

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 يحي

Université Med-Seddik Benyahia – Jijel

Faculté des Sciences de la Nature
et de la Vie

Département de Biologie
Moléculaire et Cellulaire



كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme : Master Académique en Biologie

Option : Sciences Pharmacologiques

Thème

Etude de l'effet hépatoprotecteur de l'extrait hydro-éthanolique de *Marrubium vulgare* L. contre l'hépatotoxicité induite par le docétaxel.

Jury de soutenance :

Présidente: Dr. Dalila LEBSIR

Examinatrice: Dr. Zeineb MEDJAHED

Encadrante: Dr. Nada ZABAIYOU

Présenté Par :

Djahida BOUKEFFOUS

Roumaissa BOUKHOUBA

Année universitaire : 2022 – 2023.

Numéro d'ordre (bibliothèque) :

Remerciements

Tout d'abord, nous commençons par exprimer notre gratitude à Allah pour nous avoir accordé la résilience de l'esprit et la capacité physique de mener à bien ce travail.

*Nous exprimons notre sincère gratitude à notre encadrante, **Dr. Nada ZABAIOU**. Nous apprécions votre disponibilité et votre gestion efficace. Nous apprécions votre patience, votre générosité et la confiance dont vous nous avez fait preuve tout au long de ce travail. Malgré vos empêchements et votre emploi de temps chargé, vous avez été constamment disponibles pour bien orienter nos recherches ce qui était essentiel à la réalisation de travail.*

*Nos sincères et respectueux remerciements vont également aux membres de jury, madame la présidente, Docteur **Dalila LEBSIR** et madame l'examinatrice, Docteur **Zeineb MEDJAHED**, qui nous ont fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail et de l'enrichir avec leurs sages conseils.*

*Nous exprimons nos sincères remerciements également à Monsieur **Tarek KHANOUF** pour son aide dans la réalisation de ce travail.*

Notre gratitude va aussi à tous ceux qui ont participé de près ou de loin afin de mener à bien ce travail.

Djahida et Roumaissa

Sommaire

| | |
|---------------------------|----|
| Remerciement | |
| Sommaire | i |
| Liste des figures | iv |
| Listes des tableaux | v |
| Liste des abreviations | |
| Introduction | 2 |

Rappels bibliographiques

| | |
|---|----|
| 1. Généralités sur le docétaxel..... | 05 |
| 1.1 Présentation du médicament..... | 05 |
| 1.2 Administration et absorption | 06 |
| 1.3 Transport et distribution tissulaire..... | 06 |
| 1.4 Métabolisme | 07 |
| 1.5 Élimination | 08 |
| 1.6 Mode d'action..... | 08 |
| 1.7 Toxicité du docétaxel..... | 09 |
| 1.7.1 Rôle du stress oxydant dans la toxicité induite par le docétaxel..... | 10 |
| 1.7.2 Hépatotoxicité du docétaxel..... | 11 |
| 2. Généralité sur <i>Marrubium Vulgare</i> L..... | 11 |
| 2.1 Présentation de <i>Marrubium Vulgare</i> L..... | 11 |
| 2.2 Descriptions botaniques et systématique..... | 12 |
| 2.3 Distribution géographique et composition chimique..... | 14 |
| 2.4 Activités pharmacologiques de <i>Marrubium vulgare</i> L..... | 16 |

Matériel et méthodes

| | |
|---|----|
| 1. Animaux et conditions d'élevage | 19 |
| 2. Matériel végétal..... | 19 |
| 3. Préparation de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> L..... | 19 |
| 4. Dosage des polyphénols totaux | 20 |
| 5. Dosage des flavonoïdes | 20 |
| 6. Dosage des tanins hydrolysables..... | 21 |
| 7. Evaluation de l'activité antioxydante de l'extraithydro-éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> L. <i>in vitro</i> | 21 |

| | | |
|-------|--|----|
| 7.1 | Activité antioxydante totale | 21 |
| 7.2 | Pouvoir réducteur du fer. | 21 |
| 7.3 | Pouvoir de piégeage de radicale DPPH [·] | 22 |
| 7.4 | Pouvoir de piégeage de radicale ABTS ^{•+} | 22 |
| 8. | Etude expérimentale <i>in vivo</i> | 23 |
| 8.1 | Etude histologique | 24 |
| 8.2 | Paramètres hématologiques et biochimiques | 24 |
| 8.3 | Etude du stress oxydant <i>in vivo</i> | 24 |
| 8.3.1 | Extraction de la fraction cytosolique | 24 |
| 8.3.2 | Dosage du malondialdéhyd | 24 |
| 8.3.3 | Dosage du glutathione cytosolique..... | 25 |
| 8.3.4 | Evaluation de l'activité de la SOD cytosolique..... | 25 |
| 8.3.5 | Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase cytosolique..... | 26 |
| 8.3.6 | Evaluation de l'activité enzymatique de la GST cytosolique..... | 27 |
| 8.3.7 | Dosage des protéines | 28 |
| 9. | Étude statistique | 28 |

Résultats et discussion

| | | |
|-------|---|----|
| 1. | Rendement d'extraction de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> L..... | 30 |
| 2. | Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tannins hydrolysables..... | 31 |
| 3. | Capacité antioxydante totale de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> L..... | 34 |
| 4. | Pouvoir réducteur de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> L..... | 35 |
| 5. | Pouvoir de piégeage du radical DPPH [·] de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> L. | 37 |
| 6. | Pouvoir de piégeage du radical ABTS ^{•+} de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> L. | 38 |
| 7. | Evaluation de la toxicité du docétaxel et de l'effet hépato-protecteur de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> L. | 39 |
| 7.1 | Taux des neutrophiles | 39 |
| 7.2 | Taux des transaminases..... | 41 |
| 7.3 | Etude histologique | 42 |
| 7.4 | Etude du stress oxydant au niveau du tissu hépatique | 44 |
| 7.4.1 | Taux du malondialdéhyde | 44 |
| 7.4.2 | Taux du glutathion..... | 46 |
| 7.4.3 | Activité enzymatique du superoxyde dismutase cytosolique | 48 |

| | | |
|-------|---|----|
| 7.4.4 | Activité enzymatique de la catalase..... | 50 |
| 7.4.5 | Activité enzymatique de la glutathion S-transférase | 51 |
| | Conclusion et perspective..... | 54 |
| | Annexes | 56 |
| | Références bibliographiques | 61 |
| | Résumé | |

Liste des figures

Figure 1: Structure chimique du docétaxel. 05

Figure 2: phases du métabolisme du docétaxel. 08

Figure 3: Représentation graphique du mécanisme d'action du docétaxel 09

Figure 4: Presentation des différent partie de Marrubium vulgare L. 13

Figure 5: Capacité antioxydante totale TAC de l'EHEMV (mg EqAS/g d'extrait) à différentes concentrations (31,25 ; 62,5 ; 125 ; 250 et 500 µg/ml). 34

Figure 6 : Pouvoir réducteur de l'extrait hydroéthanolique de Marrubium Vulgare L. (mg EqAS/g d'extrait) à différentes concentrations (7.81, 15.62, 31,25 ; 62,5 et 125 µg/ml)..... 36

Figure 7 : Activité antiradicalaire vis-à-vis du radical DPPH[·] de l'EHEMV et de l'acide ascorbique (aux concentrations de 0,78125 à 500 µg/ml)..... 37

Figure 8: Activité antiradicalaire vis-à-vis du radical ABTS^{·+} de l'EHEMV et de l'acide ascorbique (concentrations de 1,953 à 1000 µg/ml)..... 38

Figure 9: Effet du traitement à l'EHEMV (200 mg/kg), au DTX (2mg/kg) et l'EHEMV + DTX sur la variation des taux des neutrophiles. 40

Figure 10: Observation microscopique des modifications histologiques du tissu hépatique des rats du lot témoin, lot DTX (2 mg/kg), lot EHEMV (200 mg/Kg) et lot EHEMV+DTX. Coloration H/E (x 40)..... 43

Figure 11: Effet du traitement à l'EHEMV (200 mg/kg), au DTX (2mg/kg) et à l'EHEMV + DTX sur les taux du MDA cytosolique..... 45

Figure 12: Effet du traitement à l'EHEMV (200 mg/kg), au DTX (2mg/kg) et à l'EHEMV + DTX sur l'activité de la GSH..... 47

Figure 13: Effet du traitement à l'EHEMV (200 mg/kg), au DTX (2mg/kg) et à l'EHEMV + DTX sur l'activité de la SOD..... 49

Figure 14: Effet du traitement à l'EHEMV (200 mg/kg), au DTX (2mg/kg) et EHEMV DTX sur l'activité de la CAT. 50

Figure 15: Effet du traitement à l'EHEMV (200 mg/kg), au DTX (2mg/kg) et à l'EHEMV DTX sur l'activité de la GST 52

List des tableaux

Tableau 1: Hiérarchie taxonomique de *Marrubium vulgare* L.....13

Tableau 2: Structures chimique de quelques composés de *Marrubium vulgare* L.....15

Tableau 3: Rendement d'extraction de l'extrait hydroéthanolique de *Marrubium Vulgare* L.
..... 30

Tableau 4: Teneurs en polyphénol, flavonoïdes et tannins hydrolysable d'EHEMV..... 31

Tableau 5: Effet du traitement à l'EHEMV (200 mg/kg), au DTX (2mg/kg) et à l'EHEMV +
DTX sur les taux des transaminases sériques (ALT et AST) chez les rats Wistar. 41

Liste des abréviations

- AAG** : Alpha-1-Acid Glycoprotein.
- ABTS** : 3-ethylbenzothiazoline-6-Sulphonic.
- ALP** : Alkaline Phosphatase.
- ALT** : Alanine AminoTransferase.
- AST** : Aspartate Amino Transferase.
- ATP** : Adenosine Triphosphate.
- Bcl2** : B-CellLymphoma 2.
- BSA** : Bovine Serum Albumin.
- CAT** : Catalase.
- CCl4** : Carbon Tetrachloride.
- CDNB** : 1-Chloro 2, 4 dinitrobenzene.
- CYP3A4** : Cytochrome P450 (CYP) 3A4.
- CYP3A5** : Cytochrome P450 (CYP) 3A5.
- DTX** : Docetaxel.
- DPPH** : 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl.
- DTNB** : Dithio-bis2-nitrobenzoic acid.
- EDTA** : Ethylene Diamine Tetraacetic Acid.
- FDA** : Food and Drug Administration
- FeCl₃** : Iron Chloride.
- GPx** : GlutathionePeroxidase.
- GR** : GlutathioneReductase.
- GSH**: Reduced Glutathione.
- GST** : Glutathione S-transferase.
- HCl** : Hydrogen Chloride.
- MDA** : Malondialdehyde.

NADPH : Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate.

O₂^{•-} : Superoxyde Anion.

·OH : Hydroxyle Radical.

ROS : Reactive Oxygen Species.

SOD : Super Oxide Dismutase.

PI3/AKT : Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B.

TBA : Thiobarbituric Acid.

TCA : Trichloroacetic Acid.

AUC : Area Under the Curve.

Introduction

Le cancer du sein est le cancer le plus diagnostiqué chez la femme (Ashrafizadeh et al., 2020) et constitue la deuxième cause de mortalité chez la femme dans le monde (Siegel et al., 2021).

Le traitement du cancer du sein est basé principalement sur l'utilisation de la chimiothérapie (Hortobagyi, 2020). Le docétaxel est l'un des médicaments de chimiothérapie anticancéreuse de première intention dans la pratique clinique (Zhang et al., 2023). Il appartient à la famille des taxanes approuvé et utilisé pour traiter plusieurs cancers dont le cancer du sein et le cancer de la prostate métastatique (Varnai et al., 2019). C'est un agent cytotoxique agissant principalement sur la dépolymérisation des microtubules (Mykola et al., 2019). Cependant, avec son action sur les cellules cancéreuses, un effet non négligeable atteint également les cellules saines (Mykola et al., 2019), conduisant à l'apparition de plusieurs toxicités comme la neutropénie, la leucopénie, la neurotoxicité et la toxicité digestive (Kenmotsu et Tanigawara, 2015).

Ces toxicités sont induites par plusieurs mécanismes comme la modulation des voies de signalisation (Qian et al., 2009) et l'induction du stress oxydant (Motafeghi et al., 2022).

L'hépatotoxicité est aussi l'une des toxicités induites par le docétaxel. Elle a été confirmée cliniquement par l'élévation des taux des transaminases et de la phosphatase alcaline et les modifications histologiques du tissu hépatique (Horsley-Silva et al., 2015). Cependant, le mécanisme d'action impliqué dans cette hépatotoxicité n'est pas encore bien connu.

Suite à ces toxicités qui rendent le suivi du traitement difficile, il est donc nécessaire d'explorer des stratégies adjuvantes efficaces permettant de les prévenir et de les réduire (Liu et al., 2018).

Les produits naturels et les plantes médicinales utilisés comme traitement adjuvant se sont révélés prometteurs pour prévenir les effets secondaires induits par la chimiothérapie (Lieu et al., 2018).

Marrubium vulgare L. est une plante herbacée appartenant à la famille des Lamiacées et répandue dans le monde entier (Mulondo et al., 2023). Elle est utilisée en médecine traditionnelle pour soigner plusieurs affections comme les affections hépatiques (Aćimović., 2020) grâce à ses propriétés biologiques dues à sa richesse en molécules bioactives comme les flavonoïdes (Mulondo et al., 2023).

Le but de notre travail est donc :

- D'étudier l'hépatotoxicité du docétaxel, principalement l'implication du stress oxydant dans cette toxicité.

- D'étudier l'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait hydro-éthanolique de *Marrubium vulgare* L.
- D'étudier l'effet hépatoprotecteur de cet extrait contre la toxicité induite par le docetaxel.

*Rappels
bibliographiques*

1. Généralités sur le docétaxel

1.1. Présentation du médicament

Le docétaxel (Taxotère®, RP 56976) (4-acétoxy-2-benzoyloxy-5,20-époxy-1,7,10-trihydroxy-9-oxotax-11-ène-13-yl-(2R,3S)-3-tert-butoxycarbonyl-amino-2-hydroxyphénylpropionate) (DTX) (Figure 1) est l'un des médicaments chimiothérapeutiques les plus utilisés pour le traitement du cancer (Kenmotsu et Tanigawara, 2015), principalement le cancer du sein, de l'ovaire, du poumon non à petites cellules, de la tête et du cou (Oyediran et al., 2022) ayant été découvert par Pierre Potier du Centre national de la recherche scientifique en France CNRS dans les années 1980 (Razak et al., 2021) et approuvé pour la première fois par la Food and Drug Administration des États-Unis (FDA) en 1996 pour le traitement du cancer du sein (Kenmotsu et Tanigawara, 2015).

Il appartient à la famille des taxoïdes ou taxanes (Barbuti et Chen, 2015; Jadon et Sharma, 2019; Giri et al., 2021; Lai et al., 2023) qui sont des diterpènes produits par les plantes du genre *Taxus* communément appelé ifs (Zhao et Astruc, 2012).

Le docétaxel est classé dans la classe IV du système de classification biopharmaceutique (Sohail et al., 2018). Il est produit par voie semi-synthétique à partir de la 10-désacétyl baccatine III qui a été identifié comme le principal cytotoxique des extraits de l'if européen *Taxus baccata* (Oyediran et al., 2022). Il est présent sous forme d'une poudre blanche à blanc cassé (Baker et al., 2006) généralement de nature cristalline avec une formule chimique de C₄₃H₅₃NO₁₄ et un poids moléculaire de 807,9 Da (Razak et al., 2021).

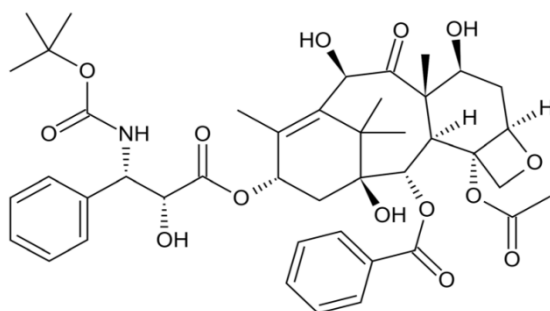


Fig.1 : Structure chimique du docétaxel (Jurczyk et al., 2022).

1.2. Administration et absorption

En raison d'un effet de premier passage et de la faible solubilité (Budha et al., 2012), de la faible biodisponibilité, des pompes d'efflux P-gp (Chidambaram et al., 2011), de la faible perméabilité intrinsèque et de la biodisponibilité (Aisner, 2007), l'administration d'une chimiothérapie anticancéreuse orale est limitée (Kato et al., 2003).

Ainsi, la voie intraveineuse est couramment utilisée pour l'administration du DTX; la solution médicamenteuse étant injectée dans la veine et circulant instantanément dans la circulation sanguine dans tout le corps (Imran et al., 2020). La dose approuvée varie de 60 à 100 mg/m² administrée pendant 1 h toutes les 3 semaines (Sohail et al., 2018).

La perfusion d'une heure toutes les trois semaines du DTX montre une aire sous la courbe AUC (*Area Under Curve*) plus élevée dans le plasma (Razak et al., 2021). La dose administrée varie selon l'indication et le poids corporel (Hoofnagle, 2013).

Bien que la voie intraveineuse offre flexibilité et polyvalence dans le processus de traitement, l'administration exposera les organes sains à la cytotoxicité et aux effets secondaires du médicament (Razak et al., 2021). En effet, une forte accumulation du DTX dans le foie et le cœur est enregistrée après seulement 15 min d'administration (Koolen et al., 2010).

1.3. Transport et distribution tissulaire

Des études ont démontré une liaison étendue du docétaxel aux protéines plasmatiques, notamment l'albumine, l'acide α -1 glycoprotéine AAG (*Alpha-1-Acid Glycoprotein*) et les lipoprotéines (Imran et al., 2020) avec la présence d'une forte variabilité interindividuelle de la concentration plasmatique d'AAG (Kenmotsu et Tanigawara, 2015). La liaison varie de 93 à 94 % *in vitro* et de 70 à 95 % *in vivo*. Cette AAG est surexprimée chez les cancéreux et représente le facteur principal impliqué dans l'élimination totale du docétaxel du corps (Urien et al., 1996; Imran et al., 2020). 4 à 10 % du docétaxel dans le plasma est sous forme libre non liée aux protéines plasmatiques (Kenmotsu and Tanigawara, 2015).

Après une perfusion d'une heure toutes les 3 semaines, la demi vie est caractérisée par 3 compartiments avec des demi-vies alpha, bêta et gamma de 4,5 minutes, 38,3 minutes et 12,2 heures respectivement (Clarke et Rivory, 1999). La distribution du médicament a lieu du compartiment central aux compartiments périphériques avec un volume total de distribution de 22 L/h/m² dans le corps humain et ayant un volume de distribution stationnaire moyen d'environ 113 L (Imran et al., 2020). Le DTX est largement distribué dans les tissus avec un

volume moyen de distribution de 74 L/m² après administration de 100 mg/m², toutes les 3 semaines (Clarke et Rivory, 1999). Les deux volumes de distribution peuvent cependant varier avec l'âge, la liaison aux protéines plasmatiques, la fonction hépatique et la surface corporelle (da Sila et al., 2018).

Le DTX a un coefficient de partage (log-P) de 4,1 et un pKa de 10,97 (Thanki et al., 2013) qui se traduisent par une faible solubilité aqueuse (0,025 µg/ml) et une faible perméabilité membranaire (1 cm/s 10⁻⁶) (Razak et al., 2021).

1.4. Métabolisme

Le métabolisme représente un facteur majeur de variabilité de la réponse aux médicaments et de la toxicité, en particulier pour les composés anticancéreux qui présentent un index thérapeutique étroit (Monsarrat et al., 1997).

Le système de classification biopharmaceutique le catégorise comme un médicament de classe IV ayant à la fois une faible solubilité et perméabilité (Sohail et al., 2018). Les isoformes CYP3A4 et CYP3A5 du cytochrome P450 (CYP) 3A sont principalement responsables du métabolisme hépatique du DTX (Sohail et al., 2018).

Dans les microsomes, le médicament est converti en quatre métabolites majeurs résultant d'oxydations successives du groupe tert-butyle sur la chaîne latérale synthétique (Muth et al., 2021). Il s'agit d'une hydroxylation du groupe tert-butyle médiée par le CYP3A4/3A5 pour former le métabolite alcoolique primaire M2 qui subit par la suite une cyclisation par l'intermédiaire d'un aldéhyde putatif entraînant la formation de deux diastéréoisomères M1 et M3 suivis d'une oxydation pour former le métabolite cétonique M4 (Muth et al., 2021) (Figure 2). La cinétique enzymatique semblait être biphasique avec un V(max) et un K(m) apparent pour le site de haute affinité de 9,2 pmol/min/mg et 1,1 µm, respectivement (Monsarrat et al., 1997).

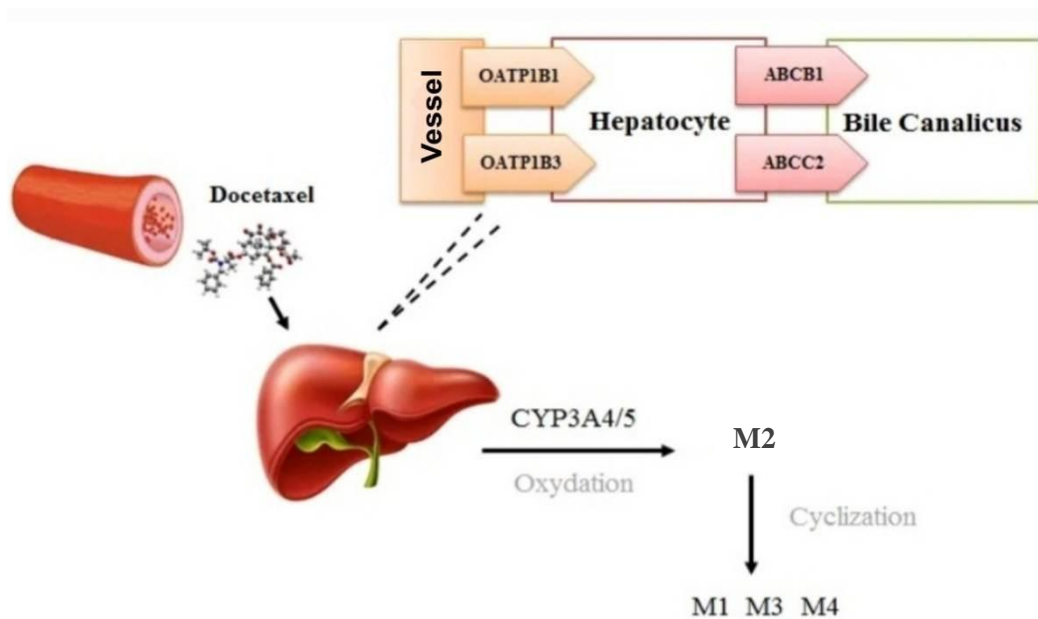


Fig.2 : Phases du métabolisme du docétaxel (Nieuweboer et al., 2015).

M1 et M3 = Hydroxyoxazolidinones diastéréomères; M2 = Alcool docetaxel; M4 = Oxazolidinedione. Le docétaxel est transporté du sang vers les hépatocytes par OATP1B1 et OATP1B3. Il est métabolisé par les CYP3A4 et CYP3A5 et transporté les hépatocytes dans le canal biliaire à travers les transporteurs ABCB1 et ABCC2.

1.5. Élimination

La molécule mère et ses métabolites sont principalement éliminés par les systèmes biliaire, rénale et intestinale (Shou et al., 1998; Loos et al., 2003; Baker et al., 2006). Après 7 jours d'administration, environ 6 % et 75 % de la quantité totale du médicament sont excrétés respectivement dans l'urine et les selles et les taux d'élimination les plus élevés se produisant au cours des 48 premières heures par excrétion fécale (da Silva et al., 2018).

