

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى جيجل

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département : Biologie Moléculaire et  
Cellulaire



كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم: البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Mémoire de Fin d'Etudes

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

La Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie

**Thème**

**Activitéantioxydant hépatoprotectrice des extractibles du  
soxhlet de la biomasse de *Daphne gnidium***

Membres de Jury :

Présidente : Mme HAMIMED

Examinatrice : Mme AZZOUZ

Encadrant : Mme MEZAHM

Présenté par :

LATLI SAFA

LAHILAH HOSNA

BOUTADJINE SAMAR

Année Universitaire 2022-2023

Numéro d'ordre (bibliothèque) :.....

## *Remerciements*

*Au terme de ce travail, nous souhaitons exprimer notre sincère gratitude et nos remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste mémoire.*

*Tout d'abord, nous exprimons notre profonde reconnaissance à Dieu, le Tout Puissant Pour nous avoir accordé la santé, le courage, la volonté et la patience nécessaires pour mener à bien ce travail.*

*Nous tenons à exprimer notre gratitude la plus sincère à notre promotrice, **Mme Mezahem**, pour avoir accepté de nous encadrer et de guider ce mémoire.*

*Nous lui sommes reconnaissants pour son soutien, sa disponibilité et la confiance qu'elle nous a accordée en nous laissant une grande liberté dans nos choix.*

*Ses conseils pertinents, ses orientations éclairées et ses encouragements ont été d'une aide précieuse tout au long de ce projet.*

*Nos remerciements vont également aux membres du jury, en particulier à **Mme Hamimed** pour avoir présidé le jury et évalué notre travail, ainsi qu'à **Mme Azzouz***

*Pour son examen attentif de notre mémoire. Nous exprimons notre reconnaissance à **Mme Nihad**, **Mme Madjda**, et à toute l'équipe du laboratoire de Biochimie. Leur gentillesse,*

*Leur assistance et leur disponibilité tout au long de notre travail ont été inestimables.*

*Leur patience et leurs conseils ont grandement contribué à la réussite de ce projet.*

*Nous tenons à remercier chaleureusement tous les enseignants qui nous*

*ont accompagnés tout au long de notre parcours universitaire.*

*Nos remerciements s'adressent également à l'ensemble de la promotion de master en*

*Biochimie de l'année 2022 \_2023, avec qui nous avons partagé des moments d'apprentissage, de soutien et d'encouragement.*

*Enfin, nous souhaitons exprimer notre gratitude à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.*

*Leur soutien et leur contribution ont été précieux et nous les en remercions sincèrement.*

**Merci à Tous...**

## *Dédicaces*

*Avant tout, merci à Dieu le tout puissant de m'avoir accordé la force, la santé,  
Le courage et m'accorder son soutien durant les périodes les plus difficiles et les moyens de  
pouvoir accomplir ce modeste travail.*

*Je dédie ce travail à toutes les personnes que j'aime :*

*A ma mère **Houria** qui est la lumière de mes yeux et le bonheur de ma vie, Pour son  
sacrifice, ses conseils et ses encouragements pendant toute ma vie.*

*A mon cher père **BOUDJEMAA** qui m'a soutenu et encouragé durant Ces années d'études.*

*A vous mes **très chères frères et sœurs***

*A tous les jeunes **IYAD, MALAK, ILINE, AMINE...***

*A tous les membres de la famille, du grand au petit.*

*A tous mes amis.*

*A mes binômes **SAMAR** et **SAFA** avec qui j'ai passé des moments inoubliables.*

*A tous mes collègues de **licences** et de **Master Biochimie**.*

*A tous ceux que J'aime*

*A tous un grand **Merci**.*

***\*Hosna\****

## *Dédicaces*

A l'aide de Dieu le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu

Réaliser ce travail Que je Dédié :

