- Miglani S., Patyar R.R., Patyar S., Reshi M.R. (2016).** Effect of goat milk on hepatotoxicity induced by antitubercular drugs in rats. *Journal of Food and Drug Analysis*. Anal. 24, 716–721.
- Mishra K., Chattopadhyay P. (2011).** Herbal cosmeceuticals for photoprotection from ultraviolet B radiation: a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*.10, 351–360.
- Mishra S. K., Tripathi G., Kishore N., Singh R. K., Singh A., Tiwari V. K. (2017).** Drug development against tuberculosis: Impact of alkaloids. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 137, 504–544. Doi:10.1016/j.ejmech.2017.06.005.
- Moghaddam R. H., Samimi Z., Moradi S. Z., Little P. J., Xu S., Farzaei M. H. (2020).** Naringenin and naringin in cardiovascular disease prevention: A preclinical review. *European Journal of Pharmacology*, 173535. Doi:10.1016/j.ejphar.2020.173535.
- Mohamadi S. (2016).** Recherche et Détermination Structurale de Métabolites Secondaires de deux plantes Algériennes de la Famille des Lamiacée. Thèse de doctorat en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat troisième cycle (LMD). Université Frères MENTOURI CONSTANTINE.
- Mohamadi S., Zhao M., Amrani A., Marchioni E., Zama D., Benayache F., Benayache S. (2015).** On-line screening and identification of antioxidant phenolic compounds of *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur. *Industrial Crops and Products*. 76. 910–919. Doi:10.1016/j.indcrop.2015.07.048.
- Monteiro F. K. da S., Pastore J. F. B., Melo J. I. M. de. (2018).** The Flora of Paraíba State., Brazil: subfamilies Ajucoideae and Viticoideae (Lamiaceae). *Biota Neotropica*. 18(3). Doi: 10.1590/1676-0611-bn-2017-0472.
- Motta I., Calcagno A., Bonora S. (2017).** Pharmacokinetics and pharmacogenetics of anti-tubercular drugs: a tool for treatment optimization? *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 14(1), 59–82. Doi:10.1080/17425255.2018.1416093.
- Mouffouk C., Hambaba L., Haba H., Mouffouk S., Bensouici C., mouffouk S., Hachemi M., Khadraoui H. (2018).** Acute toxicity and in vivo anti-inflammatory effects and in vitro antioxidant and anti-arthritis potential of *Scabiosa stellata*. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*. Doi: 10.1007/s13596-018-0320-3.
- Mujahid M., Hussain T., Siddiqui H.H., Hussain A. (2017).** Evaluation of hepatoprotective potential of *Erythrina indica* leaves against antitubercular drugs induced hepatotoxicity in experimental rats. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 8(1), 7–12. doi:10.1016/j.jaim.2016.10.005.
- Mukherjee A., Lodha R., Kabra S. K. (2019).** Pharmacokinetics of First-Line Anti-Tubercular Drugs. *The Indian Journal of Pediatrics*. Doi: 10.1007/s12098-019-02911-w.
- Mukhopadhyay D., Dasgupta P., Sinha Roy D., Palchoudhuri S., Chatterjee I., Ali S., Ghosh Dastidar S. (2016).** A Sensitive *in vitro* Spectrophotometric Hydrogen Peroxide Scavenging Assay using 1,10-Phenanthroline. *Free Radicals and Antioxidants*. 6 (1). Doi: 10.5530/fra.2016.1.15.
- Mulgund A., Doshi S., Agarwal A. (2015).** Chapter 25 - The Role of Oxidative Stress in Endometriosis, *Handbook of Fertility*, Academic Press, 273-281. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800872-0.00025-1>.

- Müller L., Gnoyke S., Popken A .M., Böhm V.(2010).** Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT*. 43(6): 992–999. dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2010.02.004.
- Murray R.(1984).** Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al. *Clinical Chemistry* .The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. *Princeton*. 1112-1116.
- Musa K. H., Abdullah A., Al-Haiqi A. (2016).** Determination of DPPH free radical scavenging activity: Application of artificial neural networks. *Food Chemistry*.194 : 705–711. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.038>.
- Muzika V., Čustović S., Mornjaković Z., Čosović E., Kapić D. (2016).** Histological study of isoniazid-rifampicin related nephrotoxicity in Wistar rats. *Folia Med. Fac. Med. Univ. Saraeviensis* 2016 ; 51(1) : 4-9.
- Naito H. K. (1984).** Cholesterol. Kaplan A et al. *Clinical Chemistry* .The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. *Princeton*. 1194-11206 and 437.
- Nakamura Y. K., Omaye S. T. (2009).** Vitamin E-modulated gene expression associated with ROS generation. *Journal of Functional Foods*, 1(3), 241–252. Doi:10.1016/j.jff.2009.02.002.
- Nanashima K., Mawatari T., Tahara N., Higuchi N., Nakaura A., Inamine T., Kondo S., Yanagihara K., Fukushima K., Suyama N., Kohno S., Tsukamoto K.(2012).** Genetic variants in antioxidant pathway: risk factors for hepatotoxicity in tuberculosis patients. *Tuberculosis*. 92(3), 253-259. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tube.2011.12.004>.
- Nasim I., Sadiq M., Jehangir A. (2011).** Hepatoprotective effect of garlic (*Allium sativum*) and milk thistle (silymarin) in isoniazid induced hepatotoxicity in rats. *Biomedical*. 27(1): 166-170.
- Nawaz H., Shad M. A., Rehman N., Andaleeb H., Ullah N.(2020).** Effect of solvent polarity on extraction yield and antioxidant properties of phytochemicals from bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. *Braz. J. Pharm. Sci*, 56:e17129. dx.doi.org/10.1590/s2175-97902019000417129.
- Ndrepepa G., Colleran R., Kastrati A. (2018).** Gamma-glutamyl transferase and the risk of atherosclerosis and coronary heart disease. *Clinica Chimica Acta*, 476, 130–138. Doi:10.1016/j.cca.2017.11.026.
- Nguta, J. M., Appiah-Opong, R., Nyarko, A. K., Yeboah-Manu, D., & Addo, P. G. A. (2015).** Current perspectives in drug discovery against tuberculosis from natural products. *International Journal of Mycobacteriology*, 4(3), 165–183. Doi:10.1016/j.ijmyco.2015.05.004.
- Noack M, Kolopp-Sarda M.N. (2018).** Cytokines et inflammation : physiologie, physiopathologie et utilisation thérapeutique. *Rev Fr Lab*, 489 (3), 28- 37.
- Noccioli C., Luciardi L., Barsellini S., Favro C., Bertoli A., Bader A., Loi M.C., Pistelli L. (2012).** Flavonoids from two Italian Genista species: *Genista cilentina* and *Genista sulcitana*. *Chemistry of Natural Compounds*. 48(4). 672–673.
- Nunes A. R., Rodrigues A. L. M., de Queiróz D. B., Vieira I. G. P., Neto J. F. C., Junior J. T. C., Tintino S.R., de Moraes S.M., Coutinho H. D. M. (2018).** Photoprotective potential of medicinal plants from

Cerrado biome (Brazil) in relation to phenolic content and antioxidant activity. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. Doi:10.1016/j.jphotobiol.2018.10.013.

Nwidi L. L., Oboma Y. I. (2018). *Telfairia occidentalis* (Cucurbitaceae) pulp extract mitigates rifampicin-isoniazid-induced hepatotoxicity in an *in vivo* rat model of oxidative stress. *Journal of Integrative Medicine*. Doi:10.1016/j.joim.2018.11.008.

Nwidi L. L., Teme R. E. (2018). Hot aqueous leaf extract of *Lasianthera africana* (Icacinaceae) attenuates rifampicin-isoniazid-induced hepatotoxicity. *Journal of Integrative Medicine*.16 (4), 263–272. <https://doi.org/10.1016/j.joim.2018.05.001>.

Olajide O. A., Sarker S. D. (2020). Anti-inflammatory natural products. *Annual Reports in Medicinal Chemistry*. Doi:10.1016/bs.armc.2020.02.002.

Orhan E., Tosun F., Tamer U., Duran A., Alan B., Kök F. (2011). Quantification of genistein and daidzein in two endemic *Genista* species and their antioxidant activity. *Journal of the Serbian Chemical Society*. 76(1). 35–42.

Oyaizu M. (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Journal of Nutrition*. 44: 307–315.

Özyürek M., Güçlü K., Tütem E., Başkan K. S., Erçağ E., Çelik E. S., Baki S., Yıldız L., Karaman S., Apak R. (2011). A comprehensive review of CUPRAC methodology. *Analytical Methods*. 3 (11):2439. Doi: 10.1039/c1ay05320e.

Pal R., Rana S.V., Vaiphei K., Singh K. (2008). Isoniazid-rifampicin induced lipid changes in rats. *Clinica Chimica Acta*, 389(1-2), 55- 60. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2007.11.028>.

Pan Y., Tang P., Cao J., Song Q., Zhu L., Ma S., Zhang J. (2020). Lipid peroxidation aggravates anti-tuberculosis drug-induced liver injury: Evidence of ferroptosis induction. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 533(4), 1512–1518. Doi:10.1016/j.bbrc.2020.09.140.

Panday S., Talreja R., Kavdia M. (2020). The role of glutathione and glutathione peroxidase in regulating cellular level of reactive oxygen and nitrogen species. *Microvascular Research*, 104010. Doi:10.1016/j.mvr.2020.104010.

Pari L., Kumar N.A. (2002). Hepatoprotective activity of *Moringa oleifera* on antitubercular drug-induced liver damage in rats. *Journal of Medicinal Food*. 5(3): 171-177.

Pascua-Maestro R., Corraliza-Gomez M., Diez-Hermano S., Perez-Segurado C., Ganfornina M D., Sanchez D.(2018). The MTT-formazan assay: Complementary technical approaches and *in vivo* validation in *Drosophila* larvae. *Acta Histochemica*. 120(3): 179–186. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2018.01.006>.

Peretti E., Karlaganis G., Lauterburg B.H. (1987). Acetylation of acetylhydrazine, the toxic metabolite of isoniazid, in humans: inhibition by concomitant administration of isoniazid. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 243:686e689.

- Perriot J., Chambonnet É., Eschalier A. (2011).** Les effets indésirables des antituberculeux, prise en charge. *Revue Des Maladies Respiratoires*, 28(4), 542–555. doi:10.1016/j.rmr.2010.10.034.
- Perwitasari D.A., Atthobari J., Wilffert B. (2015).** Pharmacogenetics of isoniazid-induced hepatotoxicity. *Drug Metabolism Reviews*. 47(2), 222-228. <http://dx.doi.org/10.3109/03602532.2014.984070>.
- Pillai-Kastoori L., Schutz-Geschwender A.R., Harford J .A. (2020).** A systematic approach to quantitative Western blot analysis. *Analytical Biochemistry*, 593 :113608. DOI : 10.1016/j.ab.2020.113608.
- Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne J-O. (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16(4), 233–239. Doi : 10.1016/s0985-0562(02)00166-8.
- Pisoschi A. M., Pop A. (2015).** The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55–74. Doi:10.1016/j.ejmech.2015.04.040.
- Popovici C., Saykova I., Tylkowski B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*. 4 :25-39.
- Puangpraphant S., Cuevas-Rodríguez E-O., Oseguera-Toledo M. (2022).** Chapter 9 - Anti-inflammatory and antioxidant phenolic compounds, *Current Advances for Development of Functional Foods Modulating Inflammation and Oxidative Stress*, Academic Press,165-180, ISBN 9780128234822, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823482-2.00018-2>.
- Qiao, P., Zhang, Y., Yang, Y., Meng, R., Xu, Z., Jiang, X., Zhang Y., Zhang G., Su, J. (2021).** Oral isoniazid causes oxidative stress, oocyte deterioration and infertility in mice. *Toxicology*, 455, 152749. Doi:10.1016/j.tox.2021.152749.
- Qu J., Huang P., Zhang L., Qiu Y., Qi H., Leng A., Shang D. (2020).** Hepatoprotective effect of plant polysaccharides from natural resources: A review of the mechanisms and structure-activity relationship. *International Journal of Biological Macromolecules*. Doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.05.196.
- Quezel F ., Santa S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et les régions désertiques méridionales Tom II, Edition. CNRS, Paris, France.
- Quezel P., Santa S. (1962).** Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. Editions du C.N.R.S. Paris. Tome I p. 474.
- Rainova L., Nakov N., Bogdanova S., Minkov E., Staneva-Stoytcheva D. (1988).** Ulceroprotective activity of the flavonoids of *Genista rumelica* Vel. *Phytotherapy Research.*, 2(3). 137–139.
- Raj V.P., Chandrasekhar R.H., Rao M.C., Rao V.J., Nitesh K. (2010).** *In vitro* and *in vivo* hepatoprotective effects of the total alkaloid fraction of *Hygrophila auriculata* leaves. *Indian Journal of Pharmacology*, 42(2): 99-104.
- Ramappa V., Aithal G. P. (2013).** Hepatotoxicity Related to Anti-tuberculosis Drugs: Mechanisms and Management. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 3(1), 37–49. Doi:10.1016/j.jceh.2012.12.001.

- Rao C.V., Rawat A.K., Singh A.P., Singh A., Verma N. (2012).** Hep-atoprotective potential of ethanolic extract of *Ziziphus oenoplia* (L.) Mill roots against antitubercular drugs induced hepatotoxicity in experimental models. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*; 5(4): 283-288.
- Rathinam V.A., Fitzgerald K.A. (2016).** Inflammasome complexes: Emerging mechanisms and effector functions. *Cell*, 165, 792–800.
- Rauter A. P., Martins A., Borges C., Mota-Filipe H., Pinto R., Sepodes B., Justino J. (2010).** Antihyperglycaemic and protective effects of flavonoids on streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytotherapy Research.*, 24(S2). S133–S138.
- Rauter., A. P., Martins., A., Lopes., R., Ferreira., J., Serralheiro., L. M., Araújo., M.-E., Borges C., Justino J., Silva F.V., Goulart M., Thomas-Oates J., Rodrigues J.a., Edwards E., Noronha J.P., Pinto R., Mota-Filipe H. (2009).** Bioactivity studies and chemical profile of the antidiabetic plant *Genista tenera*. *Journal of Ethnopharmacology*. 122(2). 384–393.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*. 26:1231–1237. doi.org/10.1016/S0891-5849 (98)00315-3.
- Redza-Dutordoir M., Averill-Bates D. A. (2021).** Interactions between reactive oxygen species and autophagy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1868(8), 119041. Doi:10.1016/j.bbamcr.2021.119041.
- Rigano D., Cardile V., Formisano C., Maldini M. T., Parente S., Bevilacqua J., Russo A., Senatore., F. (2009).** *Genista sessilifolia* DC. and *Genista tinctoria* L. inhibit UV light and nitric oxide-induced DNA damage and human melanoma cell growth. *Chemico-Biological Interactions*. 180(2). 211–219.
- Rodríguez-Arce E., Saldías M. (2021).** Antioxidant properties of flavonoid metal complexes and their potential inclusion in the development of novel strategies for the treatment against neurodegenerative diseases, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 143,112236, <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112236>.
- Roleira F. M. F., Tavares-da-Silva E. J., Varela C. L., Costa S. C., Silva T., Garrido J., Borges F. (2015).** Plant derived and dietary phenolic antioxidants: Anticancer properties. *Food Chemistry*, 183, 235–258. Doi:10.1016/j.foodchem.2015.03.039.
- Rolnik D. L., Nicolaidis K. H., Poon L. C. (2020).** Prevention of preeclampsia with aspirin. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. Doi:10.1016/j.ajog.2020.08.045.
- Rosati S., Cherubini C., Iacomì F., Giannakakis K., Vincenzi L., Ippolito G., Palmieri F. (2013).** Acute rifampicin-associated interstitial tubulopathy in a patient with pulmonary tuberculosis: a case report. *Journal of Medical Case Reports*, 7(1). Doi: 10.1186/1752-1947-7-106.
- Ruan L.Y ., Fanb J.T., Honga W., Zhaoa H ., Lia M.H ., Jianga L ., Fua Y.H ., Xinga Y.X ., Chena C., Wang J.S.(2018).** Isoniazid-induced hepatotoxicity and neurotoxicity in rats investigated by ¹H NMR

based metabolomics approach. *Toxicology Letters*. 295. 256–269.
<https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.05.032>.