La variable indépendante la plus importante pour prédire la clairance s'est avérée être l'activité du CYP3A4 (Hirth et al., 2000).

1.6. Mode d'action

Le DTX inhibe la croissance des cellules en agissant principalement sur les microtubules, en induisant l'apoptose et en inhibant l'angiogenèse et les voies de signalisation cellulaire (Jadon et Sharma, 2019).

Par son action sur les microtubules, en perturbant le réseau microtubulaire par inhibition du désassemblage des microtubules du cytosquelette (Figure 3) et en provoquant un blocage

persistant à la frontière métaphase-anaphase, il empêche la division cellulaire et conduit à la mort cellulaire (Jordan et al., 2008; Hoofnagle, 2013).

Il induit l'apoptose *via*, principalement, l'inhibition de l'expression de Bcl2 (*B-Cell Lymphoma 2*) anti-apoptotique et l'activation des caspases (Mediavilla-Varela et al., 2009; Ogura et al., 2016) et l'inhibition de la voie de signalisation PI3/AKT (*Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B*) (Zhang et al., 2018).

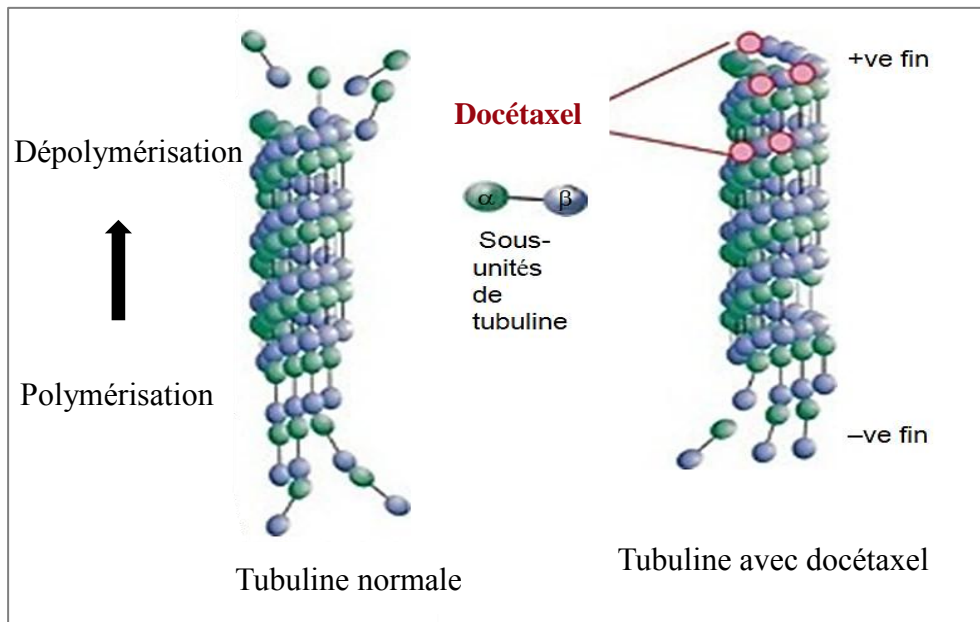


Fig.3 : Représentation graphique du mécanisme d'action du docétaxel. (Sohail et al., 2018).

La figure montre le mode d'action du docétaxel en perturbant le réseau de microtubules ce qui bloque le cycle cellulaire en G2/M, inhibant ainsi la réplication cellulaire.

1.7. Toxicité du docétaxel

Le DTX est non seulement cytotoxique pour les cellules cancéreuses, mais également pour les cellules saines (Razak et al., 2021).

Le DTX induit différentes toxicités comme la toxicité gastro-intestinale avec l'apparition de la diarrhée des nausées et des vomissements, la fatigue (Al-Batran et al., 2015), la cardiomyopathie (Shimoyama et al., 2001) et l'hépatotoxicité (Chalasanani et al., 2015).

Il peut aussi induire une hématotoxicité caractérisée par l'apparition d'une neutropénie sévère (Sato et al., 2012; Buttigliero et al., 2018; Furuya, 2019) et une anémie (Al-Batran et al., 2015), une néphrotoxicité, principalement tubulaire (Takimoto et al., 2012; Anai et al., 2019) et une neurotoxicité qui peut être centrale, caractérisée par l'apparition de troubles

cognitifs et d'une encéphalopathie (da Costa et al., 2020) ou périphérique (Hilkens et al., 1996; Velasco et Bruna, 2015).

La dose appropriée des médicaments chimiothérapeutiques est un point clé pour la thérapie anticancéreuse. Une surdose peut induire une toxicité sévère et entraîner l'échec du traitement (Rosenberg et al., 2019; Rosenthal et al., 2019).

1.7.1. Rôle du stress oxydant dans la toxicité induite par le docétaxel

Le stress oxydant résulte du déséquilibre entre la production et l'accumulation des ROS (*Reactive Oxygen Species*) dans les cellules et les tissus et la capacité du système biologique antioxydant à détoxifier ces ROS (Pizzino et al., 2017).

Les ROS en excès peuvent déclencher une réaction en chaîne qui peut détruire la membrane cellulaire, inhiber l'action des enzymes, inhiber les processus cellulaires nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme, empêcher la division cellulaire normale, induire la mort cellulaire et endommager l'ADN (Sharifi-Rad et al., 2020).

Pour faire face à ces ROS, le corps humain possède un ensemble de protéines au rôle antioxydant. Il comprend des antioxydants enzymatiques telles que la SOD (*Superoxide Dismutase*), la GPx (*Glutathione Peroxidase*), la CAT (*Catalase*) et la GR (*Glutathione Reductase*). Le deuxième système est non enzymatique comme le GSH (*Glutathione*) (Jiřcã et al., 2022).

De nombreux médicaments anticancéreux approuvés par la FDA sont actuellement connus par leur capacité de surproduction des ROS. Les taxanes par exemple, peuvent déclencher la production de ROS en perturbant les fonctions mitochondriales (Jiang et al., 2023).

En outre, le DTX peut induire une néphrotoxicité principalement, par la production excessive des ROS (Baker et al., 2009 ; Nazırođlu et Braidı, 2017), la diminution de l'activité de la GPx et des niveaux du GSH et l'augmentation du niveau de MDA (Tabaczar et al., 2017; Bas et Nazırođlu, 2019).

Les mécanismes moléculaires du DTX qui provoquent le dysfonctionnement endothélial sont l'augmentation des niveaux de phosphorylation de la kinase PKC β et de l'activité de la NADPH oxydase, ce qui entraîne la formation de ROS (Hung et al., 2015).

Le DTX induit également la surproduction des ROS au niveau des cardiomyocytes (Lage et al., 2019).

1.7.2 Hépatotoxicité du docétaxel

La surveillance de routine des tests hépatiques est recommandée avant chaque perfusion de DTX et l'arrêt de l'administration est indispensable si la bilirubine sérique est élevée, les niveaux d'ALT (*Alanine Transaminase*) ou d'AST (*Aspartate Transaminase*) sont supérieures de 1,5 fois la norme ou si la phosphatase alcaline est supérieure de 2,5 fois la limite supérieure normale (Hoofnagle, 2013).

Des études antérieures ont montré que la plupart des médicaments chimiothérapeutiques ou leurs métabolites peuvent provoquer un dysfonctionnement et une insuffisance hépatique (Bahirwani et Reddy, 2014). Les lésions hépatiques induites par le DTX constituent un vrai problème de santé publique, entraînant souvent une baisse de l'efficacité, l'arrêt du traitement et même une insuffisance hépatique et la mort (Daly, 2010).

Chez les femmes atteintes de cancer du sein métastatique, le traitement avec le DTX entraîne l'apparition de fièvre, de jaunisse et des douleurs du côté supérieur droit caractéristiques d'atteinte hépatique avec une élévation des taux d'ALT, AST, bilirubine et de phosphatase alcaline (Wang et al., 2012).

In vivo, le traitement des rats avec une dose de 15 mg/kg de DTX provoque une lésion hépatique grave mise en évidence par une augmentation des taux d'ALP (*Alcaline Phosphatase*), d'ALT et d'AST (Qu et al., 2017). Egalement, chez les souris xéno greffes aux quelles les cellules A549 du cancer pulmonaire non à petites cellules ont été injectées, une élévation des taux d'ALT a été enregistrée après administration de DTX avec une dégénérescence et des dommages des hépatocytes (Li et al., 2018).

Selon Tang et al. (Tang et al., 2017), l'hépatotoxicité induite par le DTX est lié à l'induction de l'apoptose. Le DTX augmente les niveaux de la caspase-9, activant par conséquent la caspase-3 en aval, ce qui indique que la voie mitochondriale est largement responsable de l'hépatotoxicité du DTX (Tang et al., 2017). Le DTX induit également une augmentation des niveaux de ROS, un effondrement du potentiel membranaire mitochondrial, une fuite de la membrane lysosomale et une déplétion de l'ATP (Daraei et al., 2017).

2. Généralités sur *Marrubium vulgare* L.

2.1. Présentation de *Marrubium vulgare* L.

Marrubium vulgare L. est une plante herbacée appartenant à la famille des Lamiacées (Mahmoud et al., 2018; Yabrir, 2019). Cette famille a été incluse dans l'index des

pharmacopées et de la phytothérapie de Merck en 1910 (Lodhi et al., 2017). Elle a une distribution de 7825 espèces réparties en environ 250 genres (Boly, 2022; Lima et al., 2022; Nicha et al., 2022) et compte environ 49 espèces identifiées entre la Méditerranée et l'Asie centrale (Masoodi et al., 2022).

Le genre *Marrubium* comprend 7 espèces, qui sont cultivées à l'état sauvage dans de nombreuses régions du monde et d'Algérie (Bouterfas et al., 2016).

Son nom est dérivé des mots hébreux « marrob » et « vulgare » qui signifient tous deux « bien connu » et « jus amer », respectivement, alors que le L. revient au nom du botaniste suédois Carl Linnaeus (Aćimović et al., 2020).

Communément connu sous le nom de « marrube blanc » (Yabrir, 2019), en arabe il a plusieurs noms ; « Hachich el Kalb, Algama, SogafolArz et Charir » (Ahfazi et al, 2016). En Algérie, il est connu sous le nom de « Merriouet » (Bouterfas et al., 2016).

White horehound est le nom anglais le plus connu (Spiteri 2011). Ce nom vient du mot « hoary », en raison des poils blancs qui recouvrent les feuilles du marrube et « hound », car il était utilisé dans la médecine grecque antique pour traiter les morsures des chiens enragés (Ahfazi et al., 2016).

Marrubium vulgare L. a été utilisé en médecine traditionnelle depuis l'antiquité pour le traitement de plusieurs maladies (Ahfazi et al., 2016). Il est aussi utilisé pour la fabrication des arômes alimentaires, des parfums et des produits cosmétiques (Kadri et al., 2011).

2.2. Descriptions botanique et systématique

Marrubium vulgare L. est une plante herbacée vivace de 20 à 100 cm de haut, dressée et très duveteuse. Elle a une racine pivotante coriace, ligneuse et ramifiée en de multiples racines latérales fibreuses. Les feuilles sont placées par paires opposées sur une longue tige et sont sphériques, ovales, généralement dentelées, pétiolées, veinées et blanches à la surface. Les fleurs blanches sont disposées en verticilles axillaires compactes dans les inflorescences, qui sont créées à l'aisselle des feuilles supérieures. Le calice est tubulaire, lobé et à 10 dents, avec une petite épine crochue ou un poil sur chaque dent. La lèvre inférieure est trilobée avec un lobe central plus large, tandis que la lèvre supérieure est bilobée, bifide et dressée. La corolle est de couleur blanche à lavande pale, tubulaire et bilabée et la tube de la corolle

contient le style, les étamines et les anthères avec des sacs divergents (Yabrir, 2019; Aćimović et al., 2020) (figure 4).

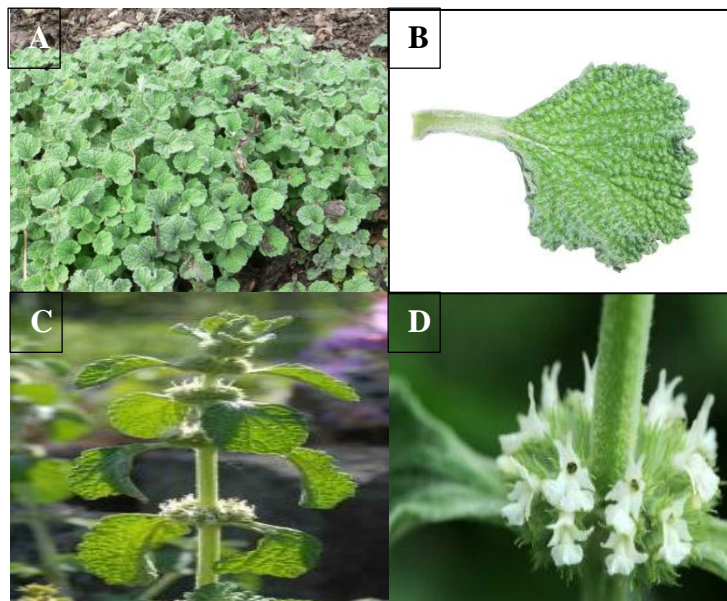


Fig.4 : Présentation des différentes parties de *Marrubium Vulgare L.* (A : Arbuste, B : feuille, C : Branche, D : fleures) (Novak et al, 1966).

La hiérarchie taxonomique de *Marrubium vulgare L.*, est présentée dans le tableau suivant :

Tableau 1 : Hiérarchie taxonomique de *Marrubium vulgare L.* (Masoodi et al., 2022).

| Rang | Nom scientifique |
|--------------------|-----------------------------|
| Règne | Plante |
| Sous-règne | Viridiplantae |
| Infra-règne | Streptophyta |
| Embranchement | Embryophyta |
| Sous-embranchement | Tracheophyta |
| Classe | Magnoliopsida |
| Ordre | Lamiales |
| Famille | Lamiaceae |
| Genre | <i>Marrubium L.</i> |
| Espèce | <i>Marrubium vulgare L.</i> |

2.3. Distribution géographique et composition chimique

M. vulgare est actuellement largement répandue dans le monde, à l'exception des climats les plus rudes et les hautes altitudes (Yabrir, 2019). Il est originaire des régions tempérées d'Europe, d'Afrique du Nord, d'Asie et de l'ouest de la Chine et quelques régions de l'Amérique du Nord et du Sud (Ahvazi et al., 2016). *M. vulgare* est une plante cultivée dans le monde entier. Elle prospère sur les sols calcaires (Aćimović et al., 2020), qui sont généralement secs et ensoleillés (Lodhi et al., 2017) et pousse bien également dans les endroits semi-arides (Aćimović et al., 2021).

Les alcaloïdes, les lactones, les stéroïdes, les esters phénylpropanoïdes et la vitamine C ont été découverts dans *M. vulgare* (Ahvazi et al., 2016). Les acides aminés, les polysaccharides et les tanins sont les principaux constituants des bourgeons, des fleurs et des fruits, tandis que des quantités élevées de phénols et de flavonoïdes sont principalement localisées dans les feuilles (Amri et al., 2017). Sept éléments ont été détectés dans le *M. vulgare* qui sont le Fe, Mg, Ca, Cu, Zn, Mn et K (Rezgui et al., 2021).

Des sesquiterpènes (42,7 %) et des hydrocarbures monoterpéniques oxygénés (40,02 %) ont été détectés en proportions à peu près égales dans l'huile de *M. vulgare*. En effet, l'huile comprend 48,89 % de sesquiterpènes, dont 42,7 % de sesquiterpènes hydrocarbonés et 41,67 % de monoterpènes, dont 40,02 % de monoterpènes oxygénés (Kadri et al., 2011).

Dans les feuilles de *M. vulgare*, 11 flavonoïdes, dont plusieurs glycosides, ont été aussi extraits et identifiés par Shaheen et al. (Shaheen et al., 2014).

M. vulgare est riche en polyphénols, en particulier les flavonoïdes et les phénylpropanoïdes comme la vitexine, l'apigénine, la lutéoline et leurs 7-glucosides ainsi que la quercétine et ses 3-glucoside et 3-rhamnoglucoside, plusieurs esters phényl-propanoïdes tels que les verbascosides et les tanins (Evans et Evans, 2009; Hayat et al., 2020), les acides phénoliques comme les dérivés de l'acide cinnamique et certains polymères comme les lignanes (Chebrouk et al., 2011). Il contient aussi des alcaloïdes comme la betonicine et la stachydrine (Evans et Evans, 2009)

La partie aérienne de *M. vulgare* contient plusieurs métabolites secondaires tels que les diterpènes principalement ceux de type labdane responsables du goût amer de la plante, dont la marrubiine qui est responsable de la plupart des propriétés biologiques de *M. vulgare* (Çitoğlu et Aksit, 2002; Chebrouk et al., 2011), son précurseur la pré-marrubiine, le 12(S)-

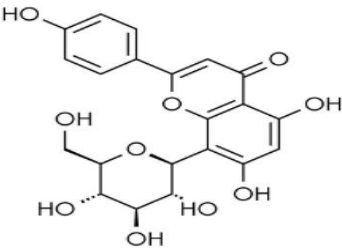
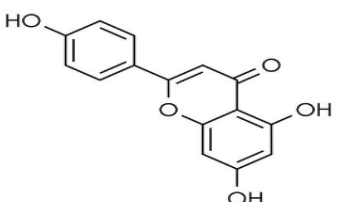
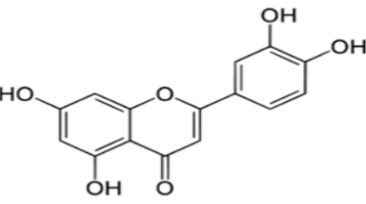
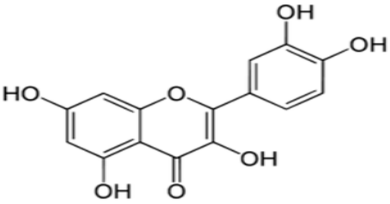
hydroxymarrubiine, le 11-oxomarrubiine, le 3-désoxo-15(S)-méthoxyvélutine, le marrubénol, le marruliba-acétal, ... (Aćimović et al., 2020).

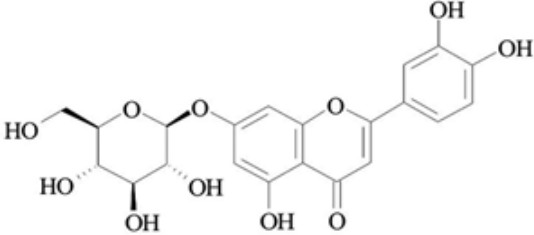
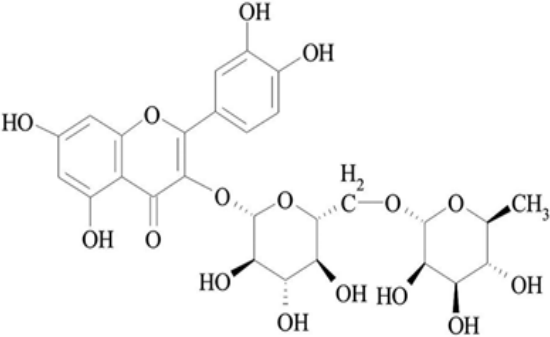
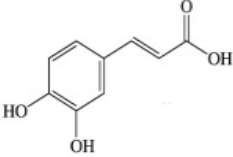
Plusieurs alcools diterpéniques ont été identifiés dans les feuilles et les sommités fleuries, notamment le marrubénol, le marrubiol, le sclaréol, la pérégrinine et la dihydropérégrinine (Lodhi et al., 2017).

Dans les extraits de *M. vulgare*, la lactone sesquiterpénique vulgarine, le β -sitostérol, le lupéol et l'acide oléanolique sont aussi présents. Ils contiennent aussi des diterpénoïdes comme le pérégrinol, la pérégrinine, le vulgarol, le vulgarcoside A et la déacétylvitexilactone (Aćimović et al., 2020).

Les huiles essentielles de *M. vulgare* lui conférant son odeur agréable (Evans et Evans, 2009), sont constituées de monoterpènes tels que le camphène, le p-cymol, le fenchène, le limonène et l' α -pinène (Aćimović et al., 2020).

Tableau 2 : Structures chimiques de quelques composés de *Marrubium vulgare* L.

| Composé | Structure | Référence |
|------------|---|-----------------------|
| Vitexine |  | Lodhi et al., 2017 |
| Apigénine |  | |
| Lutéoline |  | Lodhi et al., 2017 |
| Quercétine |  | Aćimović et al., 2020 |

| | | |
|-------------------|--|--------------------|
| 7-Glucoside |  | |
| 3-Rhamnoglucoside |  | Lodhi et al., 2017 |
| Acide caféique |  | |

2.4. Activités pharmacologiques de *Marrubium vulgare* L.

M. vulgare est fréquemment utilisé en médecine traditionnelle pour le traitement du rhume et de la toux persistante. Il est utilisé aussi pour traiter une variété d'affections cutanées, hépatiques, gastriques, cardiaques et immunitaires (Lodhi et al., 2017). Il a une activité antibactérienne (Mssillou et al., 2021; Adimi et al., 2023), antivirale (Fayyad et al., 2014), anti-oxydante (Ghedadba et al., 2021; Gourich et al., 2023), anti-inflammatoire (Bousselsela et al., 2021; Rached et al., 2022), cytotoxique (Kozyra et al., 2020; Akbulut et al., 2023),

Par son activité antioxydante et sa capacité à éliminer et réduire l'effet des ROS et renforcer le système antioxydant cellulaire, *M. vulgare* exerce des effets protecteurs contre les toxicités induites dans les différents organes et tissus. Chez les rats auxquels un diabète a été induit par administration de l'alloxane, l'administration d'une infusion de *M. vulgare* entraîne une protection du tissu hépatique et rénale contre les dommages oxydatifs induits par l'alloxane (Ghliissi et al., 2015). Elle permet d'améliorer l'activité de la CAT, la SOD et la GPx,

d'augmenter le niveaux du GSH et de réduire les taux du MDA tissulaire (Ghlyssi et al., 2015).

L'extrait aqueux de *M. vulgare* possède un effet protecteur contre les dommages oxydatifs au niveau du foie, des reins et des poumons, induits chez les rats par l'administration de la bléomycine. Il permet de réduire la peroxydation lipidique et de promouvoir l'activité de la SOD et de la CAT (Abidi et al., 2022).

L'extrait hydroalcoolique de *M. vulgare* a été évalué pour son effet neuroprotecteur dû à une lésion cérébrale traumatique. Il permet de maintenir les taux du GSH et l'activité enzymatique de la CAT et la réduction des taux du MDA (Nidhi et al., 2022).

Matériel
et
Méthodes

Notre travail de recherche a été réalisé au sein du laboratoire de Pharmacologie du Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire et à l'animalerie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Jijel.

1. Animaux et conditions de l'élevage

Les expérimentations animales ont été réalisées sur des rats mâles *Wistar* albinos de l'Institut Pasteur d'Alger âgés de 3 mois et pesant 200 g en moyenne. Les rats sont élevés dans des cages en plastique à une température comprise entre 20 et 25 °C et à accès libre à la nourriture et à l'eau.

2. Matériel végétal

Notre étude a porté sur une espèce de plantes de la famille des Lamiacées qui est *Marrubium vulgare* L.. Le matériel végétal choisi est constitué de feuilles de *Marrubium vulgare* L. connue pour sa richesse en substances bioactives. La composante aérienne (feuilles) de *Marrubium vulgare* L. a été récoltée fin janvier 2023 dans la zone de Boudriaa Ben Yadjis, au sud-ouest de la wilaya de Jijel. Les feuilles récoltées ont été séchées pendant 15 jours à température ambiante à l'abri de la lumière dans un endroit sec et bien aéré. Après avoir été séchées, les feuilles sont broyées pour récupérer une poudre qui sera tamisée et stockée dans des flacons en verre ambré.