*Aux êtres les plus chers : **Mes parents,***

*Que dieu les garde,*

*En témoignage de ma profonde affection.*

*De m'avoir encouragé et soutenu tout au long de mon parcours*

*De m'avoir laissé libre dans mes choix*

*D'avoir prié pour moi*

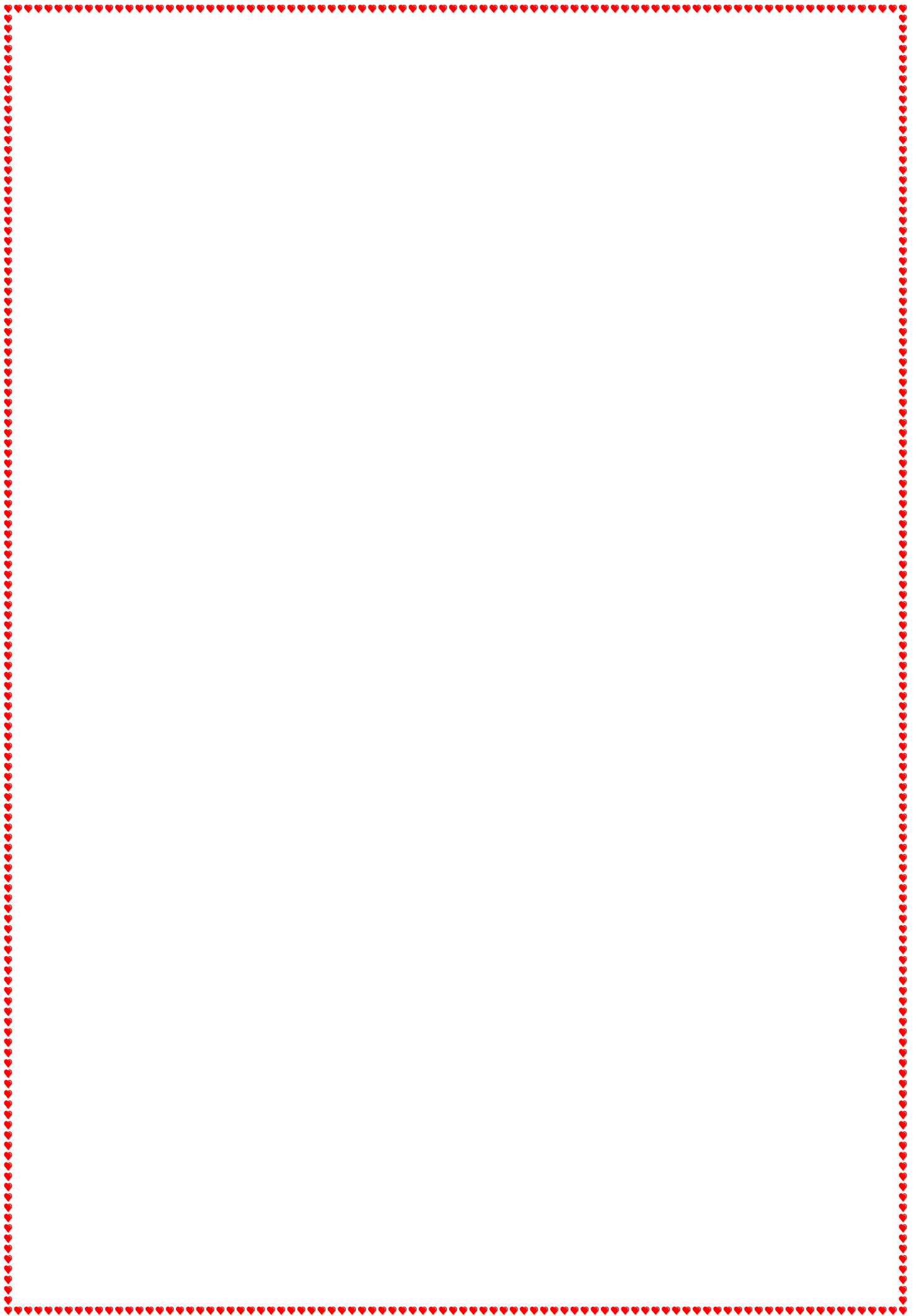
*À mon cher frère et mes chères sœurs*

*À toute ma famille du petit au grand*

*À mes enseignant(e)s et professeur(e)s du primaire à l'université.*

*A mes binômes **Hosna** et **SAFA** avec qui j'ai passé des moments inoubliables.*