Russo G., Paganotti G. M., Soeria-Atmadja S., Haverkamp M., Ramogola-Masire D., Vullo V., Gustafsson L. L. (2016). Pharmacogenetics of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) in resource-limited settings: Influence on antiretroviral therapy response and concomitant anti-tubercular, antimalarial and contraceptive treatments. *Infection, Genetics and Evolution*, 37, 192–207.
 Doi:10.1016/j.meegid.2015.11.014.

Russo-Marie F., Peltier A., Polla B.S. (1998). L'inflammation. John Libbey Eurotext. 565 p.

Sabiu S., Ashafa A. O. T. (2016). Membrane stabilization and kinetics of carbohydrate metabolizing enzymes (α -amylase and α -glucosidase) inhibitory potentials of *Eucalyptus obliqua* L.Her. (Myrtaceae) Blakely ethanolic leaf extract: An *in vitro* assessment. *South African Journal of Botany*, 105, 264–269.
 Doi:10.1016/j.sajb.2016.04.007.

Saci F., Bachir Bey M., Louaileche H., Gali L., Bensouici C. (2020). Changes in anticholinesterase, antioxidant and related bioactive compounds of carob pulp (*Ceratonia siliqua* L.) during ripening stage. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 14, 937–945. Doi: 10.1007/s11694-019-00344-9.

Sahu N., Mishra G., Chandra H. K., Nirala S. K., Bhadauria M. (2019). Naringenin mitigates antituberculosis drugs induced hepatic and renal injury in rats. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. Doi:10.1016/j.jtcme.2019.01.001.

Sahu R., Ahmed T., Sangana R., Punde R., Subudhi B. B. (2018). Effect of *Tinospora cordifolia* aqua-alcoholic extract on pharmacokinetic of Glibenclamide in rat: An herb-drug interaction study. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 151, 310–316. Doi:10.1016/j.jpba.2018.01.010.

Saito S., Lin Y.C., Tsai M.H., Lin C.S., Murayama Y., Sato R., Yokoyama K.K. (2015). Emerging roles of hypoxia-inducible factors and reactive oxygen species in cancer and pluripotent stem cells. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 31, 279-286.

Samuel A.J., Mohan S., Chellappan D.K., Kalusalingam A., Ariamuthu S.I. (2012). *Hibiscus vitifolius* (Linn.) root extracts show potent protective action against anti-tubercular drug induced hepatotoxicity. *Journal of Ethnopharmacology*. 141(1): 396-402.

Sayre R .M., Agin P. P ., Levee G. J ., Marlowe E .A.(1979). Comparison of *in vivo* and *in vitro* testing of sun screening formulas. *Photochemistry and Photobiology*. 29 (3): 559-566. doi.org/10.1111/j.1751-1097.1979.tb07090.x.

Schultz A. (1984). Uric acid. Kaplan A et al. *Clinical Chemistry* .The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton , 1261-1266 and 418.

Sebaihi-Harzoun S., Atmani-Kilani D., Debbache-Benaida N., Nana F., Evain-Bana E., Kirsch G., Tabart J., Kevers C., Atmani D.(2018). Phytochemical composition, antioxidant and anti-proliferative properties

of *Genista ferox* Poirret. aerial parts, *European Journal of Integrative Medicine* .<https://doi.org/10.1016/j.eujim.2018.08.006>.

Selmi H., Dhifallah A., Jedidi S., Brahmi N., Rouissi H.(2020). *In vitro* ruminal fermentation, nutritional evaluation and antioxidant activity of some forest shrubs of North West Tunisia for goats. *Moroccan Journal of Agricultural Sciences*. 1 (1): 50-53.

Senthil S. K., Murugan P. K., Selvam S., Chandhana J. P., Babu T. G. S., Kandasamy E. (2020). Fluorescence spectroscopic analysis of heavy metal induced protein denaturation. *Materials Today: Proceedings*. Doi:10.1016/j.matpr.2020.04.693.

Senthilkumar R., Chandran R., Parimelazhagan T. (2014). Hepatoprotective effect of *Rhodiola imbricata* rhizome against paracetamol-induced liver toxicity in rats. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21(5), 409–416. Doi:10.1016/j.sjbs.2014.04.001.

Serhan C. N., Gupta S. K., Perretti M., Godson C., Brennan E., Li, Y., Soehnlein O., Shimizu T., Werz O., Chiurchiù V., Azzi A., Dubourdeau M., Gupta S.S., Schopohl P., Hoch M., Gjorgevikj D., Khan F.M., Brauer D., Tripathi A., Cesnulevicius K., Lescheid D., Schultz M., S'arndahl E., Repsilber D., Kruse R., Sala A., Haeggstr"om J.Z., Levy B.D., Filep J.G., Wolkenhauer, O.(2020). The Atlas of Inflammation Resolution (AIR). *Molecular Aspects of Medicine*, 100894. Doi:10.1016/j.mam.2020.100894.

Shabab S., Gholamnezhad Z., Mahmoudabady M. (2020). Protective effects of medicinal plant against diabetes induced cardiac disorder: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 113328. Doi:10.1016/j.jep.2020.113328.

Sharifi-Rad J., Salehi B., Stojanović-Radić Z. Z., Fokou P. V. T., Sharifi-Rad M., Mahady G. B., Sharifi-Radh M., Masjedii M.R., Lawalg T.O., Ayatollahi S.A., Masjedii J., Sharifi-Rad R., Setzer W.N., Sharifi-Rad M., Kobarfard F., Rahman A-u., Choudhary M.I., Ataq A., Iriti M. (2020). Medicinal plants used in the treatment of tuberculosis - Ethnobotanical and ethnopharmacological approaches. *Biotechnology Advances*. 107629. Doi:10.1016/j.biotechadv.2020.107629.

Sharma R., Sharma V.L. (2015). Review: treatment of toxicity caused by anti-tubercular drugs by use of different herbs. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*; 6:1288e94.

Shashidhar G.M., Giridhar P., Manohar B. (2015). Functional polysaccharides from medicinal mushroom *Cordyceps sinensis* as a potent food supplement: extraction, characterization and therapeutic potentials – a systematic review, *Rsc Advances*.

Shen Y., Liu X., Shi J., Wu X. (2018). Involvement of Nrf2 in myocardial ischemia and reperfusion injury. *International Journal of Biological Macromolecules*. Doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.11.190.

Shettar A. K., Kotresha K., Kaliwal B. B., Vedamurthy A. B. (2015). Evaluation of *in vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of *Ximenia americana* extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(11), 918–923. Doi: 10.1016/s2222-1808(15)60957-4.

- Shi H., Noguchi N., Niki E. (2001).** Galvinoxyl method for standardizing electron and proton donation activity. *Methods in Enzymology*. 335:157-66.
- Shinde U .A., Phadke A. S., Nair A. M., Mungantiwar A. A., Dikshit V. J., Saraf V. O.(1999).** Membrane stabilizing activitya possible mechanism of action for the antiinflammatory activity of *Cedrus deodara* wood oil. *Fitoterapia*. 70: 251-7. Doi: 10.1016/s0378-8741(98)00150-0.
- Shukla S., Sinha N., Jaswal A. (2014).** Anti-oxidative, anti peroxidative and hepatoprotective potential of *Phyllanthus amarus* against anti Tb drugs. In: Pharmacology and Nutritional Intervention in the Treatment of Disease. *InTech*; 2014: 283e294.
- Simões M. A. M., Pinto D. C. G. A., Neves B. M. R., Silva A. M. S. (2020).** Flavonoid Profile of the *Genista tridentata* L, a Species Used Traditionally to Treat Inflammatory Processes. *Molecules*. 25(4). 812. Doi: 10.3390/molecules25040812.
- Singh B., Kumar A., Malik A. K. (2017).** Flavonoids biosynthesis in plants and its further analysis by capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 38(6), 820–832. Doi:10.1002/elps.201600334.
- Singleton V .L., Rossi J .A .J. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American journal of enology and viticulture*. 16:144-58.
- Slika H., Mansour H., Wehbe N., Nasser S.A., Iratni R., Nasrallah G., Shaito A., Ghaddar T, Kobeissy F., Eid A.H.(2022).** Therapeutic potential of flavonoids in cancer: ROS-mediated mechanisms, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 146,112442. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112442>.
- Smaga I., Niedzielska E., Gawlik M., Moniczewski A., Krzek J., Przegaliński E., Pera J., Filip M. (2015).** Oxidative stress as an etiological factor and a potential treatment target of psychiatric disorders. Part 2. Depression, anxiety, schizophrenia and autism. *Pharmacol Reports*, 67, 569-580.
- Soto-Covasich J., Reyes-Farias M., Torres R. F., Vasquez K., Duarte L., Quezada J., Jimenez P., Pino M.T., Garcia-Nannig L., Mercado L., Garcia-Diaz D. F. (2020).** A polyphenol-rich Calafate (*Berberis microphylla*) extract rescues glucose tolerance in mice fed with cafeteria diet. *Journal of Functional Foods*, 67, 103856. Doi:10.1016/j.jff.2020.103856.
- Souadia A., Gourine N., Yousfi M. (2020).** Variability in phytochemical composition and antioxidant activity of *Saccocalyx satureioides* essential oils due to harvest period. *Journal of Herbs Spices & Medicinal Plants.*, 1–12. Doi:10.1080/10496475.2020.1749208.
- Spierto F. W ., MacNeil M .L ., Burtis C.A. (1979).** The effect of temperature and wavelength on the measurement of creatinine with the Jaffe procedure. *Clinical Chemistry*.12 (1):18-21.
- Su D., Wang X., Zhang W., Li P., Tang B. (2022).** Fluorescence imaging for visualizing the bioactive molecules of lipid peroxidation within biological systems. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 146, 116484. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116484>.
- Sultana B., Yaqoob S., Zafar Z., Bhatti H. N. (2018).** Escalation of liver malfunctioning: A step toward Herbal Awareness. *Journal of Ethnopharmacology*. 216., 104–119. Doi:10.1016/j.jep.2018.01.002.

- Sunmathi D., Sivakumar R., Ravikumar K. (2016).** *In vitro* anti-inflammatory and antiarthritic activity of ethanolic leaf extract of *Alternanthera sessilis* (L.) R. BR. ex DC and *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb. *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry*. 5:109–115.
- Sutti S., Rigamonti C., Vidali M., Albano E. (2014).** CYP2E1 autoantibodies in liver diseases. *Redox Biology*, 3, 72–78. Doi:10.1016/j.redox.2014.11.004.
- Suwal S., Marciniak A. (2019).** Technologies for the Extraction, Separation and Purification of polyphenols – A Review. *Nepal Journal of Biotechnology*, 6(1), 74–91. Doi:10.3126/njb.v6i1.22341.
- Swaminathan S., Ramachandran G. (2012).** Role of pharmacogenomics in the treatment of tuberculosis: a review. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*, 89. Doi:10.2147/pgpm.s15454.
- Szydłowska-Czeraniaka A., Dianoczki C., Recseg K., Karlovits G., Szlyk E.(2008).** Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta* . 76:899-905.
- Tasneem S., Liu B., Li B., Choudhary M. I., Wang W. (2018).** Molecular pharmacology of inflammation: medicinal plants as anti-inflammatory agents. *Pharmacological Research*. Doi:10.1016/j.phrs.2018.11.001.
- Tekulu G.H., Araya E.M., Mengesha H.G. (2019).** *In vitro* α -amylase inhibitory effect of TLC isolates of *Aloe megalacantha baker* and *Aloe monticola* Reynolds. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 19 (1), pp. 1-7.
- Tekulua G.H., Hilufa T., Brhanua H., Arayab E.M., Bitewa H., Hailea T. (2020).** Anti-inflammatory and anti-nociceptive property of *Capparis tomentosa* Lam. root extracts. *Journal of Ethnopharmacology*. 253 (2020) 112654. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112654>.
- Tesfaye A., Makonnen E., Gedamu S. (2016).** Hypoglycemic and antihyperglycemic activity of aqueous extract of *Justicia Schimperiana* leaves in normal and streptozotocin-induced diabetic mice. *International journal of pharmaceutical sciences and research*, 7 (2). pp. 110-113.
- Tétart F. (2020).** Hypersensibilités retardées aux antituberculeux. *Revue Française d'Allergologie*. Doi:10.1016/j.reval.2020.02.035.
- Thattakudian M.S., Uduman M.S., Sundarapandian R., Muthumanikkam A., Kalimuthu G., Parameswari S., Vasanthi Srinivas T.R., Karunakaran G. (2011).** Protective effect of methanolic extract of *Annona squamosa* Linn. In isoniazid-rifampicin induced hepatotoxicity in rats. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*. 24(2): 129-134.
- Tiberi S., Muñoz-Torrico, M., Duarte R., Dalcolmo M., D'Ambrosio, L., Migliori, G.-B. (2018).** New drugs and perspectives for new anti-tuberculosis regimens. *Pulmonology*, 24(2), 86–98. Doi:10.1016/j.rppnen.2017.10.009.
- Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarıkürkcü C., Öztürk M., Ulubelen A. (2007).** A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*.103:816–822. Doi: 10.1016/j.foodchem.2006.09.028.