3. Préparation de l'extrait hydro-éthanolique de *Marrubium vulgare* L.

La poudre obtenue (140 g) est mise à macération pendant 3 jours dans un mélange éthanol/eau (80/20) (Sultana et al., 2009). Après filtration sur papier filtre, le filtrat est ensuite évaporé à sec sous pression réduite à 40 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif (Buchi R-300). L'extrait obtenu est récupéré puis pesé et le rendement d'extraction est calculé selon la formule suivante :

Rendement d'extraction en (%) = $(E1 / E2) * 100$.

E1 = poids de l'extrait obtenu (g).

E2 = poids de la poudre (g).

4. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols sont évalués par dosage colorimétrique en utilisant le réactif du Folin-Ciocalteu. Ce dernier est un acide jaune qui peut réagir avec les résidus phénoliques pour former des complexes bleus. Une fois ces complexes formés, ils peuvent être mesurés pour déterminer la quantité de polyphénols présents (Singleton et al., 1999).

Selon le protocole décrit par Heilerova et al., (Heilerova et al., 2003), 0,2 ml de l'extrait ont été ajoutés à 1,5 ml de Folin-Ciocalteu (1/10^e). Le mélange a été placé à l'obscurité pendant 5 min avant d'ajouter 1,5 ml d'une solution de Na₂CO₃ (7,5 %). Après 90 minutes d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 750 nm. Le taux des polyphénols est déterminé à partir d'une courbe d'étalonnage de l'acide gallique réalisée dans les mêmes conditions. Les résultats obtenus sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g E).

5. Dosage des flavonoïdes

Ce dosage a été réalisé selon la méthode de Djeridane et al. (Djeridane et al., 2006). Les flavonoïdes comprennent un groupe hydroxyle libre qui, lorsqu'il est en contact avec le chlorure d'aluminium, utilise la chélation de l'aluminium pour créer un complexe jaunâtre. La quantité de couleur jaune produite dépend du taux des flavonoïdes présents dans l'extrait (Djeridane et al., 2006).

Pour ce test, 1 ml de la solution d'AlCl₃ a été ajouté à 1 ml d'extrait. Après agitation, l'absorbance a été lue à une longueur d'onde de 430 nm. L'évaluation de la teneur en flavonoïdes a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage de la quercétine réalisée dans les mêmes conditions. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligrammes équivalents de quercétine par gramme d'extrait brut (mg EQ/g E).

6. Dosage des tanins hydrolysables

Ce dosage a été réalisé en se référant à la méthode décrite par Mole et Waterman (Mole et Waterman, 1987). La procédure consiste à mélanger 1 ml d'extrait hydro-éthanolique de *Marrubium vulgare* L. avec 3,5 ml de FeCl_3 (0,01 % dans le HCl 0,01 M). Après incubation de 10 min, l'absorbance est lue à 660 nm.

La quantité de tanins hydrolysables est déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage de l'acide tannique et le résultat obtenu est exprimé en milligrammes équivalents d'acide tannique par gramme d'extrait (mg ATE/g E).

7. Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait hydro-éthanolique de *Marrubium vulgare* L. *in vitro*

7.1. Capacité antioxydante totale

Elle a été évaluée en utilisant la méthode au phosphomolybdate décrite par Battol et al., basée sur la formation d'un complexe de phosphomolybdène à partir de la réduction du Mo(VI) molybdate (MoO_4^{2-}) en molybdène vert bleuté (V) (MoO^{2+}) en présence de composés antioxydants de l'extrait (Battol et al., 2019).

Elle a été réalisée en mélangeant 3 ml d'une solution contenant 0,6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium Na_3PO_4 et 4 mM de molybdate d'ammonium avec 3 ml de l'extrait à diverses concentrations (de 31,125 à 1000 $\mu\text{g/ml}$). Le mélange est ensuite chauffé à 95 °C pendant 90 min puis l'absorbance est lue à 695nm. L'acide ascorbique aux mêmes concentrations que l'extrait a été utilisé comme référence.

L'activité antioxydante totale de notre extrait a été évaluée en mesurant la concentration équivalente en acide ascorbique (mg/g de l'extrait) pour chaque concentration.

7.2. Pouvoir réducteur du fer

Ce test est basé sur la formation d'un complexe coloré entre les antioxydants de l'extrait et le ferricyanure de potassium, l'acide trichloracétique et le chlorure ferrique (Dalli et al., 2021). Le pouvoir réducteur du fer FRAP a été évalué en utilisant la méthode d'Oyaiz (Oyaiz, 1986). 1000 μl d'extrait hydro-éthanolique à différentes concentrations (de 7,81 à 500 $\mu\text{g/ml}$) a été ajouté à 2600 μl de tampon phosphate (0,2 M; pH 6,6) et un volume égale de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$. Le mélange est agité puis incubé à l'abri de la lumière pendant 20

minutes à 50 °C. Après refroidissement, 2600 µl d'acide trichloracétique TCA sont ajoutés puis le mélange est centrifugé à 800 g pendant 10 min. 2600 µl du surnageant sont prélevés et mélangés avec 520 µl de chlorure ferrique FeCl₃ (0,1 %) et un volume équivalent d'eau distillée. Après 10 minutes, l'absorbance a été lue à 700 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions.

L'augmentation de l'absorbance en fonction de la concentration indique la présence d'un pouvoir réducteur.

7.3. Pouvoir de piégeage de radicale DPPH[·]

Ce test est basé sur la réduction de la solution alcoolique de DPPH[·], en présence d'antioxydants donneurs d'hydrogène, en forme non radicalaire DPPH-H (Sultana et al., 2018).

Le pouvoir de piégeage du radical DPPH[·] de l'extrait hydro-éthanolique a été évalué par la méthode décrite par Lopelutz et al. (Lopelutz et al., 2008). 50 µl de l'extrait à différentes concentrations (0,78125 à 500 µg/ml) ont été additionnés à 1,95 ml de la solution de DPPH[·] (60 µM). Après une incubation de 30 min à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance a été lue à 515 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions. L'acide ascorbique aux mêmes concentrations que l'extrait a été utilisé comme référence.

Le taux d'inhibition du radical DPPH[·] a été calculé selon la formule suivante :

$$I\% = ((Ac - AE) / Ac) * 100$$

Ac : Absorbance du contrôle.

AE : Absorbance de l'échantillon (Extrait/acide ascorbique).

7.4. Pouvoir de piégeage du radical ABTS^{·+}

Le test de capacité de piégeage des radicaux ABTS^{·+}. Le radical ABTS^{·+} est généré par réaction avec le persulfate de potassium et en présence de l'extrait, ce radical ABTS^{·+} de couleur verte est converti en une molécule non radicalaire transparente (Tamuly et al., 2013).

Il a été réalisé selon la méthode de Re et al. (Re et al., 1999). 100 µl de notre extrait à des concentrations croissantes (de 1,953 à 1000 µg/ml) ont été mélangés avec 900 µl de la solution éthanolique du radical cationique ABTS^{·+} (acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)). Le mélange est ensuite incubé pendant 30 minutes à

température ambiante et à l'obscurité puis l'absorbance est lue à 734 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions. L'acide ascorbique a été utilisé comme molécule de référence.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition selon la formule suivante:

$$I \% = ((Ac - AE) / Ac) * 100$$

Ac : Absorbance du contrôle.

AE : Absorbance de l'échantillon.

8. Etude expérimentale *in vivo*

Afin d'étudier la toxicité hépatique du docétaxel et l'effet protecteur de l'extrait hydro-éthanolique de *Marrubium vulgare* L. contre cette toxicité un protocole expérimental a été réalisé en utilisant les rats *Wistar* albinos. Les rats ont été divisés en 4 lots et subissaient différents traitements selon le protocole suivant :

Lot1 : lot témoin, les rats de ce lot sont traités avec 0,5 ml d'eau physiologique *per os* chaque jour pendant 7 jours.

Lot 2 : contrôle +, les rats de ce lot sont traités avec 0,5 ml de l'EHEMV (200 mg/kg) *per os* chaque jour durant 7 jours.

Lot 3 : les rats de ce lot sont traités avec 0,5 ml d'eau physiologique *per os* chaque jour pendant 7 jours.

Lot 4 : les rats de ce lot sont traités avec 0,5 ml de l'EHEMV (200 mg/kg) *per os* chaque jour durant 7 jours.

A la fin de ces 7 jours, les rats des lots 3 et 4 subissent chacun une dose de 2 mg/kg par voie *i.p.*

Ce protocole expérimental est répété 14 jours après administration du docétaxel.

24h après la dernière administration du docétaxel, les rats sont sacrifiés et le sang et le foie sont récupérés pour des études ultérieures.

8.1. Etude histologique

Une partie de chacun des foies récupérés a été conservée et fixée dans du formol 10 % pour l'étude histologique. Après fixation, ces fragments subissent une déshydratation dans des bains successifs d'alcool, une inclusion dans la paraffine, une coupure au microtome suivie ensuite d'un déparaffinage, d'une réhydratation, d'une coloration à l'hématoxyline/éosine et d'un montage des lames.

Ces lames sont observées au microscope optique (x 40) afin de chercher les modifications histologiques hépatiques spécifiques.

8.2. Paramètres hématologiques et biochimiques

Juste avant sacrifice, le sang des rats a été prélevé depuis le sinus rétro-orbital des rats. Une partie a été conservée dans des tubes héparinés et sert à l'évaluation des taux d'ALT et d'AST en utilisant des kits spécifiques du dosage et l'autre partie dans des tubes contenant de l'EDTA (*Ethylenediaminetetraacetic Acid*) et sert à la numération de la fonction sanguine NFS en se basant sur la variation d'impédance.

8.3. Etude du stress oxydant *in vivo*

L'autre partie des foies a été directement conservée au congélateur à -20 °C et sert à l'évaluation du stress oxydant.

8.3.1. Extraction de la fraction cytosolique

La fraction cytosolique a été obtenue à l'aide de la méthode décrite dans l'étude de Kebsa et al. (Kebsa et al., 2014). Pour se faire, un volume de tissu hépatique a été homogénéisé dans trois volumes de tampon phosphate (0,15 M; pH 7,4) contenant du KCl (1,17 %).

Après broyage au Potter de Dounce, l'homogénat obtenu est centrifugé à 3000 rpm/15 min à 4 °C. Le surnageant récupéré est de nouveau centrifugé à 9600 rpm/30 min toujours à 4 °C et le surnageant est récupéré puis stocké à -20 °C pour l'étude des paramètres du stress oxydant.

8.3.2. Dosage du malondialdéhyde

Le malondialdéhyde MDA est un aldéhyde qui peut interagir avec le TBA (*Thiobarbituric Acid*) en milieu acide et à 100 °C pour créer un chromophore rose qui absorbe à 530 nm.

Les taux du MDA ont été évalués selon la méthode d'Okhawa et al. (Okhawa et al., 1979). 0,5 ml de la fraction cytosolique sont mélangés avec 0,5 ml de TCA (*Trichloroacetic Acid*) (20 %) et 1 ml de TBA (0,67 %) et le mélange est ensuite chauffé au bain Marie à 100 °C pendant 15 minutes. Après refroidissement, 4 ml de n-butanol sont ajoutés et le mélange est centrifugé à 3000 rpm/ 15 min. Le surnageant est récupéré et son absorbance est lue à 530 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions.

La concentration de MDA est calculée selon la relation :

$$A = \varepsilon * I * C$$

I = Longueur du trajet lumineux (= 1 cm)

C = Concentration de l'échantillon

A = Absorbance

ε = Coefficient d'extinction molaire = $1.56 * 10^5$ Mol/cm

8.3.3. Dosage du glutathion cytosolique

Le dosage du glutathion GSH été effectué selon la méthode d'Ellman (Ellman, 1959). Elle est basée sur l'utilisation du DTNB (*5-5' Dithionitrobenzoic acid*) qui, en présence du GSH, sera coupé et produit l'acide 2-nitro5-thiobenzoïque (TNB), produit de couleur jaune qui absorbe à 412 nm.

Dans ce test, 50 µl de la fraction cytosolique sont mélangés avec 5 ml de tampon phosphate (0,1 M; pH 8). 3 ml de ce mélange sont ensuite prélevés et mélangés avec 20 µl de DTNB (0,01 M) et le mélange est incubé pendant 15 min à température ambiante.

L'absorbance est lue à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions.

Les taux du GSH sont déterminés à partir d'une gamme d'étalonnage du GSH préparée dans les mêmes conditions.

8.3.4. Evaluation de l'activité de la SOD cytosolique

Cette activité a été évaluée par la méthode décrite par Marklund et Marklund (Marklund et Marklund, 1974), basée sur la capacité de la SOD à empêcher l'auto-oxydation du pyrogallol.

850 µl de tampon Tris-Hcl (50 mM; pH 8,2) ont été mélangés avec 15 µl de la fraction cytosolique et 100 µl d'EDTA (10 mM). 50 µl de pyrogallol sont ajoutés au mélange et l'absorbance est directement lue à 420 nm chaque min pendant 5 min.

Un contrôle est préparé dans les mêmes conditions en utilisant le tampon d'homogénéisation à la place de la fraction cytosolique.

L'activité de la SOD est mesurée par l'équation suivant:

$$\text{Activité SOD (UI/ml)} = \frac{(V_p - V_s) \cdot V_t}{(V_p * 0,5) \cdot v_s} * \frac{1}{n} * n$$

Où :

V_p : Vitesse d'auto-oxydation du pyrogallol (contrôle).

V_s : Vitesse d'auto-oxydation de l'échantillon.

V_t : Volume total de la réaction (ml).

v_s : Volume de l'enzyme utilisé dans l'essai (ml).

n : Facteur de dilution de la SOD dans l'échantillon.

0,5 : Facteur de 50 % d'inhibition.

$$\text{UI/mg protéines} = \frac{\text{UI/ml de l'enzyme}}{\text{mg/ml de protéines}}$$

8.3.5. Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase cytosolique

La catalase est l'enzyme antioxydante responsable de la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène (Iwase et al., 2013).

L'activité de la catalase a été mesurée spectrophotométriquement en utilisant la méthode de Claiborne (Claiborne, 1985). Pour cela, 1 ml de tampon phosphate (0,1 M; pH 7,2) a été mélangé avec 0,950 ml de H₂O₂ et 0,025 ml de la fraction cytosolique. L'absorbance est directement lue à 240 nm chaque min pendant 2 min. L'activité de la catalase est mesurée selon la relation suivante :

$$\text{Activité CAT (UI/g protéines)} = ((2,30333/T) * \log (A1/A2)) / \text{g prot}$$

T = Intervalle de temps en min

A1 = Absorbance à T1

A2 = Absorbance à T2

8.3.6. Evaluation de l'activité enzymatique de la GST cytosolique

L'activité de la GST a été évaluée par la méthode de Habig et al. (Habig et al., 1974) en utilisant le CDNB (*1-Chloro-2,4-Dinitrobenzene*) comme substrat électrophile qui se lie au GSH en présence de la GST conduisant à la formation d'un complexe coloré qui absorbe à 340 nm.

Le test est réalisé en mélangeant 100 µl de CDNB (20 mM) avec 1700 µl de tampon phosphate (0,1 M; pH 6,5). Après 10 min d'incubation à 37 °C, la réaction est démarrée après addition de 100 µl de GSH et 100 µl de la fraction cytosolique. La variation de l'absorbance est lue chaque min pendant 5 min. Un contrôle est préparé dans les mêmes conditions en remplaçant la fraction cytosolique par le tampon d'homogénéisation.

L'activité de la GST est calculée selon la relation :

$$\text{Enzyme (UI/ml)} = \frac{(\Delta A_{340} / \text{min Test} - \Delta A_{340} / \text{min contrôle}) / (V_t) (F_d)}{(9,6) (V_e)}$$

Vt: Volume total (ml) de l'essai.

Fd : Facteur de dilution

9,6 : Coefficient d'extinction millimolaire du glutathion-1-chloro-2,4-dinitrobenzène conjugué à 340 nm.

Ve : Volume (ml) de l'enzyme utilisée.

$$\text{UI/mg protéines} = \frac{\text{UI/ml de l'enzyme}}{\text{mg/ml de protéines}}$$

8.3.7. Dosage des protéines

Le taux des protéines a été estimé en utilisant la méthode de Bradford (Bradford, 1976). Elle est basée sur la complexation des acides aminés aromatiques présents dans le milieu réactionnel avec le bleu brillant de Coomassie.

50 µl de la fraction cytosolique diluée au 1/5^è sont mélangés avec 2,5 ml du réactif de Bradford. Après agitation, le mélange est incubé à température ambiante pendant 5 min et l'absorbance est ensuite lue à 595 nm.

Le taux des protéines est déterminé à partir d'une courbe d'étalonnage de BSA préparée dans les mêmes conditions.

9. Étude statistique

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SD. Tous les calculs ainsi que l'analyse statistique ont été réalisés en utilisant le logiciel Excel. Le test-t de Student a été utilisé pour les comparaisons à deux et le test ANOVA suivi du test post hoc de Tukey pour les comparaisons multiples, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Résultats
et
Discussion

Depuis l'antiquité, les plantes médicinales ont été la principale source de remèdes traditionnels (Islam et al., 2014) et constituent un entrepôt de substances aux caractéristiques médicinales biologiquement actives (Egamberdieva et al., 2017).

C'est l'existence de phytoconstituants qui possèdent de nombreuses propriétés comme les propriétés antioxydantes, cytotoxiques et anti-inflammatoires qui confère aux espèces végétales leur potentiel thérapeutique (Liu et al., 2009).

Le but de notre travail est tout d'abord de faire une étude phytochimique de l'extrait hydro-éthanolique de *Marrubium vulgare* L. (EHEMV) et l'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* de cet extrait.

1. Rendement d'extraction de l'extrait hydro-éthanolique de *Marrubium vulgare* L.

L'extrait hydro-éthanolique utilisé dans notre étude a été obtenu par macération des feuilles finement broyées de *Marrubium vulgare* L. dans une solution hydro-éthanolique (80/20), ce qui a permis d'extraire les composants bioactifs, principalement les composés polyphénoliques.

Tableau 3 : Rendement d'extraction de l'extrait hydro-éthanolique de *Marrubium vulgare* L.

| | Poids de la poudre (g) | Poids de l'EHEMV en (g) | Rendement d'extraction (%) |
|-----------------------------|------------------------|-------------------------|----------------------------|
| <i>Marrubium vulgare</i> L. | 140 | 28,69 | 20,49 |

La macération hydro-éthanolique nous a permis d'obtenir un rendement d'extraction de 20,49 %.

Ce rendement que nous avons obtenu est supérieur à celui trouvé dans plusieurs études, comme celle de Mssillou et ses collègues qui ont trouvé un rendement de l'extrait hydro-éthanolique de *M. vulgare* du Maroc égale à 13 % (Mssillou et al., 2021).

Dans l'étude d'Okur et ses collaborateurs, un rendement d'extraction de 10 % de l'extrait hydro-éthanolique de *M. vulgare* poussant en Turquie a été obtenu (Okur et al., 2019).

Cependant l'extraction à l'acétone de *M. vulgare* obtenu dans la ville de Bejaïa en Algérie a permis d'obtenir un rendement plus élevé, égale à 42,67 % (Amessis-Ouchemoukh et al., 2014).

Les méthodes d'extraction qui visent à extraire les molécules d'intérêt des sites actifs de la matrice végétale sont essentielles pour conditionner la quantité et la nature des substances extraites (Hayat et al., 2020). Le rendement d'une plante d'une même famille varie en fonction du solvant utilisé pour l'extraction et du coefficient de diffusion du solvant lors de l'extraction solide-liquide des polyphénols (Amessis-Ouchemoukh et al., 2014).

Le rendement d'extraction dépend aussi considérablement de la composition chimique des composés, de la taille des particules de l'échantillon et du temps de macération (Naczki et Shahidi, 2004).

2. Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins hydrolysables

Les teneurs de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *M. vulgare* en ces composés phénoliques sont présentés dans le tableau 3.

Tableau 4 : Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins hydrolysables de l'EHEMV

| | Teneur en Polyphénol | Teneur en flavonoïdes | Teneur en Tanins hydrolysables |
|--------------|-------------------------------|------------------------------|---------------------------------------|
| EHEMV | 121,55 ± 8,9 (mg EAG/mg E) | 30,116 ± 1,7 (mg EQ/mg E) | 1,06 ± 0,028 (mg EAT/mg E) |

La détermination de la teneur en polyphénols totaux de l'EHEMV été réalisée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique effectuée à différentes concentrations et exprimée en µg équivalant d'acide gallique par mg d'extrait (Annexe 1). Le résultat obtenu montrait la richesse de notre extrait en composés polyphénoliques avec une teneur de 121,55 ± 8,9 (mg EAG/mg).

Les polyphénols sont des métabolites secondaires produits par les plantes supérieures. Ils sont essentiels à la physiologie végétale et ont plusieurs propriétés pharmacologiques comme leurs effets antioxydants et cytotoxiques (Daglia, 2012).

Plusieurs études ont été réalisées sur les différents extraits de *M. vulgare* issu de différentes régions et ont montré des variations dans les teneurs en polyphénols. Dans l'étude de Mssillou et al., l'extrait éthanolique de *M. vulgare* de la région de Fès au Maroc est caractérisé par une teneur en polyphénols inférieure à celle de notre extrait avec une valeur de $98,77 \pm 1,68$ (mg EAG/g) (Mssillou et al., 2021). L'étude d'Amessis-Ouchemoukh et al. sur l'extrait méthanolique de *M. vulgare* de Bejaïa a montré la présence d'une teneur de $56,76 \pm 1,62$ (mg EAG/g) alors que l'extrait à l'acétone a permis d'obtenir un taux de $58,5 \pm 1,06$ (mg EAG/g) (Amessis-Ouchemoukh et al., 2014), tous deux inférieurs à celui de notre étude.

Cependant, l'extrait aqueux de *M. vulgare* de la ville de Batna en Algérie, a montré une teneur en polyphénols de $175 \pm 0,80$ (mg EAG/g) (Ghedadba et al., 2014). L'extrait aqueux de *M. vulgare* de la région de Maâzizau au Maroc est encore plus riche en polyphénols, avec une teneur égale à $345,20 \pm 28,23$ (mg EAG/g) (Harouak et al., 2022).

Selon Szakiel et al., les variations des teneurs en polyphénols sont dues surtout aux variations des zones géographiques à partir desquelles la plante a été cueillie (Szakiel et al., 2011). La teneur en composés phénoliques des plantes dépend également de facteurs biologiques (génotype, organe et ontogénie) ainsi que de variables environnementales (température, volume d'eau et intensité lumineuse) (Lisiewska et al., 2006).

La détermination de la teneur en flavonoïdes a été réalisée en se basant sur la chélation de l'aluminium ($AlCl_3$) en un complexe jaunâtre en présence des flavonoïdes dans l'extrait (Djeridane et al., 2006).

Les flavonoïdes est l'une des familles de polyphénols les plus répandues qui se présentent sous forme d'aglycones, de glycosides et de dérivés méthylés et sont caractéristiques par leurs propriétés thérapeutiques très variées (Routray et Orsat, 2012).

La teneur de l'EHEMV en flavonoïdes exprimée en mg équivalent de quercétine/mg d'extrait a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage de la quercétine réalisée à des concentrations croissantes. Elle était égale à $30,116 \pm 1,7$ (mg EQ/g d'extrait).

Cette teneur est supérieure à celle trouvée dans l'extrait éthanolique de *M. vulgare* du Maroc

et qui est égale à $17,65 \pm 0,73$ mg EQ/g d'extrait (Mssillou et al., 2021).

La teneur en flavonoïdes de l'extrait acétonique de *M. vulgare* de Bejaïa est proche à celle de notre extrait ($26,30 \pm 0,31$ mg EQ/g d'extrait), cependant, l'extrait méthanolique de la même plante est plus riche en flavonoïdes où le taux atteint $81,21 \pm 1,62$ mg EQ/g d'extrait (Amessis- Ouchemoukh et al., 2014).