***\*samar\****



# Sommaire

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Introduction.....01**

**Partie bibliographique**

## **Chapitre I : Stress oxydatif et les antioxydants.**

I. Le stress oxydatif .....	<b>03</b>
I.1. Définition et généralité.....	<b>04</b>
I.2. Les radicaux libre.....	<b>05</b>
I.3. Les types de radicaux libres.....	<b>06</b>
I.4. Sources des radicaux libres.....	<b>07</b>
I.5. Les cibles principales des ROS.....	<b>08</b>
I.6. Les conséquences des ROS.....	<b>09</b>
I.7. Hépatotoxicité et paracétamol .....	<b>10</b>
II. Les antioxydants.....	<b>11</b>
II.1. Définition des antioxydants.....	<b>12</b>
II.2. Principaux antioxydants.....	<b>13</b>
II.2.1. Les antioxydants synthétiques.....	<b>14</b>
II.2.2. Les antioxydants naturels.....	<b>15</b>
II.2.2.1. Sources et types.....	<b>16</b>

## **Chapitre II : Daphne gnidium**

I. Généralités sur la famille de Thymelaeaceae.....	<b>18</b>
II. Généralités sur le genre Daphne.....	<b>19</b>
III. Systématique.....	<b>20</b>
IV. Description botanique de Daphne gnidium.....	<b>21</b>
V. Composition chimique.....	<b>22</b>
VI. l'utilisation traditionnel et pharmacologique.....	<b>23</b>

## Chapitre III : Biomasse végétale

I. Définition et généralité sur la biomasse.....	24
II. Les différentes types de la biomasse.....	25
III. Pourquoi la biomasse végétale.....	26
IV. Les Fractions de la biomasse et son utilisation.....	27
IV.1. La fraction Cellulosique, hémicellulosique et la lignine.....	28
IV.2. La matière minérale (les cendres) .....	29
IV.3. Les métabolites primaires.....	30
IV.4. Les métabolites secondaires.....	31

### Matériel et méthodes

I. Caractérisation de la biomasse de <i>Daphne gnidium</i> .....	33
I.1. Préparation des échantillons.....	34
I.2. Détermination du taux de matière sèche (MS).....	35
I.3. Détermination du taux de matières minérales (Cendre).....	36
I.4. Détermination du taux d'azote protéique et non protéique.....	37
I.5. Détermination des extractibles au soxhlet et la masse cellulosique et hémicellulosique du <i>Daphne gnidium</i> .....	38
II. Dosage phytochimique des composés phénoliques des extractibles au soxhlet du <i>Daphne gnidium</i> .....	39
II.1. Dosage des polyphénols totaux.....	40
II.2. Dosage des Flavonoïdes.....	41
II.3. Dosage des tanins hydrolysables.....	42
III. Identification phytochimique des extractibles au soxhlet par GC-MS.....	43
VI. Evaluation de l'activité antioxydant.....	44
IV.1. Activité antioxydant <i>in vitro</i> .....	45
IV.1.1. Activité « scavenger » du radical DPPH.....	46
IV.1.2. Pouvoir réducteur de fer FRAP.....	47