- Touma Z., Urowitz M. B. (2021).** Chapter 63: Systemic glucocorticoids. Systemic Lupus Erythematosus, 597–609. Doi:10.1016/b978-0-12-814551-7.00063-5.
- Tuyiringire N., Deyno S., Weisheit A., Tolo C. U., Tusubira D., Munyampundu J.-P., Ogwang P.E., Muvunyi C.M., Heyden Y. V. (2020).** Three promising antimycobacterial medicinal plants reviewed as potential sources of drug hit candidates against multidrug-resistant tuberculosis. *Tuberculosis*. 101987. Doi:10.1016/j.tube.2020.101987.
- Uchiyama M., Mihara M. (1978).** Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thriarbituric acid test. *Analytical Biochemistry*, 86: 271-278.
- Ulubelen A., Doguc T. (1974).** Flavonoid compounds from the flowers of *Genista lydia*. *Planta Medica.*, 25(01). 39–42.
- Valduga A.T., Gonçalves I.L., Magria E., Roberto J., Finzer D. (2019).** Chemistry, pharmacology and new trends in traditional functional and medicinal beverages. *Food Research International*. Volume 120, Pages 478-503.
- Van Lith R., Ameer G. A. (2016).** Antioxidant Polymers as Biomaterial. *Oxidative Stress and Biomaterials*, 251–296. Doi:10.1016/b978-0-12-803269-5.00010-3.
- Venditti A., Frezza C., Foddai S., Serafini M., Bianco A. (2016).** A rare bis-rhamnopyranosyl-aromadendrin derivative and other flavonoids from the flowers of *Genista cilentina* Vals. an endemic species of Southern Italy. *Arabian Journal of Chemistry*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.02.012>.
- Verma P., Paswan S., Singh S.P., Shrivastva S., Rao C.V. (2015).** Assessment of hepatoprotective potential of *Solanum xanthocarpum* (whole plant) Linn. against isoniazid & rifampicin induced hepatic toxicity in *Wistar* rats. *Elixir Applied Botany*, 87(1) : 35578-35583.
- Videla L.A., Marimán A., Ramos B., Silva M.J, del Campo A. (2022).** Standpoints in mitochondrial dysfunction: Underlying mechanisms in search of therapeutic strategies, *Mitochondrion*, 63, 9-22, ISSN 1567-7249, <https://doi.org/10.1016/j.mito.2021.12.006>.
- Wali A.F, Avula B, Ali Z, Khan I.A, Mushtag A, Rehman M.U, Akbar, S., Masoodi, M.H. (2015).** Antioxidant, hepatoprotective potential and chemical profiling of propolis ethanolic extract from Kashmir Himalaya region using UHPLC-DAD-QToF-MS. *BioMed Research International* . 2015: 393462.
- Wallert M., Schmölz L., Galli F., Birringer M., Lorkowski S. (2014).** Regulatory metabolites of vitamin E and their putative relevance for atherogenesis. *Redox Biology*, 2, 495–503. Doi:10.1016/j.redox.2014.02.002.
- Wang J., Gao Y., Lin F., Han K., Wang X. (2019).** Omentin-1 attenuates lipopolysaccharide (LPS)-induced U937 macrophages activation by inhibiting the TLR4/MyD88/NF-κB signaling. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 108187. Doi:10.1016/j.abb.2019.108187.
- Wang P., Pradhan K., Zhong X., Ma X. (2016).** Isoniazid metabolism and hepatotoxicity. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 6(5), 384–392. Doi:10.1016/j.apsb.2016.07.014.

- Wenger C.** (1984). Alkaline phosphatase. Kaplan A et al. Clinical Chemistry. The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. *Princeton*, 1094-1098.
- Widmaier E.P., Raff H., Strang K.T.** (2013). Physiologie humaine les mécanismes du fonctionnement de l'organisme .Maloine ; 6 : 52-54.
- Wiegand M .J., Benton T .Z., Gilbert J. L.**(2019). A fluorescent approach for detecting and measuring reduction reaction byproducts near cathodically-biased metallic surfaces: Reactive oxygen species production and quantification. *Bioelectrochemistry*. 129: 235–241. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2019.05.020>.
- Williams B. S.** (2018). Nonopioid Analgesics. *Essentials of Pain Medicine*, 457–468.e2. Doi:10.1016/b978-0-323-40196-8.00051-6.
- Winqvist R. J., Gribkoff V. K.** (2020). Targeting putative components of the mitochondrial permeability transition pore for novel therapeutics. *Biochemical Pharmacology*, 113995. Doi:10.1016/j.bcp.2020.113995.
- Winter C. A., Risley E .A., Nuss G .W.** (1962). Carrageenin-induced oedema in hind paws of rats as an assay for anti-inflammatory drugs. *Society for Experimental Biology and Medicine*. 111:544-547.
- Wróblewska K. B., Baby A. R., Grombone Guaratini M. T., Moreno P. R. H.** (2019). *In vitro* antioxidant and photoprotective activity of five native Brazilian bamboo species. *Industrial Crops and Products*, 130, 208–215. Doi:10.1016/j.indcrop.2018.12.081.
- Wu G., Fang Y.-Z., Yang S., Lupton J. R., Turner N. D.** (2004). Glutathione Metabolism and Its Implications for Health. *The Journal of Nutrition*, 134(3), 489–492. Doi:10.1093/jn/134.3.489.
- Wu Z.-R., Bai Z.-T., Sun Y., Chen P., Yang Z.-G., Zhi D.-J., Li Y ., Wang X ., Du J.-J ., Yang R ., Cui P ., Zhang Y., Li H.-Y.** (2015). Protective effects of the bioactive natural product N-trans-Caffeoyldopamine on hepatotoxicity induced by isoniazid and rifampicin. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25(22), 5424–5426. Doi:10.1016/j.bmcl.2015.09.003.
- Xia M., Zhang Y., Jin K., Lu Z., Zeng Z., Xiong W.** (2019). Communication between mitochondria and other organelles: a brand-new perspective on mitochondria in cancer. *Cell & Bioscience* .9, 27. <https://doi.org/10.1186/s13578-019-0289-8>.
- Xiao M., Zhong H., Xia L., Tao Y., Yin H.** (2017). Pathophysiology of mitochondrial lipid oxidation: Role of 4-hydroxynonenal (4-HNE) and other bioactive lipids in mitochondria. *Free Radical Biology and Medicine*, 111, 316–327. Doi:10.1016/j.freeradbiomed.2017.04.363.
- Yamamoto M., Kensler T. W., Motohashi H.** (2018). The KEAP1-NRF2 System: a Thiol-Based Sensor-Effector Apparatus for Maintaining Redox Homeostasis. *Physiological Reviews*, 98(3), 1169–1203. Doi:10.1152/physrev.00023.2017.
- Yang H., Xuefeng Y., Shandong W., Jianhua X.** (2020). COX-2 in liver fibrosis. *Clinica Chimica Acta*. Doi:10.1016/j.cca.2020.03.024.

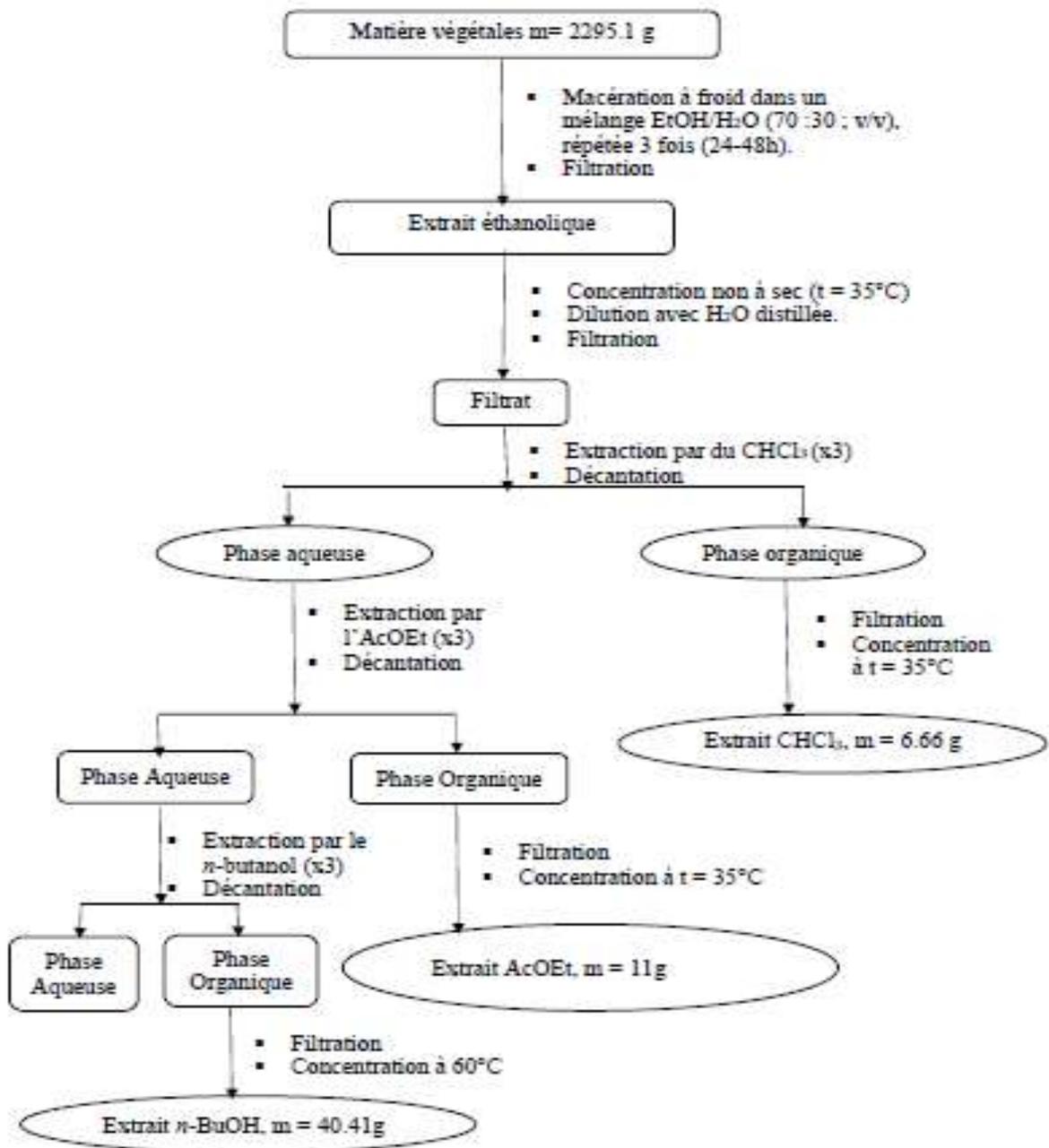
- Youn G.S., Lee K.W., Choi S.Y., Park J. (2016).** Overexpression of HDAC6 induces pro-inflammatory responses by regulating ROS-MAPK-NF- κ B/AP-1 signaling pathways in macrophages, *Free Radical Biology & Medicine*. 97, 14–23.
- Zama D., Meraihi Z., Tebibel S., Benayssa W., Benayache F., Benayache S., Vlietinck A.J. (2007).** Chlorpyrifos-induced oxidative stress and tissue damage in the liver, kidney, brain and fetus in pregnant rats: the protective role of the butanolic extract of *Paronychia argentea* L. *Indian Journal of Pharmacology*, 39(3):145–150. Doi: 10.4103/0253-7613.33434.
- Zeng Z., Zhang W., Ji Z., Yin Z., Wei J. (2019).** Magnetically enhanced electron transfer from immobilized galvinoxyl radicals. *Electrochemistry Communications*.99: 36–40.
- Zerroug M.M., Laouer H., Strange R.N., Nicklin J. (2011).**The Effect of Essential Oil of *Saccocalyx Satureioides* Coss. Et Dur. On the Growth of and the Production of Solanapyrone a by *Ascochyta Rabiei* (Pass.) Labr. *Advances in Environmental Biology*. 5(2): 501-506.
- Zhang H., Tsao R. (2016).** Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*, 8:33–42. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cofs.2016.02.002>.
- Zhang W., Feng C., Jiang H. (2020).** Novel Target for Treating Alzheimer’s Diseases: Crosstalk between the Nrf2 Pathway and Autophagy. *Ageing Research Reviews*, 101207. Doi:10.1016/j.arr.2020.101207.
- Zhang X., Mosser D.M. (2008).** Macrophage activation by endogenous danger signals, *Journal of pathology*. 214 (2), 161–178.
- Zhang Y., Qu X., Gao H., Zhai J., Tao L., Sun J., Song Y., Zhang, J. (2020).** Quercetin attenuates NLRP3 inflammasome activation and apoptosis to protect INH-induced liver injury via regulating SIRT1 pathway. *International Immunopharmacology*, 85, 106634. Doi:10.1016/j.intimp.2020.106634.
- Zhang Z., Song L., Zhu L., Sun S., Zheng G., Ren Q., Xiao Y., Feng F. (2016).** Mechanisms of Detoxification and Anti-Oxidation of Nrf2–ARE Pathway in Isonicotinic Acid Hydrazide-Induced Mouse Liver Injury. *Journal of health & medical informatics*. 07 (02), 1-6. <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7420.1000221>.
- Zheng Y., Xie Q., Wang H., Hu Y., Ren B., Li X. (2020).** Recent advances in plant polysaccharide-mediated nano drug delivery systems. *International Journal of Biological Macromolecules*. Doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.10.173.
- Zhong H., Yin H. (2015).** Role of lipid peroxidation derived 4-hydroxynonenal (4-HNE) in cancer: Focusing on mitochondria. *Redox Biology*, 4, 193–199. Doi:10.1016/j.redox.2014.12.011.
- Ziani B. E. C., Barros L., Boumehira A. Z., Bachari K., Heleno S. A., Alves M. J., Ferreira I. C. F. R. (2018).** Profiling polyphenol composition by HPLC-DAD-ESI/MSn and the antibacterial activity of infusion preparations obtained from four medicinal plants. *Food & Function*., 9(1). Doi: 10.1039/c7fo01315a.

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ziani B. E. C., Calhelha R. C., Barreira J. C. M., Barros L., Hazzit M., Ferreira I. C. F. R. (2015). Bioactive properties of medicinal plants from the Algerian flora: Selecting the species with the highest potential in view of application purposes. *Industrial Crops and Products*, 77, 582–589. Doi:10.1016/j.indcrop.2015.09.034.