Comme pour les polyphénols, plusieurs facteurs influencent le taux des flavonoïdes, en particulier, les facteurs climatiques, édaphiques et génétiques qui ont un effet sur la biosynthèse et l'accumulation des flavonoïdes dans la plante (Tohidi et al., 2017; Kiani et al., 2021).

Le taux des tanins hydrolysables a été déterminé selon la méthode de Mole et Waterman (Mole et Waterman, 1987). Dans ce test, la courbe d'étalonnage de l'acide tannique a été utilisée pour l'évaluation du taux des tanins hydrolysables et les résultats obtenus sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide tannique par gramme d'extrait (mg EAT/g E).

Ce dosage a montré la présence d'une faible teneur en tanins hydrolysables dans notre EHEMV, égale à $1,06 \pm 0,028$ (mg EAT/mg E).

Les tanins hydrolysables sont aussi une famille des polyphénols très répandus dans le règne végétal. Ceux sont généralement des esters multiples de l'acide gallique et du glucose (Buzzini et al., 2008). Ces molécules ont suscité un grand intérêt en raison de leurs puissantes propriétés antioxydantes et de leur rôle dans la prévention de nombreuses maladies liées au stress oxydant (Moussa et al., 2022).

La teneur en tanins hydrolysables de notre extrait est très faible. C'est ce qui a aussi été trouvé dans l'étude de Bouterfas et ses collègues qui ont trouvé une teneur en tanins hydrolysables de leur extrait éthanolique de *M. vulgare* de la wilaya de Sidi Bel Abbas en Algérie, égale à 2,8 mg/g E (Bouterfas et al., 2013). Selon les auteurs de cette étude, la teneur en tanins d'une plante varie en fonction de plusieurs facteurs intrinsèques, tels que l'espèce et la variété, la partie ou le stade végétal et extrinsèques, comme les conditions climatiques, pédologiques et le stress de prédation (Bouterfas et al., 2013).

3. Capacité antioxydante totale de l'extrait hydro-éthanolique de *Marrubium vulgare* L.

La capacité antioxydante totale de l'EHEMV a été évaluée par la méthode de phosphomolybdate, basée sur la réduction de Mo(VI) par l'extrait ou l'acide ascorbique et la formation à pH acide d'un complexe phosphate/Mo(V) de couleur verte.

La capacité antioxydante pour chaque concentration exprimée en mgEqAA/g a été calculée à partir de l'équation de la courbe de l'acide ascorbique (AA) réalisée à partir des mêmes concentrations (figure 5).

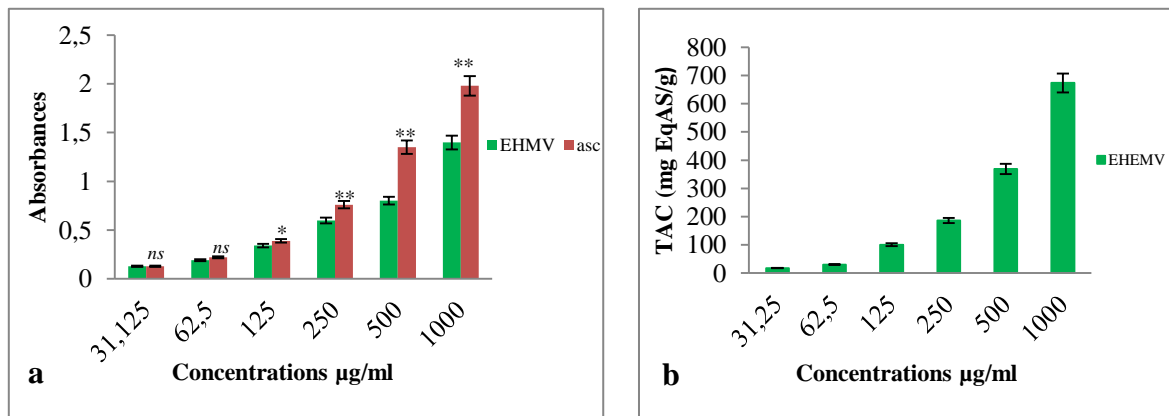


Fig.5 : (a) Variations des absorbances de l'EHEMV et de l'acide ascorbique en fonction des concentrations (31,25; 62,5; 125; 250, 500 et 1000 µg/ml). (b) Capacité antioxydante totale de l'EHEMV à différentes concentrations (31,25; 62,5; 125; 250 et 500 et 1000 µg/ml). Les résultats représentent les moyennes \pm SD (N=3). Test-*t* de Student. *ns* $p > 0,05$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ (comparaison entre l'acide ascorbique et l'EHEMV).

Selon l'histogramme ci-dessus (figure 5a), on observe que les absorbances varient en fonctions des concentrations de l'EHEMV et de l'acide ascorbique. Cette variation est concentrations dépendante ce qui montre que la capacité antioxydante augmente en fonction de la concentration. Cependant, la capacité antioxydante de l'EHEMV est inférieure à celle de l'acide ascorbique où une différence très significative ($p < 0,01$) entre les deux a été enregistrée à la concentration de 1000 µg/ml.

Les résultats du calcul de la capacité antioxydante exprimée en mgEqAA/g et présentés dans la figure 5b, montrent aussi que la capacité antioxydante est concentration dépendante et atteint un taux de $369,16 \pm 8,33$ (mgEqAA/g) à la concentration de 500 µg/ml et $673,61 \pm 10,05$ (mgEqAA/g) à la concentration de 1000 µg/ml.

Cette capacité est proche de celle trouvée par Mssillou et ses collègues en étudiant l'extrait hydro-éthanolique de *M. vulgare* du Maroc qui est égale à 218,58 mgEqAA/g à la concentration de 500 µg/ml (Mssillou et al., 2021). Selon les auteurs cette capacité est due à la composition chimique de l'extrait et à sa richesse en antioxydants (Mssillou et al., 2021).

L'extrait au méthanol et à l'acétone de *M. vulgare* de Bejaïa ont une capacité antioxydante inférieure égale à 101,82 mgEAA/g et 85,71 mgEqAA/g respectivement et qui sont inférieures à celle de notre extrait hydro-éthanolique (Amessis-Ouchemoukh et al., 2014).

Selon l'étude de VanderJagtn, l'extrait aqueux de *M. vulgare* d'Albuquerque au Mexique a une capacité antioxydante totale égale à 560 µmol/g (VanderJagt et al., 2002).

Ces résultats s'expliquent par le fait que les capacités antioxydantes sont directement corrélées aux métabolites secondaires présents dans chaque extrait; les substances antioxydantes, leur nature, leur quantité, leur structure et toutes les interactions moléculaires entre-elles participent dans l'amélioration de cette capacité (Mandadi et al., 2007; Zohra., 2013).

Plusieurs auteurs ont montré la présence d'une relation linéaire entre les polyphénols totaux et la capacité antioxydante et que la présence de polyphénols est le principal responsable de cette capacité (Gheldof et Engeseth, 2002; Holasova et al., 2002; Kumaran et al., 2007).

4. Pouvoir réducteur de l'extrait hydro-éthanolique de *Marrubium vulgare* L.

Pour déterminer le pouvoir réducteur de l'extrait, nous avons utilisé les comparaisons des absorbances pour chaque concentration et nous avons aussi calculé les concentrations équivalentes de l'EHEMV en utilisant l'équation de régression de la courbe standard de l'acide ascorbique figure 6.

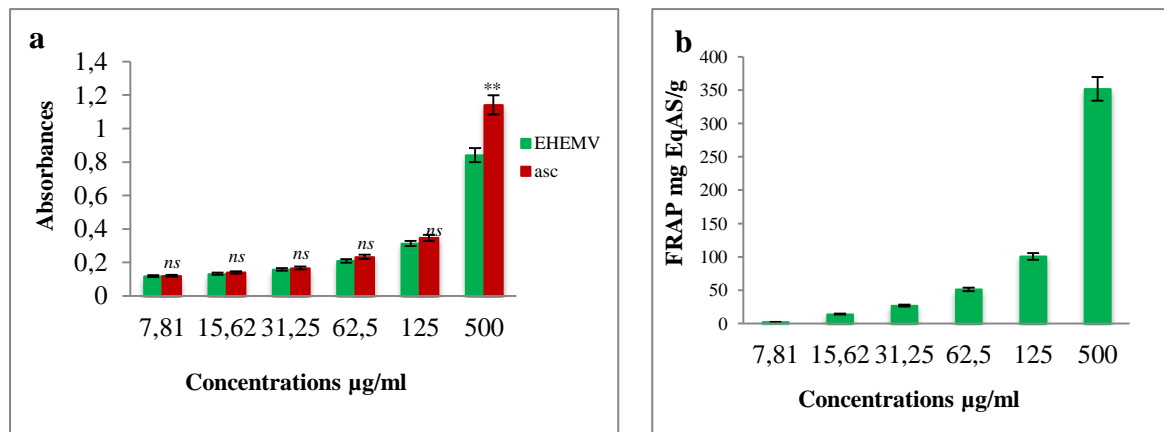


Fig.6 : (a) Variations des absorbances de l'EHEMV et de l'acide ascorbique en fonction des concentrations (7,81; 15,62; 31,25; 62,5; 125 et 500 µg/ml). (b) Pouvoir réducteur de l'EHEMV à différentes concentrations (7,81; 15,62; 31,25; 62,5; 125 et 500 µg/ml).

Les résultats représentent les moyennes \pm SD (N=3). Test-*t* de Student. *ns* $p > 0,05$; ** $p < 0,01$ (comparaison entre l'acide ascorbique et l'EHEMV).

Comme pour la capacité antioxydante totale, l'évaluation du pouvoir réducteur a montré que l'absorbance augmente en fonction de la concentration de l'EHEMV et de l'acide ascorbique. Mais à l'inverse du test précédent aucune différence significative n'a été enregistré entre les deux sauf pour la plus grande concentration de 1000 g/ml où l'absorbance de l'acide ascorbique a été plus élevée ($p < 0,01$) à celle de l'EHEMV ce qui signifie un pouvoir réducteur plus élevé (figure 6a).

Le pouvoir réducteur de l'EHEMV exprimé en mg EqAA/g est aussi concentration dépendant allant de $0,118 \pm 0,02$ (mg EqAA/g) à la concentration de 7,81 µg/ml à $256,76 \pm 6,58$ (mg EqAA/g) à la concentration 500 µg/ml.

Notre EHEMV possède un pouvoir réducteur plus puissant par rapport à celui de l'étude de Ghedadba et al. sur l'extrait méthanolique de *M. vulgare* de la région Touffana à Batna qui a un pouvoir réducteur égal à 50,01 µg EAA/g à la concentration de 500 µg/ml (Ghedadba et al., 2016). Celui de l'extrait méthanolique de *M. Vulgare* iranien est égale à 20,3 µM/g à la concentration de 8,5 µM.

La capacité de chélation du fer des extraits de plantes dépend de la présence de réducteurs tels que les polyphénols et surtout les flavonoïdes capables de capter les ions ferriques (Fe^{+3}) et

les convertir en ions ferreux (Fe^{+2}) (Ghedadba et al., 2016). Et c'est la richesse de notre extrait en flavonoïdes qui justifie sa capacité de chélation de fer.

5. Pouvoir de piégeage du radical DPPH[•] de l'extrait hydro-éthanolique de *Marrubium vulgare* L.

Le test DPPH a été utilisé *in vitro* pour évaluer l'activité anti-radicalaire de notre extrait. Lorsque des capteurs de radicaux libres sont présents, le radical DPPH[•] (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette, qui est utilisé comme réactif dans cette technique spectrophotométrique, vire au jaune et se réduit en 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine (Cuendet et al., 1997). Cela permet le suivi de la dynamique de décoloration à 515 nm.

Afin de comparer la capacité de piégeage de notre extrait avec celle de l'acide ascorbique utilisé comme molécule de référence, une IC₅₀ a été calculée. Plus l'IC₅₀ est faible, plus l'activité antiradicalaire de l'extrait testé est importante. L'IC₅₀ est la concentration de produit requise pour supprimer 50 % des radicaux DPPH[•] (Pokorny et al., 2001; Markowicz et al., 2007).

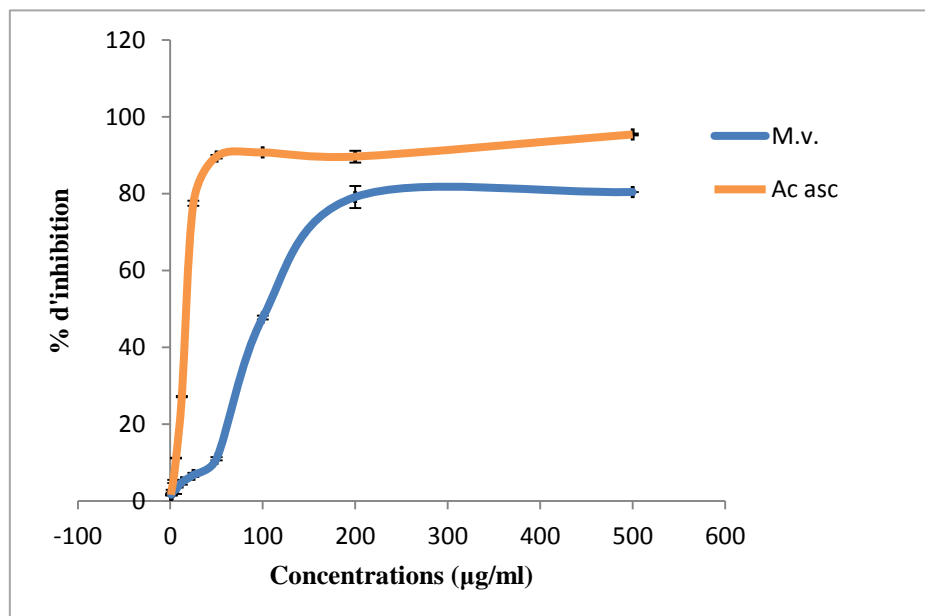


Fig. 7 : Activité antiradicalaire *vis-à-vis* du radical DPPH[•] de l'EHEMV et de l'acide ascorbique (aux concentrations de 0,78125 à 500 µg/ml). Les résultats représentent les variations des pourcentages d'inhibition du DPPH[•] (Moyenne ± SD) en fonction des concentrations (N=3).

Notre résultat indique que l'EHEMV a une activité antiradicalaire concentration dépendante qui atteint un taux d'inhibition de $80 \pm 0,01$ % à la concentration de 500 µg/ml, inférieur ($p < 0,05$) à celui de l'acide ascorbique qui est égale à $95,38 \pm 0,23$ %.

La capacité de piégeage du radical DPPH[·] de notre extrait est inférieure ($p < 0,001$) à celle de l'acide ascorbique avec une IC50 de $102 \pm 10,86$ g/ml et $27,315 \pm 0,065$ respectivement.

La capacité anti-radicalaire de notre extrait est supérieure et plus forte à celle de l'extrait éthanolique de *M. vulgare* de deux localités différentes du Maroc. Les auteurs ont trouvé un pouvoir de piégeage du radical DPPH[·] à une IC50 de $324,55 \pm 0,66$ µg/ml et $431,81 \pm 0,51$ µg/ml respectivement. Le pouvoir de piégeage de l'extrait méthanolique de la même plante est également plus faible à celui de notre extrait avec des IC50 de $333,58 \pm 0,57$ et $493,75 \pm 0,47$ µg/ml respectivement (Hayat et al., 2020).

6. Pouvoir de piégeage du radical ABTS^{·+} de l'extrait hydro-éthanolique de *Marrubium vulgare* L.

Les résultats de l'évaluation du pouvoir de piégeage du radical ABTS^{·+} sont présentés dans la figure 8.

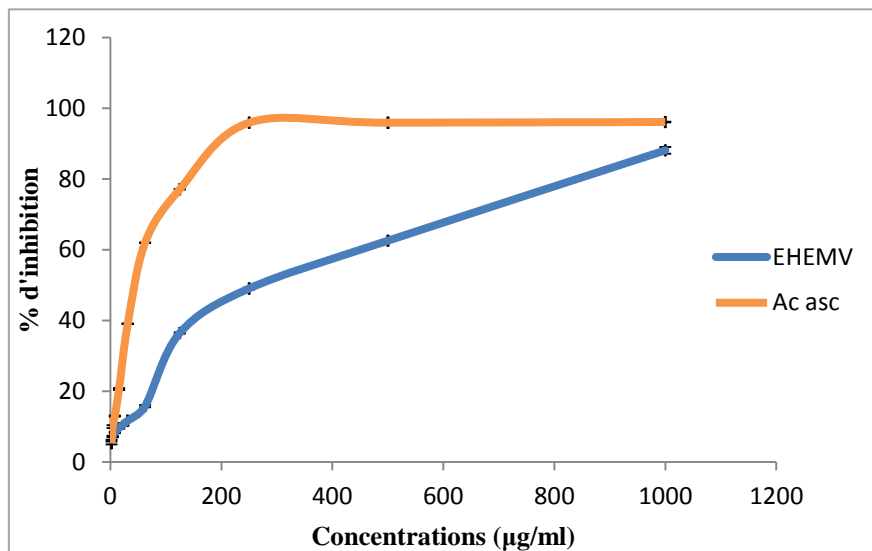


Fig.8 : Activité antiradicalaire vis-à-vis du radical ABTS^{·+} de l'EHEMV et de l'acide ascorbique (concentrations de 1,953 à 1000 µg/ml). Les résultats représentent les variations des pourcentages d'inhibition de l'ABTS^{·+} (Moyenne ± SD) en fonction des concentrations (N=3).

L'EHEMV et l'acide ascorbique présentent une action anti radicalaire vis-à-vis du radical ABTS^{·+} concentration dépendante, avec des pourcentages d'inhibition de $88,07 \pm 0,93$ % et $96,085 \pm 0,071$ % respectivement, à la concentration maximale de 1000 µg/ml. Cependant, le pouvoir de piégeage du radical ABTS^{·+} de l'acide ascorbique est plus élevé ($p < 0,001$) à celui de l'EHEMV avec des IC50 de $49,01 \pm 0,049$ et $182,26 \pm 0,23$ respectivement.

Nos résultats sont proches à ceux de l'étude de Hayat et ses collègues sur l'extrait éthanolique de *M. vulgare* de deux localités différentes au Maroc où ils ont trouvé des IC50 de $107,85 \pm 0,19$ g/ml et $227,55 \pm 0,18$ g/ml (Hayat et al., 2020).

Par contre, notre résultat est inférieur à celui trouvé dans l'étude de Chedia et al., sur l'extrait méthanolique de *M. vulgare* de la région de Bousalem en Tunisie et qui ont trouvé un fort pouvoir de piégeage du radical ABTS^{·+} avec une IC50 égale à $25 \pm 0,2$ µg/ml (Chedia et al., 2014).

La capacité de piégeage des radicaux DPPH[·] et ABTS^{·+} de notre extrait est due à sa richesse en composés phénoliques. En effet, les composés phénoliques présentent des activités considérables de piégeage des radicaux libres et des propriétés de chélation des ions métalliques, empêchant la formation de radicaux libres induite par les métaux (Chedia et al., 2014). De plus, les polyphénols sont des composés organiques qui contiennent un groupe hydroxyle lié directement au cycle aromatique (Chedia et al., 2014). Ces composants végétaux importants cèdent des atomes d'hydrogène de leurs groupes hydroxyle aux radicaux et forment des radicaux phénoxy stables; par conséquent, ils jouent un rôle important dans l'activité antioxydante (Aksoy et al., 2013).

7. Evaluation de la toxicité du docétaxel et de l'effet hépato-protecteur de l'extrait hydro-éthanolique de *Marrubium vulgare* L.

7.1. Taux des neutrophiles

Les résultats de l'évaluation du taux des neutrophiles chez les rats des différents lots sont présentés dans la figure 9.

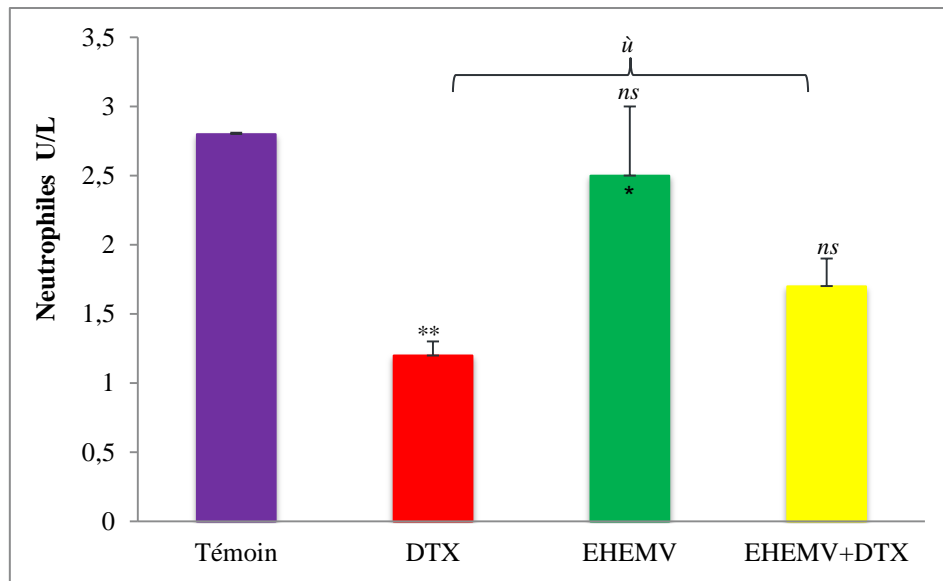


Fig.9 : Effet du traitement à l'EHEMV (200 mg/kg), au DTX (2mg/kg) et l'EHEMV + DTX sur la variation des taux des neutrophiles. Les résultats représentent les moyennes \pm SD (N= 4), Test ANOVA suivi du test post hoc de Tukey. *ns* $p > 0,05$; ** $p < 0,01$ (comparaison entre le lot témoin et le lot docétaxel); \grave{u} $p < 0,05$ (comparaison en le lot DTX et le lot EHEUD+DTX); *ns* $p > 0,05$ (comparaison entre le lot EHEUD et le lot EHEUD+DTX).

Le système hématopoïétique est l'une des cibles les plus sensibles des produits chimiques toxiques et est un indice important de l'état physiologique et pathologique chez l'homme et l'animal (Rhallaba et al., 2014). La neutropénie est une caractéristique majeure des maladies hématologiques et est l'un des effets secondaires de la chimiothérapie (Moro et al., 2022). Plusieurs études cliniques ont marqué l'installation d'une neutropénie suite au traitement avec le docétaxel comme celle de Makihara et al. (Makihara et al., 2021) et Peltekian et al. (Peltekian et al., 2023).

Dans notre étude, l'installation d'une neutropénie a été enregistrée chez les rats du lot auquel le DTX seul a été administré avec un taux de neutrophiles égale à $1,7 \pm 0,1 (\times 10^3 \text{ U/L})$, significativement inférieur ($p < 0,01$) à celui du lot témoin qui est égale à $(2,8 \pm 0,01 \times 10^3 \text{ U/L})$. Plusieurs d'autres études ont aussi trouvé le même résultat comme celle de Tonra et al., (Tonra et al., 2019). Selon ces auteurs, cette neutropénie est due à l'inhibition de la prolifération cellulaire au niveau de la moelle osseuse (Tonra et al., 2019).

Le prétraitement des rats avec l'EHEMV a permis de prévenir cette forte neutropénie induite par l'administration du DTX. En comparaison avec le lot traité avec le DTX seul, le taux des neutrophiles a été significativement supérieur ($p < 0,05$), égale à $1,7 \pm 0,1 (\times 10^3 \text{ U/L})$ alors que l'EHEMV seul n'a aucun effet significative sur le taux des neutrophiles ($p > 0,05$; $2,5 \pm$

$0,5 \times 10^3$ U/L) par rapport à celui du lot témoin. Résultat approuvé par l'étude de Rhallaba et al. qui ont trouvé le même résultat sur l'extrait de *M. vulgare* dans la protection du système hématopoïétique et plus précisément leur effet sur les granulocytes neutrophiles (Rhallaba et al., 2014).