IV.2. Activité antioxydant <i>in vivo</i> .....	48
IV.2.1. Traitement des Animaux.....	49
IV.2.2. Sacrifice des souris et prélèvement du sang et des organes.....	50
IV.2.3.2. Paramètre biochimique.....	51
IV.2.4. Dosage des paramètres du stress oxydant.....	52
<b>Résultats et discussions.</b>	
I. La biomasse du <i>Daphne gnidium</i> .....	54
I.1. Le taux de la matière sèche (MS), humidité, cendre et l'azote (N) protéique et non protéique du <i>Daphne gnidium</i> .....	55
I.2. Les rapports des biomasses des extractibles au soxhlet.....	56
I.3. La biomasse totale du <i>Daphne gnidium</i> .....	57
II. Identification des extractibles au soxhlet des feuilles de <i>Daphni gnidium</i> .....	58
II.1. Analyse chromatographie de l'extrait éthanolique de feuille de daphnie gnidium.....	59
II.2. Analyse chromatographie de l'extrait éther du pétrole de feuille de <i>Daphnie gnidium</i> .....	60
II.3. Analyse chromatographie de l'extrait d'eau distillé de feuille de <i>Daphnie gnidium</i> .....	61
III. Etude phytochimique de <i>daphne gnidium</i> .....	62
III.1. Rendement d'extraction .....	63
III.2. Teneur en phénols totaux, flavonoïdes et tanins hydrolysables.....	64
IV. Détermination de l'activité antioxydant.....	65
IV.1. Activité scavenger du radical DPPH•.....	66
IV.2. Pouvoir réducteur.....	67
V. Etude <i>in vivo</i> de l'effet de <i>Daphne gnidium</i> sur le stress oxydatif hépatique.....	68
V.1. Etudes macroscopique.....	69
V.2. Les paramètre biochimique.....	70
V.3. Evaluation du potentiel antioxydant de l'extrait éthanolique de <i>Daphne gnidium</i> .....	71
V.3.1. Concentration des protéines totales du cytosol hépatique.....	72
V.3.2. Peroxydation lipidique.....	73



V.3.3. Glutathion (GSH) cytosolique hépatique.....	74
V.3.4. Activité enzymatique de la superoxyde dismutase SOD.....	75
V.3.5. Activité enzymatique de la catalase.....	76
V.3.6. La glutathion peroxydase.....	77
V.3.7. La glutathion S-transférase (GST).....	78
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>79</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>80</b>
<b>Annexes</b>	
<b>Résumé</b>	