ANNEXES

1. Préparation des extraits *n*-butanolFigure 1 : Macération et extraction de la plante *Saccocalyx satureioides*

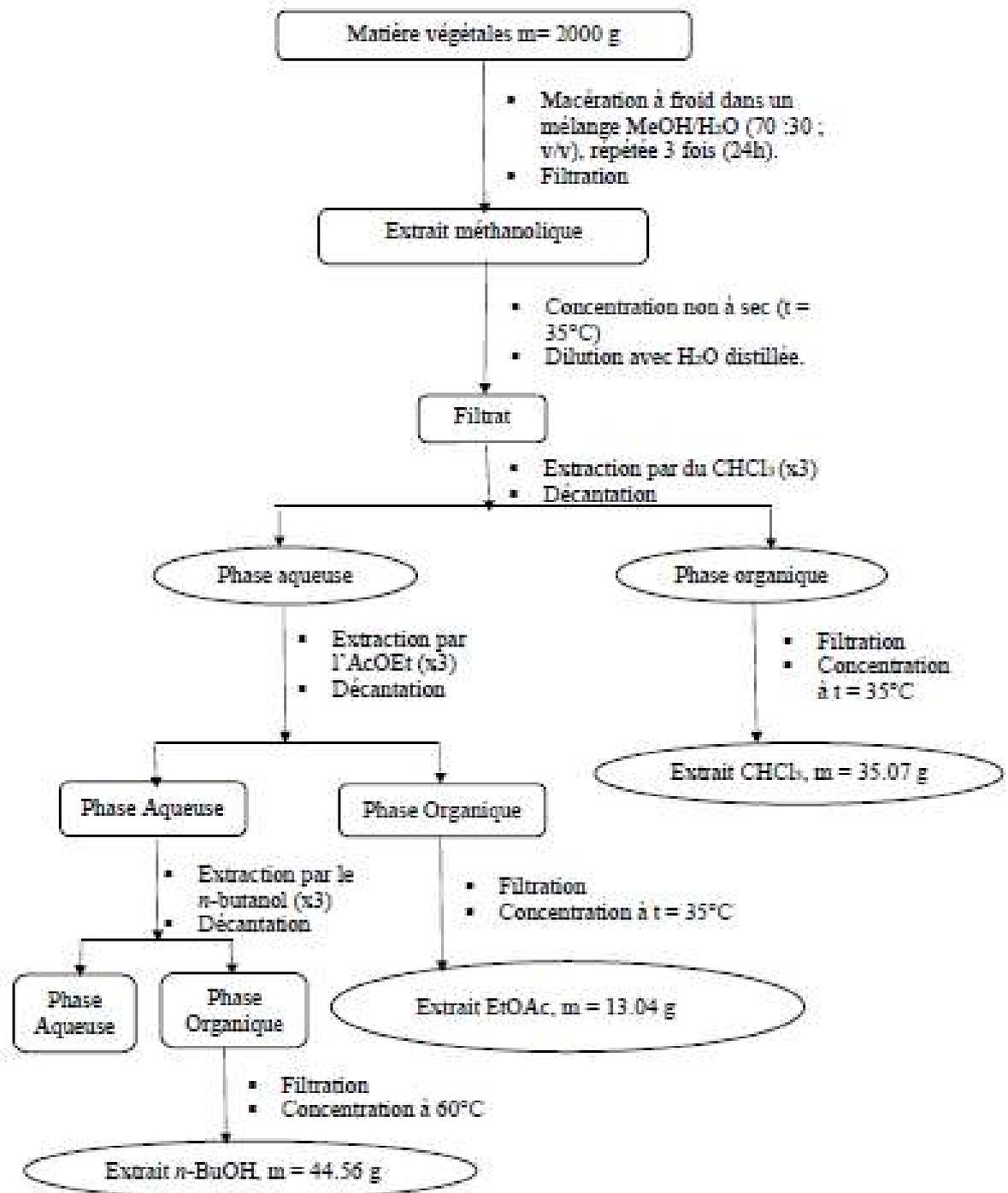


Figure 2 : Macération et extraction de la plante *Genista vepres* Pomel

2. Les courbes d'étalonnage et coefficients de corrélation de Pearson (r^2)

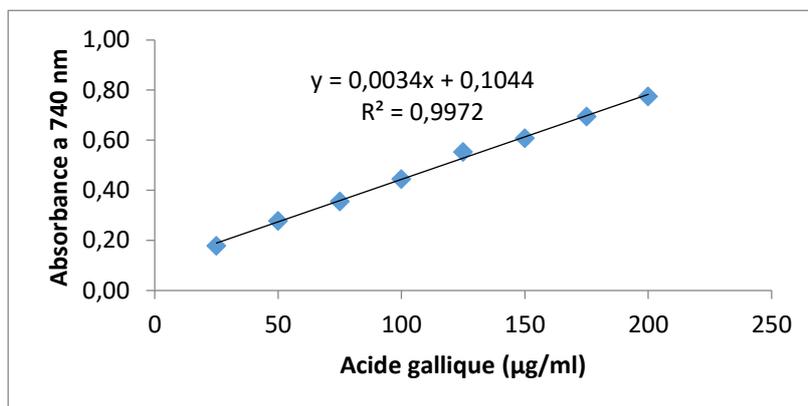


Figure 3 : Courbe d'étalonnage du dosage des polyphénols totaux (l'acide gallique comme un standard) (Moyenne de 3 essais)

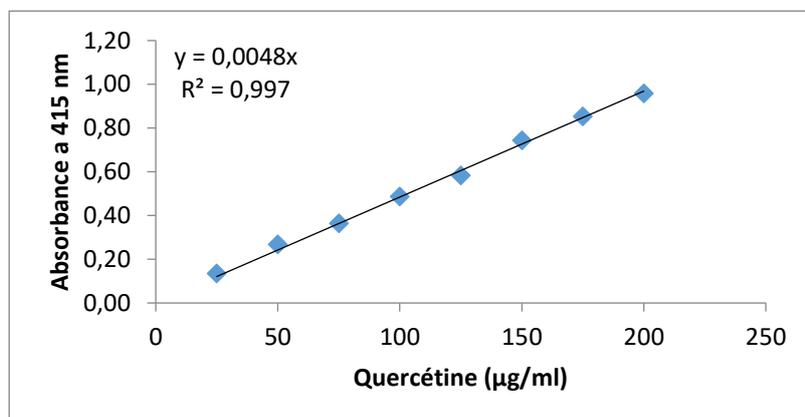


Figure 4 : Courbe d'étalonnage du dosage des flavonoïdes totaux (la quercétine comme un standard) (Moyenne de 3 essais)

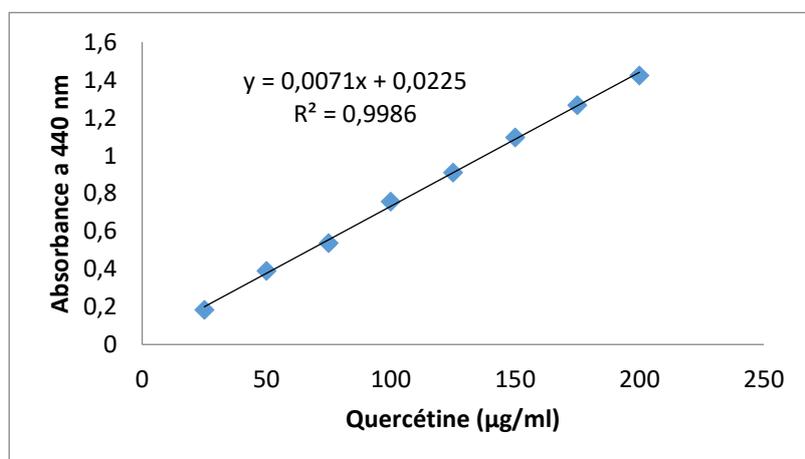


Figure 5 : Courbe d'étalonnage du dosage de la teneur en flavonols (la quercétine comme un standard) (Moyenne de 3 essais)

Tableau 1 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques du foie et les paramètres de statut oxydant/antioxydant de groupe traité par l'extrait *n*-BuOH de la plante *S. satureioides* Coss. et Dur (50 mg/kg), INH (75 mg/kg) et RIF (150 mg/kg) pendant 7 jours

	AST	ALT	TRI	CHOL	MDA	GSH	GPx	CAT
AST	1							
ALT	0.649	1						
TRI	0.902*	0.842	1					
CHOL	0.933*	0.937	0.892*	1				
MDA	0.856	0.983*	0.924*	0.968**	1			
GSH	-0.9926***	-0.688	-0.896*	-0.953*	-0.883*	1		
GPx	-0.834	-0.971*	-0.965**	-0.921*	-0.981**	0.849	1	
CAT	-0.9484*	-0.578	-0.882*	-0.881*	-0.831	0.968**	0.812	1

Les valeurs sont significativement différentes (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ et *** $p < 0.001$) par coefficient de corrélation de Pearson.

Tableau 2 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques du foie et les paramètres de statut oxydant/antioxydant de groupe traité par l'extrait *n*-BuOH de la plante *S. satureioides* Coss. et Dur (100 mg/kg), INH (75 mg/kg) et RIF (150 mg/kg) pendant 7 jours

	AST	ALT	TRI	CHOL	MDA	GSH	GPx	CAT
AST	1							
ALT	0.952*	1						
TRI	0.888	0.924	1					
CHOL	0.993**	0.963*	0.937	1				
MDA	0.919	0.820	0.904	0.939	1			
GSH	-0.913	-0.867	-0.968**	-0.949	-0.984*	1		
GPx	-0.977*	-0.958*	-0.866	-0.96*	-0.813	0.888*	1	
CAT	-0.797	-0.880	-0.983*	-0.863	-0.823	0.912	0.727	1

Les valeurs sont significativement différentes (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ et *** $p < 0.001$) par coefficient de corrélation de Pearson.

Tableau 3 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques du foie et les paramètres de statut oxydant/antioxydant de groupe traité par Vitamine E (100 mg/kg), INH (75 mg/kg) et RIF (150 mg/kg) pendant 7 jours

	AST	ALT	TRI	CHOL	MDA	GSH	GPx	CAT
AST	1							
ALT	0.928	1						
TRI	0.980*	0.985**	1					
CHOL	0.780	0.969**	0.959**	1				
MDA	0.768	0.974**	0.935*	0.983*	1			
GSH	-0.861	-0.845	-0.901*	-0.693	-0.722	1		
GPx	-0.989*	-0.955*	-0.948*	-0.857	-0.871	0.943*	1	
CAT	-0.923	-0.919*	-0.879*	-0.796	-0.850	0.955*	0.970**	1

Les valeurs sont significativement différentes (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ et *** $p < 0.001$) par coefficient de corrélation de Pearson.

Tableau 4 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques des reins et les paramètres de statut oxydant/antioxydant de groupe traité par l'extrait *n*-BuOH de la plante *S. satureioides* Coss. et Dur (50 mg/kg), INH (75 mg/kg) et RIF (150 mg/kg) pendant 7 jours

	Urée	Créa	A urique	MDA	GSH	GPx	CAT
Urée	1						
Créa	0.982	1					
A urique	0.902	0.862	1				
MDA	0.997	0.963	0.864	1			
GSH	-1	-0.982	-0.902	-0.997	1		
GPx	-0.995	-0.964*	-0.755	-1**	0.995	1	
CAT	-0.994	-0.970*	-0.862	-0.999*	0.994	0.971**	1

Les valeurs sont significativement différentes (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ et *** $p < 0.001$) par coefficient de corrélation de Pearson.

Tableau 5 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques des reins et les paramètres de statut oxydant/antioxydant de groupe traité par l'extrait *n*-BuOH de la plante *S. satureioides* Coss. et Dur (100 mg/kg), INH (75 mg/kg) et RIF (150 mg/kg) pendant 7 jours

	Urée	Créa	A. urique	MDA	GSH	GPx	CAT
Urée	1						
Créa	1	1					
A. urique	0.979	1	1				
MDA	0.756	1	0.984**	1			
GSH	-0.803	-1	-0.889*	-0.902*	1		
GPx	-0.983	-1	-0.860	-0.868	0.926*	1	
CAT	-0.953	-1	-0.989*	-0.962*	0.973*	0.969*	1

Les valeurs sont significativement différentes (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ et *** $p < 0.001$) par coefficient de corrélation de Pearson.

Tableau 6 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques des reins et les paramètres de statut oxydant/antioxydant de groupe traité par Vitamine E (100 mg/kg), INH (75 mg/kg) et RIF (150 mg/kg) pendant 7 jours

	Urée	Créa	A urique	MDA	GSH	GPx	CAT
Urée	1						
Créa	0.918	1					
A urique	0.971*	0.924	1				
MDA	0.941	0.605	0.911	1			
GSH	-0.886	-0.998*	-0.927	-0.707	1		
GPx	-0.965*	-0.940	-0.999***	-0.893	0.956*	1	
CAT	-0.962	-0.991	-0.966	-0.704	0.983	0.977	1

Les valeurs sont significativement différentes (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ et *** $p < 0.001$) par coefficient de corrélation de Pearson.

Tableau 7 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques du foie et les paramètres de statut oxydant/antioxydant de groupe traité par l'extrait *n*-BuOH de la plante *G. vepres* Pomel (50 mg/kg), INH (100 mg/kg) et RIF (100 mg/kg) pendant 21 jours

	AST	ALT	ALP	GGT	TRI	CHOL	MDA	GSH	GPx	CAT
AST	1									
ALT	0.693	1								
ALP	0.831	0.274	1							
GGT	0.693	1	0.274	1						
TRI	0.679	0	0.961*	0	1					
CHOL	0.801	0.289	0.992**	0.289	0.943	1				
MDA	0.843	0.226	0.976**	0.226	0.966*	0.955*	1			
GSH	-0.855	-0.675	-0.910*	-0.675	-0.675	-0.880	-0.870	1		
GPx	-0.919	-0.377	-0.980**	-0.377	-0.912	-0.942	-0.991***	0.903*	1	
CAT	-0.857	-0.326	-0.996***	-0.326	-0.944	-0.992**	-0.985**	0.928*	0.988**	1

Les valeurs sont significativement différentes (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ et *** $P < 0.001$) par coefficient de corrélation de Pearson.

Tableau 8 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques du foie et les paramètres de statut oxydant/antioxydant de groupe traité par l'extrait *n*-BuOH de la plante *G.vepres* Pomel (100 mg/kg), INH (100 mg/kg) et RIF (100 mg/kg) pendant 21 jours

	AST	ALT	ALP	GGT	TRI	CHOL	MDA	GSH	GPx	CAT
AST	1									
ALT	0.823	1								
ALP	0.983*	0.705	1							
GGT	-0.730	-0.977*	-0.600	1						
TRI	0.813	0.581	0.816	0.312	1					
CHOL	0.944	0.959*	0.870	-0.915	0.672	1				
MDA	0.935	0.763	0.913	-0.616	0.961*	0.850	1			
GSH	-0.927	-0.902	-0.859	-0.020	-0.833	-0.930	-0.964*	1		
GPx	-0.971*	-0.670	-0.997**	0.262	-0.876	-0.849	-0.882	0.798	1	
CAT	-0.878	-0.638	-0.881	0.465	-0.992**	-0.743	-0.984*	0.906	0.851	1

Les valeurs sont significativement différentes (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ et *** $p < 0.001$) par coefficient de corrélation de Pearson.

Tableau 9 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques du foie et les paramètres de statut oxydant/antioxydant de groupe traité par Vitamine E (100 mg/kg), INH (100 mg/kg) et RIF (100 mg/kg) pendant 21 jours

	AST	ALT	ALP	GGT	TRI	CHOL	MDA	GSH	GPx	CAT
AST	1									
ALT	0.933	1								
ALP	0.929	0.938	1							
GGT	0.884	0.961*	0.811	1						
TRI	0.931	0.988*	0.885	0.990**	1					
CHOL	0.940	0.955*	0.999**	0.841	0.908	1				
MDA	0.982*	0.951*	0.982*	0.860	0.923	0.987*	1			
GSH	-0.967*	-0.988*	-0.916	-0.966**	-0.993**	-0.936	-0.958*	1		
GPx	-0.850	-0.977*	-0.932	-0.909	-0.942	-0.945	-0.906	0.931	1	
CAT	-0.955	-0.753	-0.984	-0.615	-0.714	-0.964	-0.970	0.813	0.615	1

Les valeurs sont significativement différentes (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ et *** $p < 0.001$) par coefficient de corrélation de Pearson.

Tableau 10 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques des reins et les paramètres de statut oxydant/antioxydant de groupe traité par l'extrait *n*-BuOH de la plante *G. vepres* Pomel (50 mg/kg), INH (100 mg/kg) et RIF (100 mg/kg) pendant 21 jours

	Urée	Créa	A urique	MDA	GSH	GPx	CAT
Urée	1						
Créa	0.999*	1					
A urique	-0.352	-0.682	1				
MDA	0.879	0.871	0.137	1			
GSH	-0.824	-0.814	-0.241	-0.994	1		
GPx	-0.999*	-0.986*	0.704	-0.871	0.814	1	
CAT	-0.950	-0.965*	0.469	-0.984	0.960	0.954*	1

Les valeurs sont significativement différentes (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ et *** $p < 0.001$) par coefficient de corrélation de Pearson.

