

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى – جيجل

Université Med - Seddik Benyahia – Jijel

Faculté Des Sciences de la Nature Et de la Vie

Département Des sciences de l'environnement

Et des sciences Agronomiques



كلية علوم الطبيعة الحياة

قسم علوم المحيط و العلوم الفلاحية

### Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique**

**Filière** : Sciences biologiques

**Option** : Toxicologie Fondamentale et Appliquée

### Thème :

**Evaluation de l'activité hépato-protectrice de l'extrait hydro-éthanolique de la plante « *Satureja calamintha* » (Touret) chez le rat.**

#### Jury de soutenance :

Présidente : Mme Ouanas. I

Examinatrice : Mme Ghorab. I

Encadreur : Mr Far. Z

Co-encadreur : Mme Khelfallah. A

#### Présenté par :

– Bouraoui Ahlam

– Guerdouh Meryem

**Session** : juin 2018

Numéro d'ordre :

Laboratoire :

Page 1

# *Dédicace*

## *A nos chers parents*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer notre respect, et notre considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour notre instruction et notre bien être. Nous vous remercions pour tout le soutien que vous nous avez porté.*

*Nous espérons que votre bénédiction nous accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que nous ne vous en acquitterons jamais assez. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorde santé, bonheur et longue vie et fait en sorte que nous ne vous décevrons jamais.*

## *A nos chers frères et sœurs*

*En témoignage de notre affection fraternelle, de notre profonde tendresse et reconnaissance, nous vous souhaitons une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.*

## *A nos chers amis*

*En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de notre respect le plus profond et notre affection la plus sincère.*

*A tous ceux qui ont participé au développement de ce travail, à tous ceux que nous avons oublié de les mentionner.*

*Aux personnes qui nous ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à nos côtés, et qui nous ont accompagné durant notre chemin d'étude supérieure, nos aimables amis, collègues d'étude.*

# *Remerciement*

*Nous tenons tout d'abord à remercier dieu le tout puissant pour nous avoir donné le courage, la force et la volonté pour réaliser ce travail. Sans sa miséricorde, ce travail n'aurait pas abouti.*

*Avant de présenter ce travail, nous tenons à remercier tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué à sa réalisation :*

*Que notre encadreur Mr. **Far. Z**, et co-encadreur Mme **Khelfallah. A**, trouve ici notre profonde reconnaissance et notre profonde estime pour avoir cru en notre capacité, pour sa profonde confiance et son attention durant toute la période de réalisation de ce travail. Ses conseils et ses orientations sont gravés dans notre mémoire et guideront à jamais notre prochain pas dans la poursuite de notre carrière.*

*Merci, encore merci, bien que ces mots ne sont pas suffisants pour vous remercier.*

*Nous voudrions exprimer notre gratitude à l'ensemble des membres du jury : Mme Ghorab. I et Mme Ouanas. I, qui nous ont fait l'honneur d'examiner ce travail.*

*Nos remerciements s'adressent également à tous nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience qu'ils ont eue malgré leurs charges académiques et professionnelles.*

*Nous tenons également à remercier tous ceux et celles qui nous ont aidés de près ou de loin dans la réalisation de ce travail et nous ont soutenu dans les moments difficiles.*

## Liste d'abréviations

<b>ADP</b>	: Adénosine diphosphate
<b>AINS</b>	: Anti-inflammatoires non stéroïdiens
<b>ALT</b>	: Alanine aminotransférase
<b>APAP</b>	: Acétyl-para-aminophénol
<b>AST</b>	: Aspartate aminotransférase
<b>ATP</b>	: Adénosine triphosphate
<b>CAT</b>	: Catalase
<b>COX</b>	: Cyclo-oxygénase
<b>CYP</b>	: Cytochrome P450
<b>G-6-P</b>	: Glucose-6-phosphate
<b>G6-PDH</b>	: Glucose 6 phosphate déshydrogénase
<b>GGT</b>	: Gamma glutanyl transférase
<b>GSH</b>	: Glutathion réduit
<b>GST</b>	: Glutathion S-transférase
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Peroxyded'hydrogène
<b>HK</b>	: Hexokinase
<b>IGF-1</b>	: Insulin -like growth factor-1
<b>NAD</b>	: Nicotinamide adénine dinucléotide
<b>NADPH</b>	: Nicotinamide adénine dinucléotide réduit
<b>NAPQI</b>	: N-acétyl-para-benzo-quinone imine
<b>NO</b>	: Oxyde nitrique
<b>O<sup>-2</sup></b>	: Anion superoxyde

**PAL** : Phosphatase alcaline  
**POX** : Peroxydase  
**STGO** : Sérum- Glutamate- transaminase  
**STGP** : Sérum- Glutamyl- Pyruvate transaminase  
**TGO** : Transaminase glutamique oxaloacétique  
**TGP** : Transaminase glutamique pyruvique  
**UGT** : UDP glucuronosyl transférase

## Liste des figures

Figures	pages
<b>Figure 01.</b> Les principaux constituants du lobule hépatique.	04
<b>Figure 02.</b> Schéma générale des 4 phases du métabolisme et du transport d'un xénobiotique dans une cellule.	06
<b>Figure 03.</b> Structure de l'acétaminophène (N-acétyl-4-aminophénol).	08
<b>Figure 04.</b> Le métabolisme du paracétamol et son rôle dans la toxicité.	10
<b>Figure 05.</b> Photo de <i>Satureja calamintha</i> Moench subsp. Baborensis prise de son site d'origine Aftis Jijel.	14
<b>Figure 06.</b> Protocol d'extraction des composés phénoliques suivie pour la sarriette.	18
<b>Figure 07.</b> Variation du poids relatif du foie après l'administration d'une dose unique d'APAP (2g/kg) seul ou combiné avec l'extrait de <i>Satureja</i> (400mg/kg), et l'extrait seul (400mg/kg).	25
<b>Figure 08.</b> Variation de la concentration du TGO, TGP et PAL dans le sérum après l'administration d'une dose unique d'APAP (2g/kg) seul ou combiné avec l'extrait du <i>Satureja</i> , et l'extrait seul (400mg/kg).	27
<b>Figure 09.</b> Variation du taux de la glycémie et du glycogène après une dose unique d'APAP (2g/kg) seul, en combiné avec l'extrait du <i>Satureja</i> , et l'extrait seul (400mg/kg).	29
<b>Figure 10.</b> Variation de l'activité enzymatique de la catalase et de la GST cytosolique après une dose unique d'APAP (2g/kg) seul, en combiné avec l'extrait du <i>Satureja</i> , et l'extrait seul (400mg/kg).	32
<b>Figure 11.</b> Photos des foies des rats reçoivent des différents traitements.	33

## Liste des tableaux

Tableau	pages
<b>Tableau 01.</b> Quelques agents causant les lésions hépatiques.	07
<b>Tableau 02.</b> Les différents groupes des rats et les traitements correspondants.	19
<b>Tableau 03.</b> Variation du poids relatif du foie après l'administration d'une dose unique d'APAP seul (2g/kg) et en combiné avec l'extrait de <i>Satureja</i> (400mg/kg), ou l'extrait seul (400mg/kg).	25
<b>Tableau 04.</b> Variation de la concentration du TGO, TGP et PAL dans le sérum des rats traités par une dose unique d'APAP (2g/kg) seul, et en combiné avec l'extrait du <i>Satureja</i> , et l'extrait seul (400mg/kg).	27
<b>Tableau 05.</b> Variation du taux de la glycémie et du glycogène chez les rats traités par une dose unique d'APAP (2g/kg) seul, en combiné avec l'extrait du <i>Satureja</i> , et l'extrait seul (400mg/kg).	29
<b>Tableau 06.</b> L'évaluation de l'activité enzymatique de la catalase et de la GST cytosolique après une dose unique d'APAP (2g/kg) seul, en combiné avec l'extrait du <i>Satureja</i> , et l'extrait seul (400mg/kg).	31

## Liste des annexes

ANNEXES	pages
<b>Annexe 01</b> : Courbe étalon avec le réactif de Luguol (moyenne de trois essais).	/
<b>Annexe 01</b> : Courbe étalon du dosage des protéines (Sérum albumine bovine comme standart avec le réactif de Bradford, moyenne de trois essais).	/



## Sommaire

Titres	Pages
Dédicace.	/
Remerciement.	/
Liste d'abréviations.	i
Liste des figures.	iii
Liste des tableaux.	iv
Liste des annexes.	v
Introduction.	01
<b>Première partie : Synthèse bibliographique.</b>	
<b>Chapitre 01 : Intoxication hépatique au paracétamol.</b>	
1. Foie.	03
1.1. Anatomie.	03
1.2. Structure du tissu hépatique.	03
1.3. Fonctions du foie.	04
1.3.1. Métaboliques.	04
1.3.1.1. Digestion.	04
1.3.1.2. Métabolismes des carbohydrates, lipides.	05
1.3.1.3. Synthèse des protéines.	05
1.3.1.4. Stockage des vitamines.	05
1.3.2. Dans la détoxification.	06
1.4. Atteintes hépatiques.	07
2. Généralités sur paracétamol.	08
2.1. Chimie du paracétamol.	08
2.1.1. Nom chimique.	08
2.1.2. La formule semi développée.	08
2.2. Pharmacodynamie du paracétamol.	09
2.3. Pharmacocinétique du paracétamol.	09
a) Absorption et distribution.	09
b) Métabolisme et élimination.	09
3. Intoxication au paracétamol et stress oxydant.	11
<b>Chapitre 02 : La plante <i>Satureja Calamintha</i>.</b>	
1. Présentation de la famille des lamiacées.	12
2. Le genre <i>Satureja</i> et la plante <i>Satureja Calamintha</i> .	12

2.1. Aspect botanique.	14
2.2. Travaux antérieurs sur <i>Satureja Calamintha</i> .	14
2.2.1. Principales substances bioactives.	15
2.2.2. Utilisation en médecine traditionnelle.	16
<b>Deuxième partie : matériels et méthodes.</b>	
1. Matériel végétal « <i>Satureja Calamintha</i> ».	17
1.1. Récolte de la plante « <i>Satureja Calamintha</i> ».	17
1.2. Préparation de l'extrait végétal lyophilisé.	17
2. Matériel de laboratoire.	18
3. Animaux de laboratoire.	18
4. Méthodes suivies.	19
4.1. Préparation des solutions de paracétamol.	19
4.2. Préparation de l'extrait brut éthanolique de <i>Satureja Calamintha</i> .	19
4.3. Traitement des animaux.	19
4.4. Prélèvement sanguin.	20
4.4.1. Analyses biochimiques.	20
4.4.1.1. Dosage du glucose.	20
4.4.1.2. Bilan hépatique.	20
5. Dosage du taux du glycogène dans le foie.	21
6. Préparation de la fraction cytosolique du foie.	22
6.1. Dosage des protéines total cytosolique.	22
6.2. Evaluation de l'activité des enzymes antioxydantes..	22
6.2.1. Estimation de l'activité de la catalase.	22
6.2.2. Estimation de l'activité du glutathion S-transférase.	23
7. Analyse statistique.	23
<b>Troisième partie : résultats et discussion.</b>	
1. Effet de l'extrait de <i>Satureja calamintha</i> sur le poids relatif du foie.	24
2. L'effet de l'administration de l'extrait de la sarriette sur les indicateurs de la fonction hépatique.	26
3. L'effet de l'extrait de la sarriette (400 mg/kg) sur la glycémie et le taux du glycogène.	28
4. L'effet de l'extrait de la sarriette (400 mg/kg) sur l'activité de deux enzymes antioxydantes du foie.	30
5. Examen macroscopique.	32
Conclusion.	34

Liste des références.	35
Résumé.	/
Annexe.	/

# **Introduction générale**

### Introduction

Le foie est un organe vital qui effectue une grande variété de fonctions nécessaires à la survie. Sa localisation stratégique, sa circulation sanguine et son rôle majeur dans tous les processus métaboliques rendent cet organe particulièrement vulnérable aux blessures causées par des produits chimiques auxquels nous sommes exposés de façon omniprésente. La lésion hépatique médicamenteuse est une réaction indésirable rare qui conduit à une insuffisance hépatique. L'un des médicaments les plus répandus impliqués dans la lésion hépatique médicamenteuse est l'acétaminophène (**Mazraati et Minaiyan, 2018 ; Gu et Manitou, 2012**).

L'acétaminophène (paracétamol, N-acétyl-p-aminophénol, APAP) est un anti-inflammatoire non stéroïdien classique (AINS) qui est largement consommé comme analgésique et antipyrétique et son efficacité dans le soulagement de la douleur et de la fièvre a été largement connue (**Hinson et al., 2010**). Cependant, une surdose d'APAP peut causer des lésions hépatiques, entraînant une insuffisance hépatique aiguë (ALF) légère à sévère, et même la mort (**McGill et Jaeschke, 2013**). En 1966, Davidson et Eastham ont signalé pour la première fois les cas d'hépatotoxicité aiguë causée par une surdose d'APAP. La posologie orale recommandée pour les adultes est de 325- 650 mg toutes les 4 à 6 heures, avec un maximum de 4 g par jour (**Gonçalves et al., 2017**).

Les lésions hépatiques causées par de fortes doses d'APAP sont associées à la formation de Nacetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI), un métabolite réactif formé par la famille enzymatique du cytochrome P-450 (CYP450) (**Gonçalves et al., 2017**). Ce dernier se lie à des macromolécules critiques dans les cellules qui entraînent un stress oxydatif mitochondrial, une altération de la fonction hépatique, une nécrose centro lobulaire massive et, finalement, une insuffisance hépatique (**Mazraati et Minaiyan, 2018**).

La phytothérapie reste la médecine la plus employée par le monde. Nous savons depuis toujours que certaines plantes possèdent des activités antiseptique, antidiabétiques, antispasmodiques, stomachiques ou hépatiques.

*Satureja calamintha* est une plante aromatique connue sous le nom vernaculaire « nabta » appartenant à la famille des *Lamiaceae*, largement utilisée en médecine traditionnelle algérienne.

L'extrait naturel issu de cette plante contient une variété de molécules biologiquement actives telles que les flavonoïdes, les tannins et les huiles volatiles (**Bougandoura et Bendimerad, 2013**).

Dans ce contexte, nous avons tenté d'évaluer l'activité hépato-protectrice de l'extrait hydro-éthanolique de la plante « *Satureja Calamintha* » (touret) chez le rat.