7.2. Taux des transaminases

Afin d'étudier l'effet des différents traitements sur la fonction hépatique, un dosage de l'ALT et AST a été réalisé et les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 4.

Tableau 5 : Effet du traitement à l'EHEMV (200 mg/kg), au DTX (2mg/kg) et à l'EHEMV + DTX sur les taux des transaminases sériques (ALT et AST) chez les rats Wistar.

| | Témoin | DTX | EHEMV | EHEMV + DTX |
|-------------------|-----------|----------------|------------------------|-------------------------------------|
| ALT (UI/L) | 38 ± 2 | 70 ± 1 ** | 23 ± 5,5 * | 37 ± 0,5 <i>ns</i> <i>ùùù</i> |
| AST (UI/L) | 133 ± 3,1 | 230 ± 2 *** | 130 ± 1,5 <i>ns</i> | 138 ± 2 <i>ns</i> <i>ùùù</i> |

ns p > 0,05; *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001 (comparaison entre le lot témoin et les autres lots); *ùùù* p < 0,001 (comparaison entre le lot DTX et le lot EHEMV+DTX).

D'après le tableau, l'administration du DTX induit une augmentation significative ($p < 0,01$; $p < 0,001$) des taux de l'ALT et AST (70 ± 1 et 230 ± 2 UI/L) par rapport à ceux du lot témoin (38 ± 2 et $133 \pm 3,1$ UI/L).

Le prétraitement des rats à l'EHEMV a permis de protéger le tissu hépatique contre les lésions induites par le DTX. Ceci a été traduit par une diminution ($p < 0,001$) des taux de l'ALT et AST égaux à $37 \pm 0,5$ et 138 ± 2 respectivement en comparaison avec le lot non prétraité.

Les aminotransférases (également appelées transaminases) sont des enzymes omniprésentes dépendantes du pyridoxal-5'-phosphate qui catalysent le transfert réversible du groupe amine des acides aminés vers les acides α -cétoniques (Ndrepepa, 2021).

Suite aux lésions cellulaires hépatiques, ces enzymes situées au niveau du cytoplasme sont relarguées dans le sang, indiquant le développement d'une hépatotoxicité (Gutiérrez et Solís, 2009). L'augmentation des niveaux d'enzymes telles que l'AST et l'ALT est directement corrélée à la gravité des lésions hépatiques (Agarwal et al., 2006).

Cliniquement, l'élévation des aminotransférases sériques a été enregistrée chez environ la moitié des patients sous traitement (Wang et al., 2012). Même résultat a été également confirmé *in vivo* (Li et al., 2018).

C'est notre prétraitement avec l'EHEMV qui a permis de réduire le taux de ces transaminases en protégeant le tissu hépatique contre l'effet du DTX. C'est un résultat qui ressemble à celui de l'étude d'El-Hallous et al. qui ont montré une diminution des taux d'ALT et AST chez les rats qui ont reçu un traitement préventif au *M. vulgare* contre la toxicité induite par le CCl₄ (El-Hallous et al., 2018). L'extrait administré seul entraîne aussi une baisse considérable des taux d'AST et d'ALT (El-Hallous et al., 2018).

La protection du tissu hépatique contre les différents dégâts principalement les attaques oxydatifs par les radicaux libres est due probablement à la présence des polyphénols qui captent les radicaux libres, les éliminent et neutralisent leurs effets cytotoxiques (Hussain et al., 2016).

7.3. Etude histologique

L'analyse histologique est l'une des démarches de base qui permettent d'évaluer le tissu hépatique et de révéler toutes les modifications et les lésions histologiques hépatiques expérimentales pouvant être présentes. Les résultats de l'étude histologique du tissu hépatique des rats des différents lots sont présentés dans la figure 10.

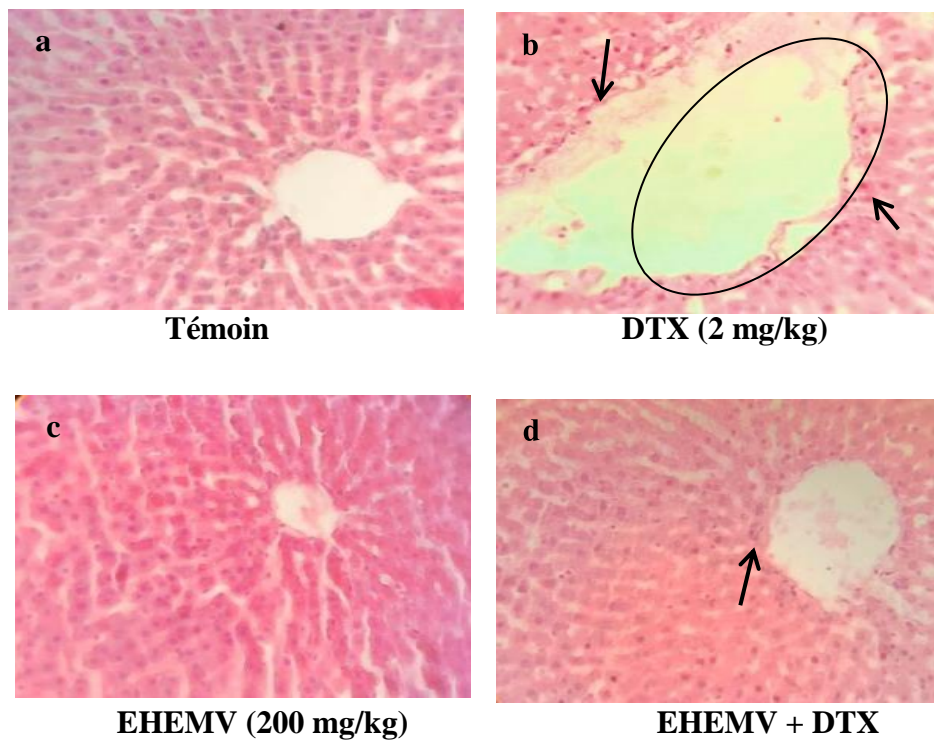


Fig. 10 : Observation microscopique des modifications histologiques du tissu hépatique des rats du lot témoin, lot DTX (2 mg/kg), lot EHEMV (200 mg/Kg) et lot EHEMV+DTX. Coloration H/E (x 40).

L'examen microscopique des coupes des foies du groupe témoin a indiqué la présence d'une anatomie normale des hépatocytes qui sont disposées en lames avec un cytoplasme clair, une veine centrolobulaire d'une taille normale et homogène avec absence d'inflammation (figure 10a).

Il ressort clairement de la figure (10b) qui représente l'examen au microscope optique du groupe traité par le DTX, la présence de sites inflammatoires caractérisés par une infiltration des globules blancs et des macrophages (flèches noires) et une dilatation des veines centrolobulaires (cercle).

Le prétraitement par l'EHEMV a permis de prévenir ces lésions avec l'observation d'une faible inflammation et dilatation des veines centrolobulaires dans quelques parties du tissu étudié (figure 10d).

Chez les rats du groupe traité uniquement par l'EHEMV (figure 10c), une architecture normale du tissu hépatique identique à celle des tissus du lot témoin a été enregistrée.

Les modifications histologiques observées après administration du DTX sont caractéristiques et ont déjà été observées dans des études antérieures comme celle de Sohail et al. (Sohail et

al., 2018) et de Mahmood et al. (Mahmood et al., 2019). Selon Li et al., les modifications importantes des veines centrolobulaires sont les plus observées (Li et al. 2010).

C'est aussi le cas avec les autres taxanes, comme le paclitaxel, où l'injection entraîne aussi une dilatation des veines centrolobulaires et une inflammation caractérisée par l'infiltration des macrophages (Salahshoor et al., 2019).

L'administration de l'EHEMV a permis de limiter une grande partie de ces lésions hépatique. Les mécanismes moléculaires de protection du tissu hépatique par l'extrait de *M. vulgare* contre les diverses agressions induites par l'administration du DTX sont dus à sa richesse en diverses molécules bioactives et qui se répercutent directement sur la structure générale du tissu hépatique et permettent d'obtenir les différentes modifications observées. C'est ce qui est aussi cohérent avec les résultats de l'étude d'Akther et al. qui ont montré les effets hépatoprotecteurs de l'extrait de *M. vulgare* et de ses constituants isolés (Akther et al., 2013).

7.4. Etude du stress oxydant au niveau du tissu hépatique

De nombreux effets négatifs dans l'organisme pourraient être attribués au stress oxydant induit par la production excessive des espèces réactives de l'oxygène et la défaillance du système de défense antioxydant (Ettaya et al., 2016). Notre travail a été complété par l'étude de quelques paramètres du stress oxydant au niveau du tissu hépatique des rats *Wistar* des différents lots. Il s'agit du dosage du MDA et du GSH cytosoliques et de l'évaluation de l'activité enzymatique des enzymes antioxydantes CAT, SOD et GST.

7.4.1. Taux du malondialdéhyde

Le MDA est l'indice de la peroxydation lipidique (Ghonimi et al., 2021). Au cours de son dosage, l'acide thiobarbiturique TBA ajouté dans le milieu réactionnel, se combine avec les molécules du MDA produites et présentes dans le milieu, produisant un chromophore rose qui absorbe à 532 nm (Yagi, 1976).

Les résultats du dosage du MDA cytosolique des différents lots sont présentés dans la figure suivante (Figure 11).

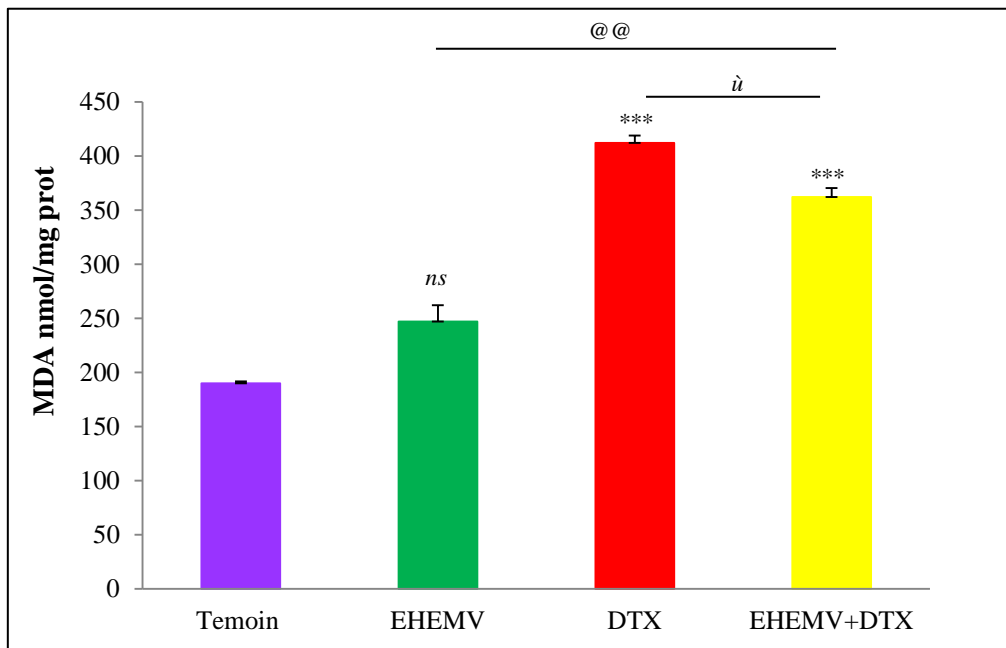


Fig. 11 : Effet du traitement à l'EHEMV (200 mg/kg), au DTX (2mg/kg) et à l'EHEMV + DTX sur les taux du MDA cytosolique. Les résultats représentent les moyennes \pm SD (N= 4), Test ANOVA suivi du test de Tukey. *ns* $p > 0,05$; *** $p < 0,001$ (comparaison entre le lot témoin et les autres lots); @@ $p < 0,01$ (comparaison entre le lot EHEMV et le lot EHEMV+DTX); ù $p < 0,05$ (comparaison entre le lot DTX et le lot EHEMV+DTX).

Selon la figure ci-dessus, une augmentation de la peroxydation lipidique caractérisée par une augmentation des taux du MDA a été enregistrée dans le lot traité par le DTX. Nous avons obtenu un taux égal à $412,11 \pm 6,72$ nmole/mg de protéines, supérieur ($p < 0,001$) à celui du lot témoin non traité ($189,94 \pm 1,64$ nmole/mg de protéines)

La peroxydation lipidique induite après administration du docétaxel est due probablement à la génération des ROS. Les radicaux libres oxydent les chaînes lipidiques insaturées des phospholipides membranaires conduisant à la génération de plusieurs produits notamment le MDA (Juan et al., 2021).

Le traitement préventif de 7 jours avec l'EHEMV précédant l'administration du DTX a induit une protection du tissu hépatique contre la peroxydation lipidique où un taux du MDA égale à $362,17 \pm 8,03$ nmole/mg de protéines, inférieur ($p < 0,05$) à celui obtenu dans le lot des rats non prétraités avec l'EHEMV.

Cependant, cet extrait administré seul n'induit aucune modification du statut de la peroxydation lipidique ($264,95 \pm 15,06$ nmole/mg de protéines; $p > 0,05$) comparativement avec le tissu témoin.

L'effet protecteur de *M. vulgare* contre la peroxydation lipidique a été déjà montré et prouvé par d'autres études comme celle d'Al-Hallous et ses collègues qui ont montré l'effet hépatoprotecteur de l'huile essentielle de *M. vulgare* de l'Arabie Saoudite contre les lésions hépatiques induites par le CCl_4 chez les rats *Wistar* (El-Hallous et al., 2018) et aussi celle d'Akther et de son équipe, qui ont évalué et prouvé l'effet hépatoprotecteur de l'extrait méthanolique de *M. vulgare* de la région de Srinagar de Jammu-et-Cachemire en Inde, contre l'hépatotoxicité induite par le paracétamol chez les rats *Wistar* (Akther et al., 2013).

Par sa capacité à piéger les ROS, *M. vulgare* est capable de prévenir la peroxydation des lipides (Akther et al., 2013). Ceci est dû principalement à la présence des polyphénols qui sont des piègeurs efficaces des ROS en raison de la présence des cycles aromatiques, de plusieurs groupes hydroxyles et d'un système hautement conjugué (Rudrapal et al., 2022).

7.4.2. Taux du glutathion

Les résultats des variations du taux du GSH dans le tissu hépatique des rats des différents lots sont présentés dans la figure 12.

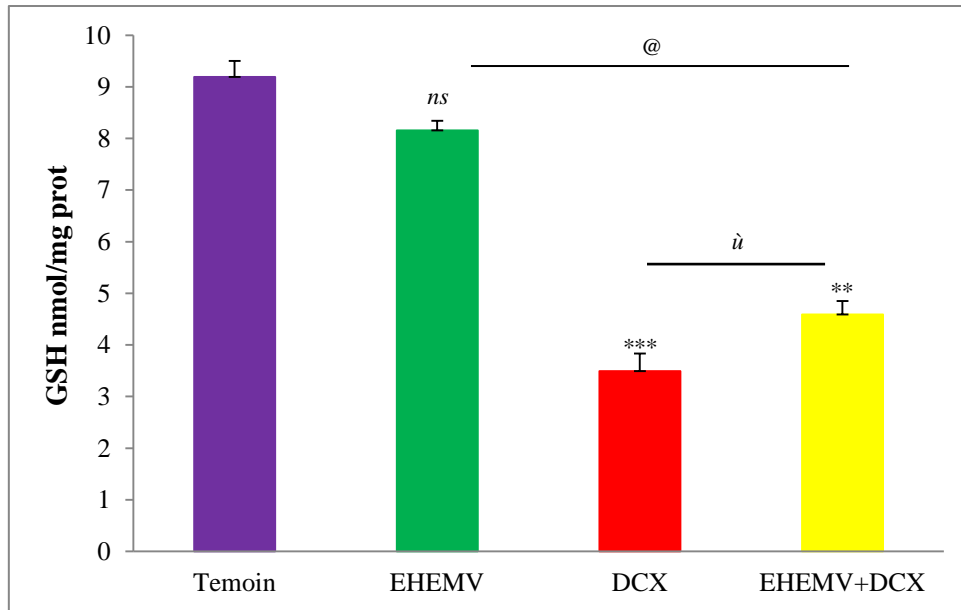


Fig. 12 : Effet du traitement à l'EHEMV (200 mg/kg), au DTX (2mg/kg) et à l'EHEMV + DTX sur l'activité de la GSH. Les résultats représentent les moyennes \pm SD (N= 4), Test ANOVA suivi du test de Tukey. *ns* $p > 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ (comparaison entre le lot témoin et les autres lots); @@ $p < 0,01$ (comparaison entre le lot EHEMV et le lot EHEMV+DTX); ù $p < 0,05$ (comparaison entre le lot DTX et le lot EHEMV+DTX).

Une grande déplétion des réserves cytosolique du GSH ($3,49 \pm 0,34$ nmole/mg protéines) a été enregistrée après traitement des rats avec le DTX en comparaison avec le lot témoin non traité ($p < 0,001$; $9,19 \pm 0,30$ nmole/mg de protéines).

Le prétraitement des rats avec une dose de 200 mg/kg de l'EHEMV a permis de conserver les réserves cytosoliques en GSH où un taux de $4,41 \pm 0,25$ nmole/mg protéines a été enregistré, supérieur ($p < 0,01$) à celui du lot traité uniquement avec le DTX. Alors que l'administration de l'EHEMV seul, n'entraîne aucune modification significative ($p > 0,05$) des taux du GSH ($8,15 \pm 0,18$ nmole/mg de protéines).

Le GSH est un tripeptide de structure L-glutamyl-L-cystéinyl-glycine (Li et al., 2005), qui remplit une fonction cruciale dans le maintien de l'équilibre redox et agit comme un antioxydant endogène. Il peut agir en tant que co-substrat pour plusieurs enzymes comme la GPx et la GR (*GSH Reductase*) (Ferrari et al., 1991) et est efficace en tant que piègeur direct de certains ROS, tels que les radicaux OH^\bullet et l'oxygène singulet $^1\text{O}_2$ (Oyeleye et al., 2019).

Le traitement au DTX induit une diminution des niveaux du GSH. C'est ce qui a aussi été trouvé par Pieniżek et son équipe en 2013 chez les rats *Wistar* recevant une injection intrapéritonéale de 10 mg/kg de DOX (Pieniżek et al., 2013).

En présence des ROS, le GSH est oxydé en disulfure de glutathion (GSSG). La concentration intracellulaire du glutathion est le résultat final d'un équilibre entre la génération de GSH (*via* sa synthèse et le recyclage du GSSG par la glutathion réductase) et le taux combiné de consommation de GSH par les ROS et d'excrétion du GSSG résultant (Nur et al., 2011). Par conséquent, l'excès des ROS et/ou la réduction de l'activité de la glutathion réductase peuvent être à l'origine de la diminution du GSH.

La cytotoxicité du DTX est en partie liée à sa capacité à induire l'apoptose. Cette dernière est peut être régulée par le statut redox des cellules (Lavrentiadou et al., 2001). En outre, la perte du GSH s'est avérée étroitement couplée à un certain nombre d'événements en aval dans l'apoptose lors de l'activation des caspases (Lavrentiadou et al., 2001).

Notre EHEMV permet de préserver les réserves cellulaires en GSH. C'est un résultat qui est cohérent avec celui de l'étude d'Elberry et ses collaborateurs qui ont évalué l'effet de l'extrait méthanolique de *M. vulgare* contre la toxicité induite par le CCl₄ et ont montré que leur extrait induit une augmentation des taux du GSH chez les souris prétraitées avec cet extrait (Elberry et al., 2010).

Les polyphénols présents dans l'extrait de *M. vulgare* jouent un rôle de piégeage des radicaux libres permettant de les éliminer en partie et de réduire leurs effets néfastes sur les cellules hépatiques qui peuvent conduire à la formation de différentes molécules toxiques, rôle jouait en principe par les antioxydants endogènes comme le GSH ce qui permet de préserver leurs niveaux cellulaires.

7.4.3. Activité enzymatique de la superoxyde dismutase cytosolique

Les résultats des modifications de l'activité de la SOD cytosolique du tissu hépatique dans les lots témoin, EHEMV, DTX et EHEMV + DTX sont présentés dans la figure 13.

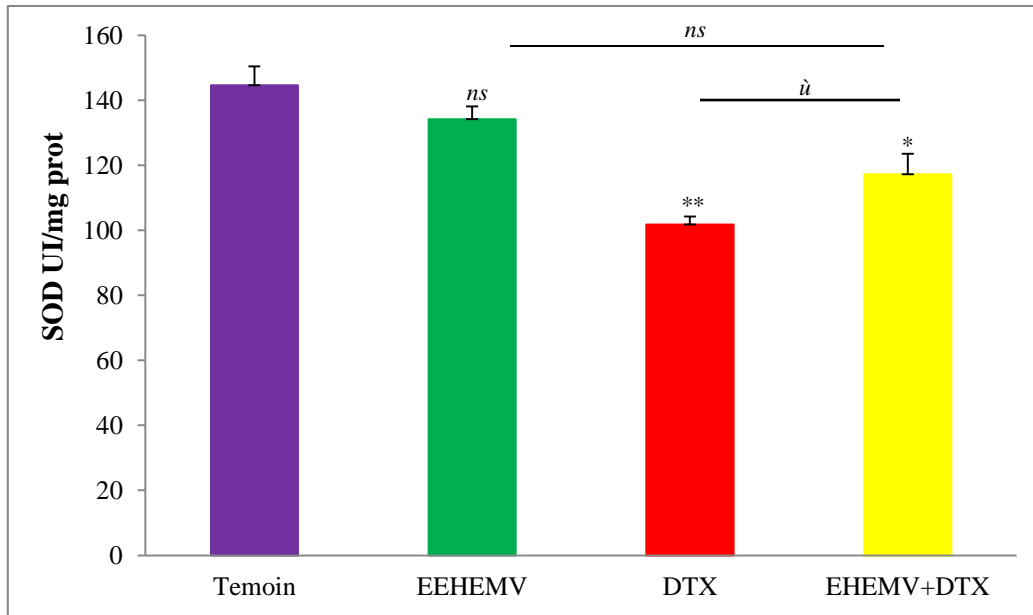


Fig. 13 : Effet du traitement à l'EHEMV (200 mg/kg), au DTX (2mg/kg) et à l'EHEMV + DTX sur l'activité de la SOD. Les résultats représentent les moyennes \pm SD (N= 4), Test ANOVA suivi du test de Tukey, *ns* $p > 0,05$; ****** $p < 0,01$ (comparaison entre le lot témoin et les autres groupes); *ù* $p < 0,05$ (comparaison en le lot DTX et le lot EHEMV+DTX) ; *ns* $p > 0,05$ (comparaison entre le lot EHEMV et lot EHEMV+DTX).

Le traitement des rats *Wistar* avec le DTX induit une diminution ($101,72 \pm 2,51$ UI/mg de protéines; $p < 0,01$) de l'activité de la SOD en comparaison avec le lot témoin ($144,57 \pm 5,88$ UI/mg de protéines).

Le traitement des rats avec l'EHEMV seul a permis de maintenir l'activité de la SOD ($134,16 \pm 3,93$ UI/mg de protéines), qui n'a aucune différence significative avec le lot témoin ($p > 0,05$). Et leur prétraitement avec cet extrait a permis de moduler et de préserver l'activité de la SOD qui était égale à $117,23 \pm 6,25$, supérieure à celle du lot non prétraité ($p < 0,05$).