Tableau 11 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques des reins et les paramètres de statut oxydant/antioxydant de groupe traité par l'extrait *n*-BuOH de la plante *G.vepres* Pomel (100 mg/kg), INH (100 mg/kg) et RIF (100 mg/kg) pendant 21 jours

	Urée	Créa	A urique	MDA	GSH	GPx	CAT
Urée	1						
Créa	0.881*	1					
A urique	0.975*	0.751	1				
MDA	0.921*	0.925*	0.960*	1			
GSH	-0.990***	-0.825	-0.974*	-0.884*	1		
GPx	-0.878*	-0.753	-0.863	-0.905*	0.837	1	
CAT	-0.711	-0.454	-0.819	-0.946	0.755	0.705	1

Les valeurs sont significativement différentes (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ et *** $p < 0.001$) par coefficient de corrélation de Pearson.

Tableau 12 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques des reins et les paramètres de statut oxydant/antioxydant de groupe traité par Vitamine E (100 mg/kg), INH (100 mg/kg) et RIF (100 mg/kg) pendant 21 jours

	Urée	Créa	A urique	MDA	GSH	GPx	CAT
Urée	1						
Créa	0.866	1					
A urique	0.997*	0.901	1				
MDA	0.751	0.980*	0.798	1			
GSH	-0.971	-0.962*	-0.986	-0.927	1		
GPx	-0.596	-0.951*	-0.655	-0.986*	0.854	1	
CAT	-0.693	-0.961	-0.746	-0.997	0.846	0.992	1

Les valeurs sont significativement différentes (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ et *** $p < 0.001$) par coefficient de corrélation de Pearson.

Communications et publications

Communications internationales

Communications affichées :

- **Lamia Zehani**, Nesrine Sfaksi, Somia Lassed, Amina Maya Lahneche, Sabrina Bicha, Fadila Benayache, Samir Benayache, Zama Djamila. Evaluation of total phenols and flavonoids contents and *in vitro* antioxidant activity of *Volutaria sp.* VI^{ème} congrès international de Biotechnologie et valorization des Bioressources, organisé par L'AT-BVBR du 20 au 23 Mars 2018 à Tabarka-Tunisie.
- **Lamia Zehani**, Wafa Kerkatou, Somia Lassed, Farouk Merouani, Nour el-houda Bekhouche, Nour el-Imene Benghelib, Ouahiba Boumaza, Fadila Benayache, Samir Benayache, Zama Djamila. Isoniazid and rifampicin-Induced Hepatic Dysfunction in *Wistar Albinos* Rats and Protective potential of *n*-butanol extract of *Genista sp.* Séminaire international des sciences alimentaires, SISA 15-16 Octobre, 2018.
- Meriem Laraba, Hanene Belbache, Chawki Bensouici, **Lamia Zehani**, Nassima Boubekri, Fadila Benayache, Samir Benayache, Djamila Zama. Evaluation of dermatoprotective and antioxidant Activities of *n*-butanol extract of *Moricandia sp.* 1st International conference Biodiversity at the service of biotechnologies March 9 and 10, 2020. Boussouf University Center - Mila, Algeria.

Communications orales :

- **Lamia Zehani**, Wafa Kerkatou, Somia Lassed, Farouk Merouani, Ouahiba Boumaza, Fadila Benayache, Samir Benayache, Djamila Zama. *In vitro* antioxidant and membrane stabilizing activities of *n*-butanol extract of an endemic plant of Fabaceae family. 7^{èmes} Journées Internationales Scientifiques de l'ATT. Monastir du 27 au 29 Avril 2018 At: Monastir Tunisie.
- Farouk Merouani, Hamza Fadel, **Lamia Zehani**, Nour El-Imen, Benghelib, Nour El-Houda Bekhouche, Somia Lassed, Fadila Benayache, Samir Benayache, Djamila Zama. *In vitro* antioxidant and modulations of *n*-butanol

extract of *Pulicaria sp* on Ethanol-induced liver injury and impaired the liver function in rats. 7èmes Journées Internationales Scientifiques de l'ATT. Monastir du 27 au 29 Avril 2018 At : Monastir Tunisie.

- **Lamia Zehani**, Sabrina Mohamadi, Souad Hamdouche, Redouane Bouldjedj, Meriem Laraba, Fadila Benayache, Samir Benayache, Djamila Zama. *In vitro* antioxidant and protective effect of *Saccocalyx sp* on rifampicin-isoniazid induced hepatotoxicity in rats. 1st International conference Biodiversity at the service of biotechnologies March 9 and 10, 2020. A. Boussouf University Center in Mila, Alegria.

Communications Nationales

Communications affichées:

- **Lamia Zehani**, Wafa Kerkatou, Somia Lassed, Ouahiba Boumaaza, Nour El-Imen Benghelib, Nour El-Houda Bekhouche, Farouk Merouani, Fadila Benayache, Samir Benayache, Djamila Zama. Total phenolic and flavonoid contents, *in vitro* antioxidant of *n*-butanol extract of *Genista sp*. Journées d'étude sur les opportunités d'investissement dans le secteur des forêts. Le 12 et 13 mai 2018.

Publication

- **Zehani Lamia** , Kerkatou Wafa , Hamdouche Souad , Lassed Somia, Boumaza Ouahiba, Benayache Fadila , Benayache Samir and Zama Djamila *, Protective Effect of Algerian *Genista vepres* Pomel Plant Against Isoniazid and Rifampicin Induced Liver Injury in *Wistar Albino Rats*, *Current Bioactive Compounds* 2022; 18(4) : e161221196723 .
<https://dx.doi.org/10.2174/1573407217666210922113300>.

RESEARCH ARTICLE

Protective Effect of Algerian *Genista vepres* Pomel Plant Against Isoniazid and Rifampicin Induced Liver Injury in *Wistar Albino* Rats

Lamia Zehani^{1,2}, Wafa Kerkatou², Souad Hamdouche³, Somia Lassed⁴, Ouahiba Boumaza², Fadila Benayache², Samir Benayache² and Djamila Zama^{2,*}

¹Département de Biologie Animale, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Frères Mentouri Constantine 1, Route d'Aïn El Bey, 25000 Constantine, Algérie; ²Unité de Recherche: Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et Analyses Physicochimiques et Biologiques (VARENBIOMOL), Université Frères Mentouri Constantine 1, Route d'Aïn El Bey, 25000 Constantine, Algérie; ³Laboratoire de cytologie anatomique et pathologique, Centre hospitalo-universitaire, 25000 Constantine, Algérie; ⁴Département de Microbiologie et Biochimie, Université Mostefa Ben Boulaïd, Batna 2, 53 Route de Constantine, Fesdis, 05078 Batna, Algérie

Abstract: Background: The aim of the present study is to evaluate the protective effect of *n*-BuOH fraction of *Genista vepres* Pomel and Vitamin E against Isoniazid and Rifampicin (INH-RIF)-induced liver injury.

Methods: Male *Wistar Albino* rats were divided into eight equal groups treated with plant fraction (50 mg/kg, 100 mg/kg), vitamin E (100 mg/kg) and INH-RIF (100 mg/kg body weight /day each). At the end of the experiment, animals were dissected and samples (blood, liver tissue) were removed and isolated for biochemical and histological studies.

Results: Administration of INH-RIF for 21 days resulted in hepatic failure as evidenced by the elevation of biochemical parameters levels and hepatic oxidative stress, which was associated with extensive hepatic parenchyma alteration. The pretreatment of the rat with *G. vepres* Pomel attenuated the increase of hepatic dysfunction markers, significantly decreased the level of malondialdehyde (MDA), and increased GSH level, GPx and catalase activities compared to INH-RIF treated group. However, the Vitamin E co-treatment decreased MDA level and increased GPx activity but did not show any effect on catalase or GSH parameters. The histopathological studies on the liver of rats also supported that both plant fraction and vitamin E markedly reduced the toxicity of INH-RIF and preserved the histoarchitecture of liver tissue.

Conclusion: The results suggested that the *n*-BuOH fraction of *G. vepres* Pomel acts as a potent hepatoprotective agent against INH-RIF-induced Hepatic dysfunction in rats.

Keywords: *Genista vepres* Pomel, isoniazid, rifampicin, liver injury, lipid peroxidation, hepatoprotective effect.

1. INTRODUCTION

Tuberculosis (TB) is the most common respiratory transmitted infectious disease and is the ninth leading cause of death worldwide [1]. First-line essential anti-tuberculosis drugs (ATDs) isoniazid, rifampin, ethambutol, pyrazinamide and streptomycin are the most effective and are necessary components of any short-course therapeutic regimen [2]. In the body, ATDs cause different simple and significant adverse reactions; the fatal one is hepatotoxicity [3]. They get metabolized in the liver and produce various toxic reactive metabolites such as hydrazine, which form highly reactive

oxygen species that act as stimulators of lipid peroxidation and disturbance in antioxidant defense system resulting in cell death [4]. Recently, plants have been the subject of numerous therapeutic studies since plants are a natural source of antioxidants and thus reduce oxidative stress [5].

In the Mediterranean region and Western Asia, the genus *Genista* (Fabaceae family) contains around 90 species of shrubs or small trees, 23 of which grow in Algeria [6]. This genus is recognized as an important source of secondary active metabolites [7-10], which offers a wide spectrum of biological and pharmacological properties, such as anti-inflammatory [10], antioxidant [11], antiproliferative [12] and antimicrobial activities [13, 14]. *Genista vepres* Pomel is trifoliate, having very thorny shrubs that are endemic species of northeastern Algeria, where they grow in forests and rocky hills on well-watered siliceous land. Flowering occurs from May to June [15].

* Address correspondence to this author at the Unité de Recherche: Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et Analyses Physicochimiques et Biologiques (VARENBIOMOL), Université Frères Mentouri Constantine 1, Route d'Aïn El Bey, 25000 Constantine, Algérie; Tel: 0776342823; E-mail: atrrouzi@umc.edu.dz

Apart from a study carried out on its essential oils [15], phytochemical and biological data on this endemic Algerian species are not yet available to date. Even for its *n*-BuOH fraction, there is no literature regarding any activity. Therefore, the current study examined the hepatoprotective effect of *n*-BuOH fraction of *Genista vepres* Pomel against hepatic dysfunction induced by Isoniazid and Rifampicin in *Wistar Albino* rats.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Drugs and Chemicals

INH and RIF used for the experiments were obtained from the central pharmacy, CHU Benbadis Constantine.

2.2. Plant Material and Extraction

2.2.1. Plant material

Aerial parts of *Genista vepres* Pomel (synonym *Genista kabylica* Cosson), were collected in June 2016 from the Medea area in Algeria and authenticated by Professor Hocine Laouer (Ferhat Abbas University, Setif 1, Algeria) according to Quezel and Santa [16].

2.2.2. Extraction and Isolation

Air-dried aerial parts (2000 g) were macerated at room temperature with MeOH–H₂O (70:30, v/v) for 24 h, three successive times. The filtrates were combined, concentrated under reduced pressure (up to 35°C), dissolved in distilled H₂O (800 mL) under magnetic stirring, and maintained at 4°C for one night to precipitate a maximum of chlorophylls. After filtration, the resulting solution was successively extracted with CHCl₃, EtOAc, and *n*-BuOH. The organic phases were dried with Na₂SO₄, filtered using a common filter paper, and concentrated a vacuum up to 35°C to obtain the following extracts: CHCl₃ (35.07 g), EtOAc (13.04 g), and *n*-BuOH (44.56 g).

2.3. Animal Care and Experimental Design

2.3.1. Animal Care

The animals used in this experiment are adult male rats of the *Wistar Albino* race, weighing (170–200 g), generated by breeding in the animal house of the Faculty of Natural Sciences and Life, Frères Mentouri University Constantine 1. Animals were housed in plastic cages, with controlled laboratory conditions of light/dark cycle (12 h/12 h), temperature (22±2°C), and relative humidity, with food and tap water. The Institutional Animal Ethical Committee authorized the study protocol. Rats were housed four per cage. Rats were randomly divided into 8 groups (8 animals in each group). Group 1, non-treated, served as control. Group 2 and group 3 received plant fraction (50 and 100 mg/kg, respectively). The rats of group 4 received Vitamin E (100 mg/kg). Group 5 was treated with Isoniazid (100 mg/kg) and Rifampicin (100 mg/kg). Groups 6, 7 and 8 received plant fraction (50 and 100 mg/kg), vitamin E (100 mg/kg), 1 hour

pease complete the synthesis before treatment with INH (100 mg/kg) and RIF (100 mg/kg), respectively. All previous treatments were given daily for 3 weeks by gavages to experimental animals. After treatment, blood samples collected in heparin tubes, were centrifuged to obtain serum for analysis of biochemical parameters. The rats were sacrificed, then livers were isolated to measure the levels of antioxidant enzymes, MDA and to realize histopathological studies.

2.3.2. Experimental Design

a. Assessment of Biochemical Markers

Levels of various liver marker enzymes such as alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), gamma-glutamyl transferase (GGT), triglyceride, and cholesterol were determined in the serum using the commercial assay kits (*Spinreact, Spain*). The results are expressed as an international unit/liter (I-U/L).

b. Assessment of Hepatic Oxidative Stress Parameters

• Preparation of tissue homogenate

Livers were perfused with ice NaCl 0.9% solution to remove blood cells. After blotted on filter paper, they were weighed, and homogenized in ice-cold KCl 1.015%. The homogenization procedure was performed under standardized conditions. The supernatant tissue from centrifuged homogenates (20%) was kept on ice until assayed or conserved in a freezer (-80°C).

• Lipid peroxidation estimation

Lipid peroxidation (LPO) was evaluated using the Uchiyama and Mihara colorimetric method by measuring malondialdehyde (MDA) [17]. Two aqueous solutions [3 mL of phosphoric acid (1%) and 1 mL of TBA, (0.67%)] were added to 0.5 mL of live heated for 45 min, and then cooled at room temperature. Then 4 mL of *n*-butanol was added and mixed vigorously. After centrifugation, the absorbance was measured (532 nm). MDA was used as a standard.

• Estimation of reduced glutathione level

Reduced glutathione (GSH) content in the liver was measured using Elman's reagent according to the method described by Elman in 1959 [18], which is based on the reactive cleavage of DTNB by sulfhydryl groups to yield a yellow color with maximum absorbance at 412 nm against reagent blank.

• Estimation of Glutathione peroxidase (GPx) activity

GPx activity in the liver was measured according to the Flohe and Gunzler technique outlined in 1984 [19]. Briefly, 0.2 mL supernatant obtained from the liver's tissue, 0.4 mL of GSH (0.1 mM), and 0.2 mL of TBS solution (Tris 50 mM, NaCl 150 mM PH 7.4) were added to the tubes and mixed. After 5 min incubation at 25°C, 0.2 mL of H₂O₂ (1.3 mM) was added to the mixture. The reaction stopped after

10 min by the addition of 1 mL TCA 1%; then the tubes were maintained at 0-5°C in an ice bath for 30 min. After centrifugation, 2.2 mL TBS solution and 0.32 mL DTNB (1 mM) were added to 0.48 mL supernatant. After 5 min, the optical density was measured at 412 nm.