Notre étude se divise en trois parties :

La première aborde une étude bibliographique qui donne des approches sur l'intoxication hépatique au paracétamol, et est répartie en trois sections :

L'une pour le foie, son anatomie, sa physiologie et ses fonctions. L'autre présente des généralités sur le paracétamol, alors que la dernière section explique l'intoxication au paracétamol et le stress oxydant

La deuxième partie est réservée à la description de la plante de l'étude.

La troisième partie illustre le matériel et les méthodes utilisées.

La quatrième partie est consacrée à la présentation des résultats et leur discussion.

**Première partie**  
**Synthèse bibliographique**

# **Chapitre I**

## **Intoxication hépatique au paracétamol**



## 1. Le foie

### 1.1. Anatomie

Le foie est l'organe le plus volumineux de l'organisme et par conséquent un des plus vascularisés (**Franciscus, 2015**). Le foie est une glande annexée au tube digestif, de couleur rouge-brun, homogène. Son poids propre est d'environ 1,5 kg auquel il faut ajouter les 800 grammes de sang généralement présents dans le foie (**Beaugerie et Sokol, 2014**).

Du point de vue anatomique, le foie se situe dans le quadrant supérieur droit de la cavité abdominale sous l'hémi-diaphragme droit, il est protégé par la cage thoracique (**Abdel-Misih et Bloomston, 2010**). Il est divisé en quatre lobes inégaux (Figure 01), tous divisés en segments : le lobe hépatique droit est le plus volumineux, il est séparé du lobe hépatique gauche par le ligament suspenseur falciforme ; le lobe carré et caudé se situent entre les lobes droit et gauche. Ils sont séparés par un sillon appelé le hile du foie. C'est par ce hile qu'arrivent l'artère hépatique et la veine porte ainsi que les voies biliaires. La vésicule biliaire est d'ailleurs liée au lobe hépatique droit et caudé du foie (**Elaine, 2005**).

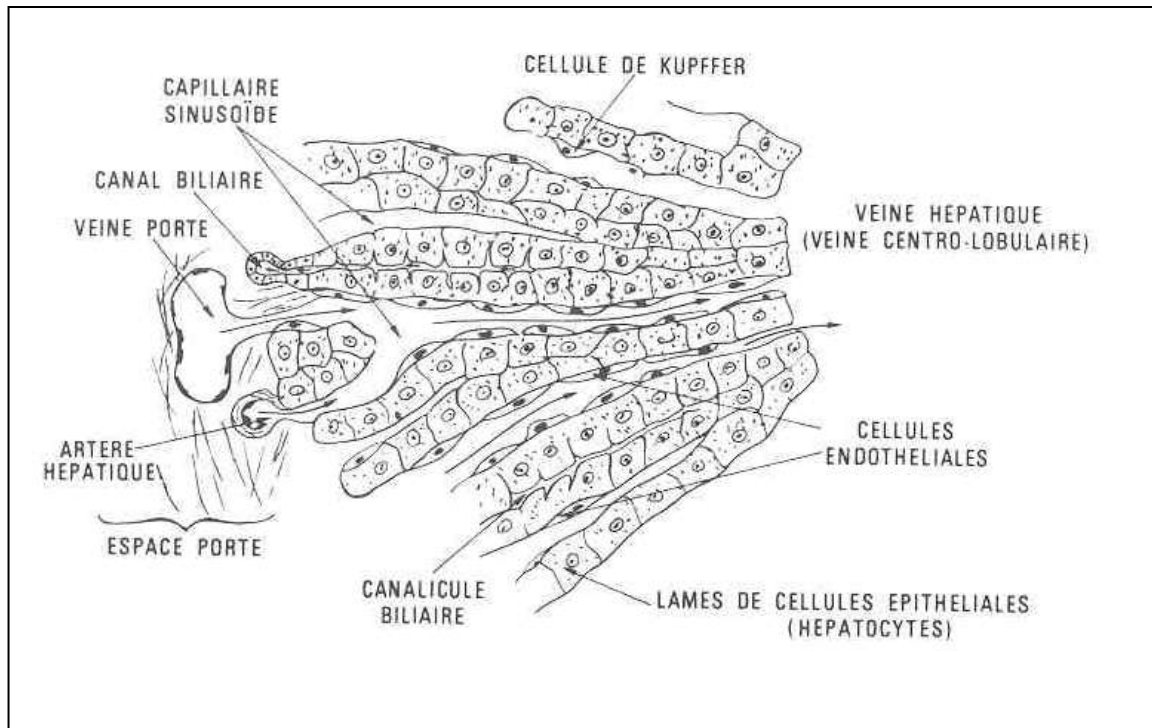
### 1.2. Structure du tissu hépatique

Le foie est constitué de millions de lobules hépatiques entre lesquels circulent les vaisseaux sanguins qui alimentent les lobules et collectent les substances qu'ils produisent et des canaux biliaires qui collectent la bile produite par les lobules.

Le lobule hépatique a une forme hexagonale et il est centré sur veinule hépatique terminale appelé veinule centrolobulaire. Les angles de cet hexagone correspondent aux espaces interlobulaires ou espaces portes, constitués de tissu conjonctif.

Chaque lobule est formée de deux types de cellules principales : les cellules parenchymateuses ou hépatocytes (les plus abondantes) et les cellules sinusoidales : dont les cellules endothéliales. Les cellules de Kupffer sont des macrophages résident qui, situées à l'intérieur du sinusoïde afin d'épurer le sang sinusoidal des impuretés (**Deugnier, 2005 ; Gandillet, 2004**).

Les cellules hépatiques s'associent entre elles pour former de véritables murs cellulaires ou lames : travées de Remak, séparés les uns des autres par des espaces dans lesquels sont logés les sinusoides veineux (figure 02).



**Figure 01** : les principaux constituants du lobule hépatique (source :

<http://www.pediatrie.be/Anesth%E9sie.htm>)

### 1.3. Fonctions du foie

Le foie est responsable de quelque 500 fonctions corporelles. Il joue un rôle dans la digestion, le métabolisme du sucre et des graisses et dans la défense immunitaire de l'organisme (Franciscus, 2015).

#### 1.3.1. Métaboliques

##### 1.3.1.1. Digestion

Le foie joue un rôle important dans la digestion et le traitement des aliments. Les cellules hépatiques produisent de la bile pour faciliter la digestion des graisses et l'absorption. La bile est sécrétée en permanence par le foie et stockée dans la vésicule biliaire jusqu'à un repas. Les sous-produits de la dégradation des médicaments et des substances toxiques traitées par le foie sont transportés dans la bile et excrétés par le corps (Seif, 2016).

### 1.3.1.2. Métabolismes des carbohydrates, lipides

Le foie effectue de nombreuses fonctions métaboliques, fournissant au corps l'énergie dont il a besoin. Il régule la production, le stockage et la libération de sucres. À l'état post prandiale (après un repas), le foie convertit le glucose en glycogène, qui est stocké pour une utilisation ultérieure. Lorsque l'énergie est nécessaire, le foie convertit le glycogène en glucose dans un processus appelé glucogénolyse.

Le foie régule le stockage des graisses en convertissant les acides aminés de la nourriture digérée en acides gras tels que les triglycérides. Lorsque le corps n'a pas assez de sucre, le foie convertit les acides gras en cétones, qui peuvent être utilisés comme carburant. Le foie contrôle également la production, le métabolisme et l'excrétion du cholestérol, qui est un composant important des membranes cellulaires et de certaines hormones (**Franciscus, 2015**).

### 1.3.1.3. Synthèse des protéines

Le foie synthétise plusieurs protéines plasmatiques, y compris des enzymes, des hormones, des facteurs de coagulation, et facteurs immunitaires. Les enzymes hépatiques appelées aminotransférases ou transaminases : Aspartate Amino transférase (ASAT) ou SGOT (Sérum- Glutamate- transaminase), et ALAT= Alanine Amino Transférase ou SGPT (Sérum Glutamyl- Pyruvate transaminase) décomposent les acides aminés acides provenant de la nourriture digérée et les reconstruire en nouvelles protéines nécessaires pour le corps. Lorsque les cellules du foie sont enflammées ou endommagées, ces enzymes peuvent s'échapper et s'accumuler à des niveaux élevés dans le sang.

D'autres protéines synthétisées par le foie comprennent la phosphatase alcaline, la gammaglutamyl transférase (GGT) et le facteur de croissance de l'insuline (IGF-1) (**Franciscus, 2015**).

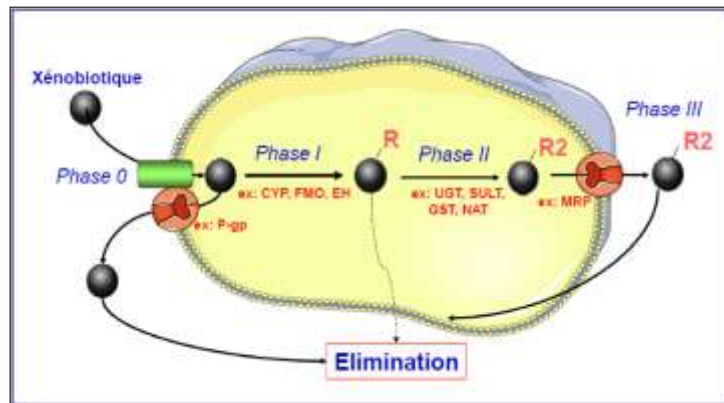
### 1.3.1.4. Stockage des vitamines

Le foie stocke plusieurs nutriments, y compris les minéraux et les vitamines A, D, B-9 (folates) et B12 (**Seif, 2016**). Il stocke également le fer et joue un rôle dans la conversion du fer en hème, un composant de l'hémoglobine (la molécule transportant l'oxygène dans les globules rouges) (**Franciscus, 2015**).

### 1.3.2. Dans la détoxification

Le foie est le principal acteur du métabolisme des xenobiotiques qui a lieu dans les hépatocytes (les reins, poumons, la peau peuvent être également impliquée) (**Buatois et al., 2014**).

Le devenir des xénobiotiques se déroule en 04 phases selon le schéma général présenté en (Figure 03) :



**Figure 02** : Schéma général des 4 phases du métabolisme et du transport d'un xénobiotique dans une cellule (**Buatois et al., 2014**).

- La première phase (Phase 0) correspond à l'entrée de la molécule dans la cellule. Le passage transmembranaire peut se faire par diffusion passive ou fait intervenir des transporteurs transmembranaires.

- Une fois que le xénobiotique est entré dans l'hépatocyte, il pourra être métabolisé par les enzymes du métabolisme des xénobiotiques selon les phases 1 et 2. Les enzymes de phase 1 (ou phase d'oxydation) vont transformer chimiquement le xénobiotique en un métabolite plus hydrophile.

Les cytochromes P450 (les CYP) sont les principales enzymes de cette phase (**Xu et al., 2005**). Les enzymes de phase 2 peuvent métaboliser directement le xénobiotique ou ses métabolites produits pendant la phase 1. Leur rôle est d'y greffer un groupement hydrophile afin de rendre les métabolites de phase 2 aptes à être éliminés par le rein. On citera les glutathion-S-transférase (GST), les UDP glucuronosyl transférase (UGT), les sulfotransférases, les N-acétyltransférase, les méthyltransférases. . .

- La phase 3 correspond à la sortie du xénobiotique, du métabolite de phase 1, ou du métabolite de phase 2 hors de l'hépatocyte (**Buatois et al., 2014 ; Buyse et al., 2007 ; Yang et al., 2014**).

#### 1.4. Atteintes hépatiques

L'hépatite chronique C ou B, la consommation excessive d'alcool et d'autres facteurs peuvent entraîner des lésions hépatiques graves. Le foie effectue plusieurs fonctions vitales, il n'est pas surprenant que la lésion hépatique peut avoir un effet sur presque tous les systèmes du corps, y compris les systèmes digestif, endocrinien, cardiovasculaire et immunitaire (**Franciscus, 2015**).

Lorsque le foie subit des dommages, le tissu hépatique normal devient fibreux (fibrose - cicatrice légère), gras (stéatose) et largement cicatrisé (cirrhose). Si le foie devient trop lourdement endommagé (nécrose), il n'est plus capable de remplir ses fonctions normales. (**Franciscus, 2015**).

Il est admis, néanmoins, que les toxiques sont à l'origine d'environ 10 % des insuffisances hépatiques aiguës et de 5 % des ictères. Les principaux toxiques en cause sont le paracétamol, les antibiotiques, les anticancéreux, les psychotropes, les hypolipémiants et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). (**Mégarbaneet al., 2007 ; Bendjaffer et Zehani, 2015**).

**Tableau 01** : Quelques agents causant les lésions hépatiques (**Mégarbaneet al., 2007 ; Bendjaffer et Zehani, 2015**).

Lésions hépatiques	Agents toxiques	Pathogénèses
<b>Nécrose toxique</b>	Acétaminophéne, Fortes doses de fer.	Dommages membranaires ; liée à la dose.
<b>Stéatose</b>	Tétracycline, Arsenic, Benzéne.	Surcharge en graisse dans les hépatocytes.
<b>Fibrose /cirrhose</b>	Méthotrexate, l'alcool.	Liée à la dose ; dommages métaboliques toxiques insidieux.

## 2. Généralités sur le paracétamol

L'acetaminophen (nom anglais) ou N-Acétyl-P-Amino-Phénol (APAP), paracétamol est un médicament analgésique et antipyrétique en vente libre. Il a eu une utilisation globale et commune depuis 1955. Il est présenté sous diverses formulations : comprimés, capsules, suspensions, suppositoires rectaux, et pour utilisation intraveineuse à la fois comme médicament à ingrédient unique ou combiné à libération immédiate ou prolongée (Hinson, 2010 ; Bunchorntavakul et Reddy, 2018).

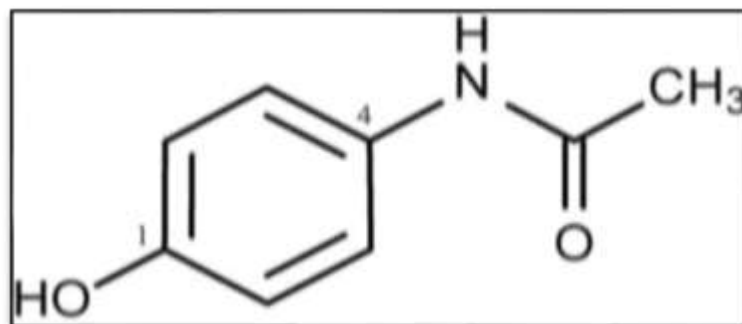
Bien que le paracétamol soit généralement considéré comme sûr aux doses thérapeutiques habituelles, cependant, un surdosage d'APAP peut provoquer de graves lésions hépatiques. Les premiers cas d'hépatotoxicité APAP ont été rapportés en 1966, Il est maintenant la principale cause d'insuffisance hépatique aiguë dans de nombreux pays occidentaux (McGill et Jaeschke, 2013).