La SOD est l'un des acteurs clés de la défense antioxydante enzymatique qui permet d'atténuer les effets nocifs du radical superoxyde en catalysant sa conversion en oxygène et en peroxyde d'hydrogène (Kim et al., 2018).

La réduction de l'activité de la SOD suite à l'administration du DTX, que nous avons obtenu dans notre étude, a été également enregistrée dans l'étude réalisée par Pieniàzek et al. suite à l'administration d'une dose de 10 mg/kg de DTX (Pieniàzek et al., 2013).

Le prétraitement avec l'EHEMV a permis de préserver cette activité. C'est d'ailleurs qui a été montré par l'étude d'Ibrahim et al. et d'Al-Halous et al., travaillant tous les deux sur la l'hépatotoxicité du CCl_4 et montrant une augmentation de l'activité de la SOD chez les rats

prétraités par l'extrait d'éther de pétrole et l'extrait éthanolique de *M. vulgare* (Ibrahim et al., 2014; El-Hallous et al., 2018). Et selon Ibrahim et son équipe, *M. vulgare* est capable, grâce à sa composition riche en polyphénols, de piéger l'anion superoxyde ce qui permet de protéger les réserves cellulaires en SOD et par conséquent préserver son activité cytosolique (Ibrahim et al., 2014).

7.4.4. Activité enzymatique de la catalase

L'activité de la catalase a été réalisée par la méthode de Claiborne en suivant la décomposition du H₂O₂ par la catalase présente dans l'échantillon. La figure 14 illustre les résultats obtenus après évaluation de la variation de l'activité de catalase dans les différents lots traités.

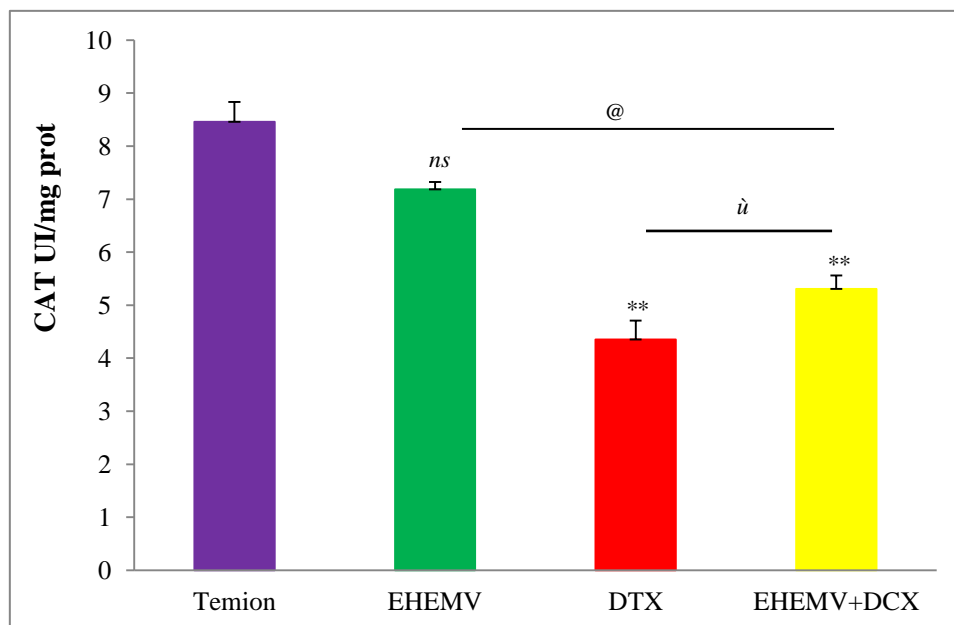


Fig. 14 : Effet du traitement à l'EHEMV (200 mg/kg), au DTX (2mg/kg) et EHEMV + DTX sur l'activité de la CAT. Les résultats représentent les moyennes ± SD (N= 4), Test ANOVA suivi du test de Tukey. *ns* $p > 0,05$; ** $p < 0,01$ (comparaison entre le lot témoin et les autres lots) ; *ù* $p < 0,05$ (comparaison en le lot DTX et le lot EHEMV+DTX) ; @ $p < 0,05$ (comparaison entre le lot EHEMV et le lot EHEMV+DTX).

La catalase est une enzyme cruciale pour les mécanismes de défense antioxydante cellulaires (Linford et al., 2006). C'est une enzyme commune présente dans tous les organismes vivants exposés à l'oxygène et dont le rôle est de catalyser la décomposition du peroxyde d'hydrogène H₂O₂ en eau et en oxygène (Majumder et al., 2017).

Dans notre étude, il a été mis en évidence que le traitement des rats par le DTX à la dose thérapeutique de 2 mg/kg induit une réduction de l'activité de la CAT ($p < 0,01$; $4,35 \pm 0,36$ UI/mg protéines) par rapport à celle du lot témoin non traité ($8,45 \pm 0,37$ U/mg de protéines).

En présence d'une faible activité de la SOD, une grande quantité de l'anion superoxyde généré ne peut pas être éliminée. Ce dernier est connu pour être un inhibiteur de l'activité de la CAT (Shimizu et al., 1984) ce qui peut justifier cette diminution de son activité.

Le prétraitement par l'EHEMV permet de protéger cette activité enzymatique qui était supérieure ($p < 0,05$) à celle du lot traité seulement avec le DTX alors que administré seul, l'EHEMV n'a aucun effet sur l'activité de la CAT et le résultat obtenu est égale ($p > 0,05$) à celui du lot témoin avec une valeur de $7,18 \pm 0,13$ U/mg e protéines.

Notre résultat est pareil à celui de l'étude d'Ibrahim et al. qui ont également trouvé une augmentation de l'activité de la CAT hépatique chez les rats prétraités avec l'extrait éthanolique de *M. vulgare* (Ibrahim et al., 2014), et également à celui des recherches d'Ettaya et al. ont montré la capacité de *M. vulgare* à protéger l'activité de la CAT hépatique contre la toxicité induite par l'injection du cyclophosphamide chez les rats *Wistar* (Ettaya et al., 2016).

La présence des polyphénols dans l'extrait de *M. vulgare*, comme l'acide gallique, la naringénine, la naringine, l'apéginine, ... (Aćimović et al., 2020) lui confère sa capacité à piéger les radicaux libres comme l'anion superoxyde et le H_2O_2 qui nécessitent l'activation de la SOD et la CAT pour les éliminer.

7.4.5. Activité enzymatique de la glutathion S-transférase

L'évaluation de l'activité de la GST cytosolique dans les différents lots a permis d'obtenir les résultats présentés dans la figure 15.

D'après la figure, l'administration du DTX aux rats *Wistar* entraîne une diminution de l'activité de la GST ($4,91 \pm 0,56$ UI/mg protéines; $p < 0,01$) en comparaison avec le lot témoin non traité ($10,70 \pm 0,45$ UI/mg protéines). Cependant, le traitement préventif avec l'EHEMV a permis de préserver en partie l'activité de la GST ($7,42 \pm 0,16$ UI/mg protéines) qui était significativement supérieure ($p < 0,01$) à celle du lot non prétraité alors que le traitement avec l'extrait seul n'avait aucun effet sur cette activité ($9,23 \pm 0,91$ UI/mg protéines) et aucune différence significative n'a été enregistrée avec le lot témoin ($p > 0,05$).

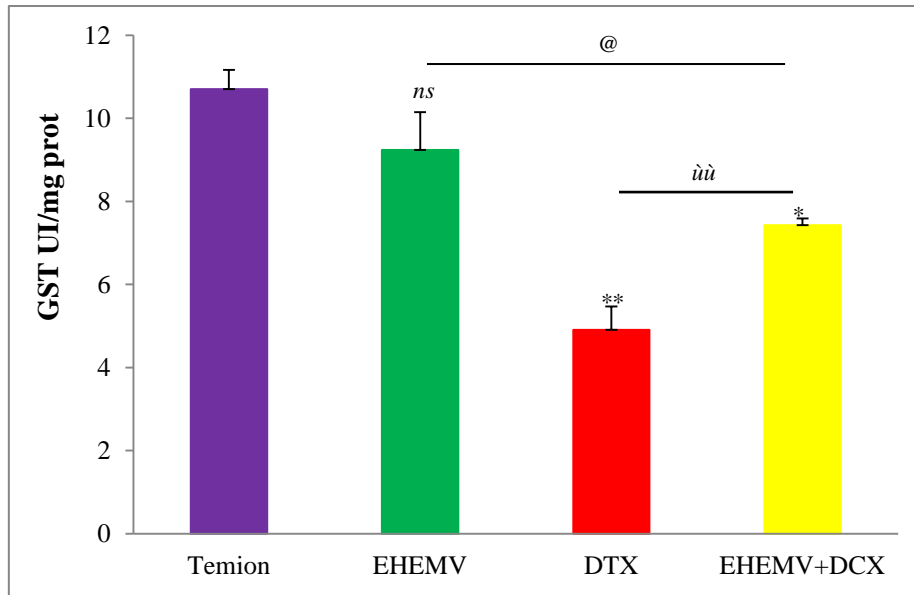


Fig. 15 : Effet du traitement à l'EHEMV (200 mg/kg), au DTX (2mg/kg) et à l'EHEMV + DTX sur l'activité de la GST. Les résultats représentent les moyennes \pm SD (N= 4), Test ANOVA suivi du test de Tukey. *ns* $p > 0,05$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ (comparaison entre le lot témoin et les autres lots) ; ùù $p < 0,01$ (comparaison entre le lot DTX et le lot EHEMV+DTX) ; @ $p < 0,05$ (comparaison entre le lot EHEMV et le lot EHEMV+DTX).

La GST est une enzyme importante dans le métabolisme de détoxification cellulaire et permet l'inversion des effets nocifs de plusieurs substances tels que les médicaments et les composés chimiques cancérigènes (Dasari et al., 2017; Allocati et al., 2018). Elle permet d'éliminer les xénobiotiques électrophiles en se liant au GSH (Türkan et al., 2019). Ce dernier a enregistré une forte déplétion de ses taux après traitement au DTX, ce qui peut justifier en partie la faible activité enzymatique de la GST.

L'action de l'extrait de *M. vulgare* dans la protection du système antioxydant et plus précisément la préservation de l'activité de la GST a été aussi montré dans l'étude d'Elberry et al. qui ont confirmé l'effet protecteur de l'extrait de *M. vulgare* et sa capacité à moduler l'activité de la GST contre la toxicité hépatique induite par le CCl_4 (Elberry et al., 2010).

Le prétraitement par l'extrait de *M. vulgare* a induit une augmentation des taux du GSH par rapport aux rats non traités, c'est ce qui peut expliquer l'amélioration également de l'activité de la GST. De plus, selon Guneidy et al., les composés phénoliques et les flavonoïdes ont un fort potentiel de moduler l'activité et/ou l'expression de la GST (Guneidy et al., 2020).

Conclusion
et
Perspectives

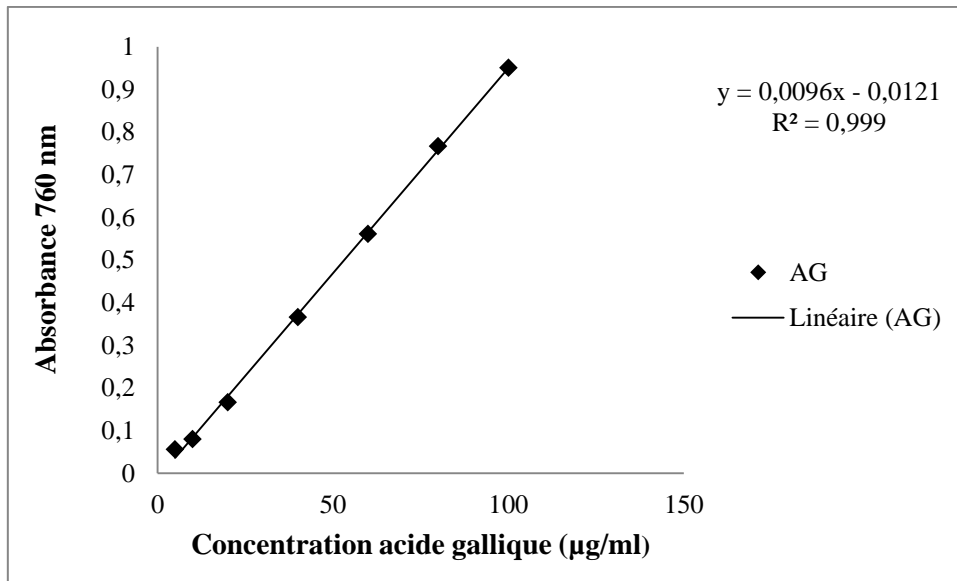
Le but de ce travail est d'étudier l'effet hépatoprotecteur de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *Marrubium vulgare* L. contre l'hépatotoxicité induite par le docétaxel.

Plusieurs tests ont été réalisés et nous ont permis de déduire que :

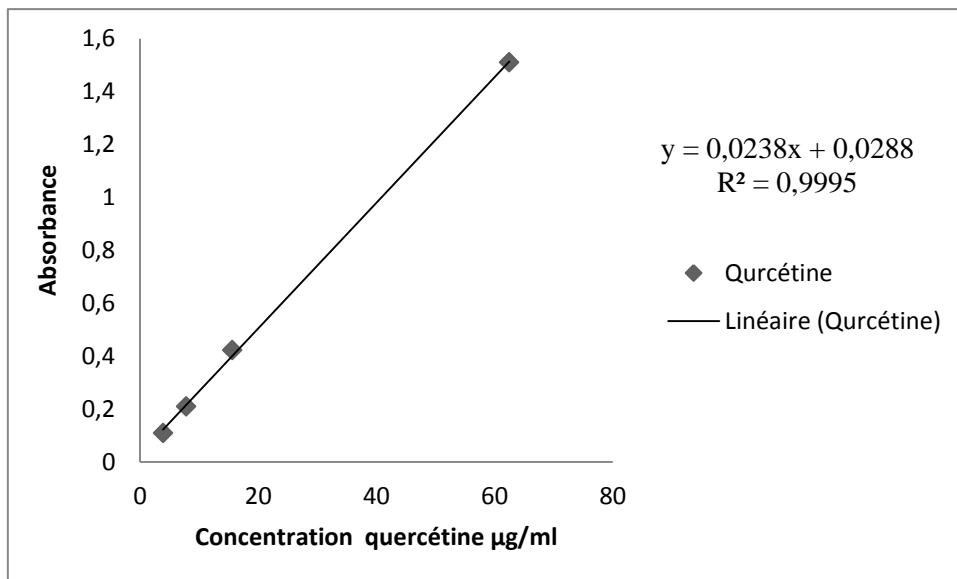
- Le docétaxel administré aux rats *Wistar* à la dose thérapeutique de 2 mg/kg entraîne une augmentation des taux de l'ALT et de l'AST, des modifications histologiques du tissu hépatique caractéristiques d'une hépatotoxicité ainsi que l'induction du stress oxydant. Il induit également une neutropénie.
- L'extrait hydro-éthanolique de *Marrubium vulgare* L. est riche en polyphénols et en flavonoïdes lui permettant d'avoir une activité antioxydante *in vitro* caractérisée par un bon pouvoir réducteur et de piégeage des radicaux DPPH[•] et ABTS^{•+}.
- Il exerce aussi un effet hépatoprotecteur contre la toxicité induite par le docétaxel. Il permet la diminution des taux d'ALT et AST et protège le tissu hépatique contre le stress oxydant à travers la modulation des activités enzymatiques des enzymes antioxydantes endogènes SOD, CAT et GST, la préservation des taux du GSH et la protection contre la peroxydation lipidique.

Ce travail doit être accompli par d'autres études en se basant sur l'effet des différentes fractions obtenues par différents solvants et différentes méthodes d'extraction.

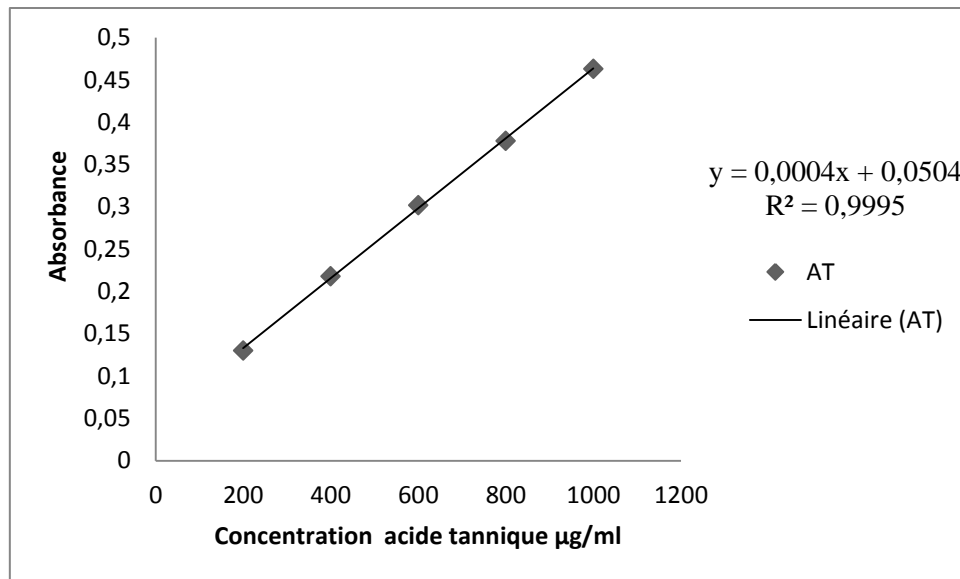
Annexes



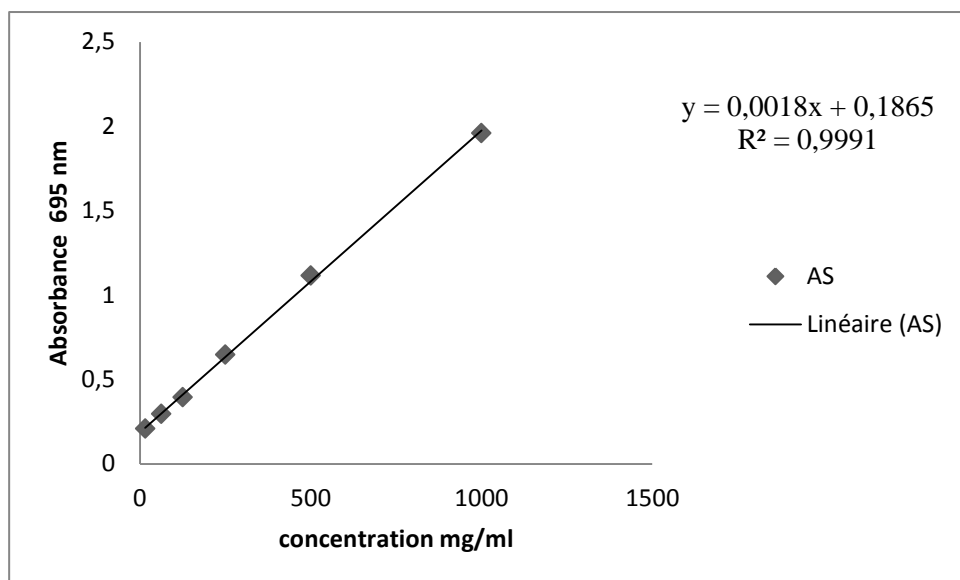
Annexe 1 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique.



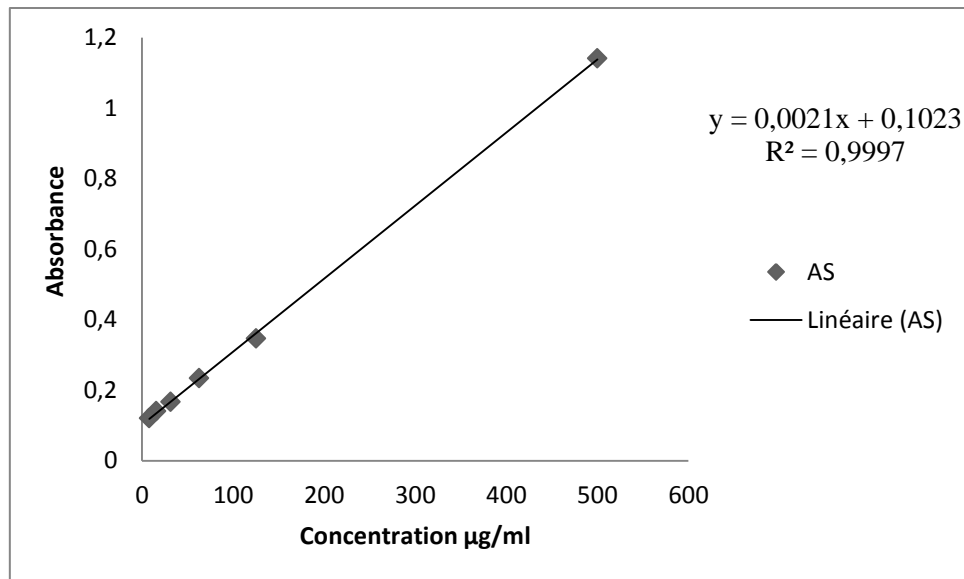
Annexe 2 : courbe d'étalonnage de la quercétine.



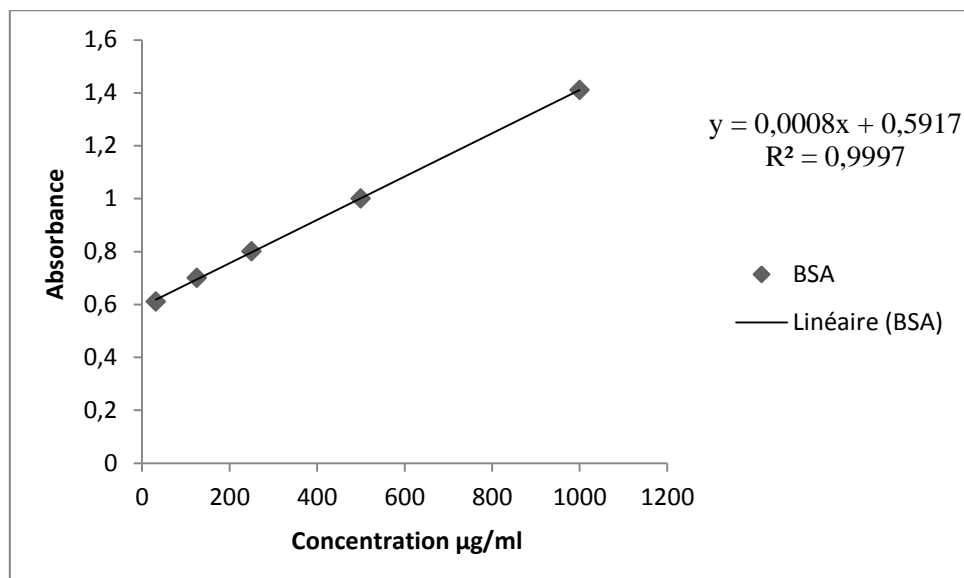
Annexe 3 : courbe d'étalonnage de l'acide tannique.