• Measurement of catalase activity

Liver catalase activity was determined using the method of Claiborne [20]. The homogenate was centrifuged at 10000 rpm for 45 min at 4°C; the final supernatant is the source used for the evaluation of the activity of catalase. The disappearance of H₂O₂ was determined spectrophotometrically at 240 nm. Total protein concentration was calorimetrically measured using the Koller method in order to express the antioxidant enzyme (GPx, catalase) activity per gram of protein [21].

c. Histological studies

Immediately after the sacrifice of rats, liver samples were removed and fixed in 10% formalin. The tissues were kept in the fixative for 12 h, dehydrated with serial ethanol cycles (70% to absolute), and then embedded in paraffin. The paraffin-embedded tissue was cut into 5 µm sections and stained with hematoxylin and eosin.

d. Statistical analysis

The data are presented as mean ±SEM. Assessment of these results was performed using a *t*-test. Correlations between data were calculated using Pearson's correlation coefficients (*r*²). Statistical analyses were performed with Graph Pad Prism 5 software. A difference was considered statistically significant, *p* < 0.05.

3. RESULTS

3.1. Liver Function Marker Enzymes

As shown in Fig. (1A-D), the administration of toxic dose of INH (100 mg/kg) and RIF (100 mg/kg) during 21 days induced a very highly significant increase (*p* < 0.001) in liver enzymes (AST = 27.05%, ALT = 36.10%, ALP = 57.01% and GGT = 72.73%) compared to the control group. Positive correlations were found between increased levels of these liver enzymes (*r*² = 0.618 - 0.978). Furthermore, INH-RIF treatment caused a significant increase in cholesterol and triglyceride serum levels (22.75%, 38.13%) compared to the control group (Fig. 1E, 1F). A positive correlation was found between the increased triglycerides and cholesterol levels (*r*² = 0.911) (Table 1).

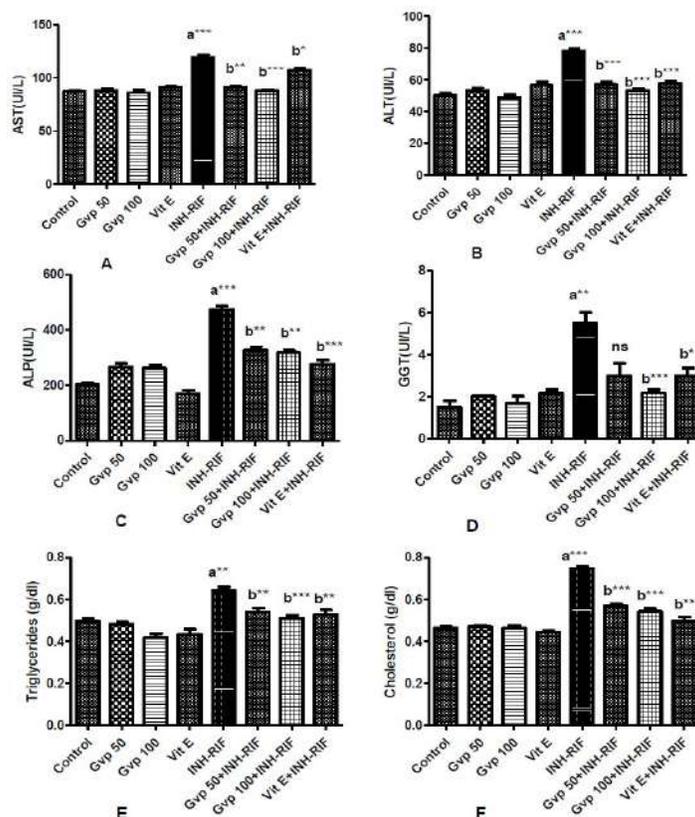


Fig. (1). Effect of INH-RIF (100 mg/kg each), Vitamin E (100 mg/kg) and *n*-butanol fraction of *Genista vepres* Pomel (50 mg/kg, 100 mg/kg) on (A) Aspartate transaminase (AST); (B) Alanine transaminase (ALT); (C) Alkaline phosphatase (ALP); (D) Gamma-glutamyl transferase (GGT); (E) Triglycerides levels and (F) Cholesterol in experimental rats. Data are reported as means ± SEM. (**p* < 0.05; ***p* < 0.01; ****p* < 0.001). ns: non-significant. a: compared to control group, b: compared to INH-RIF group.

Table 1. Pearson correlation coefficients (r^2) between the biochemical parameters and the parameters of oxidant / antioxidant status of the group treated with INH (100 mg / kg) and RIF (100 mg / kg) for 21 days.

-	AST	ALT	ALP	GGT	TRI	CHOL	MDA	GSH	GPx	CAT
AST	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ALT	0.618	1	-	-	-	-	-	-	-	-
ALP	0.737	0.978*	1	-	-	-	-	-	-	-
GGT	0.957*	0.816	0.888	1	-	-	-	-	-	-
TRI	0.916	0.666	0.807	0.889	1	-	-	-	-	-
CHOL	0.971*	0.440	0.596	0.863	0.911	1	-	-	-	-
MDA	0.866	0.764	0.882	0.887	0.966**	0.833	1	-	-	-
GSH	-0.304	0.181	0.192	-0.204	0.123	-0.286	0.170	1	-	-
GPx	-0.999***	-0.588	-0.710	-0.945	-0.881*	-0.978*	-0.760	0.254	1	-
CAT	-0.989*	-0.511	-0.635	-0.913	-0.862	-0.978*	-0.790	0.419	0.994**	1

The values are significantly different (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$) by Pearson's correlation coefficient. TRI, Triglycerides; CHOL, Cholesterol; CAT, catalase enzyme activity.

In the same context, the co-treatment with both doses (50 and 100 mg/kg) of *n*-BuOH fraction of *G. vepres* Pomel during 21 days, significantly decreased liver enzymes levels (AST = 23.69 and 26.20%, ALT = 27.16 and 31.95%, and ALP = 31.20 and 33.02%) compared to the poisoned group. However, a significant reduction in GGT levels was observed in rats pretreated with *n*-BuOH fraction at 100 mg/kg (60.61%). However, there were no significant decrease in GGT level in rats pretreated (50 mg/kg) compared to INH-RIF treated rats. The protective effect of *G. vepres* Pomel was compared to that of vitamin E in the same experiment; the co-treatment with vitamin E at 100 mg/kg during 21 days significantly decreased liver enzymes levels. Vitamin E showed a stronger correlation between decreased levels of these liver enzymes ($r^2 = 0.811 - 0.961^*$).

In addition, the two doses (50 and 100 mg/kg) of *n*-BuOH fraction and vitamin E (100 mg/kg) were effective in normalizing the lipid profile by significantly lowering triglycerides (16.5%, 20.81% and 17.70%, respectively) and cholesterol levels (23.75%, 27.42%, and 33.44%) respectively compared to the INH-RIF group (Fig. 1E, 1F). A positive association was found between reduced levels of these liver parameters with strong bonds after the co-treatment with both plant's doses and vitamin E.

3.2. Hepatic Oxidative Stress Parameters

The administration of INH-RIF at 100 mg/kg each induced a very highly significant increase ($p < 0.001$) in lipid peroxidation in the liver tissue (83.99%) compared to control. While the co-treatment with *n*-BuOH fraction (50; 100 mg/kg) and vitamin E (100 mg/kg) produced a very highly significant decrease ($p < 0.001$) in lipid peroxidation in the liver (53.11, 57.89 and 63.35%) compared to INH-RIF group (Fig. 2A).

As shown in Fig. (2B-2D), a very highly significant decrease in the antioxidant defense system such as GSH, GPx, and CAT activities in liver tissue of rats treated with INH and RIF was observed ($p < 0.001$) compared to control (61.81, 66.70 and 83.87% respectively). A strong correlation

was remarked between decreased GPx and catalase activity ($r^2 = 0.994^{**}$). Conversely, negative correlations were found between the increased MDA level and the decreased GPx ($r^2 = -0.760$) and catalase activity ($r^2 = -0.790$) (Table 1).

While co-administration of plant fraction (50 and 100 mg/kg) with INH-RIF significantly increased ($p < 0.01$; $p < 0.05$) the level of GSH compared to the INH-RIF group, in the other side, the group pretreated with vitamin E (100 mg/kg) did not show any significant decrease in GSH level. Also, there was a marked significant increase ($p < 0.001$) in GPx activity after co-treatment with plant extract (100 mg/kg, 50 mg/kg) and vitamin E (100 mg/kg) compared to INH-RIF group (Fig. 2C). Furthermore, *n*-BuOH fraction of *G. vepres* Pomel (50 mg/kg) showed a significant increase ($p < 0.01$) in catalase activity compared to its activity in the INH-RIF group. However, there was no significant increase in the CAT activity in rats co-treated with the plant at 100 mg/kg as well as with vitamin E at 100 mg/kg compared to the INH-RIF group. With respect to both plant doses (50 and 100 mg/kg) and vitamin E, a strong correlation was registered between increased MDA level and GSH= ($r^2 = -0.870$, 0.964^* and -0.958^*), GPx = ($r^2 = 0.991^{***}$, -0.882 and -0.906) and CAT activity= ($r^2 = 0.985^{**}$, -0.984^* and -0.970).

4. DISCUSSION

The aim of this study is to evaluate the hepatoprotective effect of the *n*-butanol fraction of *G. vepres* Pomel on the maintenance of the antioxidant system against xenobiotics. This effect was demonstrated via animal experimentation by inducing chronic intoxication in adult *Wistar Albino* rats by INH and RIF- treatment, which is a widely accepted hepatotoxicity model used to investigate the hepatoprotective effects of natural products [22]. Therefore, biochemical parameters of hepatotoxicity were analyzed to assess hepatoprotective activity. To validate the pathological changes, histopathological analysis was also conducted. The results were compared with the standard drug, vitamin E, which acts as a powerful antioxidant [23].

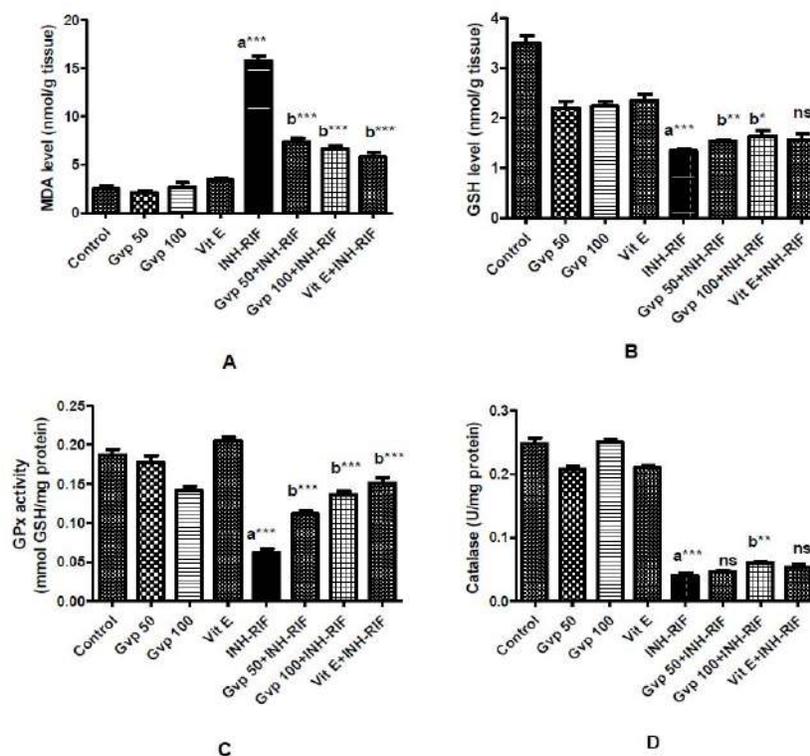


Fig. (2). Effect of INH-RIF (100 mg/kg each), *n*-butanol fraction of *Genista vepres* Pomel (50 mg/kg, 100 mg/kg) and vitamin E (100 mg/kg) on oxidative and antioxidant status: (A) MDA level; (B) GSH level; (C) GPx activity and (D) catalase enzyme activity in rat's liver. Data are reported as means \pm SEM. (* p <0.05; ** p <0.01; *** p <0.001). ns: non-significant. a: compared to control group, b: compared to INH-RIF group.

Oxidative stress has been considered a joint pathology mechanism involved in liver damage [24]. The peroxidation of endogenous lipids is a major element in INH's cytotoxic effect. The formation of ROS, which serves as accelerators of lipid peroxidation and induces harm to the cell membrane, is typically a sign of INH intervened oxidative damage [25]. Where ROS could initiate the depolarization of potential of the mitochondrial inner membrane, threatening the integrity and stability of mitochondria and cell membrane. Choline, phosphocholine, and ethanolamine are the main components of phospholipids and are essential for sustaining the viability of the cell membrane [26]. While rifampicin is considered a potent inducer of oxidase function, which increases the hepatotoxicity of isoniazid by increasing the production of toxic metabolites from acetyl hydrazine [27]. For this reason, the incidence of isoniazid - and rifampicin induced by abnormal liver enzyme activity is 27% but only 19% with INH alone. Cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) is believed to contribute to the synergistic effects of RIF and INH [28].

Whereas the administration of INH-RIF for 21 days at 100 mg/kg each in rats has caused damage to the electrical system in the hepatocyte membranes and a significant functional alteration in the livers. This hepatic dysfunction is demonstrated firstly by the significant increase in various biochemical parameters as; AST, ALT, ALP, and GGT (Fig. 1),

which is indicative of hepatic injury or hepatic damage [29]. This injury has similarly been proved by changes in lipid profile manifested through the increase of serum cholesterol and triglyceride levels in comparison with the control group indicating that INH and RIF treatment induces hypercholesterolemia and hyperlipidemia conditions, and then, by the significant increase in MDA (Fig. 2A), one of the main products resulting from lipid peroxidation [30].

In addition, in the current study; the INH and RIF-treated rats exhibited significantly higher cholesterol and triglycerides levels than the control rats. This elevation was consistent with the finding of another study which reported that the administration of INH and RIF caused a significant increase in the levels of lipid profile (cholesterol, triglycerides, phospholipids and free fatty acids) [31]. A positive correlation was found between increased MDA levels versus biochemical parameters ($r^2 = 0.764 - 0.887$). Also, a strong correlation was found between increased MDA levels versus triglycerides ($r^2 = 0.966^{**}$) and cholesterol levels ($r^2 = 0.833$) (Table 1). Furthermore, oxidative stress in the liver has been exacerbated by INH-RIF since a significant decrease was observed in GSH levels along with inhibition of GPx action and catalase activity compared to the control group (Fig. 2B-2D). Previous studies concur with this outcome [32-36].

4.1. Histopathologic Examination

The GSH is a sulfhydryl peptide, which plays an essential role in cellular defense against toxicity. Exposure to ATDs caused a decline in GSH level, which might increase the susceptibility of the liver to free radical damage. GPx relates the inhibition of GPx activity shown in Fig. (2C) to the reduction of GSH since the GSH substrate is used in the decomposition of H_2O_2 to water and the reduction of soluble hydrogen peroxide and alkyl peroxides. Whereas CAT is a heme protein that catalyzes the conversion of hydrogen peroxide to water and oxygen protects the cell from oxidative

damage by H_2O_2 and OH. The lower level of CAT indicates impairment of the antioxidant defense system due to the administration of ATD [4, 37, 38].