### 2.1. Chimie du paracétamol

#### 2.1.1. Nom chimique

La formule chimique du paracétamol est : [Le N- (4-hydroxyphényl) acétamide :  $C_8H_9NO_2$ ] (James et al., 2009).

#### 2.1.2. La formule semi développée



**Figure 03** : Structure de l'acétaminophène (N-acétyl-4-aminophénol) (Blough et Wu, 2011).

## 2.2. Pharmacodynamie du paracétamol

Bien que le paracétamol ait été découvert il y a 100 ans et a été largement utilisé dans le médical pratique depuis plus de la moitié du siècle, son mécanisme d'action n'a pas été élucidé jusqu'à présent (**Józwiak-Bebenista et Nowak, 2014**) en raison qu'a des propriétés analgésiques et antipyrétiques de même aux AINS (**Manchon, 2000**).

Le paracétamol est très lipophile, il pénètre très rapidement le cerveau et inhibe la production des enzymes prostaglandines en agissant sur un site actif cyclo-oxygénase COX-1 et COX-2 (**Anderson, 2008**). Mais le paracétamol ne pourrait pas inhiber la cyclo-oxygénase dans un milieu riche en radicaux peroxydes (**Monassier, 2005**).

## 2.3. Pharmacocinétique du paracétamol

La dose thérapeutique d'APAP est de 325 à 1000 mg / dose, administrée toutes les 4 à 6 heures, avec une dose quotidienne maximale recommandée de 3250 mg (**Bunchorntavakul et Reddy, 2018**) et sa pharmacocinétique se fait comme suit :

### a) Absorption et distribution

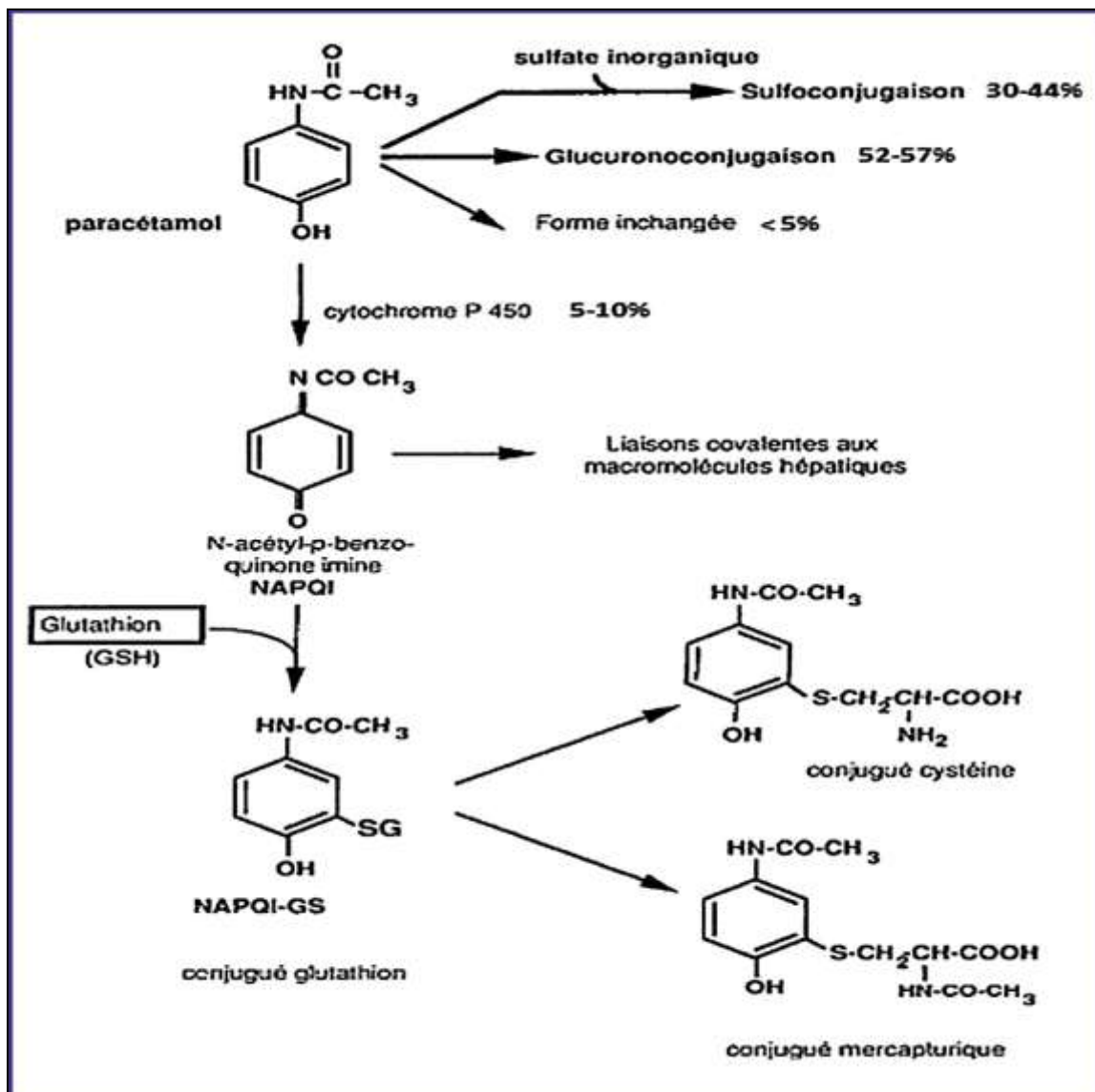
Le paracétamol est rapidement absorbé dans l'intestin grêle dont le taux peut atteindre 90 % pour la majorité des formes galéniques (**Manchon, 2000**) avec un pic de concentration plasmatique observé une à 2 heures après l'ingestion de comprimés ou de gélules à libération immédiate et 30 minutes après l'ingestion d'une solution (**Mégarbane, 2017**). Cependant les concentrations sériques thérapeutiques vont de 10 à 20 mg / ml (**McGill et Jaeschke, 2013**). La distribution est rapide, dans les deux à quatre heures avec un volume de distribution de 0,9 l/kg (**Mégarbane, 2017**).

### b) Métabolisme et élimination

Le paracétamol est métabolisé suivant différentes voies (Figure 05). La glucuroconjugaison représente 52—57 % de la métabolisation du paracétamol et la sulfoconjugaison prend en charge 30—44 % de la dose totale de paracétamol présente dans l'organisme. Une excrétion urinaire des métabolites succède à ces deux voies de détoxification. Les cytochromes P450 métabolisent 5 à 10 % du paracétamol. Une petite partie, moins de 5 %, est excrétée sous forme inchangée.

Il semble acquis que les isoformes responsables de la métabolisation du paracétamol en N-acétyl-p-benzoquinone imine (NAPQI), métabolite toxique du paracétamol, soient les CYP2E1, 1A2 et 3A4 (Mégarbane, 2017 ; Mazaleuskaya et al., 2015 ; Albichr et Hantson, 2017).

La demi-vie sérique de l'APAP est de 2 à 3 heures, cependant, il est prolongé à plus de 4 heures chez les sujets atteints une lésion hépatique et maladie hépatique chronique, et chez ceux qui ingèrent des préparations à libération prolongée (Bunchorntavakul, et Reddy, 2018).



**Figure 04** : Le métabolisme du paracétamol et son rôle dans la toxicité (Albichr et Hantson, 2017).



Les médicaments dits « enzymes dépendants » tel que paracétamol ont une clairance hépatique dépend surtout des capacités enzymatiques hépatiques et de leur liaison aux protéines plasmatiques, surtout s'ils sont fortement liés. En revanche, ils seront plus sensibles aux phénomènes d'induction ou d'inhibition des enzymes hépatiques impliquées lors de la métabolisation hépatique des médicaments (**Buyse et al., 2007**).

### 3. Intoxication au paracétamol et stress oxydant

L'APAP n'est pas toxique par lui-même mais son hépatotoxicité est dose dépendante (**Mégarbaneet al., 2007**). Ainsi, à forte dose d'APAP, les systèmes de sulfoconjugaison et glucuronoconjugaison deviennent rapidement saturés et des proportions plus élevées du médicament sont éliminées inchangées (~10%) et oxydées en NAPQI (>15%) par plusieurs iso enzymes des cytochromes P450 (**Hinson et al., 2010 ; Mazaleuskaya et al., 2015**).

Ce métabolite réactif (NAPQI) peut se lier à la cystéine thiol du glutathion (GSH) et ceci est un mécanisme critique de détoxification qui peut être spontané ou catalysée par la glutathion-S-transférases (GSTs) formant ainsi des conjugués GSH-NAPQI (**McGill et Jaeschke, 2013**).

La quantité trop importante de NAPQI formée épuise le GSH environ 70% à 80% (**Mazaleuskaya et al., 2015**). Le NAPQI qui n'est plus détoxifié est ainsi libre se lie de manière covalente aux protéines cellulaires et cause un dysfonctionnement mitochondrial et une nécrose centrolobulaire (**Albichret Hantson, 2017**).

Cette déplétion en GSH entraîne une augmentation du stress oxydatif qui est le mécanisme prédominant dans la toxicité du paracétamol qui met en jeu une réaction de Fenton (**Hinson et al., 2010**). Ce mécanisme est initié par la formation de superoxyde cellulaire ( $O_2^-$ ) qui va subir une dismutation générant du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). Il peut également réagir avec l'oxyde nitrique (NO) et va former du peroxyde nitrique (**Albichr et Hantson, 2017**). Ces dérivés réactifs de l'oxygène peuvent interagir avec de nombreuses cibles biologiques : ils peuvent oxyder des lipides (LPO), ainsi que des protéines et acides nucléiques (**Hinson et al., 2010**).

## **Chapitre II**

### **La plante *Satureja calamintha***

## 1. Présentation de la famille des *lamiacées*

La famille des *lamiacées* ou *labiacées* est l'une des plus grandes familles parmi les dicotylédones (Venkateshappa et Sreenath, 2013). Comprenant plus de 230 genres et environ 7000 espèces réparties dans le monde entier, particulièrement en région méditerranéenne, en Asie centrale, en Amérique, en Chine. Cette grande famille est connue pour la grande quantité d'espèces médicinales, aromatiques, culinaires et ornementales. Elle est considérée comme étant étroitement liés au *Verbenaceae* (Benedec et al., 2015)

Elle est l'une des familles de plantes les plus répandues en termes d'ethnomédecine en raison de sa valeur médicinale basée sur la concentration en huiles volatiles qui sont largement utilisé dans les industries des pesticides, des produits pharmaceutiques, des arômes et des cosmétiques, mais principalement possèdent des propriétés pharmacologiques tant sur la santé humaine qu'industriel (Venkateshappa et Sreenath, 2013).

Ainsi, les bienfaits prouvés sur la santé humaine représentent la principale raison pour laquelle diverses espèces de cette famille sont de plus en plus exploitées de nos jours, sous différentes formulations. Ces approches ont révélé non seulement des effets thérapeutiques similaires à ceux des molécules chimiques de synthèse, mais n'ont produit aucun effet secondaire et peuvent donc être utilisés sur de plus longues périodes de temps (Cocan et al., 2018).

La famille des *lamiacées* contient une très large gamme de composés comme les acides hydroxycinnamiques (HCA), y compris des acides rosmariniques (RS), féruliques (FE), caféiques (CA) et coumariques (CU) et des composés phytochimiques à potentiel biologique, notamment antibactériens, antiviraux, antioxydants, anti-inflammatoires antidépresseurs, anticancéreux, antiangiogéniques et anti hépatotoxiques (Cocan et al., 2018).

## 2. Le genre *Satureja* et la plante *Satureja calamintha*

Le genre *Satureja* appartenant à la famille des *Lamiaceae*, comporte environ 200 espèces d'herbes et d'arbustes aromatiques largement réparties dans la région méditerranéenne, en Asie et en Amérique du Nord (Skočibušić, 2006); Principalement peuplent les régions arides, ensoleillées, pierreuses et rocheuses (Ćavar, 2008).

En effet, le terme « *Satureja* » vient du mot latin "satura" c'est-à-dire pot à fleur (ornemental) (Bougandoura et Bendimerad, 2012).

Beaucoup de membres de ce genre sont bien connus pour leur utilisation dans la médecine traditionnelle (Tepe et Cilkiz, 2016). Cette plante jouit d'une grande popularité en Algérie et au Maroc comme remède contre la toux, l'indigestion et les infections respiratoires bénignes (Bougandoura et Bendimerad, 2012).

En Algérie, le genre *Satureja* est présent avec quatre sous-genres dont le sous-genre *calamintha* comprend cinq espèces et trois sous-espèces (Kerbouche et al., 2013).

Le genre *calamintha* est dérivé du grec « Kalos »= beau, et « mintha »= la menthe, faisant allusion à la similitude de la plante à la menthe.

➤ **Nomenclature (Ghourriet al., 2014 ; Kerbouche et al., 2013).**

<b>Nom botanique</b>	<i>Satureja calamintha</i> subsp. <i>Nepeta</i> (L.) Briq. (Synonyme: <i>Calamintha nepeta</i> )
<b>Nom français</b>	Calamenthe, Sarriette
<b>Nom vernaculaire</b>	Menta, Nabta, Touret

➤ **systematique**

La position systématique de l'espèce *Satureja calamintha* (Quézel et Santa, 1963) est :

- Règne : végétale
- Sous règne : plantes vasculaires
- Ensemble : Eucaryote
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous embranchement : Angiosperme
- Classe : Dicotylédones
- Sous classe : Gamopétales
- Ordre : Lamiales
- Famille : Labiées
- Sous famille : *Nepetoideae*
- Genre : *Satureja*
- Sous genre : *Calamintha*
- Espèce : *calamintha nepeta*
- Sous espèce : *Baborensis*

## 2.1. Aspect botanique

C'est une petite plante vivace, pubère, qui ne dépasse pas 40-80 cm de haut, au parfum mentholé et de couleur vert-grisâtre (**Kerbouche et al., 2013**), avec des fleurs blanches violettes à pédoncule (**Nebia et al., 2018**). Les tiges sont molles et velues, et portent des feuilles opposées, à pétiole moyen légèrement dentées. Cependant les fleurs sont d'un joli rose ou pourpre et visible de juillet à octobre (**Bougandoura et Bendimerad, 2012**).