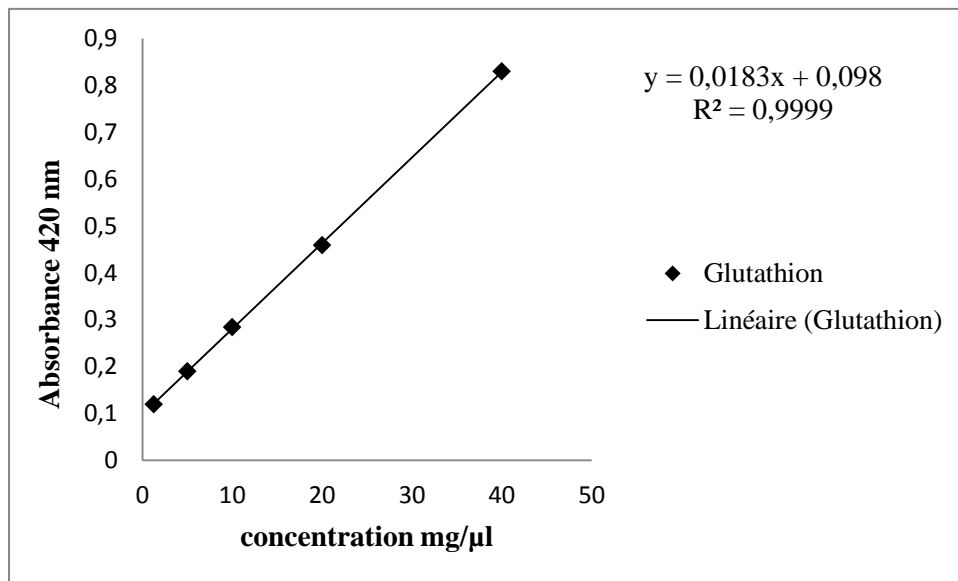
Annexe 4 : courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (ACT).



Annexe 6 : courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (FRAP).



Annexe 5 : courbe d'étalonnage de BSA.



Annexe 7 : courbe d'étalonnage de GSH

*Références
bibliographiques*

A

Abidi, A., Dhaouafi, J., Brinsi, C., Tounsi, H., and Sebai, H. (2022). Tunisian horehound (*Marrubium vulgare*) aqueous extract improves treatment of bleomycin-induced lung fibrosis in rat. *Dose-Response*, 20(3), 15593258221119300.

Aćimović, M., Ivanovic, S., Simic, K., Pezo, L., Zeremski, T., Ovuka, J., and Sikora, V. (2021). Chemical Characterization of *Marrubium vulgare* Volatiles from Serbia. *Plants* 2021, 10, 600.

Aćimović, M., Jeremić, K., Salaj, N., Gavarić, N., Kiproviski, B., Sikora, V., and Zeremski, T. (2020) *Marrubium vulgare* L.: a phytochemical and pharmacological overview. *Molecules* 25(12):2898.

Adimi, L. Z., Guittoum, D., and Hamimid, S. (2023). Ethnobotanical study and antibacterial activity of a medicinal plant: *Marrubium vulgare* L (The White horehound). *South Asian Journal of Experimental Biology*, 13(3), 197-204.

Agarwal, M., Srivastava, V. K., Saxena, K. K., and Kumar, A. (2006). Hepatoprotective activity of *Beta vulgaris* against CCl₄-induced hepatic injury in rats. *Fitoterapia*, 77(2), 91-93

Ahvazi, M, Jamzad, Z., Balali, GR., and Saeidi, H. (2016) Trichome micro-morphology in *Marrubium* L. (*Lamiaceae*) in Iran and the role of environmental factors on their variation. *Iran J Bot* 22 (1):39–58.

Aisner, J. (2007). Overview of the changing paradigm in cancer treatment: oral chemotherapy. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 64(9_Supplement_5), S4-S7

Aksoy, L., Kolay, E., Ağılönü, Y., Aslan, Z., and Kargıoğlu, M. (2013). Free radical scavenging activity, total phenolic content, total antioxidant status, and total oxidant status of endemic *Thermopsis turcica*. *Saudi journal of biological sciences*, 20(3), 235-239.

Akther, N., Shawl, A. S., Sultana, S., Chandan, B. K., and Akhter, M. (2013). Hepatoprotective activity of *Marrubium vulgare* against paracetamol induced toxicity. *Journal of Pharmacy Research*, 7(7), 565-570.

Al-Batran, S. E., Hozaeel, W., Tauchert, F. K., Hofheinz, R. D., Hinke, A., Windemuth-Kieselbach, C., ... and Pauligk, C. (2015). The impact of docetaxel-related toxicities on health-related quality of life in patients with metastatic cancer (QoliTax). *Annals of Oncology*, 26(6), 1244-1248.

Allocati, N., Masulli, M., Di Ilio, C., and Federici, L. (2018). Glutathione transferases: substrates, inhibitors and pro-drugs in cancer and neurodegenerative diseases. *Oncogenesis*, 7(1), 8.

Amessis-Ouchemoukh, N., Abu-Reidah, I. M., Quirantes-Piné, R., Madani, K., and Segura-Carretero, A. (2014). Phytochemical profiling, in vitro evaluation of total phenolic contents and antioxidant properties of *Marrubium vulgare* (horehound) leaves of plants growing in Algeria. *Industrial Crops and Products*, 61, 120-129.

Amri, B., Martino, E., Vitulo, F., Corana, F., Ben-Kaâb, L. B., Rui, M., ... and Collina, S. (2017). *Marrubium vulgare* L. leave extract: Phytochemical composition, antioxidant and wound healing properties. *Molecules*, 22(11), 1851.

Anai, S., Ibusuki, R., Takao, T., Sakurai, Y., Hisasue, J., Takaki, Y., and Hara, N. (2019). Retrospective cohort study on the safety and efficacy of docetaxel in Japanese non-small cell lung cancer patients with nondialysis chronic kidney disease stage 3b or higher. *Thoracic Cancer*, 10(12), 2282-2288.

Ashrafizadeh, M., Zarrabi, A., Hashemi, F., Moghadam, E. R., Hashemi, F., Entezari, M., ... and Najafi, M. (2020). Curcumin in cancer therapy: A novel adjunct for combination chemotherapy with paclitaxel and alleviation of its adverse effects. *Life sciences*, 256, 117984.

B

Bahirwani, R., and Reddy, K. R. (2014, May). Drug-induced liver injury due to cancer chemotherapeutic agents. In *Seminars in Liver Disease* (Vol. 34, No. 02, pp. 162-171). Thieme Medical Publishers.

Baker, J., Ajani, J., Scotté, F., Winther, D., Martin, M., Aapro, M. S., and von Minckwitz, G. (2009). Docetaxel-related side effects and their management. *European journal of oncology nursing*, 13(1), 49-59.

Baker, S. D., Sparreboom, A., and Verweij, J. (2006). Clinical pharmacokinetics of docetaxel: recent developments. *Clinical pharmacokinetics*, 45, 235-252.

Bastos, D. H. M., Saldanha, L. A., Catharino, R. R., Sawaya, A. C., Cunha, I. B., Carvalho, P. O., and Eberlin, M. N. (2007). Phenolic antioxidants identified by ESI-MS from yerba mate (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camelia sinensis*) extracts. *Molecules*, 12(3), 423-432.

Barbuti, A. M., and Chen, Z. S. (2015). Paclitaxel through the ages of anticancer therapy: exploring its role in chemoresistance and radiation therapy. *Cancers*, 7(4), 2360-2371.

Bas, E., and Naziroglu, M. (2019). Selenium attenuates docetaxel-induced apoptosis and mitochondrial oxidative stress in kidney cells. *Anti-Cancer Drugs*, 30(4), 339-346.

Bindhumol, V., Chitra, K. C., and Mathur, P. P. (2003). Bisphenol A induces reactive oxygen species generation in the liver of male rats. *Toxicology*, 188(2-3), 117-124.

Bousselsela, H., Ghedadba, N., Hambaba, L., Hachemi, M., Dassamiour, S., and Mouffouk, C. (2021). In vivo anti-inflammatory activities of *marrubium vulgare* L. and *marrubium deserti* de noé species growing in algeria. *Phytothérapie*.

Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Elaoufi, M. M., Latreche, A., and Benchiha, W. (2016, November). Antioxidant activity and total phenolic and flavonoids content variations of leaves extracts of white Horehound (*Marrubium vulgare* Linné) from three geographical origins. In *Annales pharmaceutiques francaises* (Vol. 74, No. 6, pp. 453-462). Elsevier Masson.

Bouterefas, K., Mehdadi, Z., Latreche, A., Hazem, Z., and Bouredja, N. (2013). Quantification de quelques polyphénols de *Marrubium vulgare* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale) pendant les deux périodes de végétation et de floraison. *Les technologies de laboratoire*, 8(31).

Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72:248–54.

Budha, N. R., Frymoyer, A., Smelick, G. S., Jin, J. Y., Yago, M. R., Dresser, M. J., ... and Ware, J. A. (2012). Drug absorption interactions between oral targeted anticancer agents and PPIs: is pH-dependent solubility the Achilles heel of targeted therapy?. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 92(2), 203-213

Buttigliero, C., Tucci, M., Vignani, F., Di Stefano, R. F., Leone, G., Zichi, C., ... and Di Maio, M. (2018). Chemotherapy-induced neutropenia and outcome in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer treated with first-line docetaxel. *Clinical Genitourinary Cancer*, 16(4), 318-324.

Buzzini, P., Arapitsas, P., Goretti, M., Branda, E., Turchetti, B., Pinelli, P., ... and Romani, A. (2008). Antimicrobial and antiviral activity of hydrolysable tannins. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 8(12), 1179.

C

Chalasan, N., Bonkovsky, H. L., Fontana, R., Lee, W., Stolz, A., Talwalkar, J., ... and Van Raaphorst, R. (2015). Features and outcomes of 899 patients with drug-induced liver injury: the DILIN prospective study. *Gastroenterology*, 148(7), 1340-1352.

Chedia, A., Ghazghazi, H., Brahim, H., and Abderrazak, M. (2014). Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of *Marrubium vulgare* methanolic extract. *Tunisian J Med Plants Nat Prod*, 11, 1-8.

Chidambaram, M., Manavalan, R., and Kathiresan, K. (2011). Nanotherapeutics to overcome conventional cancer chemotherapy limitations. *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences*, 14(1), 67-77.

Clarke, S. J., and Rivory, L. P. (1999). Clinical pharmacokinetics of docetaxel. *Clinical pharmacokinetics*, 36(2), 99–114.

Cuendet, M., Hostettmann, K. and Potterat, O. (1997). Iridoidglucosides with free radical scavenging properties from *Fagraeablumei*. *Helvetica Chimica Acta* 80, 1144-1152.

D

da Costa, R., Passos, G. F., Quintão, N. L., Fernandes, E. S., Maia, J. R. L., Campos, M. M., and Calixto, J. B. (2020). Taxane-induced neurotoxicity: Pathophysiology and therapeutic perspectives. *British journal of pharmacology*, 177(14), 3127-3146.

Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*, 23(2), 174-181.

Dale, D. C. (2001). Neutropenia. e LS.

Dalli, M., Azizi, S. E., Kandsi, F., and Gseyra, N. (2021). Evaluation of the in vitro antioxidant activity of different extracts of *Nigella sativa* L. seeds, and the quantification of their bioactive compounds. *Materials Today: Proceedings*, 45, 7259-7263.

Daly AK: Drug- induced liver injury: Past, present and future. *Pharmacogenomics* 11: 607-611, 2010.

Dasari, S., Ganjayi, M. S., Oruganti, L., Balaji, H., and Meriga, B. (2017). Glutathione S-transferases detoxify endogenous and exogenous toxic agents-minireview. *J Dairy Vet Anim Res*, 5(5), 00154.

Daraei, B., Aghvami, M., Pourahmad, J., and Dinarvand, R. (2017). A comparison of hepatocyte cytotoxic mechanisms for docetaxel and PLGA-docetaxel Nanoparticl. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 16(1), 249.

da Silva, G. H., Fernandes, M. A., Trevizan, L. N. F., de Lima, F. T., Eloy, J. O., and Chorilli, M. (2018). A critical review of properties and analytical methods for the determination of docetaxel in biological and pharmaceutical matrices. *Critical reviews in analytical chemistry*, 48(6), 517-527.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., and Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4), 654-660.

E

Elberry, A. A., Harraz, F. M., Ghareib, S. A., Nagy, A. A., Gabr, S. A., Suliaman, M. I., and Abdel-Sattar, E. (2010). Antihepatotoxic effect of *Marrubium vulgare* and *Withania somnifera* extracts on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Journal of basic and clinical pharmacy*, 1(4), 247.

El-Hallous, E. I., Alsanie, W. F., Ismail, I. A., and Dessoky, E. S. (2018). Utilization of *Marrubium vulgare* extract as a therapeutic to hepatic damage induced by Carbon Tetrachloride in rats. *Int J. Pharm. Res. Allied Sci*, 7, 168-178.

Egamberdieva, D., Mamedov, N., Ovidi, E., Tiezzi, A., and Craker, L. (2017). Phytochemical and pharmacological properties of medicinal plants from Uzbekistan: A review. *Journal of Medicinally Active Plants*, 5(2), 59-75

Ellman, G.L. (1959) Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82, 70-77. Doi:10.1016/0003-9861(59)90090-6.

Ettaya, A., Dhibi, S., Samout, N., Elfeki, A., and Hfaiedh, N. (2016). Hepatoprotective activity of white horehound (*Marrubium vulgare*) extract against cyclophosphamide toxicity in male rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 94(4), 441-447.

Evans, W. C. (2009). *Trease and Evans' pharmacognosy*. Elsevier Health Sciences.

F

Ferrari, R., Ceconi, C., Curello, S., Cargnoni, A., Alfieri, O., Pardini, A., ... and Visioli, O. (1991). Oxygen free radicals and myocardial damage: protective role of thiol-containing agents. *The American journal of medicine*, 91(3), S95-S105.

Furuya, Y. (2019). Early neutropenia on day 8 treated with adjuvant Docetaxel-based chemotherapy in early breast cancer patients: Putative mechanisms within the neutrophil pool system. *Plos one*, 14(4), e0215576.

G

Ghedadba, N., Bousselsela, H., Hambaba, L., Benbia, S., and Mouloud, Y. (2014). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L. *Phytothérapie*, 12(1), 15-24.

- Ghedadba, N., Hambaba, L., Bousselsela, H., Hachemi, M., Drid, A., Abd-Essmad, A., and Oueld-Mokhtar, S. M. (2016). Evaluation of in vitro antioxidant and in vivo anti-inflammatory potential of white horehound (*Marrubium vulgare* L.) leaves. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 41, 252-259.
- Ghedadba, N., Hambaba, L., Hachemi, M., and Bensaad, M. S. (2021). Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Methanolic Extract of *Marrubium deserti* de Noé Leaves. *PSM Biological Research*, 6(3), 56-65.
- Ghedadba, N., Hambaba, L., Fercha, N., Houas, B., Abdessemed, S., and Mokhtar, S. M. O. (2016). Assessment of hemostatic activity of the aqueous extract of leaves of *Marrubium vulgare* L., a Mediterranean Lamiaceae Algeria. *Int. J. Health Sci*, 2, 253-258.
- Gheldof, N., and Engeseth, N. J. (2002). Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(10), 3050-3055.
- Ghlissi, Z., Atheymen, R., Sahnoun, Z., Zeghal, K.M., Mnif, H., and Hakim, A. (2015). The Effect of *Marrubium vulgare* L. on Hyperglycemia- Mediated Oxidative Damage in the Hepatic and Renal Tissues of Diabetic Rats.
- Ghonimi, N. A., Elsharkawi, K. A., Khyal, D. S., and Abdelghani, A. A. (2021). Serum malondialdehyde as a lipid peroxidation marker in multiple sclerosis patients and its relation to disease characteristics. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, 51, 102941.
- Giri, B. R., Lee, J., Lim, D. Y., and Kim, D. W. (2021). Docetaxel/dimethyl- β -cyclodextrin inclusion complexes: Preparation, in vitro evaluation and physicochemical characterization. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 47(2), 319-328.
- Gourich, A. A., Hanane, T., Drioiche, A., Asbabou, A., Remok, F., Saidi, S., ... and Zair, T. (2023). Insight into biological activities of chemically characterized extract from *Marrubium vulgare* L. In vitro, in vivo and in silico approaches. *Frontiers in Chemistry*, 11, 1238346.
- Guneidy, R. A., Gad, A. M., Zaki, E. R., Ibrahim, F. M., and Shokeer, A. (2020). Antioxidant or pro-oxidant and glutathione transferase P1-1 inhibiting activities for *Tamarindus indica* seeds and their cytotoxic effect on MCF-7 cancer cell line. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 18(1), 1-16.
- Gutiérrez, R. M. P., and Solís, R. V. (2009). Hepatoprotective and inhibition of oxidative stress in liver of *Prostechea michuacana*. *Records of Natural Products*, 3(1), 46-51.

H

Hayat, J., Akodad, M., Moumen, A., Baghour, M., Skalli, A., Ezrari, S., and Belmalha, S. (2020). Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids and tannin content, antioxidant activities and FTIR characterization of *Marrubium vulgare* L. from 2 different localities of Northeast of Morocco. *Heliyon*, 6(11).

Habig, W. H., Pabst, M. J., and Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological Chemistry*, 249(22), 7130-7139.

Harouak, H., Najem, M., Ibijbijen, J., and Nassiri, L. (2022). Dental use of some lamiaceae species from Morocco and principal component analysis between total polyphenolic content obtained by different aqueous extraction. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, 12(1), e5885-e5885.

Heri, W., Siti, J., Achmad, K., Henny, N., and Sandeep, P. (2020). Determination of phenolic and flavonoid levels and antioxidant activity test from ethanol extract of biak-leaves (*Mitragyna speciosa*) with ABTS method [2, 2-azinobis-(3-ethylbenzotiazolin)-6-sulfonic acid]. *RESEARCH JOURNAL OF CHEMISTRY AND ENVIRONMENT*, 24(5), 31-5.

Hilkens, P. H. E., Verweij, J., Stoter, G., Vecht, C. J., Van Putten, W. L. J., and Van den Bent, M. J. (1996). Peripheral neurotoxicity induced by docetaxel. *Neurology*, 46(1), 104-108.

Hirth, J., Watkins, P. B., Strawderman, M., Schott, A., Bruno, R., and Baker, L. H. (2000). The effect of an individual's cytochrome CYP3A4 activity on docetaxel clearance. *Clinical Cancer Research*, 6(4), 1255-1258.

Hortobagyi, G. N. (2020). Breast cancer: 45 years of research and progress. *Journal of Clinical Oncology*, 38(21), 2454.

Holasova, M., Fiedlerova, V., Smrcinova, H., Orsak, M., Lachman, J., and Vavreinova, S. (2002). Buckwheat—the source of antioxidant activity in functional foods. *Food research international*, 35(2-3), 207-211.

Hoofnagle, J. H. (2013). LiverTox: à website on drug-induced liver injury. In *Drug-Induced Liver Disease* (pp. 725-732). Academic Press.

Hung, C. H., Chan, S. H., Chu, P. M., and Tsai, K. L. (2015). Docetaxel facilitates endothelial dysfunction through oxidative stress via modulation of protein kinase C beta: the protective effects of sotrastaurin. *Toxicological Sciences*, 145(1), 59-67.

I

Ibrahim, F. M., Ibrahim, A. Y., and Omer, E. A. (2014). Potential Effect of Marrubium vulgare L. extracts on CCL4 model induced hepatotoxicity in albino mice. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1664-1670.

Imran, M., Saleem, S., Chaudhuri, A., Ali, J., and Baboota, S. (2020). Docetaxel: An update on its molecular mechanisms, therapeutic trajectory and nanotechnology in the treatment of breast, lung and prostate cancer. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 60, 101959.

Islam, M. R., Reza, A. A., Chawdhury, K. A. A., Uddin, J., and Farhana, K. (2014). Evaluation of in vitro antioxidant activity and cytotoxicity of methanolic extract of *Sida cordata* leaves. *Int J Biol Pharm Res*, 5(2), 196-200.

Iwase, T., Tajima, A., Sugimoto, S., Okuda, K. I., Hironaka, I., Kamata, Y., ... and Mizunoe, Y. (2013). A simple assay for measuring catalase activity: a visual approach. *Scientific reports*, 3(1), 3081.

J

Jadon, R. S., and Sharma, M. (2019). Docetaxel-loaded lipid-polymer hybrid nanoparticles for breast cancer therapeutics. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 51, 475-484.

Jiang, H., Zuo, J., Li, B., Chen, R., Luo, K., Xiang, X., ... and Gao, F. (2023). Drug-induced oxidative stress in cancer treatments: Angel or devil?. *Redox Biology*, 102754.

Jitcă, G., Ósz, B. E., Tero-Vescan, A., Miklos, A. P., Ruzs, C. M., Bătrînu, M. G., and Vari, C. E. (2022). Positive aspects of oxidative stress at different levels of the human body: a review. *Antioxidants*, 11(3), 572.

Juan, C. A., Pérez de la Lastra, J. M., Plou, F. J., and Pérez-Lebeña, E. (2021). The chemistry of reactive oxygen species (ROS) revisited: outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids and proteins) and induced pathologies. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4642.

Jurczyk, M., Kasperczyk, J., Wrześniok, D., Beberok, A., and Jelonek, K. (2022). Nanoparticles loaded with docetaxel and resveratrol as an advanced tool for cancer therapy. *Biomedicines*, 10(5), 1187.

K

Kadri, A., Zarai, Z., Békir, A., Gharsallah, N., Damak, M., and Gdoura, R. (2011). Chemical composition and antioxidant activity of *Marrubium vulgare* L. essential oil from Tunisia. *African journal of biotechnology*, 10(19), 3908-3914.

Kato, M., Chiba, K., Hisaka, A., Ishigami, M., Kayama, M., Mizuno, N., ... and Sugiyama, Y. (2003). The intestinal first-pass metabolism of substrates of CYP3A4 and P-glycoprotein—quantitative analysis based on information from the literature. *Drug metabolism and pharmacokinetics*, 18(6), 365-372

Kenmotsu, H., and Tanigawara, Y. (2015). Pharmacokinetics, dynamics and toxicity of docetaxel: Why the Japanese dose differs from the Western dose. *Cancer science*, 106(5), 497-504.

Kiani, R., Arzani, A., and Mirmohammady Maibody, S. A. M. (2021). Polyphenols, flavonoids, and antioxidant activity involved in salt tolerance in wheat, *Aegilops cylindrica* and their amphidiploids. *Frontiers in plant science*, 12, 646221.

Kim, S. T., Kyung, E. J., Suh, J. S., Lee, H. S., Lee, J. H., Chae, S. I., ... and Jeong, J. H. (2018). Phosphatidylcholine attenuated docetaxel-induced peripheral neurotoxicity in rats. *Drug and chemical toxicology*, 41(4), 476-485.

Koolen, S. L. W., Beijnen, J. H., and Schellens, J. H. M. (2010). Intravenous-to-oral switch in anticancer chemotherapy: a focus on docetaxel and paclitaxel. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 87(1), 126-129.

Kozyra, M., Korga, A., Ostrowska, M., Humeniuk, E., Adamczuk, G., Gieroba, R., ... and Dudka, J. (2020). Cytotoxic activity of methanolic fractions of different *Marrubium* spp. against melanoma cells is independent of antioxidant activity and total phenolic content. *FEBS open bio*, 10(1), 86-95.

Kumaran, A., and Karunakaran, R. J. (2007). In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT-Food Science and Technology*, 40(2), 344-352.

L

Lage, R., Cebro-Márquez, M., Rodríguez-Mañero, M., González-Juanatey, J. R., and Moscoso, I. (2019). Omentin protects H9c2 cells against docetaxel cardiotoxicity. *PloS one*, 14(2), e0212782. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212782>.

Lai, B., Ouyang, X., Mao, S., Cao, J., Li, H., Li, S., and Wang, J. (2023). Target tumor therapy in human gastric cancer cells through the combination of docetaxel-loaded cationic lipid microbubbles and ultrasound-triggered microbubble destruction. *Functional & Integrative Genomics*, 23(1), 59.

Lavrentiadou, S. N., Chan, C., Kawcak, T. N., Ravid, T., Tsaba, A., van der Vliet, A., ... and Goldkorn, T. (2001). Ceramide-mediated apoptosis in lung epithelial cells is regulated by glutathione. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 25(6), 676-684.

Li, L., Tang, F., Liu, H., Liu, T., Hao, N., Chen, D., ... and He, J. (2010). In vivo delivery of silica nanorattle encapsulated docetaxel for liver cancer therapy with low toxicity and high efficacy. *ACS nano*, 4(11), 6874-6882.