Furthermore, in the histopathological observations (Fig. 3A-D), histological sections of untreated rat's liver presented in Fig. (3A) indicate a typical liver lobular architecture and cell arrangement. Although (Fig. 3C) revealed the entire liver structure damage in (INH-RIF)-the treated group with extreme dilation and congestion of the centrilobular vein, hepatocellular necrosis, dilation of sinusoids, binucleation, ballooning of hepatocytes, and inflammatory cell infiltration.

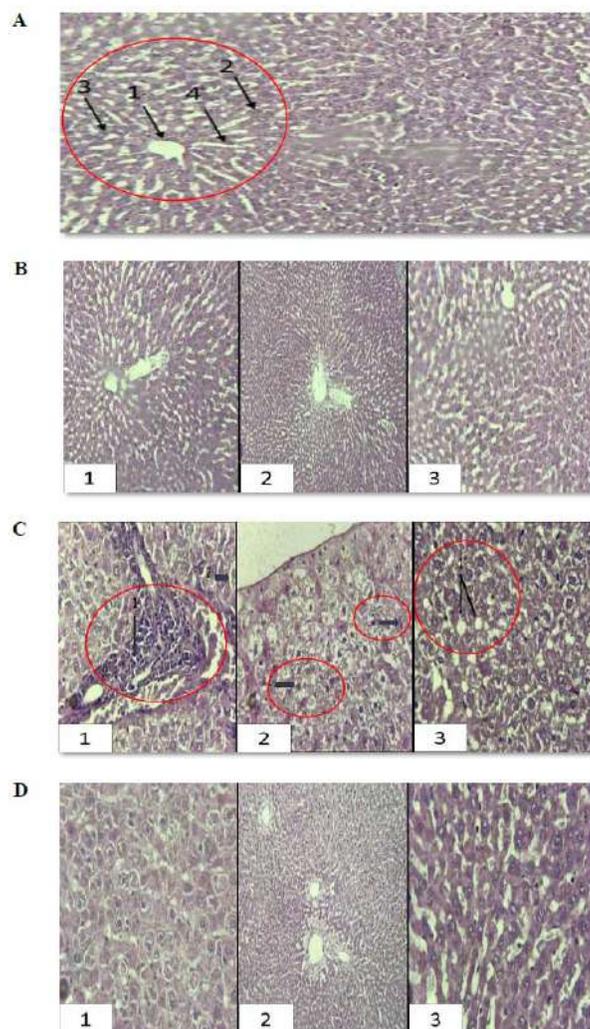


Fig. (3). Photomicrographs of rat's liver section (H&E, $\times 100$, $\times 400$). (A) Control group showing 1: normal architecture with central vein, 2: Polygonal hepatocytes, 3: A rounded nuclei, 4: Blood sinusoids. (X400). (B1); (B2) and (B3) Rats' livers treated with *n*-BuOH fraction of *G. vepres* Pomel alone (50 mg/kg and 100 mg/kg) or vitamin E (100 mg/kg) respectively. Treated group showed normal histology almost similar to the control group ($\times 100$). (C) INH-RIF treated group showing distortion of normal architecture and irregularly shaped hepatocytes as; 1: Dilation and congestion of the centrilobular vein, 2: Dilation of sinusoids (C1), ($\times 400$); 1: Binucleation of Hepatocytes, 2: Ballooning of hepatocytes. (C2), ($\times 400$) microvesicles (C3), ($\times 400$). (D1), (D2) and (D3) Livers' section of rats treated with INH-RIF (100 mg/kg each) and *G. vepres* Pomel fraction (50 mg/kg ;100 mg/kg) or vitamin E (100 mg/kg) respectively showed a histological picture comparable to that of the control group with minimal damage of hepatocytes (D1) a light ballooning ($\times 400$) and (D2) some hyperchromatic nuclei ($\times 100$). (D3) Livers' section of rats treated with INH-RIF (100 mg/kg each) and vitamin E (100 mg/kg) showing conserved hepatocytes ($\times 400$). (A higher resolution / colour version of this figure is available in the electronic copy of the article).

These findings concord with the results of Bais *et al.* [39]. Previous studies indicate that hydrazine is most likely involved in the mechanism of hepatic necrosis [40, 41].

A previous report suggested that the pathogenesis of RIF-INH-induced hepatotoxicity is not entirely clear, but the proposed mechanisms may include oxidative stress, lipid peroxidation, and reduced glutathione level [42]; however, distinct targets can be involved. Treatment with INH and rifampicin up-regulates the hepatic CYP2E1. The rise in inflammatory mediators in the liver results from over-expression of CYP2E1 [43]. Moreover, mitochondrial dysfunction has been observed in INH-RIF-induced hepatotoxicity [44] by targeting Mitochondrial Permeability Transition (MPT) [45]. In addition, it also targets nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), where the biological function of Nrf2 is involved in intracellular redox balancing, metabolism, and cell survival [46]. A recent study by Verma *et al.* (2018) confirmed that the mechanism of INH-induced oxidative stress and apoptosis in liver cells is due to inhibition of Nrf2 translocation into the nucleus as well as the transcription of cytoprotective genes [47].

On the other hand, pretreatment of rats with the *n*-BuOH fraction of *G. vepres* Pomel at 50 or 100 mg/kg has shown that it can normalize the MDA level to reduce the glutathione level, the GPx, and catalase activity in liver homogenates. This plant fraction is also able to decrease the level of biochemical parameter activities and capable of decreasing the cholesterol and triglyceride concentrations in the serum of rats poisoned by INH-RIF, in the same way, or better than the protective effect of vitamin E at 100 mg/kg. In addition, in this study, we showed that treatment with *G. vepres* Pomel improved histological changes in the liver caused by INH-RIF treatment. This ability to protect and preserve the liver's tissue provided by the large composition of polyphenolic content and flavonoids characterized the species of this genus. A recent study by Grafakou *et al.* (2021) described and discussed the potential pharmacological activities of the flavonoids and isoflavonoids from various species of the *Genista* genus (66 species), as also the bioactivity of different extracts and residues, revealed, beyond any doubt, that the genus *Genista* is a source of bioactive flavonoids and isoflavonoids with various promising biological activities [48]. Phytochemical analysis of the aerial part of *G. vepres* Pomel shows that this species contains a significant amount of alkaloids and flavonoids [49]. In addition, the hydro-distilled oils from the same parts of the same plant were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Sixty-one compounds represent 84.5% of the total oil of *G. vepres* Pomel. The analyses showed that the major constituents of the oils were lauric acid (8.5%), myristic acid (5%), linoleic acid (11.7%), and palmitic acid (26.4%). This richness in secondary metabolites can allow a variety of biological activities such as antibacterial potential [15].

A recent study by John and Kale suggests that it is possible to manage the hepatotoxicity associated with anti-TB drugs by the inhibition of enzyme CYP2E1, increasing hepatic GSH synthesis, targeting MPT, and activating the Nr-

f2-ARE signaling pathway through the use of antioxidant agents [50]. Recent studies have focused on phenolic compounds from different botanical sources as antioxidants [51, 52]. To better understand the potential mechanisms of action of this plant extract against INH and RIF-induced liver toxicity, further studies are needed.

CONCLUSION

In conclusion, the present study finding indicates that the administration of INH-RIF reduced antioxidants and increased lipid peroxidation, leading to liver damage. It was also noted that *Genista vepres* Pomel's *n*-BuOH fraction exerted substantial security against hepatotoxicity caused by ATB through its ability to inhibit lipid peroxidation by free radical scavenging behavior, which enhanced antioxidant defense rate-suggesting a therapeutic role of this fraction in the side effect of INH- RIF treatment.

LIST OF ABBREVIATIONS

ALT	= Alanine Aminotransferase
ALP	= Alkaline Phosphatase
AST	= Aspartate Aminotransferase
ATB	= Anti-tuberculosis
ATDs	= Anti-tuberculosis Drugs
CAT	= Catalase
DTNB	= 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic Acid)
GGT	= Gamma-glutamyl Transferase
GPX	= Glutathione Peroxidase
GSH	= reduced glutathione
INH	= Isoniazid
LPO	= Lipid Peroxidation
MDA	= Malondialdehyde
PBS	= Phosphate Buffer Solution
RIF	= Rifampicin
TBA	= Thiobarbituric Acid
TBARs	= Thiobarbituric Acid Reactive Substances
TCA	= Trichloroacetic Acid

ETHICS APPROVAL AND CONSENT TO PARTICIPATE

All experimental assays were carried out in conformity with national guidelines for the care and use of laboratory animals and approved by the Ethics Committee of the University, Algeria.

HUMAN AND ANIMAL RIGHTS

No humans were involved in the study. All the experiments conducted on animals were in accordance with the

guidelines set by the Principles of Laboratory Animal Care by the National Institute of Health of the United States (NIH) publication number 85-23, revised 1985.

RESEARCH INVOLVING PLANTS

Aerial parts of *Genista vepres* Pomel (synonym *Genista kabylica* Cosson), were collected in June 2016 from the Medea area in Algeria and authenticated by Professor Hocine Laouer (Ferhat Abbas University, Setif 1, Algeria).

CONSENT FOR PUBLICATION

Not applicable.

AVAILABILITY OF DATA AND MATERIALS

Not applicable.

FUNDING

None.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest, financial or otherwise.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Professor Hocine Laouer for the identification of the plant material and DGRSDT (MESRS, Algeria) for financial support.

REFERENCES

- Rao, A.; Nayak, G.; Kumari, S.; Kalthur, S.G.; Mutalik, S.P.; Mutalik, S.; Adiga, S.K.; Kalthur, G. Exposure to first line anti-tuberculosis drugs in prepubertal age reduces the quality and functional competence of spermatozoa and oocytes in Swiss albino mice. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, **2020**, *73*, 103292. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2019.103292> PMID: 31765964
- Shi, R.; Itagaki, N.; Sugawara, I. Overview of anti-tuberculosis (T-B) drugs and their resistance mechanisms. *Mini Rev. Med. Chem.*, **2007**, *7*(11), 1177-1185. <http://dx.doi.org/10.2174/138955707782331740> PMID: 18045221
- Ramappa, V.; Aithal, G.P. Hepatotoxicity related to anti-tuberculosis drugs: Mechanisms and management. *J. Clin. Exp. Hepatol.*, **2013**, *3*(1), 37e49. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jceh.2012.12.001>
- Sahu, N.; Mishra, G.; Chandra, H.K.; Nirala, S.K.; Bhadauria, M. Naringenin mitigates antituberculosis drugs induced hepatic and renal injury in rats. *J. Tradit. Complement. Med.*, **2019**, *10*(1), 26-35. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtme.2019.01.001> PMID: 31956555
- Kasote, D.M.; Katyare, S.S.; Hegde, M.V.; Bae, H. Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications. *Int. J. Biol. Sci.*, **2015**, *11*(8), 982-991. <http://dx.doi.org/10.7150/ijbs.12096> PMID: 26157352
- Noccioli, C.; Meini, L.; Loi, M.C.; Potenza, D.; Pistelli, L. A new alpinum isoflavone derivative from *Genista pichisermolliana*. *Phytochem. Lett.*, **2011**, *4*, 342-344. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytol.2011.07.005>
- Benayache, F.; D'Ambola, M.; Cotugno, R.; Chaouche, M.; Benayache, S.; Benayache, F.; Braca, A.; De Tommasi, N. A new triterpene glucoside from *Genista numidica*. *Nat. Prod. Commun.*, **2018**, *13*(9), 1934578X1801300902. <http://dx.doi.org/10.1177/1934578X1801300902>
- Fokialakis, N.; Alexi, X.; Aligiannis, N.; Boulaka, A.; Meligova, A.K.; Lambrinidis, G.; Kalpoutzakis, E.; Pratsinis, H.; Cheilari, A.; Mitsiou, D.J.; Mitakou, S.; Alexis, M.N. Biological evaluation of isoflavonoids from *Genista halacsyi* using estrogen-target cells: Activities of glucosides compared to aglycones. *PLoS One*, **2019**, *14*(1), e0210247. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0210247> PMID: 30620769
- Meza, A.; Rojas, P.; Cely-Veloz, W.; Guerrero-Perilla, C.; Coy-Barrera, E. Variation of isoflavone content and DPPH• scavenging capacity of phytohormone-treated seedlings after *in vitro* germination of cape broom (*Genista monspessulana*). *S. Afr. J. Bot.*, **2020**, *130*, 64-74. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2019.12.006>
- Simões, M.A.M.; Pinto, D.C.G.A.; Neves, B.M.R.; Silva, A.M.S. Flavonoid profile of the *Genista tridentata* L., a species used traditionally to treat inflammatory processes. *Molecules*, **2020**, *25*(4), 812. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25040812> PMID: 32069907
- Bencherchar, I.; Demirtas, I.; Altun, M.; Gul, F.; Sarri, D.; Benayache, F.; Benayache, S.; Mekkiou, R. HPLC analysis, anti-oxidant activity of *Genista ferox* and its anti-proliferative effect in HeLa cell line. *Bangladesh J. Pharmacol.*, **2017**, *12*(3), 260. <http://dx.doi.org/10.3329/bjpv.v12i3.32310>
- Sebaihi-Harzoun, S.; Atmani-Kilani, D.; Debbache-Benaida, N.; Nana, F.; Evain-Bana, E.; Kirsch, G.; Tabart, J.; Kevers, C.; Atmani, D. Phytochemical composition, antioxidant and anti-proliferative properties of *Genista ferox* Poirret. Aerial parts. *Eur. J. Integr. Med.*, **2018**, *S1876-3820*(18), 30164-30171. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eujim.2018.08.006>
- Maanani, D.; Segueni, N.; Rhouati, S.; Çakmak, Y.S.; Asan-Ozusaglam, M.; May, A.; Zellagui, A.; Akkal, S. Phenolic contents, *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of *Genista microcephala* coss. dur. *ASN*, **2018**, *5*(2), 8-22. <http://dx.doi.org/10.2478/asn-2018-0016>
- Barek, S.; Rahmoun, M.N.; Aissaoui, M.; El Hacı, I.A.; Bensouici, C.; Choukchou-Braham, N. Phenolic contents, antioxidant, and antibacterial activities of the algerian *Genista saharae* solvent extracts. *J. Herbs Spices Med. Plants*, **2019**, *26*(1), 1-13.
- Lograda, T.; Chaker, A.N.; Chalchat, J.C.; Ramdani, M.; Silini, H.; Figueredo, G.; Chalarde, P. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Genista ulicina* and *G. vepres*. *Nat. Prod. Commun.*, **2010**, *5*(5), 835-838. <http://dx.doi.org/10.1177/1934578X1000500532> PMID: 20521558
- Quezel, P.; Santa, S. *Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales*; Editions du C.N.R.S. Paris, **1962**, Vol. I, p. 474.
- Mihara, M.; Uchiyama, M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal. Biochem.*, **1978**, *86*(1), 271-278. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90342-1](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(78)90342-1) PMID: 655387
- Ellman, G.L. Plasma antioxidants. *Arch. Biochem. Biophys.*, **1959**, *82*, 70-77. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)
- Flohé, L.; Günzler, W.A. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.*, **1984**, *105*, 114-121. [http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05015-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05015-1) PMID: 6727659
- Claiborne, A. Catalase activity. In: *CRC Handbook of Methods for Oxygen Radical Research*; Greenwald RA, **1985**; pp. 283-284.
- Koller, A. Total serum protein. Kaplan A et al. Clin Chem the C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1316-1324 and 418. Available at : https://www.spinreact.com/files/Inserts/MD/BIOQUIMICA/MDBSIS30_PROT_TOT_2017.pdf
- Nwidu, L.L.; Oboma, Y.I. *Telfairia occidentalis* (Cucurbitaceae) pulp extract mitigates rifampicin-isoniazid-induced hepatotoxicity in an *in vivo* rat model of oxidative stress. *J. Integr. Med.*, **2019**, *17*(1), 46-56. <http://dx.doi.org/10.1016/j.joim.2018.11.008> PMID: 30555014
- Palipoch, S.; Punsawad, C.; Koomhin, P.; Suwannalert, P. Hepatoprotective effect of curcumin and alpha-tocopherol against cisplatin-induced oxidative stress. *BMC Complement. Altern. Med.*, **2014**, *14*, 111. <http://dx.doi.org/10.1186/1472-6882-14-111> PMID: 24674233
- Li, S.; Tan, H-Y.; Wang, N.; Zhang, Z-J.; Lao, L.; Wong, C-W.;