**Figure 05** : Photo du *Satureja Calamintha* Moench subsp. Baborensis prise de son site d'origine Aftis Jijel (**Khelfallah, 2013**).

## 2.2. Travaux antérieurs sur *Satureja calamintha*

Plusieurs travaux ont été réalisés sur le genre *Satureja* et ayant révélé la présence d'huiles essentielles, de flavonoïdes, de tanins, d'acides phénols (acide rosmarinique, acide caféique) et de saponines. Toutefois, peu de travaux en Algérie ont été consacrés à l'espèce *Satureja calamintha* et se limitent à l'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle (**Bougandoura et Bendimerad, 2012**).

Plusieurs travaux ont été réalisés sur le genre *Satureja*. Les huiles essentiels isolées à partir de diverses espèces de la sarriette possèdent diverses propriétés biologiques telles que, anti-fongiques (**Cherrat, 2014 ; Labiod, 2016**), anti-bactériennes (**Cherrat, 2014 ; Labiod, 2016 ; El-Kalamouni, 2010**), anti-oxydant (**El-Kalamouni, 2010**), anti HIV-1, anti-diabétique (**Jafari et al., 2016**).

Cependant, peu de travaux en Algérie ont été consacré à l'espèce *Satureja calamintha* et se limite à l'étude de ses huiles essentiels (**Labioud, 2016 ; Bouguandoura, 2011**), de sa composition phénolique (**Benkineouar, 2007 ; Khelfallah, 2013**), de son pouvoir antioxydant (**Khaled khoudja et al., 2014 ; Tamer et Latrech, 2015 ; Khelfallah, 2013**), anti diarrhéique (**Aribi, 2012**). **Bouguandoura et Bendimerad, en 2012 et en 2013** ont été évalué l'activité antifongique et antioxydante des extraits éthanoliques et aqueux préparés à partir des feuilles de *Satureja calamintha*.

Toutefois, à notre connaissance, cette plante n'a fait l'objet d'aucune recherche relative à son activité hépatoprotectrice.

### 2.2.1. Principales substances bioactives

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leurs capacités à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ils s'accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Macheix et al., 2005**).

L'étude de l'espèce *Satureja calamintha* a permis de déterminer la présence des différentes familles de ces métabolites secondaires contenus dans les feuilles à savoir : les flavonoïdes, les tannins, les huiles volatiles, les stérols et stéroïdes, les saponosides et les coumarines (**Bouguandoura et Bendimerad, 2013**).

**Benkiniour, (2009)** a révélé la présence de six flavonoïdes dont l'Apigénine, lutéoline, 5-desméthysinensetin (5-hydroxy, 6,7, 3',4' tétraméthoxyflavone), xanthomicrol (5,4' dihydroxy, 6,7, 8-triméthoxyflavone), quercétine 3-glucoside, 5,3',4'-OH-6, 7, 8-O méthylflavone.

Des analyses qualitatives des différents fractions de la sarriette par la chromatographie sur couche mince analytique et bidimensionnelle révélés par le réactif de Neu effectuées par **Khelfallah, (2013)** a confirmé la richesse de la plante par les composés phénoliques et particulièrement en flavonoïdes.

### 2.2.2. Utilisation en médecine traditionnelle

La sarriette est utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne (**Nebia et al., 2018**). Elle jouit d'une grande faveur populaire en Algérie et au Maroc comme remède contre la toux, l'indigestion et les infections respiratoires bénignes. En effet, cette plante expectorante, stomachique et tonique, possède des propriétés antiseptiques, antispasmodiques et carminatives (**Bougandoura et Bendimerad, 2012**).

Les espèces de *Satureja* sont utilisées comme des désinfectants puissants et comme des agents odoriférants dans les parfums (**Bougandoura et Bendimerad, 2013**).

Ils ont traditionnellement été utilisés comme analgésiques, toniques et carminatifs pour traiter les douleurs musculaires, des troubles gastriques et intestinaux tels que crampes, nausées, et diarrhée (**Kerbouche et al., 2013**).

La tige feuillée de la sarriette est utilisée en infusion dans du thé contre la fièvre, la grippe, les douleurs gastriques et comme rafraîchissant (**Ech-Chahad et al., 2013**).

**Deuxième partie**  
**Matériel et Méthodes**



## 1. Matériel végétal « *Satureja calamintha* »

L'extrait hydro-éthanolique de la plante « *Satureja calamintha* » (sarriette) a été fourni par M<sup>me</sup>Khelfallah Amina, doctorante à l'université de Jijel, maître assistante classe A à l'université Constantine 1.

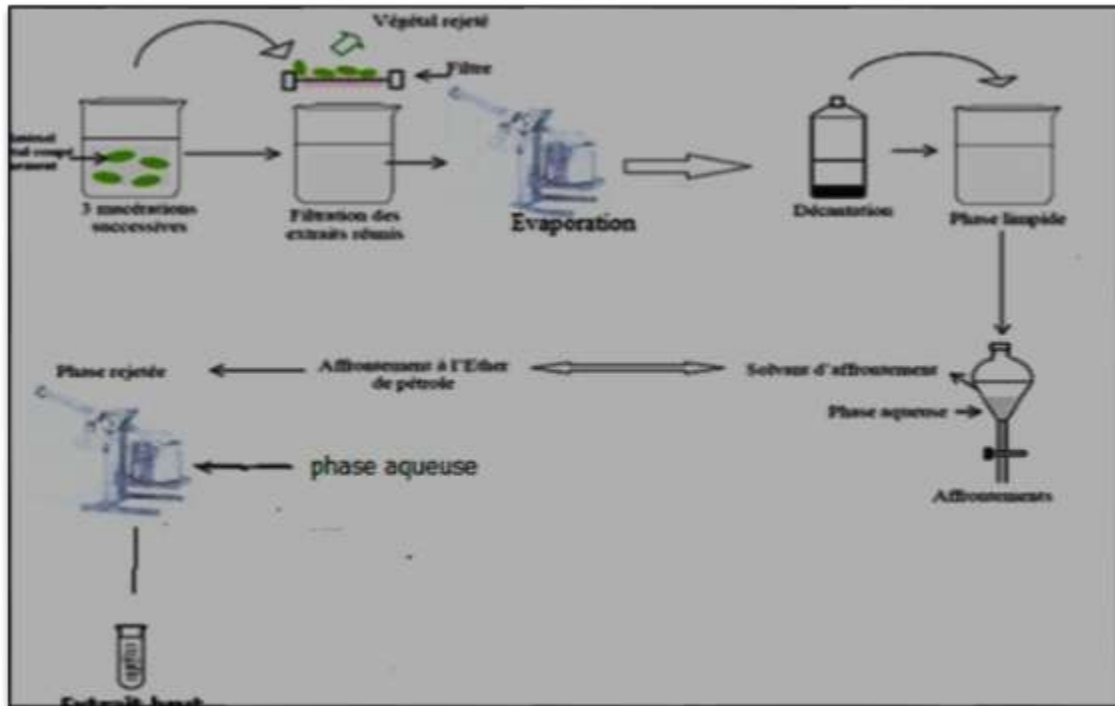
### 1.1. Récolte de la plante « *Satureja calamintha* »

La plante a été récoltée en mois d'Août 2016 en période de floraison, au niveau du Parc National de Taza (Ziama Mansouriah, wilaya de Jijel). Après le nettoyage du matériel végétal récolté, la plante entière a été laissée sécher à l'air libre et à l'abri de la lumière, afin de préserver l'intégrité de la totalité des molécules bioactives. La partie aérienne de la plante (feuilles et fleurs) a été ensuite broyée grossièrement avec un broyeur électrique (type Moulinex).

### 1.2. Préparation de l'extrait végétal lyophilisé

L'extraction a été effectuée au niveau du laboratoire de Biochimie de la faculté des sciences de la nature et de la vie (université Constantine 1). L'extraction a été faite par macération qui est basée sur la diffusion des molécules bioactives présentes dans une phase solide (plante sèche broyée) vers une phase liquide (mélange hydroéthanolique) (60% dans la présente étude). Le rapport solvant/matériel végétal était de (10/1 : ml/g). Cette macération a été faite en trois jours successifs avec renouvellement du solvant chaque 24 heures et agitation de temps en temps. Ceci pour permettre une meilleure extraction des composés phénoliques.

Le macérât est soumis à une évaporation à basse pression à 40°C (Rotavapor<sup>®</sup>, Büchi B490) pour éliminer le maximum de solvant et de concentrer l'extrait. Ce dernier est laissé au réfrigérateur pendant 24 heures, afin de faire décanter les cires, les boues, les lipides. La phase limpide a ensuite subi un lavage par l'éther de pétrole (v/v) (l'opération est répétée 3 fois) pour débarrasser encore des cires, des lipides et de chlorophylle. L'extrait global purifié de la plante a été encore concentré par évaporation sous pression puis lyophilisé (LABCONCO). L'extrait est conservé au congélateur jusqu'au moment d'analyse (Khelfallah A., 2013).



**Figure 06** : protocole d'extraction des composés phénoliques suivie pour la sarriette (Khelfallah A., 2013).

## 2. Matériel de laboratoire

Nous avons utilisé les équipements suivants : Spectrophotomètre (SPECORD 50 PLUS), pH mètre, Centrifugeuse à froid (Sigma 3-16 PK) et normale, Balance analytique (KERN ALS 220-4N), Autoanalyseur (ADVIA 1800 siemens), Bain marie, Vortex.

## 3. Animaux de laboratoire

Pour tenter à tester l'activité hépatoprotectrice de la plante *Satureja calamintha in vivo*, nous avons ramené des rats de souche Wistar (*Rattus norvegicus*) de sexe féminin dont le poids varie de 160 à 220 g à partir de l'institut Pasteur d'Alger. Ces rats sont maintenus dans l'animalerie du département des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV), université de Jijel, rangés dans des cages métalliques et ils ont accès à volonté à la nourriture standard (Crockett) et à l'eau.

## 4. Méthodes suivies

### 4.1. Préparation des solutions de paracétamol

La concentration du paracétamol testée est de 2g/kg (**Rajasekaran et Periyasamy., 2012**). Elle est préparée à partir des comprimés (Doliprane® 1000 Sanofi aventis) qui sont broyées et solubilisées dans de l'eau distillé suivant le poids corporel de chaque rat.

### 4.2. Préparation de l'extrait brut éthanolique de *Satureja calamintha*

La concentration de l'extrait brut éthanolique de *Satureja calamintha* (400mg/kg) est préparé extemporanément. L'extrait est solubilisé dans l'eau physiologique. La concentration de l'extrait est calculée suivant le poids vif de l'animal (**Rajasekaran et Periyasamy., 2012**).

### 4.3. Traitement des animaux

Les rats ont été divisés en 4 groupes de 7 animaux chacun et ont été traités en aigue (3 jours) suivant le tableau ci-dessous :

**Tableau 02:** Les différents groupes des rats et les traitements correspondants.

Lots	Traitements
<b>Groupe I normal (7 rats):</b> contrôle négatif sain	Reçoivent quotidiennement (3 jours successifs) par gavage gastrique 1ml d'eau distillée. Le 3e jour et après une heure de l'administration de la dernière dose, ils reçoivent encore 1ml d'eau distillé.
<b>Groupe II (APAP) (7rats):</b> contrôle positif intoxicque	Reçoivent quotidiennement (3 jours successifs) par gavage gastrique 1ml d'eau distillée. Le 3e jour et après une heure de l'administration de la dernière dose, la suspension de paracétamol a été introduit par voie orale, 2 g/kg de poids corporel à tous les rats
<b>Groupe III (7 rats) :</b> <b>(Satureja S +APAP)</b>	Reçoivent quotidiennement (3 jours successifs) par gavage gastrique 1ml de l'extrait (400mg/kg). Le 3e jour et après une heure de l'administration de la dernière dose, la suspension de paracétamol a été introduit par voie orale, 2 g/kg de poids corporel à tous les rats
<b>Groupe IV (7 rats) :</b> Satureja(S)	Reçoivent quotidiennement (3 jours successifs) par gavage gastrique 1ml de l'extrait (400mg/kg). Le 3e jour et après une heure de l'administration de la dernière dose, ils reçoivent encore 1ml d'eau distillé.

Après 7 heures d'induction d'hépatotoxicité, les animaux sont mis à jeun non hydrique.

#### 4.4. Prélèvement sanguin

Le prélèvement du sang a été effectué le jour des sacrifices et mis dans des tubes contenant de l'héparine pour éviter sa coagulation. Le sang collecté est ensuite centrifugé à 3000 tours/15min puis le plasma est récupéré dans des tubes Ependorff et est conservé à froid jusqu'au moment de l'analyse.

##### 4.4.1. Analyses biochimiques

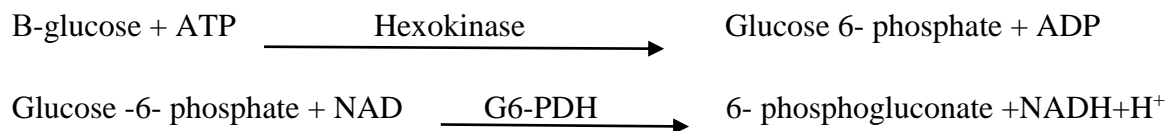
Les paramètres biochimiques effectués sur le plasma collecté concernent : la glycémie, le bilan hépatique (les transaminases TGO, TGP, PAL). Ces analyses ont été effectuées au niveau du laboratoire central de biochimie du centre Hospitalo-universitaire Dr Benbadis Constantine.

##### 4.1.1. Dosage du glucose

La glycémie a été déterminée suivant une méthode enzymatique (Hexokinase/glucose 6 phospho-déshydrogénase) en utilisant le Kit de réactif de glucosepar un autoanalyseur de type ADVIA 1800 SIEMENS (Keston A., 1956).

##### - Principe de dosage

Le glucose est phosphorylé par l'hexokinase (HK) en présence de l'adénosine triphosphate (ATP) et d'ion de magnésium, produisant ainsi du glucose-6-phosphate (G-6-P) et d'adénosine diphosphate (ADP). La glucose 6 phosphate déshydrogénase (G6-PDH) oxyde en particulier le G-6-P en 6- phosphogluconate avec réduction simultanée du nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) en nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH).