## Liste des Abréviations

**Abs** : Absorbance.

**AG** : Acide Gallique.

**ANOVA** : ANalysis Of Variance.

**ALAT** : Alanine Amino-Transférases.

**ASAT** : Aspartate Amino-Transférases.

**BSA** : Albumine Sérique Bovin.

**BTH** : Butylhydroxytoluène.

**CAT** : Catalase.

**CNRTL** : Centre National de Ressources Textuelles et Lexicales.

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

**EAG** : Equivalent à l'acide gallique.

**EAT** : Equivalent Acide Tannique.

**EQ** : Equivalent de quercétine.

**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène.

**FAO** : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.

**FC**: Folin-Ciocalteu

**FRAP** : Ferric Reducing Antioxidant Power.

**GPx** : Glutathionpéroxydase.

**GSH** : Glutathion.

**GST**: Glutathione-S-transférase.

**HCl** : acide chlorhydrique.

**IC50** : Concentration inhibitrice 50.

**M** : Molarité.

**MDA** : malone-dialdéhyde.

**Nm** : Nanomètre.

**PAL** : Phosphatase Alcaline.

**PCM** : Paracétamol.

**RL** : Radicaux libres.

**SOD** : Superoxyde dismutase.

**TBA**: Thio-Barbituric Acid.

**TCA** : Tri-Chloroacet

## Liste des figures

Figure	Titre	Page
<b>1</b>	Pertinence clinique d'espèces réactives d'oxygène.	<b>4</b>
<b>2</b>	Définition du stress oxydant.	<b>4</b>
<b>3</b>	Conditions cliniques impliquant des espèces d'oxygène réactives.	<b>6</b>
<b>4</b>	Différents groupes d'antioxydants.	<b>8</b>
<b>5</b>	Répartition géographique des Thymelaeaceae.	<b>11</b>
<b>6</b>	Le <i>Daphne gnidium</i> .	<b>13</b>
<b>7</b>	Biodiversités de la biomasse mondiale.	<b>17</b>
<b>8</b>	Localisation géographique de la station de récolte de <i>Daphne gnidium</i> a Harratene-Jijel- Algérie.	<b>29</b>
<b>9</b>	La détermination de la biomasse du <i>Daphne gnidium</i> .	<b>30</b>
<b>10</b>	Photographie des souris Balb/C.	<b>35</b>
<b>11</b>	La biomasse des feuille (A) et des tiges (B) du <i>Daphne gnidium</i> .	<b>45</b>
<b>12</b>	Chromatogramme de l'extrait éthanolique de feuille de <i>Daphne gnidium</i> extrait par soxhlet.	<b>47</b>
<b>13</b>	Chromatogramme de l'extrait d'éther du pétrole de feuille de <i>Daphne gnidium</i> extrait par soxhlet.	<b>49</b>
<b>14</b>	Chromatogramme de l'extrait d'eau distillé de feuille de <i>Daphne gnidium</i> extrait par soxhlet.	<b>51</b>
<b>15</b>	Rendement d'extraction des extractibles au soxhlet de feuille et tige du <i>Daphne gnidium</i> exprimé en pourcentage.	<b>54</b>
<b>16</b>	Représentations graphiques de teneurs en en phénol totaux, flavonoïdes et tanins hydrolysable des feuilles et tiges de <i>daphne gnidium</i> .	<b>56</b>
<b>17</b>	Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• par différents extraits des feuilles et des tiges de <i>Daphne gnidium</i> .	<b>59</b>
<b>18</b>	Les valeurs des IC50 exercées par les extraits de <i>Daphne gnidium</i> et de BHA.	<b>60</b>
<b>19</b>	Pouvoir réducteur de fer des feuilles, des tiges de <i>Daphne gnidium</i> .	<b>62</b>
<b>20</b>	Histogramme représentant les IC50 des extraits de <i>Daphne gnidium</i> et de l'acide ascorbique.	<b>63</b>
<b>21</b>	Observations macroscopiques de foie non traité et traité de souris.	<b>65</b>
<b>22</b>	Comparaison entre le foie de notre étude.	<b>66</b>
<b>23</b>	Variations des concentrations des protéines totales du cytosol hépatique chez les différents groups des souris.	<b>73</b>
<b>24</b>	Variations des taux du MDA cytosolique hépatiquechez les différents groups des souris.	<b>74</b>
<b>25</b>	Variations de taux de GSH cytosolique hépatique chez les différents groups des souris.	<b>76</b>
<b>26</b>	Variations de taux de SOD cytosolique hépatique chez les différents groups des souris.	<b>78</b>

<b>27</b>	Variations de taux de catalase cytosolique hépatique chez les différents groups des souris.	<b>80</b>
<b>28</b>	Variations de taux de GPX cytosolique hépatique chez les différents groups des souris.	<b>81</b>
<b>29</b>	Variations de taux de GST cytosolique hépatiquechez les différents groups des souris.	<b>82</b>

## Liste des Tableaux

<b>Tableaux</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>I</b>	Métabolites de l'oxygène radical et non radical.	<b>5</b>
<b>II</b>	Noms de Daphne gnidium.	<b>12</b>
<b>III</b>	Le taux de la matière sèche (MS), humidité, cendre et l'azote (N) protéique et non protéique du Daphne gnidium.	<b>44</b>
<b>IV</b>	Les rapports des biomasses des extractibles au soxhlet.	<b>44</b>
<b>V</b>	Composition chimique de l'extrait éthanolique de feuille du Daphne gnidium après analyse par GC-MS.	<b>48</b>
<b>VI</b>	Composition chimique de l'extrait éther du pétrole de feuille du Daphne gnidium après analyse par GC-MS.	<b>50</b>
<b>VII</b>	Composition chimique de l'extrait d'eau distillé de feuille du Daphne gnidium après l'analyse par GC-MS.	<b>52</b>
<b>VIII</b>	Les variations des taux des transaminases (ASAT/ALAT), phosphatase alcaline et bilirubine, cholestérol et triglycéride chez différents groupes des souris.	<b>67</b>

# *Introduction*



### Introduction

L'Algérie est reconnue pour sa biodiversité exceptionnelle, notamment sa riche diversité de flore, qui compte environ 3000 espèces de plantes, dont 15 % sont endémiques et appartiennent à diverses familles botaniques. Ce trésor floristique renferme un potentiel considérable, notamment des plantes aux propriétés médicinales, aromatiques, voire parfois toxiques, mais qui demeure largement inexploité sur le plan chimique et pharmacologique. Nous sommes convaincus que cette diversité végétale représente une source prometteuse de composés naturels aux applications multiples (Quezel et Santa, 1963).