- Feng, Y. The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. *Int. J. Mol. Sci.*, **2015**, *16*(11), 26087-26124. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms161125942> PMID: 26540040
- [25] Yue, J.; Peng, R. Does CYP2E1 play a major role in the aggravation of isoniazid toxicity by rifampicin in human hepatocytes? *Br. J. Pharmacol.*, **2009**, *157*(3), 331-333. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00173.x> PMID: 19371336
- [26] Ruan, L.Y.; Fan, J.T.; Hong, W.; Zhao, H.; Li, M.H.; Jiang, L.; Fu, Y.H.; Xing, Y.X.; Chen, C.; Wang, J.S. Isoniazid-induced hepatotoxicity and neurotoxicity in rats investigated by ¹H NMR based metabolomics approach. *Toxicol. Lett.*, **2018**, *295*, 256-269. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.05.032> PMID: 29936297
- [27] Nannelli, A.; Chirulli, V.; Longo, V.; Gervasi, P.G. Expression and induction by rifampicin of CAR- and PXR-regulated CYP2B and CYP3A in liver, kidney and airways of pig. *Toxicology*, **2008**, *252*(1-3), 105-112. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2008.08.004> PMID: 18786598
- [28] Shih, T.Y.; Ho, S.-C.; Hsiong, C.-H.; Huang, T.-Y.; Hu, O.Y.-P. Selected pharmaceutical excipient prevent isoniazid and rifampicin induced hepatotoxicity. *Curr. Drug Metab.*, **2013**, *14*(6), 720-728. <http://dx.doi.org/10.2174/1389200211314060008> PMID: 23701163
- [29] Weber, L.W.; Boll, M.; Stampfl, A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: Carbon tetrachloride as a toxicological model. *Crit. Rev. Toxicol.*, **2003**, *33*(2), 105-136. <http://dx.doi.org/10.1080/713611034> PMID: 12708612
- [30] Zama, D.; Meraihi, Z.; Tebibel, S.; Benayssa, W.; Benayache, F.; Benayache, S.; Vlietinck, A.J. Chlorpyrifos-induced oxidative stress and tissue damage in the liver, kidney, brain and fetus in pregnant rats: The protective role of the butanolic extract of *Paronychia argentea* L. *Indian J. Pharmacol.*, **2007**, *39*(3), 145-150. <http://dx.doi.org/10.4103/0253-7613.33434>
- [31] Jiménez-Arellanes, M.A.; Gutiérrez-Rebolledo, G.A.; Meckes-Fischer, M.; León-Díaz, R. Medicinal plant extracts and natural compounds with a hepatoprotective effect against damage caused by antitubercular drugs: A review. *Asian Pac. J. Trop. Med.*, **2016**, *9*(12), 1141-1149. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.10.010> PMID: 27955741
- [32] Pari, L.; Kumar, N.A. Hepatoprotective activity of *Moringa oleifera* on antitubercular drug-induced liver damage in rats. *J. Med. Food*, **2002**, *5*(3), 171-177. <http://dx.doi.org/10.1089/10966200260398206> PMID: 12495589
- [33] Wang, C.; Fan, R.Q.; Zhang, Y.X.; Nie, H.; Li, K. Naringenin protects against isoniazid- and rifampicin-induced apoptosis in hepatic injury. *World J. Gastroenterol.*, **2016**, *22*(44), 9775-9783. <http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v22.i44.9775> PMID: 27956801
- [34] Thattakudian Sheik Uduman, M.S.; Sundarapandian, R.; Muthumanikkam, A.; Kalimuthu, G.; Parameswari, S.A.; Vasanthi Srinivas, T.R.; Karunakaran, G. Protective effect of methanolic extract of *Annona squamosa* Linn in isoniazid-rifampicin induced hepatotoxicity in rats. *Pak. J. Pharm. Sci.*, **2011**, *24*(2), 129-134. PMID: 21454160
- [35] Jyothi Reddy, G.; Prasanth Reddy, V.; Sreepavani, M.; Rajaram, C.; Nelson Kumar, S.; Kanhere, R.S. Evaluation of hepatoprotective potential of ethanolic extract of *Ixora pavetta* against isoniazid and rifampicin induced hepatotoxicity in rats. *Drug Invent. Today*, **2013**, *5*(3), 201-206. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dit.2013.06.007>
- [36] Obogwu, M.B.; Akindede, A.J.; Adeyemi, O.O. Hepatoprotective and *in vivo* antioxidant activities of the hydroethanolic leaf extract of *Mucuna pruriens* (Fabaceae) in antitubercular drugs and alcohol models. *Chin. J. Nat. Med.*, **2014**, *12*(4), 0273-0283. [http://dx.doi.org/10.1016/S1875-5364\(14\)60054-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1875-5364(14)60054-6)
- [37] Tian, L.; Cai, Q.; Wei, H. Alterations of antioxidant enzymes and oxidative damage to macromolecules in different organs of rats during aging. *Free Radic. Biol. Med.*, **1998**, *24*(9), 1477-1484. [http://dx.doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00025-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00025-2) PMID: 9641266
- [38] Bebe, F.N.; Panemangalore, M. Exposure to low doses of endosulfan and chlorpyrifos modifies endogenous antioxidants in tissues of rats. *J. Environ. Sci. Health B*, **2003**, *38*(3), 349-363. <http://dx.doi.org/10.1081/PFC-120019901> PMID: 12716052
- [39] Bais, B.; Saiju, P. Ameliorative effect of *Leucas cephalotes* extract on isoniazid and rifampicin induced hepatotoxicity. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, **2014**, *4*(2), S633-S638. <http://dx.doi.org/10.12980/APJTB.4.2014APJTB-2014-0236>
- [40] Pal, R.; Rana, S.V.; Vaiphei, K.; Singh, K. Isoniazid-rifampicin induced lipid changes in rats. *Clin. Chim. Acta*, **2008**, *389*(1-2), 55-60. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2007.11.028> PMID: 18157944
- [41] Kumar, R.; Bhatia, V.; Khanal, S.; Sreenivas, V.; Gupta, S.D.; Panda, S.K.; Acharya, S.K. Antituberculosis therapy-induced acute liver failure: Magnitude, profile, prognosis, and predictors of outcome. *Hepatology*, **2010**, *51*(5), 1665-1674. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.23534> PMID: 20196116
- [42] Khan, F.Y.; Rasoul, F. Rifampicin-isoniazid induced fatal fulminant hepatitis during treatment of latent tuberculosis: A case report and literature review. *Indian J. Crit. Care Med.*, **2010**, *14*(2), 97-100. <http://dx.doi.org/10.4103/0972-5229.68226> PMID: 20859496
- [43] Hassan, H.M.; Guo, H.; Yousef, B.A.; Ping-Ping, D.; Zhang, L.; Jiang, Z. Dexamethasone pretreatment alleviates isoniazid/lipopolysaccharide hepatotoxicity: inhibition of inflammatory and oxidative stress. *Front. Pharmacol.*, **2017**, *8*(MAR), 133. <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2017.00133> PMID: 28360859
- [44] Bhadauria, S.; Mishra, R.; Kanchan, R.; Tripathi, C.; Srivastava, A.; Tiwari, A.; Sharma, S. Isoniazid-induced apoptosis in HepG2 cells: Generation of oxidative stress and Bcl-2 down-regulation. *Toxicol. Mech. Methods*, **2010**, *20*(5), 242-251. <http://dx.doi.org/10.3109/15376511003793325> PMID: 20433247
- [45] Chowdhury, A.; Santra, A.; Bhattacharjee, K.; Ghatak, S.; Saha, D.R.; Dhali, G.K. Mitochondrial oxidative stress and permeability transition in isoniazid and rifampicin induced liver injury in mice. *J. Hepatol.*, **2006**, *45*(1), 117-126. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2006.01.027> PMID: 16545483
- [46] Zhou, J.; Zhang, X.; Tang, H.; Yu, J.; Zu, X.; Xie, Z.; Yang, X.; Hu, J.; Tan, F.; Li, Q.; Lei, X. Nuclear factor erythroid 2 (Nrf2)-related factor 2 (Nrf2) in autophagy-induced hepatocellular carcinoma. *Clin. Chim. Acta*, **2020**, *506*, 1-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2020.02.028> PMID: 32109431
- [47] Verma, A.K.; Yadav, A.; Singh, S.V.; Mishra, P.; Rath, S.K. Isoniazid induces apoptosis: Role of oxidative stress and inhibition of nuclear translocation of nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (Nrf2). *Life Sci.*, **2018**, *199*, 23-33. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2018.02.037> PMID: 29499281
- [48] Grafakou, M.-E.; Barda, C.; Tomou, E.-M.; Skaltsa, H. The genus *Genista* L.: A rich source of bioactive flavonoids. *Phytochem.*, **2021**, *181*, 112574. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112574> PMID: 33152578
- [49] Dob, T. Contribution à l'étude phytochimique de quelques plantes algériennes: Huile essentielles: *Artemisia Judaica* L., *Lavandula dentata* L., *Thymus fontanessi* Boiss et Reut., *Pinus pinea* et *Pinus pinaster* Ait. Alcaloïdes et Flavonoïdes *Genista vepres* Pomel (*Genista kabylica* Coss). Thèse de Doctorat d'état en chimie. Université des sciences et de la technologie Houari BOUMEDIENNE. Algeria. December 2007. Available at: <https://biblio.univ-annaba.dz/wp-content/uploads/2015/01/SAADOU-Nina.pdf>
- [50] John, P.; Kale, P.P. Prominence of oxidative stress in the management of anti-tuberculosis drugs related Hepatotoxicity. *Drug Metab Lett*, **2019**, *13*(2), 95, 101. <http://dx.doi.org/10.2174/1872312813666190716155930>
- [51] Aliouche, L.; Larguet, H.; Amrani, A.; Leon, F.; Brouard, I.; Benayache, S.; Zama, D.; Meraihi, Z.; Benayache, F. Isolation, antioxidant and antimicrobial activities of ecdysteroids from *Serratula cichoracea*. *Curr. Bioact. Compd.*, **2018**, *14*, 60-66. <http://dx.doi.org/10.2174/1573407214666171211154922>
- [52] Djemam, N.; Lassed, S.; Gül, F.; Altun, M.; Monteiro, M.; Menezes-Pinto, D.; Benayache, S.; Benayache, F.; Zama, D.; Demirtas, I.; Morato, M. Characterization of ethyl acetate and n-butanol extracts of *Cymbopogon schoenanthus* and *Helianthemum lippii* and their effect on the smooth muscle of the rat distal colon. *J. Ethnopharmacol.*, **2020**, *252*, 112613. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2020.112613> PMID: 31981748

DISCLAIMER: The above article has been published, as is, ahead-of-print, to provide early visibility but is not the final version. Major publication processes like copyediting, proofing, typesetting and further review are still to be done and may lead to changes in the final published version, if it is eventually published. All legal disclaimers that apply to the final published article also apply to this ahead-of-print version.

Nom : ZEHANI
Prénom : Lamia

Thèse en vue de l'obtention du diplôme de doctorat 3ème cycle

L'effet protecteur de l'extrait *n*-butanol des plantes médicinales « *Saccocalyx satureioides* Coss et Dur et *Genista vepres* Pomel » vis-à-vis de la toxicité induite par l'isoniazide et la rifampicine

Résumé

Cette étude vise à évaluer l'action protectrice des extraits *n*-BuOH de deux plantes médicinales endémiques "*Saccocalyx satureioides* et *Genista vepres* Pomel" à une dose de (50 et 100 mg/kg) contre l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité induites par l'isoniazide et la rifampicine sur des rats mâles. En plus d'évaluer *in vivo* l'action anti-hyperglycémiant et l'action anti-inflammatoire. Des tests *in vitro* ont également participé à cette étude (teneur en phénols, activité antioxydant, activité anti-inflammatoire et activité photoprotectrice).

Les résultats obtenus montrent que le prétraitement avec les extraits *n*-butanol des deux plantes « *S. satureioides* et *G. vepres* Pomel » a conduit à une modification des indicateurs biochimiques (AST, ALT, ALP, GTT, triglycérides, cholestérol, créatinine, urée et l'acide urique) ainsi que les indicateurs de stress oxydatif (taux de MDA, GSH et les activités de GPx et CAT). Cela a été confirmé par l'étude histologique, ainsi que par les tests antioxydants *in vitro*, qui ont prouvé que les extraits *n*-butanol des deux plantes contenaient une quantité importante de phénols et de flavonoïdes qui ont montré une activité antioxydant.

Les résultats obtenus *in vivo* ont également démontré l'action anti-hyperglycémiant d'extraits *n*-butanol des deux plantes, en plus d'une activité inhibitrice du développement d'œdème local, ce qui indique que cet extrait a une activité anti-inflammatoire, ce qui a été confirmé par les tests anti-inflammatoires *in vitro*. Les résultats obtenus ont également montré l'action protectrice de la lumière pour les extraits *n*-butanol des deux plantes.

En conclusion, les extraits *n*-BuOH des plantes *S.satureioides* et *G.vepres* Pomel sont pourvus des pouvoirs antioxydants et anti-inflammatoires pouvant jouer un rôle protecteur et préventif vis-à-vis la toxicité induite par l'INH et la RIF. Ces résultats sont renforcés par les propriétés pharmacologiques remarquées vis-à-vis d'autres tests, ceci est dû à la richesse diversifiée de ces extraits des plantes en composés phénoliques. Cette étude soutient l'utilisation traditionnelle de ces plantes pour traiter certains désordres liés à l'inflammation et au stress oxydant.

Mots clés : Isoniazide, Rifampicine, *Saccocalyx satureioides*, *Genista vepres* Pomel , Composés phénoliques, Stress oxydatif, Inflammation, Hépatotoxicité, Néphrotoxicité.

Membres de jury

Président :	LAALAOUI Korichi	Professeur	Université Frères Mentouri Constantine 1
Directrice de thèse :	ZAMA Djamilia	Professeur	Université Frères Mentouri Constantine 1
Examinatrice :	DAHAMNA Saliha	Professeur	Université Ferhat Abbas Sétif 1
Examinatrice :	BOUBEKRI Nassima	MCA	Université Frères Mentouri Constantine 1
Examinatrice :	BENCHIKH Fatima	MCA	Université Ferhat Abbas Sétif 1