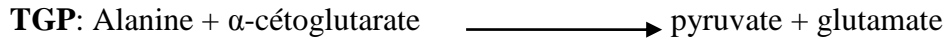
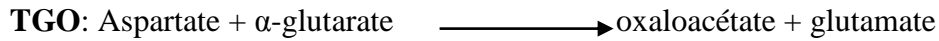


Le NADH+H<sup>+</sup> produit absorbe la lumière à 340nm et l'augmentation de l'absorbance peut être détectée par spectrophotométrie.

##### 4.1.2. Bilan hépatique

Les transaminases sont dosées, par une méthode colorimétrique enzymatique (ADVIA 1800 SIEMENS). L'alanine aminotransférase (ALAT), connue sous le nom de transaminase glutamique oxaloacétique (TGO) et l'aspartateamino transférase (ASAT), connue sous le nom

de transaminase glutamique pyruvique (TGP) sont des transaminases catalysant le transfert de la fonction amine entre les acides aminés et les acides  $\alpha$ -cétoniques selon les réactions suivantes :

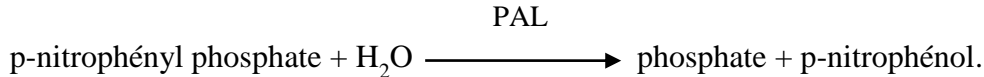


Le pyruvate ou l'oxaloacétate ainsi formés, sont dosés sous forme de leur dérivé 2,4 dinitrophénylhydrazone, qui donne en milieu alcalin une coloration lisible à 505nm proportionnelle à l'activité TGO ou TGP (<http://www.biolabo.fr/biolabo/pdfs>).

La phosphatase alcaline (**PAL**) est dosée, par une méthode colorimétrique.

#### - Principe de dosage

Le substrat phosphate p-nitrophényl est hydrolysé par la Phosphatase Alcaline de l'échantillon, en présence d'ions Magnésium, pour former du p-nitrophénol de couleur jaune qui peut être lu à 405 nm. L'intensité de la couleur produite est proportionnelle à l'activité de la phosphatase alcaline présente dans l'échantillon (**Dali., 2013**).



### 5. Dosage du taux du glycogène dans le foie

Le dosage de glycogène a été effectué en utilisant une méthode colorimétrique selon Dedier, 1994 selon le protocole suivant: 5 grammes de foie sont coupés en petits morceaux et bouillis ensuite dans 50 ml d'eau distillée pendant 2 minutes. Les fragments de foie sont égouttés à l'aide d'une passoire et broyés avec le mortier. 25 ml d'eau distillée sont ajoutés au broyat et la suspension obtenue est bouillie pendant 5 minutes. Le bouillon est filtré sous vide sur Büchner puis le filtrat est récupéré avec 3 gouttes d'HCl (pour précipiter les protéines) et est filtré à nouveau. Le filtrat est traité par 4 fois son volume d'alcool 95% puis filtré sous vide et le filtrat final est repris avec 2 ml d'eau distillée. Pour doser le glycogène, 3 ml d'eau distillée et une goutte de lugol sont ajoutés à 1 ml d'extrait de glycogène obtenu et la densité optique de la coloration brun acajou est lue à 470 nm (**Kebieche., 2009**). La concentration de glycogène est déduite à partir d'une gamme étalon établie avec du glycogène pur comme standard. Les résultats sont exprimés en mg/g de tissu (**Annexe 01**).

## 6. Préparation de la fraction cytosolique du foie

Le foie après son prélèvement, est pesé et 1g de foie est immergé dans 4 volume du tampon TSE (250mM sucrose, 50mM Tris, 0.1M EDTA, PH 7.2 à 4°C) et broyé avec un broyeur électrique ce qui permet la destruction des cellules. L'homogénat récupéré est ensuite centrifugé une première fois à 800g pendant 10 min à 4°C (centrifugeuse Sigma 3-16 PK) permettant ainsi la libération des grands débris cellulaires. Le surnageant issu de cette centrifugation est centrifugé une deuxième fois à 8000g pendant 10min à 4°C. Le surnageant issu de cette centrifugation est récupéré et considéré comme fraction cytosolique et le culot obtenu est resuspendu dans 1ml TSE et centrifugé à 8000g pendant 10min à 4°C.

Le surnageant issu de cette dernière centrifugation est récupéré et mélangé avec le premier surnageant de la deuxième centrifugation (**Plouffe et al., 2014**).

### 6.1. Dosage des protéines totales cytosolique

La teneur en protéines a été quantifiée par la méthode de **Bradford (1976)**. Pour cela, 100 ml du concentré bleu de Coomassie a été dilué dans 100 ml de l'eau distillée, puis 4 ml de ce colorant dilué a été ajouté à 10 µl de l'échantillon dilué à 1/10<sup>ème</sup>. Le mélange a été incubé à température ambiante pendant 30 min et une mesure d'absorbance a été prise à 590 nm par un spectrophotomètre. Une courbe d'étalonnage comprise entre 1 et 0.062 mg/ml a été construite en utilisant l'albumine de sérum bovin comme standard (BSA) (**Annexe 02**).

### 6.2. Evaluation de l'activité des enzymes antioxydantes

#### 6.2.1. Estimation de l'activité de la catalase

L'activité enzymatique du CAT a été estimée dans le foie par la méthode de **Clairborne (1985)** (avec modification) dont le principe est basé sur la disparition de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en présence de la source enzymatique à 25 C° selon la réaction suivante :



**Procédure:** Dans une cuvette en quartz, 50 µl de la fraction cytosolique est additionnée à 2.95 ml d'un mélange fraîchement préparé constitué de 100 ml du tampon phosphate (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> : 0.1 M, pH 7.2) et 0.2 ml d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30V.

La décomposition de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en présence de la source enzymatique est suivie à λ=240 nm chaque minute pendant 2 minutes par une diminution de l'absorbance et l'activité enzymatique est calculée en terme d'unité internationale par milligramme de protéine (UI / mg de protéine) selon la formule suivante :

$$\text{UI/mg de protéine} = (2,3033/T. \log A_1/A_2) / \text{mg protéines.}$$

Sachant que :

- A1 : Absorbance à la première minute.
- A2: Absorbance à la deuxième minute.
- T: Intervalle de temps en minute.

### 6.2.2. Estimation de l'activité du glutathion S-transférase

Un mélange de 1.7 ml du tampon phosphate KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0.1M, pH 6.5) et de 100 µl de CDNB (20 mM) a été préparé et incubé à 37°C pendant 10 min. A ce mélange, 100 µl du glutathion GSH (20mM) est additionné puis la réaction est entamée par l'addition de 100 µl de la fraction cytosolique. Le changement dans l'absorbance est enregistré à une longueur d'onde 340 nm dans un intervalle d'une minute pendant 5 minutes contre un contrôle préparé dans les mêmes conditions avec du tampon phosphate (**Habig et al., 1974**). Les résultats sont exprimés en UI/mg de protéines selon la formule :

$$K = \left( \frac{\Delta A_{340}}{MIN} TEST - \frac{\Delta a_{340}}{MIN} BLANC / Vt \right) / 9.6 * V_e$$

## 7. Analyse statistique

Les résultats numériques et graphiques sont donnés sous forme de moyennes et écarts-types. L'évaluation statistique est effectuée en utilisant le test d'ANOVA à un facteur. Pour la comparaison entre les différents lots, le test de Tukey était employé. Les deux tests utilisés sont effectués par le logiciel R avec un seuil de significativité supérieure à 95% (p < 0.05).

- p > 0,05 = la différence n'est pas significative ;
- p < 0,05 = la différence est significative\* ;
- P < 0,01 = la différence est très significative\*\*;
- p < 0,001 = la différence est hautement significative\*\*\*.

Les courbes d'étalonnages sont des régressions linéaires réalisées sur l'EXCEL.

**Troisième partie**  
**Résultats et Discussion**



Le modèle de toxicité induite par le paracétamol est généralement utilisé pour étudier l'activité hépatoprotectrice potentielle des extraits/composés (**Mahmood, 2014**) .

Dans la présente étude, la dose de 2 g/kg du paracétamol, qui est une dose toxique, s'est traduite par les résultats suivants :

### 1. Effet de l'extrait de *Satureja calamintha* sur le poids relatif du foie

Le poids relatif moyen du foie (rapport poids du foie/poids corporel) des animaux traités par une seule dose de paracétamol (2 g/kg) conduit à une augmentation hautement significative ( $p < 0.001$ ) ( $4,61 \pm 0,39$ ) de ce paramètre par rapport au groupe témoin normal ( $3,44 \pm 0,11$ ). Les rats intoxiqués et prétraités par l'extrait de la sarriette (400mg/kg) n'ont pas pu diminuer leurs poids relatifs ( $4,28 \pm 0,29$ ) et restent élevés et très hautement significatif par rapport au lot témoin normal. Aucune variation significative n'est enregistrée chez les rats traités par la sarriette seule ( $3,30 \pm 0,20$ ) par rapport à celle du lot témoin normal ( $3,44 \pm 0,11$ ) comme le montre le **Tableau 03** et la **Figure 08**.

Nos résultats sont en accord avec les résultats de **Hasanein et Sharifi, (2017)** et **Mahmood, (2014)** et en contradiction avec **Aouacheri et son équipe (2009)**, qui n'avons pas signalé de variation significative des rapports poids foie /poids corporel malgré les doses toxiques du paracétamol administrés.

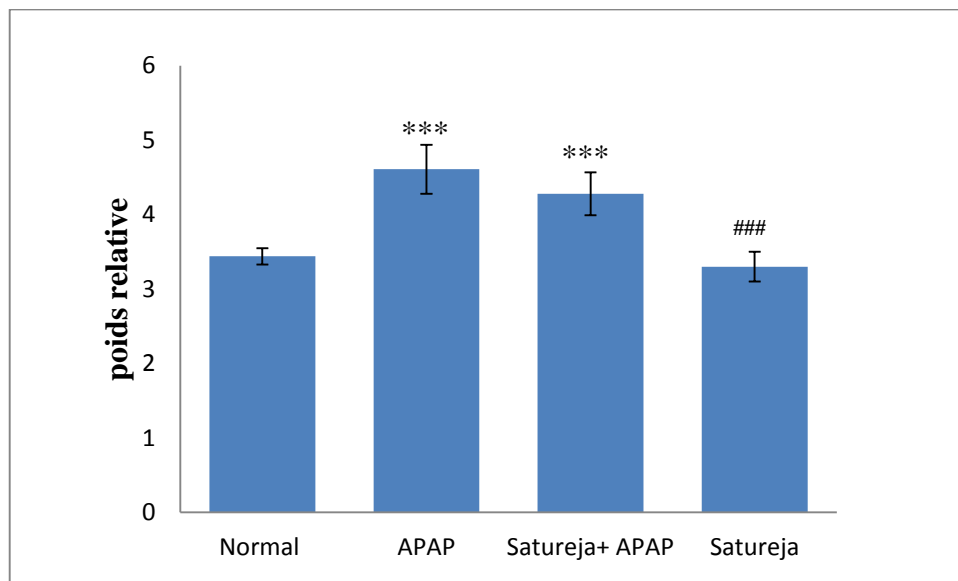
La mesure du rapport du poids du foie par rapport au poids corporel de l'animal est une approche plus précise pour déterminer les changements dans la taille du foie par rapport à la mesure du poids du foie seul, car le poids du foie dépend largement de la taille du rat (**Mahmood, 2014**). L'accroissement du foie chez les rats traités par APAP suggère que le foie présente des lésions associées aux effets toxiques du paracétamol.

**Mahmood, (2014)** a expliqué cette différence significative par l'accumulation de protéines de la matrice extracellulaire et de collagène dans les tissus hépatiques nécrosés. Ces molécules ont un poids moléculaires élevées et à notre avis peut être expliqué en partie l'incapacité de l'extrait de la sarriette administré à abaisser le poids relatif du foie des animaux intoxiqués.

**Tableau 03:** Variation du poids relatif du foie des rats normaux et traités par une dose unique d'APAP seul (2g/kg) et en combinaison avec l'extrait du *Satureja* (400mg/kg), ou l'extrait seul (400mg/kg).

Lot	Normal	APAP	Satureja + APAP	Satureja
Poids relatif	3,44±0,11	4,61±0.39 ***	4,28±0,29 ***	3,30±0,20###

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type. Test d'ANOVA à un facteur suivi par le test de tukey : (\*)  $p < 0.05$ , (\*\*)  $p < 0.01$ , (\*\*\*)  $p < 0.001$  différence significative par rapport au groupe normal ; (#)  $P < 0.05$ , (##)  $P < 0.01$ , (###)  $P < 0.001$  différence significative par rapport au groupe traité par APAP.



**Figure 07 :** Variation du poids relatif du foie après l'administration d'une dose unique d'APAP (2g /kg) seul ou combiné avec l'extrait du *Satureja* (400mg/kg), et l'extrait seul (400mg/kg).

### 2. L'effet de l'administration de l'extrait de la sarriette sur les indicateurs de la fonction hépatique

Les résultats statistiques présentés ci-dessous (**Tableau 04, Figure 09**) ont montré que le traitement des rats avec une dose unique d'APAP (2g/kg) entraînait une augmentation hautement significative ( $p < 0.001$ ) du TGO et TGP, avec une augmentation non significative de la phosphatase alcaline (PAL) comparant au lot de rats normaux.

Les lots traités par de l'extrait de la sarriette intoxiqué ou pas ont gardé des taux normaux à propos de l'activité de PAL par rapport au lot de rat normaux.

Les niveaux des enzymes telles que la TGO, TGP et PAL sont principalement déterminés lors de l'évaluation des lésions hépatiques par le paracétamol (**Gutierrez et Navarro, 2010**).

Une élévation marquée des taux sériques de ces paramètres a été constatée chez les rats traités par APAP qui pourrait être principalement due à la fuite de ces enzymes du cytosol hépatique dans la circulation sanguine, et ainsi nous à donner une indication de l'effet hépatotoxique du paracétamol. Nos résultats sont en accord à ceux de plusieurs auteurs **Gutierrez et Navarro, 2010 ; Mazraati et Minaiyan, 2018 ; Salem et al. 2018**.

Les enzymes TGO et TGP sont présentes en concentrations élevées dans le foie ; par conséquent, la présence de ces enzymes dans le sérum reflète la gravité de la quantité de dommages que le foie a subis.