Li, P., Li, S., Gu, H., Lu, Q., Jiang, W., Pei, X., ... and Hao, K. (2018). The exposure-effect-toxicity correlation of docetaxel and magnesium isoglycyrrhizinate in non-small cell lung tumor-bearing mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 97, 1000-1010.

Li, Y., Cao, Z., Zhu, H., and Trush, M. A. (2005). Differential roles of 3H-1, 2-dithiole-3-thione-induced glutathione, glutathione S-transferase and aldose reductase in protecting against 4-hydroxy-2-nonenal toxicity in cultured cardiomyocytes. *Archives of biochemistry and biophysics*, 439(1), 80-90.

Lien, E. J., Ren, S., Bui, H. H., and Wang, R. (1999). Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(3-4), 285-294.

Linford, N.J., Schriener, S.E. and Rabinovitch, P.S. (2006). Oxidative Damage and Aging: Spotlight on Mitochondria. *Cancer Res.* Vol . 66(5): 2497-2499.

Lisiewska, Z., Kmiecik, W., and Korus, A. (2006). Content of vitamin C, carotenoids, chlorophylls and polyphenols in green parts of dill (*Anethum graveolens* L.) depending on plant height. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(2-3), 134-140.

Liu, D., Hu, Z., Liu, Z., Yang, B., Tu, W., and Li, L. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil isolated from the cultured mycelia of *Ganoderma japonicum*. *Journal of Nanjing Medical University*, 23(3), 168-172.

Lodhi, S., Vadnere, G. P., Sharma, V. K., and Usman, M. R. (2017). *Marrubium vulgare* L.: A review on phytochemical and pharmacological aspects. *J. Intercult. Ethnopharmacol*, 6(4), 429-452.

Loos, W. J., Baker, S. D., Verweij, J., Boonstra, J. G., and Sparreboom, A. (2003). Clinical pharmacokinetics of unbound docetaxel: role of polysorbate 80 and serum proteins. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 74(4), 364-371.

M

Mahmoud, A. A., Gendy, A. S. H., Said-Al Ahl, H. A. H., Grulova, D., Astatkie, T., and Abdelrazik, T. M. (2018). Impacts of harvest time and water stress on the growth and essential oil components of horehound (*Marrubium vulgare*). *Scientia Horticulturae*, 232, 139-144.

- Mahmood, M. A., Madni, A., Rehman, M., Rahim, M. A., and Jabar, A. (2019). Ionically cross-linked chitosan nanoparticles for sustained delivery of docetaxel: fabrication, post-formulation and acute oral toxicity evaluation. *International journal of nanomedicine*, 10035-10046.
- Majumder, D., Das, A., and Saha, C. (2017). Catalase inhibition an anti cancer property of flavonoids: A kinetic and structural evaluation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 104, 929-935.
- Makihara, K., Shimeda, Y., and Matsumura, T. (2021). Influence of concomitant polypharmacy on docetaxel-induced febrile neutropenia. *Cancer Diagnosis & Prognosis*, 1(3), 135.
- Mandadi, K. K., Jayaprakasha, G. K., Bhat, N. G., and Patil, B. S. (2007). Red Mexican grapefruit: a novel source for bioactive limonoids and their antioxidant activity. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 62(3-4), 179-188.
- Marklund, S., and Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European journal of biochemistry*, 47(3), 469-474.
- Masoodi, M. H., and Rehman, M. U. (Eds.). (2022). *Edible Plants in Health and Diseases*. Springer Singapore.
- Mediavilla-Varela, M., Pacheco, F. J., Almaguel, F., Perez, J., Sahakian, E., Daniels, T. R., ... and Casiano, C. A. (2009). Docetaxel-induced prostate cancer cell death involves concomitant activation of caspase and lysosomal pathways and is attenuated by LEDGF/p75. *Molecular cancer*, 8(1), 1-15.
- Mole, S., and Waterman, P. G. (1987). A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies: I. Techniques for chemically defining tannins. *Oecologia*, 72, 137-147.
- Monsarrat, B., Royer, I., Wright, M., and Cresteil, T. (1997). Biotransformation of taxoids by human cytochromes P450: structure-activity relationship. *Bulletin du cancer*, 84(2), 125-33.
- Moro, K., Nagahashi, M., Uchida, H., Oji, M., Tsuchida, J., Yamaura, K., ... and Wakai, T. (2022). Advanced Stage Is a Risk for Severe Neutropenia in Breast Cancer Patients Undergoing Neoadjuvant Adriamycin/Cyclophosphamide/Docetaxel Chemotherapy. *World Journal of Oncology*, 13(6), 379.
- Moussa, M. T. B., Cherif, R. A., Lekhal, S., Bounab, A., and Hadeif, Y. (2022). Dosage des composés phénoliques et détermination de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Brocchia cinerea* VIS de l'Algérie (Sud-Est).
- Mssillou, I., Agour, A., Hamamouch, N., Lyoussi, B., and Derwich, E. (2021). Chemical Composition and In Vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Marrubium vulgare* L. *The Scientific World Journal*, 2021.

Mulondo, S., Afaf, L., Hayet, C., and Muzamiru, K. (2023). Assessment of Marrubium vulgare hydro-alcoholic extract's biological activities. *Algerian journal of Biosciences*, 4(01), 001-008.

N

Naczk, M., and Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography A*, 1054(1-2), 95-111.

Nazıroğlu, M., and Braidy, N. (2017). Thermo-sensitive TRP channels: novel targets for treating chemotherapy-induced peripheral pain. *Frontiers in Physiology*, 8, 1040.

Ndrepepa, G. (2021). Aspartate aminotransferase and cardiovascular disease—a narrative review. *J. Lab. Precis. Med*, 6(6).

Nur, E., Verwijs, M., de Waart, D. R., Schnog, J. J. B., Otten, H. M., Brandjes, D. P., ... and CURAMA Study Group. (2011). Increased efflux of oxidized glutathione (GSSG) causes glutathione depletion and potentially diminishes antioxidant defense in sickle erythrocytes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1812(11), 1412-1417.

O

Ogura, T., Tanaka, Y., Tamaki, H., and Harada, M. (2016). Docetaxel induces Bcl-2-and pro-apoptotic caspase-independent death of human prostate cancer DU145 cells. *International Journal of Oncology*, 48(6), 2330-2338.

Ohkawa, H., Ohishi, N., and Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry*, 95(2), 351-358.

Okur, M. E., Karakaş, N., Karadağ, A. E., Yılmaz, R., and Demirci, F. (2019). In vitro cytotoxicity evaluation of Marrubium vulgare L. methanol extract. *Journal of Research in*

Oyediran, K. O., Ilomuanya, M. O., Azubuike, C. P., and Nurudeen, L. (2022). A multiscale approach to targeted docetaxel formulations: combination therapy, nanotechnology, electrospinning and 3D printing—a review. *Bulletin of the National Research Centre*, 46(1), 167.

Oyeleye, S. I., Adefegha, S. A., Dada, F. A., Okeke, B. M., and Oboh, G. (2019). Effect of p-coumaric acid on the erectogenic enzyme activities and non-protein thiol level in the penile tissue of normal and doxorubicin-induced oxidative stress male rat. *Andrologia*, 51(6), e13281.

P

Peltekian, S., Sajwani, S., Wang, X., and Kanji, S. (2023). Incidence, predictors, and outcomes of febrile neutropenia and neutropenia in patients with metastatic castrate-resistant prostate cancer receiving docetaxel. *Supportive Care in Cancer*, 31(5), 311.

Pieniążek, A., Czepas, J., Piasecka-Zelga, J., Gwoździński, K., and Koceva-Chyła, A. (2013). Oxidative stress induced in rat liver by anticancer drugs doxorubicin, paclitaxel and docetaxel. *Advances in medical sciences*, 58(1), 104-111.

Pokorny, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. H. (Eds.). (2001). *Antioxidants in food: practical applications*. CRC press.

Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., ... and Bitto, A. (2017). *Oxidative stress: harms and benefits for human health. Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017.

Q

Qu, B., Xing, R., Wang, H., Chen, X., Ge, Q., Peng, D., and Wang, G. (2017). Multiple effects of magnesium isoglycyrrhizinate on the disposition of docetaxel in docetaxel-induced liver injury. *Xenobiotica*, 47(4), 290-296.

Qian, D. Z., Rademacher, B. L., Pittsenbarger, J., Huang, C. Y., Myrthue, A., Higano, C. S., ... and Beer, T. M. (2010). CCL2 is induced by chemotherapy and protects prostate cancer cells from docetaxel-induced cytotoxicity. *The Prostate*, 70(4), 433-442.

R

Rached, S., Imatara, H., Habsaoui, A., Mzioud, K., Haida, S., Saleh, A., ... and El Fartah, S. (2022). Characterization, chemical compounds and biological activities of *Marrubium vulgare* L. essential oil. *Processes*, 10(10), 2110.

A. Razak, S. A., Mohd Gazzali, A., Fisol, F. A., M. Abdulbaqi, I., Parumasivam, T., Mohtar, N., and A. Wahab, H. (2021). Advances in nanocarriers for effective delivery of docetaxel in the treatment of lung cancer: an overview. *Cancers*, 13(3), 400.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237

Rezgui, M., Basma, M., Neng, N., Nogueira, J. M., Bettaieb Ben-Kaab, L., and Machado Araújo, M. E. (2021). Evaluation of marrubium vulgare growing wild in Tunisia for its potential as a dietary supplement. *Foods*, 10(11), 2864.

Rhallaba, A., Chakira, S., Elbadaouia, K., and Imolek Alaouia, T. (2014). Evaluation of acute and subacute toxicity of aqueous extracts from *Marrubium vulgare* L in rodents. *Journal of Pharmacy Research*, 8(5), 684-688.

Rosenberg, A. J., Rademaker, A., Hochster, H. S., Ryan, T., Hensing, T., Shankaran, V., ... and Benson III, A. B. (2019). Docetaxel, oxaliplatin, and 5-fluorouracil (DOF) in metastatic and unresectable gastric/gastroesophageal junction adenocarcinoma: a phase II study with long-term follow-up. *The oncologist*, 24(8), 1039-e642.

Rosenthal, S. A., Hu, C., Sartor, O., Gomella, L. G., Amin, M. B., Purdy, J., ... and Sandler, H. M. (2019). Effect of chemotherapy with docetaxel with androgen suppression and radiotherapy for localized high-risk prostate cancer: the randomized phase III NRG oncology RTOG 0521 trial. *Journal of Clinical Oncology*, 37(14), 1159.

Routray, W., and Orsat, V. (2012). Microwave-assisted extraction of flavonoids: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 409-424.

Rudrapal, M., Khairnar, S. J., Khan, J., Dukhyil, A. B., Ansari, M. A., Alomary, M. N., ... and Devi, R. (2022). Dietary polyphenols and their role in oxidative stress-induced human diseases: Insights into protective effects, antioxidant potentials and mechanism (s) of action. *Frontiers in pharmacology*, 13, 283.

S

Salahshoor, M. R., Roshankhah, S., and Jalili, C. (2019). Antioxidative properties of *Thymus vulgaris* on liver rats induced by paclitaxel. *Pharmacognosy Research*, 11(3).

Sato, I., Nakaya, N., Shimasaki, T., Nakajima, H., and Motoo, Y. (2012). Prediction of docetaxel monotherapy-induced neutropenia based on the monocyte percentage. *Oncology letters*, 3(4), 860-864.

Shaheen, F., Rasool, S., Shah, Z. A., Soomro, S., Jabeen, A., Mesaik, M. A., and Choudhary, M. I. (2014). Chemical constituents of *Marrubium vulgare* as potential inhibitors of nitric oxide and respiratory burst. *Natural product communications*, 9(7), 1934578X1400900705.

Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., ... and Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: Back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Frontiers in physiology*, 11, 694.

- Shimizu, N., Kobayashi, K., and Hayashi, K. (1984). The reaction of superoxide radical with catalase. Mechanism of the inhibition of catalase by superoxide radical. *Journal of Biological Chemistry*, 259(7), 4414-4418.
- Shimoyama, M., Murata, Y., Sumi, K., Hamazoe, R., and Komuro, I. (2001). Docetaxel induced cardiotoxicity. *Heart*, 86(2), 219.
- Shou, M., Martinet, M., Korzekwa, K. R., Krausz, K. W., Gonzalez, F. J., and Gelboin, H. V. (1998). Role of human cytochrome P450 3A4 and 3A5 in the metabolism of taxotere and its derivatives: enzyme specificity, interindividual distribution and metabolic contribution in human liver. *Pharmacogenetics*, 8(5), 391-401.
- Siegel, R. L., Miller, K. D., Fuchs, H. E., and Jemal, A. (2021). Cancer statistics, 2021. *Ca Cancer J Clin*, 71(1), 7-33.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., and Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178). Academic press.
- Sohail, M. F., Rehman, M., Sarwar, H. S., Naveed, S., Salman, O., Bukhari, N. I., ... and Shahnaz, G. (2018). Advancements in the oral delivery of Docetaxel: challenges, current state-of-the-art and future trends. *International journal of nanomedicine*, 3145-3161.
- Spiteri M (2011) Herbal monographs including herbal medicinal products and food supplements. University of Malta, Department of Pharmacy.
- Sohail, M. F., Hussain, S. Z., Saeed, H., Javed, I., Sarwar, H. S., Nadhman, A., ... and Shahnaz, G. (2018). Polymeric nanocapsules embedded with ultra-small silver nanoclusters for synergistic pharmacology and improved oral delivery of Docetaxel. *Scientific reports*, 8(1), 13304.
- Sultana, K., Jayathilakan, K., and Pandey, M. C. (2017). Evaluation of antioxidant activity, radical scavenging, and reducing power of clove oil and clove oleoresin in comparison with natural and synthetic antioxidants in chevon (*Capra aegagrus hircus*) and chicken meat. *Defence Life Science Journal*, 3(1), 51-88.
- Szakiel, A., Pączkowski, C., and Henry, M. (2011). Influence of environmental abiotic factors on the content of saponins in plants. *Phytochemistry Reviews*, 10, 471-491.

T

Tabaczar, S., Czepas, J., Koceva-Chyla, A., Kilanczyk, E., Piasecka-Zelga, J., and Gwozdziński, K. (2017). The effect of the nitroxide pirolin on oxidative stress induced by doxorubicin and taxanes in the rat brain.

Takimoto, T., Nakabori, T., Osa, A., Morita, S., Terada, H., Oseto, S., ... and Abe, K. (2012). Tubular nephrotoxicity induced by docetaxel in non-small-cell lung cancer patients. *International journal of clinical oncology*, 17, 395-398.

Tamuly, C., Hazarika, M., Bora, J., and Gajurel, P. R. (2014). Antioxidant Activities and Phenolic Content of *Piper wallichii* (Miq.) Hand.-Mazz. *International Journal of Food Properties*, 17(2), 309-320.

Tang, N., Liu, J., Chen, B., Zhang, Y., Yu, M., Cai, Z., and Chen, H. (2017). Effects of gap junction intercellular communication on the docetaxel-induced cytotoxicity in rat hepatocytes. *Molecular Medicine Reports*, 15(5), 2689-2694.

Thanki, K., Gangwal, R. P., Sangamwar, A. T., and Jain, S. (2013). Oral delivery of anticancer drugs: challenges and opportunities. *Journal of controlled release*, 170(1), 15-40.

Tohidi, B., Rahimmalek, M., and Arzani, A. (2017). Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran. *Food chemistry*, 220, 153-161.

Tonra, J. R., Lloyd, G. K., Mohanlal, R., and Huang, L. (2020). Plinabulin ameliorates neutropenia induced by multiple chemotherapies through a mechanism distinct from G-CSF therapies. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 85, 461-468

Türkan, F., Huyut, Z., Demir, Y., Ertaş, F., and Beydemir, Ş. (2019). The effects of some cephalosporins on acetylcholinesterase and glutathione S-transferase: an in vivo and in vitro study. *Archives of physiology and biochemistry*, 125(3), 235-243.

U

Urien, S., Barré, J., Morin, C., Paccaly, A., Montay, G., and Tillement, J. P. (1996). Docetaxel serum protein binding with high affinity to alpha 1-acid glycoprotein. *Investigational new drugs*, 14, 147-151.

V

VanderJagt, T. J., Ghattas, R., VanderJagt, D. J., Crossey, M., and Glew, R. H. (2002). Comparison of the total antioxidant content of 30 widely used medicinal plants of New Mexico. *Life Sciences*, 70(9), 1035-1040.

Varnai, R., Koskinen, L. M., Mäntylä, L. E., Szabo, I., FitzGerald, L. M., and Sipeky, C. (2019). Pharmacogenomic biomarkers in docetaxel treatment of prostate cancer: from discovery to implementation. *Genes*, 10, 599.

Velasco, R., and Bruna, J. (2015). Taxane-induced peripheral neurotoxicity. *Toxics*, 3(2), 152-169.

W

Wang, Z., Liang, X., Yu, J., Zheng, X., Zhu, Y., Yan, Y., ... and Lyerly, H. K. (2012). Non-genetic risk factors and predicting efficacy for docetaxel–drug-induced liver injury among metastatic breast cancer patients. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 27(8), 1348-1352.

Y

Yabrir, B. (2019). Essential oil of *Marrubium vulgare*: Chemical composition and biological activities. A review. *Nat. Prod. Sci.* 2019,25, 81–91.

Yagi, K. (1976). Simple fluorimetric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem. Med.* Vol. 15: 212-216.

Z

Zhang, D., Jia, T., Chen, X., Jiang, H., Guo, T., Dong, J., ... and Yuan, Y. (2023). Bufalin reverses ABCB1-mediated resistance to docetaxel in breast cancer. *Heliyon*, 9(3).

Zhang, X., Shao, J., Li, X., Cui, L., and Tan, Z. (2019). Docetaxel promotes cell apoptosis and decreases SOX2 expression in CD133 expressing hepatocellular carcinoma stem cells by suppressing the PI3K/AKT signaling pathway. *Oncology Reports*, 41(2), 1067-1074.

Zhao, P., and Astruc, D. (2012). Docetaxel nanotechnology in anticancer therapy. *ChemMedChem*, 7(6), 952-972.

Zohra, B. F., and Abdelbasset, H. O. U. C. H. I. (2013). Etude de l'activité antioxydante de la plante *Rumex Vesicarius* L (Doctoral dissertation).

Résumé :

L'administration du docetaxel induit l'hépatotoxicité. Cependant les mécanismes impliqués dans cette toxicité ne sont pas encore bien élucidés. La réduction et la prévention de cette toxicité à l'aide de thérapies adjuvante est donc nécessaire. Le but de ce travail est d'étudier l'hépatotoxicité du docetaxel en se basant sur le rôle du stress oxydant, d'évaluer l'effet antioxydant *in vitro* de l'extrait hydro-éthanolique de *Marrubium vulgare* L. et d'étudier son effet hépatoprotecteur contre la toxicité du docetaxel. Les résultats ont montré que le docetaxel (2 mg/kg) induit une augmentation des taux d'AST et d'ALT et une modification histologique du tissu hépatique caractéristiques de l'hépatotoxicité, ainsi qu'une induction du stress oxydant à travers la diminution du taux du GSH et l'augmentation du taux du MDA et la diminution de l'activité de la SOD, la CAT et la GST. Il induit également une neutropénie. Les résultats ont également montré que l'extrait hydro-éthanolique de *M. vulgare* est riche en polyphénols et en flavonoïdes et possède une forte activité antioxydante de piégeage des radicaux DPPH[·] et ABTS⁺ et de réduction du fer. L'extrait de *M. vulgare* réduit la neutropénie et est un bon protecteur contre l'hépatotoxicité induite par le docetaxel. Ceci a été confirmé par la réduction des taux d'AST et ALT. Il permet aussi de limiter le stress oxydant à travers la restauration des taux cytosoliques du GSH, la réduction de la peroxydation lipidique et la préservation des activités enzymatiques des enzymes antioxydantes. Ces résultats confirment la présence d'un effet antioxydant hépatoprotecteur de l'extrait de *M. vulgare*. **Mots clés :** Docetaxel, Hépatotoxicité, *Marrubium vulgare* L., Extrait hydro-éthanolique, Stress oxydant.

Abstract:

Administration of docetaxel induces hepatotoxicity. However, the mechanisms involved in this toxicity are not yet well elucidated. Reduction and prevention of this toxicity using adjuvant therapies is therefore necessary. The aim of this study is to evaluate the hepatotoxicity of docetaxel based on the role of oxidative stress, to evaluate the *in vitro* antioxidant effect of the hydro-ethanolic extract of *Marrubium vulgare* L. and to study its hepatoprotective effect against docetaxel toxicity. The results showed that docetaxel (2 mg/kg) induced an increase in AST and ALT levels and a histological change in liver tissue as well as an induction of oxidative stress through the decrease in GSH level, the increase in MDA level and the decrease in the activity of SOD, CAT and GST. It also induces neutropenia. The results also showed that the hydro-ethanolic extract of *M. vulgare* is rich in polyphenols and flavonoids and has strong antioxidant activity in scavenging DPPH[·] and ABTS⁺ radicals and an important ferric reducing power. *M. vulgare* extract reduces neutropenia and is a good protector against docetaxel-induced hepatotoxicity. This was confirmed by the reduction in AST and ALT levels. It also helps limit oxidative stress through the restoration of cytosolic GSH levels, the reduction of lipid peroxidation and the preservation of the enzymatic activities of antioxidant enzymes. These results confirm the presence of an antioxidant hepatoprotective effect of the *M. vulgare* extract. **Keywords:** Docetaxel, Hepatotoxicity, *Marrubium vulgare* L., Hydro-ethanolic extract, Oxidative stress.

ملخص:

إعطاء الدوسيتاكسيل يؤدي إلى تسمم الكبد ومع ذلك، فإن الآليات المشاركة في هذه السمية لم يتم توضيحها بشكل جيد بعد. لذلك من الضروري الحد من هذه السمية والوقاية منها باستخدام العلاجات المساعدة. الهدف من هذا العمل هو دراسة السمية الكبدية للدوسيتاكسيل وبالتحديد دور الإجهاد التأكسدي، تقييم التأثير المضاد للأكسدة في المختبر للمستخلص الهيدروإيثانولي لنبات *Marrubium vulgare* L. ودراسة تأثيره الوقائي للكبد ضد سمية الدوسيتاكسيل. أظهرت النتائج أن الدوسيتاكسيل (2 ملغم/كغم) يؤدي إلى زيادة في مستويات AST و ALT وتغيير نسيجي في أنسجة الكبد المميزة للتسمم الكبدية. وكذلك تحفيز الإجهاد التأكسدي من خلال انخفاض مستوى GSH وزيادة مستوى MDA وانخفاض نشاط SOD و CAT و GST. كما أنه يسبب قلة العدلات. أظهرت النتائج أيضاً أن المستخلص الهيدروإيثانولي لنبات *M. vulgare* غني بالبوليفينول والفلافونويد وله نشاط مضاد للأكسدة قوي ضد جذور DPPH[·] و ABTS⁺ وإرجاع الحديد. كما يحسن مستخلص *M. vulgare* كذلك من نسبة العدلات ويعتبر واقياً جيداً ضد التسمم الكبدية الناجم عن الدوسيتاكسيل. وقد تم تأكيد ذلك من خلال انخفاض مستويات AST و ALT. كما أنه يجعل من الممكن الحد من الإجهاد التأكسدي من خلال استعادة المستويات الخلوية لـ GSH، وتقليل نسبة الـ MDA والحفاظ على الأنشطة الأنزيمية للإنزيمات المضادة للأكسدة. تؤكد هذه النتائج وجود تأثير مضاد للأكسدة وقائي للكبد لمستخلص *M. vulgare*. **الكلمات المفتاحية:** دوسيتاكسيل، تسمم الكبد، *Marrubium vulgare* L.، مستخلص هيدروإيثانولي، الإجهاد التأكسدي.