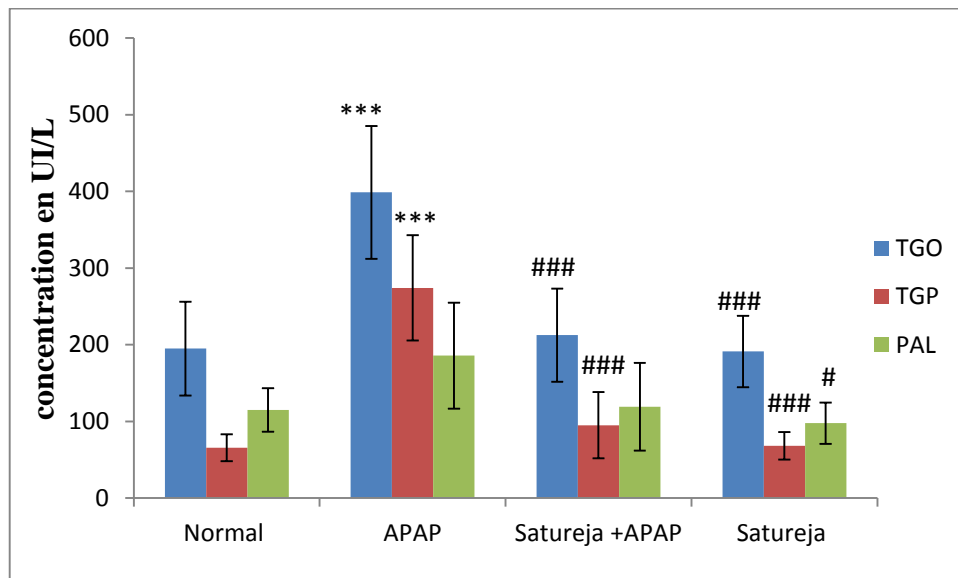
Ainsi, l'élévation des niveaux du PAL sérique indique la fonction excrétoire perturbée qui pourrait être liée à une destruction de la membrane cellulaire hépatique et à une altération de l'appareil du canal hépatobiliaire (**Gu et Manautou, 2012**).

Il semble bien que l'extrait hydro-éthanolique de la plante *Satureja Calamintha* a un effet hépatoprotecteur contre les dommages induits par l'APAP, ceci est illustré par la diminution du taux de ces enzymes dans le sérum des rats prétraités par cet extrait.

**Tableau 04:** Variation de la concentration du TGO, TGP et PAL dans le sérum des rats traités par une dose unique d'APAP(2g/kg) seul et en combinaison avec l'extrait du *Satureja*, et l'extrait seul (400mg/kg).

Paramètre Lot	TGO (UI/L)	TGP (UI/L)	PAL (UI/L)
Normal	194,87±61,08	65,44±17,59	114,85±28,53
APAP	398,68±86,61***	274,16±68,66***	185,85±69,11
Satureja + APAP	212,40±60,65 ###	94,96±43,17 ###	119±57,36
Satureja	191,23±46,51 ###	68,18±18,00 ###	97,57±26,97#

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type (n=7). Test d'ANOVA à un facteur suivi par le test de Tukey:  $p > 0.05$ , (\*)  $p < 0.05$ , (\*\*)  $p < 0.01$ , (\*\*\*)  $p < 0.001$  vis-à-vis le groupe normal (#)  $P < 0.05$ , (##)  $P < 0.01$ , (###)  $P < 0.001$  vis-à-vis le groupe traité par APAP.



**Figure 08 :** Variation de la concentration du TGO, TGP et PAL dans le sérum après l'administration d'une dose unique d'APAP seul (2g /kg) ou en combinaison avec l'extrait du *Satureja*, et l'extrait seul (400mg/kg).

### 3. L'effet de l'extrait de la sarriette (400mg/kg) sur la glycémie et le taux du glycogène

Les résultats illustrés dans le **Tableau 05** et la **Figure 10** montrent une variation non significative du taux de la glycémie chez le groupe traités par APAP (2g/kg) et le groupe traité par *Satureja* (400mg/kg), tandis qu'une augmentation significative ( $p < 0.05$ ) dans le groupe traité par *Satureja*+APAP ( $1,26 \pm 0,134$ ) par rapport au groupe témoin normal ( $1,107 \pm 0,031$ ).

Le traitement par *Satureja* seul et en combinaison avec APAP n'a aucune variation significative du taux de la glycémie par rapport au groupe intoxiqué par APAP (2 g/kg).

D'autre part, il y a une diminution hautement significative ( $p < 0.001$ ) du taux du glycogène chez les rats intoxiqués par APAP ( $0,51 \pm 0,17$ ) et une diminution très significative ( $p < 0.01$ ) chez les rats prétraités de *Satureja* et intoxiqué ( $1,73 \pm 0,25$ ) par rapport au même groupe témoin normal.

Le groupe prétraité par l'extrait a montré une légère augmentation (non significative) du taux du glycogène ( $1,73 \pm 0,25$ ) par rapport au groupe traité par APAP ( $0,51 \pm 0,179$ ) (2g/kg).

**Aouacheri et son équipe (2009)** déclarent que les animaux traités avec des doses toxiques du paracétamol entraînent des changements significatifs des concentrations des marqueurs biochimiques. Une hyperglycémie a été observée et qui est probablement due à un dysfonctionnement du métabolisme glucidique sous l'effet du métabolite toxique (NAPQI). Ce dernier étant électrophile, possède des propriétés de radical libre, ce qui génère un stress oxydatif lorsque la vitesse de génération des radicaux libres dépasse la capacité cellulaire de leur suppression.

Les mitochondries sont des organites clés qui jouent un rôle essentiel dans la survie cellulaire, elles sont irremplaçables dans le contrôle de nombreuses voies métaboliques. Par conséquent, les mitochondries endommagées causées par un surdosage APAP conduisent inévitablement à de nombreux changements métaboliques dans le foie (**Yan et al., 2018**).

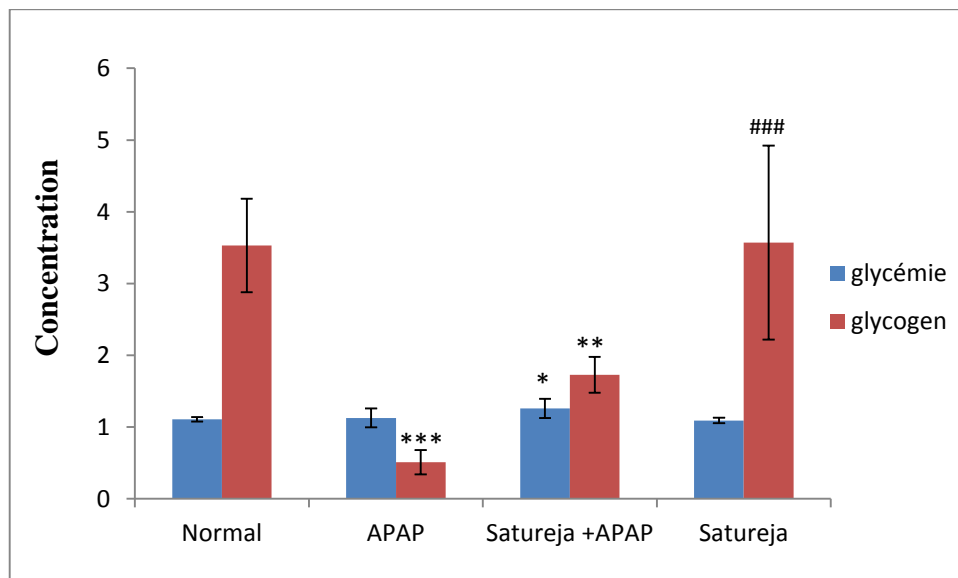
Des études métabiologiques de **Coen et al., (2003)** ont montré que le glycogène étaient appauvris à la suite d'une surdose d'APAP, cette déplétion est dû à une perturbation du

cycle de l'acide citrique et l'oxydation des acides gras en réponse au stress oxydatif des mitochondries causé par l'APAP, et ainsi une déplétion de l'ATP à enregistrer, ce qui entraîne une augmentation compensatoire de la glycolyse à partir du glycogène endogène (glycogénolyse).

**Tableau 05:** Variation du taux de la glycémie et du glycogène chez les rats traités par une dose unique d'APAP (2g /kg) seul, en combinaison avec l'extrait du *Satureja* et l'extrait seul (400mg/kg).

Paramètre Lot	Glycémie UI/l	Glycogène mg/g
Normal	1,107±0,031	3,53±0,65
APAP	1,128±0,130	0,51±0,17***
Satureja + APAP	1,26±0,134 *	1,73±0,25**
Satureja	1,091±0,038	3,57±1,35###

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type. Test d'ANOVA à un facteur suivi par le test de tukey:  $p > 0.05$ , (\*)  $p < 0.05$ , (\*\*)  $p < 0.01$ , (\*\*\*)  $p < 0.001$  vis-à-vis le groupe normal (#)  $P < 0.05$ , (##)  $P < 0.01$ , (###)  $P < 0.001$  vis-à-vis le groupe traité par APAP.



**Figure 09 :** Variation du taux de la glycémie et du glycogène après une dose unique d'APAP seul (2g /kg), en combinaison avec l'extrait du *Satureja*, et l'extrait seul (400mg/kg).

#### 4. L'effet de l'extrait de la sarriette (400mg/kg) sur l'activité de deux enzymes antioxydantes du foie

L'activité de deux enzymes antioxydantes du foie (la catalase et la GST) a été déterminée sur une fraction cytosolique du foie.

Les résultats de cette étude sont rassemblés dans le **Tableau 06** et la **Figure 11**. On a constaté une réduction très significative ( $p < 0.01$ ) de l'activité de la catalase ( $0,02 \pm 0,01$ ) au niveau du foie chez les rats traités par APAP par rapport à celle des rats sains normaux ( $0,77 \pm 0,36$ ). D'autre part, le prétraitement du lot intoxiqué par *Satureja* ou avec la plante seule a permis une augmentation significative ( $p < 0.05$ ) de l'activité de la catalase cytosolique réduite par l'administration d'APAP ; mais cette augmentation reste encore inférieure à celle des rats normaux.

Par rapport au groupe intoxiqué ( $0,02 \pm 0,01$ ), on a remarqué une légère augmentation (non significative) de l'activité de la catalase chez le groupe *Satureja* ( $0,15 \pm 0,02$ ) et *Satureja* + APAP ( $0,17 \pm 0,09$ ).

Une diminution très significative ( $p < 0.01$ ) du taux de la GST chez les rats traités par APAP a été enregistrée atteint ( $0,046 \pm 0,016$ ) contre ( $0,109 \pm 0,026$ ) chez les rats témoins, et une diminution significative ( $p < 0.05$ ) chez les rats traités par *Satureja* seule atteint ( $0,067 \pm 0,009$ ) par rapport au même groupe témoins, alors que l'activité de la GST des rats traités par *Satureja*+ APAP a été maintenu dans les normes du lot témoin ( $0,109 \pm 0,026$ ).

Par contre, l'activité de la GST diminuée par l'APAP ( $0,046 \pm 0,016$ ) a été augmentée significativement ( $p < 0.05$ ) en réponse à un co-traitement avec *Satureja* ( $0,109 \pm 0,058$ ), et non significativement en réponse à un traitement par *Satureja* seul.

Les cellules du foie contiennent un mécanisme de défense naturel contre les radicaux libres oxydatifs sous forme des enzymes et des substances antioxydantes (catalase, GST, glutathion...). **Lahouel et al., (2004)** affirme que l'intoxication au paracétamol n'apparaît

qu'avec la déplétion du foie en glutathion (GSH). La déplétion de ce dernier est due à sa conjugaison avec le radical libre NAPQI, ce qui explique la diminution de l'activité GST dans notre étude (McGill et Jaeschke, 2013).

L'excès en NAPQI provoque l'épuisement du glutathion ce qui conduit à une augmentation des concentrations de peroxyde intracellulaire. Cet anion superoxyde subit une dismutation générant du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) qui peut directement réagir avec GSH ou plus probablement être détoxifié enzymatiquement par un nombre d'enzymes antioxydantes comme la catalase (Yanet al., 2018), cela peut être expliquer la diminution de l'activité enzymatique de la catalase observée dans notre expérimentation.

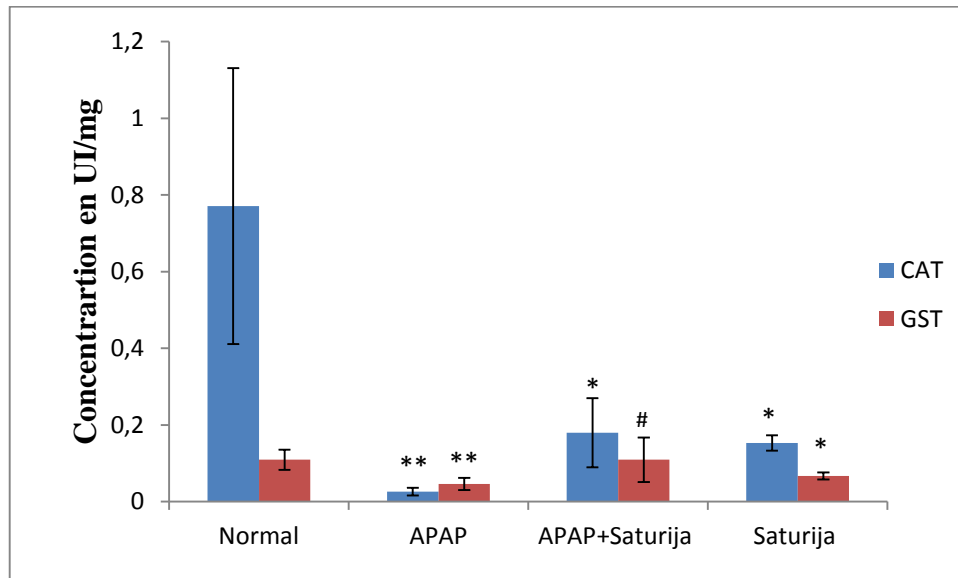
L'augmentation de l'activité de la GST et la catalase sous l'effet d'un co-traitement par *Satureja* peut être expliquée par l'induction directe de ces enzymes par les polyphénols contenus dans l'extrait de *Satureja Calamintha* qui sont probablement responsable de l'activité antioxydante de ces extraits (Bougandoura et Bendimerad, 2013).

**Tableau 06:** L'évaluation de l'activité enzymatique de la catalase et de la GST cytotogique après administration d'une dose unique d'APAP (2g/kg) seul, en combinaison avec l'extrait du *Satureja* et l'extrait seul (400mg/kg).

Paramètre Lot	CAT (UI/mg)	GST (UI/mg)
Normal	0,77±0,36	0,109±0,026
APAP	0,02±0,01 **	0,046±0,016**
Satureja+ APAP	0,17±0,09 *	0,109±0,058 <sup>#</sup>
Satureja	0,15±0,02 *	0,067±0,009*



Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart-type. Test d'ANOVA à un facteur suivi par le test de tukey: (\*)  $p < 0.05$ , (\*\*)  $p < 0.01$ , (\*\*\*)  $p < 0.001$  vis-à-vis le groupe normal (#)  $P < 0.05$ , (##)  $P < 0.01$ , (###)  $P < 0.001$  vis-à-vis le groupe traité par APAP.



**Figure 10 :** Variation de l'activité enzymatique de la catalase et de la GST cytosolique après une dose unique d'APAP seul (2g /kg), en combinaison avec l'extrait du *Satureja*, et l'extrait seul (400mg/kg).

## 5. Examen macroscopique

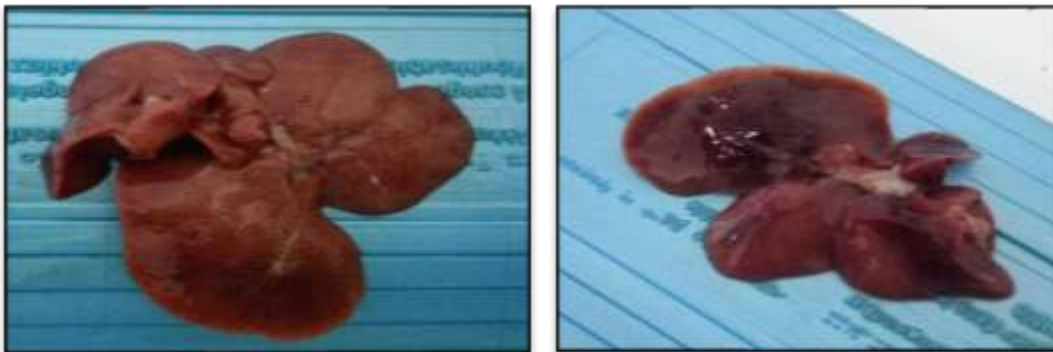
A partir de la **Figure 12**, nous avons observé une différence entre l'aspect morphologique du foie des rats intoxiqués (**Figure 12. 2**) et celui des rats témoins (**Figure 12. 1**), cette différence est caractérisée par la présence d'un aspect granuleux un peu blanchâtre et une coloration rougeâtre dans certaines zones. Alors que le co-traitement de *Satureja* avec APAP (**Figure 12. 3**) a restauré l'architecture normale des lobules hépatiques, l'homogénéité ainsi que la couleur rouge-brun. L'administration du *Satureja* seule (**Figure 12. 4**), a donné un aspect du foie similaire à ce du foie normal (**Figure 12. 1**).

Nos résultats peuvent être confirmés histologiquement par **Hasanein et Sharifi, (2017)** qu'ont trouvés que le foie des rats traités par une dose toxique d'APAP présente une

nécrose massive, présence d'hémorragie, et inflammation avec infiltration de lymphocytes impliquant principalement la zone centrolobulaire.



**Figure 11. 1** : Photo d'un foie des rats témoins normaux.



**Figure 11. 2** : Photos des foies des rats intoxiqués par une dose unique d'APAP (2g/kg).



**Figure 11. 3** : Photo du foie du rat traité par *Satureja* + APAP

**Figure 11. 4** : Photo du foie du rat traité par l'extrait de *Satureja* seule (400mg/kg).

**Figure 11** : Photos des foies des rats reçoivent des différents traitements.

# **Conclusion**

### Conclusion

Le présent travail a pour but d'évaluer l'activité hépato-protectrice de l'extrait hydro-éthanolique de la plante « *Satureja Calamintha* » chez des rats de souche Wister contre la toxicité du paracétamol.

L'ensemble de nos résultats a permis de souligner que l'administration d'une seule dose toxique du paracétamol (2g/kg) chez des rats femelle, provoque une hépatotoxicité qui s'est traduit par une augmentation des taux sériques de TGP, TGO et PAL et une déplétion du taux du glycogène et du statut antioxydant hépatique. Nos résultats montrent que l'administration concomitante de l'extrait hydro-éthanolique de la plante *satureja* à une dose de 400 mg/kg avec une dose toxique du paracétamol (2g/kg) provoque une amélioration des taux sériques du TGO, TGP, PAL et du système antioxydant (catalase, Glutathion S-transférase) vers la normal.

Par conséquent cette étude assure que la plante "*Satureja calamintha* " est une plante prometteuse dans le domaine phytothérapeutique à cause de sa richesse en polyphénols et vu sa capacité protectrice vis-à-vis l'hépatotoxicité.

Les résultats de la présente étude ne constituent qu'une initiation à la recherche de l'activité hépato-protectrice de l'extrait hydro-éthanolique de la plante « *Satureja calamintha* » (Touret). Des recherches complémentaires sont nécessaires en vue :

- D'identifier les différentes molécules en particulier les composés phénoliques présents dans l'extrait à tester dont les principes actifs peuvent être employés dans plusieurs domaines tels que les industries pharmaceutique.
- D'appliquer d'autres tests antioxydants (in vitro et in vivo) pour avoir une indication plus affinée sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester.
- D'identifier la dose thérapeutique efficace de cet extrait.
- D'explorer le stress mitochondrial.

## **Références Bibliographiques**

### A

- **Abdel-Misih S.R., Blooms ton M., (2010).** Liver anatomy, *Surgical Clinics*, 90(4), 643-653.
- **Albichr I.S., Hantson P., (2017).** Le paracétamol à dose thérapeutique : quelles populations à risque d'hépatotoxicité?, *Toxicologie Analytique et Clinique*.
- **Anderson B.J., (2008).** Paracetamol (Acetaminophen): mechanisms of action, *Pediatric Anesthesia*, 18(10), 915-921.
- **Aouacheri W., Saka S., Djafer R., Lefranc G., (2009).** Effet protecteur du diclofénac contre le stress oxydatif induit par la toxicité du paracétamol chez le rat. *Ann Biol Clin* ; 67 (6) : 619-27.
- **Aribi I., (2012).** Etude ethnobotanique des plantes médicinales de la région de Jijel : étude anatomique, phytochimique, pharmacotoxicologique de deux espèces végétales. Thèse de Magister de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB).

### B

- **Beaugerie L., Sokol H., (2014).** Les fondamentaux de la pathologie digestive : Foie-Voies biliaires, CDU-HGE, Elsevier Masson : 95-185.
- **Bendjaffer Kh., Zehani L., (2015).** Etude de l'effet protecteur d'une plante médicinale endémique appartenant au genre *Genista* vis-à-vis la toxicité hépatique provoquée par la gentamicine, Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine, 75.
- **Benedec C., Hanganu D., Oniga I., Tiperciuc B., Olah N.K., Raita O., Bischin C., Radu S.D., et Vlase L., (2015).** Assessment of rosmarinic acid content in six Lamiaceae species extracts and their antioxidant and antimicrobial potential, *Pak. J. Pharm. Sci*, Vol.28 No.6 (Suppl), 2297-2303.
- **Benkiniouar R., (2007).** Contribution à l'étude des composés phénoliques de certaines espèces des Labiées de la flore algérienne. Thèse de Doctorat de l'Université de Constantine.
- **Blough E., Wu M., (2011).** Acetaminophen: beyond pain and fever relieving, *Frontiers in pharmacology*, 2, 72.

- **Bougandoura N., Bendimerad N., (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calaminthassp. Nepeta (L.) Briq*, *Nature & Technology*, (9), 14.
- **Bougandoura N., Bendimerad N., (2012).** Effet Antifongique Des Extraits Aqueux et methanolique de *Satureja calamintha ssp. (Nepeta) briq*, *Revue des Bioressources*, 2, 1-7.
- **Bougandoura N., (2011).** Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja calamintha ssp nepeta (nabta)* et *Ajugaiva L. (chendgoura)* de l'ouest d'Algérie, Thèse de Magister, Université Abou BakrBelkaid-Tlemcen, 125.
- **Božović M., Ragno R., (2017).** *Calamintha nepeta (L.) Savi* and its main essential oil constituent pulegone: Biological activities and chemistry, *Molecules*, 22(2), 290.
- **Bradford M.M., (1976).** A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. *Ann Biochem.*, 72: 248–252.
- **Buatois S., Le Merdy M., Labat L., Scherrmann J.M., et Decleves, X., (2014).** Principales modifications pharmacocinétiques chez l'enfant, *Toxicologie Analytique et Clinique*, 26(3), 156-164.
- **Bunchorntavakul C., Reddy K.R., (2018).** Acetaminophen (APAP or N-Acetyl-p-Aminophenol) and Acute Liver Failure, *Clinics in liver disease*.
- **Buyse S., Paugam-Burtz C., Stocco J., et Durand F., (2007).** Adaptation des thérapeutiques médicamenteuses en cas d'insuffisance hépatocellulaire, *Réanimation*, 16 (7-8), 576-586.

### C

- **Ćavar S., Maksimović M., Šolić M. E., Jerković-Mujkić A., et Bešta R., (2008).** Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two *Satureja* essential oils, *Food Chemistry*, 111(3), 648-653.
- **Cherrat L., Espina L., Bakkali M., Pagán R., Laglaoui A., (2014).** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Mentha pulegium*, *Lavandula stoechas* and *Satureja calamintha Scheele* essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 22: 221–229.



- **Ciocarlan N., (2016).** Family lamiaceae: main important spontaneous medicinal and aromatic species in the republic of moldova, *Journal of Botany vol, VIII, NR, 1 (12):* 86-91.
- **Claiborne A., (1985).** Catalase activity In CRC, Handbook of Methods for Oxygen Radical Research (Ed. RA Greenwald) CRC Press. *Boca Raton, FL.,* 283-284.
- **Cocan I., alexa E., Danciu C., Radulov I., Galuscan A., Obistioiu D., Morvay A.A., Sumalan R.M., Poiana M., Pop G., et Dehelean C.A., (2018).** Phytochemical screening and biological activity of *lamiaceae* family plant extracts, *Experimental and therapeutic medicine* 15: 1863-1870.
- **Coen M., Lenz E.M., Nicholson J.K et al., (2003).** An integrated metabonomic investigation of acetaminophen toxicity in the mouse using NMR spectroscopy, *Chem Res Toxicol*, 16(3), 295-303.

### D

- **Dali Y.M., (2013).** Détermination de quelques marqueurs hépatiques chez les agriculteurs exposes aux pesticides dans la région de Tlemcen, Mémoire de Master, Université Abou BakrBelkaid– Tlemcen. 71.
- **Deugnier Y., (2005).** Anatomie-Physiologie du foie, *Polycopié Médecine M2-Sémiologie du Foie et des Voies Biliaires, Université de Médecine de Rennes, 1.*

### E

- **Ech-Chahad A., Farah H., et Bouyazza L., (2013).** Composition chimique de l'huile essentielle de *Satureja calamintha* (L.) Scheele du Maroc, *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 9(3), 77-81.
- **Elaine N., (2005).** Anatomie et physiologie humaine : système digestif, Person educaton, 6<sup>e</sup> édition : 906-964.
- **El-Kalamouni C., (2010).** Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, Thèse de doctorat de l'université de Toulouse.

### F

- **Franciscus A., (2015).** An Overview of the Liver, *Hcsp version 1 Apil, 5.*

## G

- **Gandillet A., (2005).** Evaluation de la cinétique de régénération hépatique et de l'efficacité de transplantation d'hépatocytes dans différents modèles murins d'insuffisance Hépatique, Thèse de Doctorat, l'Université Louis Pasteur Strasbourg I, 150.
- **Ghourri M., Zidane L., et Douira A., (2014).** La phytothérapie et les infections urinaires (La pyélonéphrite et la cystite) au sahara Marocain (Tan-Tan), *Journal of Animal & Plant Sciences*, 20(3), 3171-3193.
- **Ghourri M., Zidane L., et Douira A., (2014).** La phytothérapie et les infections urinaires (La pyélonéphrite et la cystite) au sahara Marocain (Tan-Tan). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 20(3), 3171-3193.
- **Gonçalves D.F., Carvalho N.R. de., Leite M.B ., Courtes A.A, Hartmann D.D., Stefanello S.T., Silva Ingrid K.d., Franco., Jéferson L., Soares Félix A.A., Dalla C., Cristiane L., (2017).** Caffeine and acetaminophen association: Effects on mitochondrial bioenergetics. *Life Sciences*
- **Gu X., Manautou J.E., (2012).** Molecular mechanisms underlying chemical liver injury, *Expert reviews in molecular medicine*, 14.
- **Gutierrez R.M.P., Navarro Y.T.G., (2010).** Antioxidant and hepatoprotective effects of the methanol extract of the leaves of *Satureja macrostema*, *Pharmacognosy magazine*, 6(22), 125.

## H

- **Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby., W.B., (1974).** Glutathione-S-transferase: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem.*, 249: 7130-7139.
- **Hasanein P., Sharifi M., (2017).** Effects of rosmarinic acid on acetaminophen-induced hepatotoxicity in male Wistar rats. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 1809-1816.
- **Hinson J.A., Roberts D.W., et James L.P., (2010).** Mechanisms of acetaminophen-induced liver necrosis, In *Adverse drug reactions* (pp. 369-405). Springer, Berlin, Heidelberg.

**J**

- **Jafari F., Ghavidel F., Zarshenas M., ( 2016).** A Critical Overview on the Pharmacological and Clinical Aspects of Popular Satureja Species. *J Acupunct Meridian Stud*;9(3):118- 127
- **James L.P., Letzig L., Simpson P.M., Capparelli E., Roberts D.W., Hinson J. A., ... et Lee W.M., (2009).** Pharmacokinetics of acetaminophen-protein adducts in adults with acetaminophen overdose and acute liver failure, *Drug Metabolism and Disposition*, 37(8), 1779-1784.
- **Jóźwiak-Bebenista M., Nowak J.Z., (2014).** Paracetamol: mechanism of action, applications and safety concern, *Actapoloniae pharmaceutica*, 71(1), 11-23.

**K**

- **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, 143.
- **Kerbouche L., Hazzit M., et Baaliouamer A., (2013).** Essential oil of *Satureja calamintha* subsp. *nepeta* (L.) Briq. From Algeria: Analysis, antimicrobial and antioxidant activities, *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 3(4), 266-272.
- **Keston A., (1956).** Paper presented at the 129<sup>th</sup> meeting of the American Chemical Society.31c.
- **Khelfallah A., (2013).** Etude comparative du contenu phénolique et du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales et des céréales alimentaires, Thèse de Magister, Université Constantine 1.179.
- **Khled Khoudja N., Boulekbache Makhlof I., Madani K., (2014).** Antioxidant capacity of crude extracts and their solvent fractions of selected Algerian Lamiaceae. *Industrial Crops and Products* 52: 177-182

## L

- **Labioud R., (2016).** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta*. Activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse de Doctorat en biochimie. Université Badji Mokhtar-Annaba.
- **Lahouel M., Boulkour S., Segueni N., et Fillastre J.P., (2004).** Effet protecteur des flavonoïdes contre la toxicité de la vinblastine, du cyclophosphamide et du paracétamol par inhibition de la peroxydation lipidique et augmentation du glutathion hépatique. *Pathologie Biologie*, 52(6), 314-322.

## M

- **Macheix J.J., Fleuriet A., et Jay-Allemand C., (2005).** *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*, PPUR presses polytechniques.
- **Mahmood N.D., Mamat S.S., Kamisan F.H., Yahya F., Kamarolzaman M.F.F., Nasir N., Mohtarrudin N., Md. Tohid S.F., et Zakaria A.Z. (2014).** Amelioration of Paracetamol-Induced Hepatotoxicity in Rat by the Administration of Methanol Extract of *Muntingiacalabura*L. Leaves. HindawiPublishing Corporation : 1-10.
- **Manchon M., (2000).** Paracétamol ou acétaminophène, Bioforma – Cahiers de Formation Biologie médicale, No 18 : 15-21.
- **Mazaleuskaya L.L., Sangkuhl K., Thorn C.F., FitzGerald G.A., Altman R.B., et Klein T.E., (2015).** PharmGKB summary: pathways of acetaminophen metabolism at the therapeutic versus toxic doses, *Pharmacogenetics and genomics*, 25(8), 416.
- **Mazraati P., Minaiyan M., (2018).** Hepatoprotective Effect of Metadoxine on Acetaminophen-induced Liver Toxicity in Mice. *Advanced Biomedical Research*, 7.
- **McGill M. R., Jaeschke H., (2013).** Metabolism and disposition of acetaminophen: recent advances in relation to hepatotoxicity and diagnosis, *Pharmaceutical research*, 30(9), 2174-2187.
- **Mégarbane B., (2017).** Intoxication par le paracétamol : quoi de neuf?, *Médecine Intensive Réanimation*, 26(5), 383-395.

- **Mégarbane B., Deye N., et Baud F., (2007).** Foie toxique : mécanismes lésionnels et thérapeutiques pharmacologiques spécifiques, *Réanimation*, 16(7-8), 632-642.
- **Monassier L., (2005).** Les antalgiques non-opiacent, Faculté de Médecine de Strasbourg (pharmacologie général), 6.

### N

- **Nebia B., Mederbal K., et Bouhadi D., (2018).** Chemical composition of the essential oil of *Satureja calamintha* subsp, *Nepeta* of west Algerian, *Moroccan Journal of Chemistry*, 6(2), 6-2.

### P

- **Plouffe B.D, Murthy S.K et Lewis L.H., (2014).** Fundamentals and application of magnetic particles in cell isolation and enrichment: a review *Rep. Prog. Phys.* 78

### Q

- **Quezel P., Santa S., (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales, Tome II, Edition du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 788-789.

### R

- **Rajasekaran A., et Periyasamy M., (2012).** Hepatoprotective effect of ethanolic extract of *Trichosanthes lobata* on paracetamol-induced liver toxicity in rats. Rajasekaran and Periyasamy *Chinese Medicine*, 7:12.

### S

- **Salem G. A., Shaban A., Diab H.A., Elsaghayer W.A., Mjedib M.D., Hnesh A.M., et Sahu R.P., (2018).** Phoenix dactylifera protects against oxidative stress and hepatic injury induced by paracetamol intoxication in rats, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 104, 366-374.
- **Seif H.S.A., (2016).** Physiological changes due to hepatotoxicity and the protective role of some medicinal plants, *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(2), 134-146.

- **Skočibušić M., Bezić N., et Dunkić V., (2006).** Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils from *Satureja sub spicata* Vis, growing in Croatia, *Food chemistry*, 96(1), 20-28.

### T

- **Tamert A.L., (2015).** Activité antioxydante des extraits de six Lamiaceae aromatiques de l'Algérie occidentale. *Phytothérapie* : 1-8.
- **Tepe B., Cilkiz M., (2016).** A pharmacological and phytochemical overview on *Satureja*. *Pharmaceutical biology*, 54(3), 375-412.

### V

- **Venkateshappa S.M., Sreenath K.P., (2013).** Potential medicinal plants of Lamiaceae, *American International Journal of Research in Formal, Applied & Natural Sciences*, 3(1), 82-87.

### X

- **Xu C., Li C.Y.T., et Kong A.N.T., (2005).** Induction of phase I, II and III drug metabolism/transport by xenobiotics, *Archives of pharmacal research*, 28(3), 249.

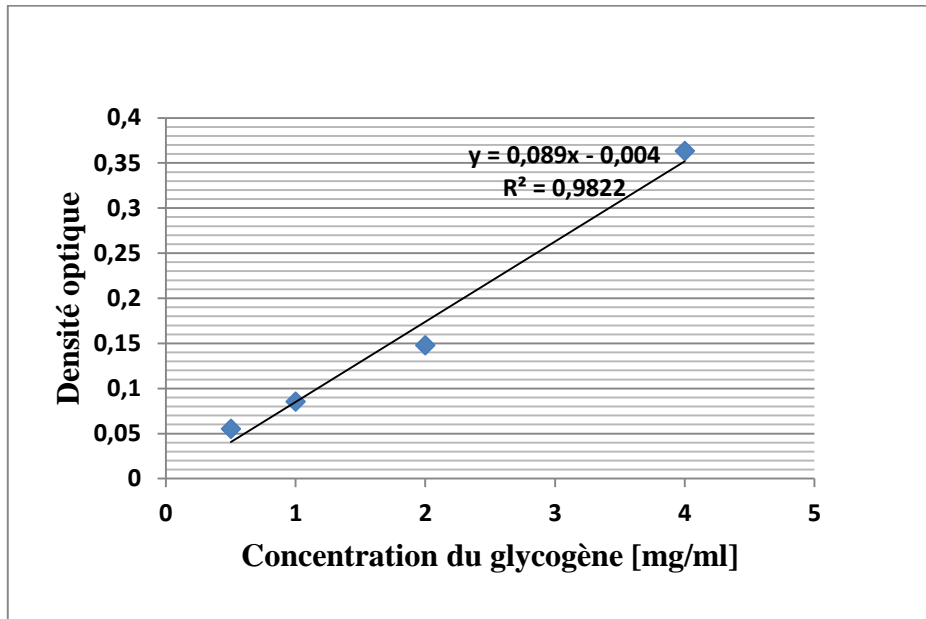
### Y

- **Yan M., Huo Y., Yin S., et Hu H., (2018).** Mechanisms of acetaminophen-induced liver injury and its implications for therapeutic interventions. *Redox biology*.
- **Yang X., Schnackenberg L.K., Shi Q., et Salminen W.F., (2014).** Hepatic toxicity biomarkers, In *Biomarkers in Toxicology* (pp. 241-259).

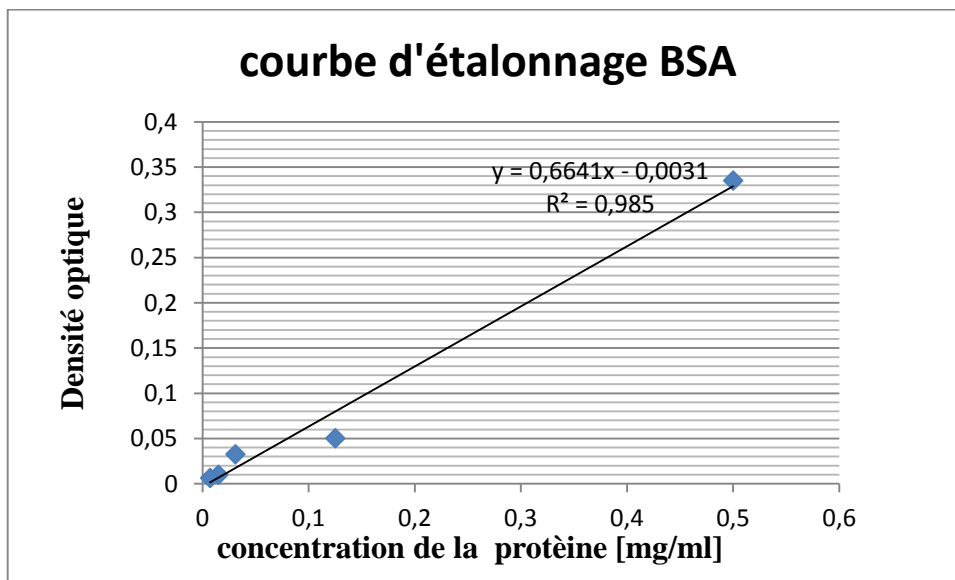
## Sites Internet

- <http://www.pediatrie.be/Anesth%E9sie.htm>.
- <http://www.biolabo.fr/biolabo/pdfs>

## ANNEXES



**Annexe 01** : Courbe étalon de glycogène avec le réactif de Lugol (moyenne de trois essais).



**Annexe 02** : Courbe étalon du dosage des protéines (sérum albumine bovine comme standard avec le réactif de Bradford, moyenne de trois essais).

**Thème : Evaluation de l'activité hépato-protectrice de l'extrait hydro-éthanolique de la plante « *Satureja calamintha* » (Touret) chez le rat.**

- **Présenté par :**
- Bouraoui Ahlam
- Guerdouh Meryem

**Encadreur :** Mr Far Zahir  
**Co-encadreur :** Mme Khelfallah Amina

### **Résumé**

L'objectif de cette étude vise à évaluer l'activité hépato-protectrice de l'extrait hydro éthanolique de la plante « *Satureja Calamintha* » face à la toxicité du paracétamol chez le rat Wistar. Les rats ont été divisés en 4 groupes de 7 animaux chacun et ont été traité en aigu (3 jours) avec de l'eau distillé ou l'extrait de la plante (400mg/kg). Après une heure de la dernière dose administrée, la suspension de paracétamol a été introduite par voie orale (2 g/kg) de poids corporel, à tous les rats, à l'exception du groupe des rats normaux. Une analyse sérique a été effectuée pour estimer les niveaux d'ALT, d'AST, d'ALP et la glycémie. L'estimation du taux du glycogène dans le foie des quatre groupes a été aussi effectuée. L'homogénat du foie a été préparé pour l'estimation de l'activité de la catalase et du glutathion S-transférase. Les effets toxiques du paracétamol ont été significativement contrôlés dans le lot prétraité par l'extrait qui s'est manifesté par la restauration des paramètres biochimiques du sérum à un niveau proche à la normal. La toxicité du paracétamol a été manifesté aussi par la déplétion du taux du glycogène et qui est normalisé par le prétraitement avec de l'extrait de la plante. L'activité des enzymes antioxydantes testés ont été normalisées dans les lots des rats intoxiqués et prétraité avec de l'extrait. L'étude a permis de conclure que « *Satureja Calamintha* » possède des propriétés hépatoprotectrices importantes.

**Mots clés :** Paracétamol, *Satureja Calamintha*, Hépato-protectrice, Stress oxydatif, Toxicité.

### **Abstract**

The objective of this study is to evaluate the hepato-protective activity of the hydro-ethanolic extract of the plant "*Satureja Calamintha*" against paracetamol toxicity in the Wistar rat. The rats were divided into 4 groups of 7 animals each and treated acutely (3 days) with distilled water or extract (400mg/kg). After one hour of the last dose administered, paracetamol suspension was introduced orally (2 g/kg) body weight to all rats except the normal rat group. Serum analysis was performed to estimate ALT, AST, ALP and blood glucose levels. The estimation of glycogen levels in the liver of the four groups was also performed. Liver homogenate was prepared for the estimation of catalase and glutathione S-transferase activity. The toxic effects of paracetamol were significantly controlled in the batch pretreated by the extract which manifested itself by the restoration of serum biochemical parameters to a level close to normal. The toxicity of paracetamol was also manifested by the depletion of glycogen levels, which is normalized by pre-treatment with plant extract. The activity of the antioxidant enzymes tested were normalized in the batches of intoxicated rats and pretreated with extract. The study concluded that "*Satureja Calamintha*" has important hepatoprotective properties.

**Key words:** Paracetamol, *Satureja Calamintha*, Hepatoprotective, Oxidative stress, Toxicity

### **ملخص**

هذه الدراسة تهدف إلى تقييم النشاط الوقائي الكبدي لمستخلص مائي كحولي لنبته "*Satureja Calamintha*" الذي تم إجراؤه على 28 أنثى من الجرذان وستر. تقسم إلى 4 مجموعات. المجموعة 1 عولجت بالمياه المقطرة، المجموعة 2 عولجت بجرعة سامة من الباراسيتامول (2 جم / كجم)، المجموعة 3 عولجت باستخدام تركيبة APAP + *Satureja* (2 جم / كجم، 400 مجم / كجم) والأخر عولجت بجرعة من خلاصة *Satureja* 400مجم / كجم). بالإضافة إلى ذلك، تم تقييم المؤشرات الكبدية (TGO ، PAL و TGP)، نسبة السكر في الدم، مستوى الجليكوجين ونشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة (CAT و GST). وكشفت سمية الباراسيتامول عن طريق زيادة مستويات الدم من TGO ، PAL و TGP وانخفاض مستويات الجليكوجين والنشاط الانزيمي للCAT و GST. وكشفت التركيبة (*Satureja* + APAP) عن وجود تأثير وقائي كبدي من خلال الحد من مستويات الترانساميناز، PAL وزيادة مستوى الجليكوجين ونشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة.

**الكلمات المفتاحية :** الباراسيتامول، *Satureja Calamintha*، النشاط الوقائي الكبدي الإجهاد التأكسدي ، السمية.