Au fil des dernières décennies, l'exploration de la biomasse végétale a suscité un intérêt croissant dans la recherche de nouvelles molécules bioactives. Cette exploration a souvent impliqué l'étude des utilisations traditionnelles de ces plantes dans différentes régions du monde (Odonne et al., 2017 ; Schuster et al., 2017). La chimie des plantes, bien que vieille comme discipline, demeure d'une grande pertinence. Cela s'explique en grande partie par le fait que le règne végétal regorge d'une variété impressionnante de molécules bioactives (Ferrari, 2002) aux applications potentielles dans divers secteurs tels que l'industrie, l'alimentation, la cosmétologie, la dermatopharmacie et la santé.

Parmi ces composés fascinants, nous trouvons les acides phénoliques, les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les anthocyanines. La majorité de ces métabolites secondaires ont été découverts grâce à des enquêtes ethnobotaniques, soulignant ainsi l'importance cruciale de l'étude de la biomasse végétale dans la recherche de nouvelles molécules bioactives, ouvrant ainsi la porte à de nombreuses applications bénéfiques pour la société et l'environnement (Bahorun, 1998 ; Marfak, 2003).

*Le Daphne gnidium* est une plante renommée pour ses propriétés thérapeutiques exceptionnelles et son potentiel antioxydant. Des recherches approfondies ont mis en lumière ses capacités remarquables, notamment dans le domaine de la santé, en particulier pour lutter contre le stress oxydatif, une condition associée à de nombreuses maladies (Gao et al., 2021 ; Nayeli et al., 2020).

Le foie, en tant qu'organe de détoxification, est souvent le premier à interagir avec les substances absorbées par le tractus gastro-intestinal. Il réagit de différentes manières aux insultes toxiques, notamment par la dégénérescence cellulaire, la nécrose, l'hyperplasie des voies biliaires et la fibrose. Ces pathologies peuvent résulter d'une hépatotoxicité induite par

le stress oxydatif des métabolites ou des produits de dégradation, notamment les radicaux libres (Onu et *al.*, 2013). Ces derniers augmentent le risque de lésions hépatiques en oxydant des biomolécules, notamment les lipides, et en provoquant la libération de cytokines pro-inflammatoires (Narasimha et *al.*, 2017).

Actuellement, l'efficacité et la sécurité des produits chimiques utilisés en médecine suscitent de nombreuses préoccupations. Les effets toxiques potentiels des produits pharmaceutiques sont un sujet de préoccupation majeur. C'est pourquoi de nombreuses recherches se concentrent sur la découverte de thérapies de substitution d'origine naturelle, présentant un faible risque d'effets indésirables (Kheyar et *al.*, 2014). L'exploration des plantes médicinales revêt ainsi un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances naturelles, sans les inconvénients liés à la toxicité des produits chimiques.

Dans ce contexte, la biomasse secondaire, notamment les composés phénoliques, attire une attention croissante en tant qu'agents potentiels pour la prévention et le traitement des maladies du foie. Ils exercent une variété d'effets pharmacologiques importants sur le stress oxydatif, le métabolisme lipidique et l'inflammation, qui sont les processus pathologiques les plus importants dans l'étiologie des maladies hépatiques (Mir et *al.*, 2010). Les polyphénols sont donc au centre de l'attention en ce qui concerne la thérapie des maladies du foie (Li et *al.*, 2018).

Dans le cadre de notre étude, nous avons entrepris d'évaluer l'activité antioxydante et hépatoprotectrice des extraits de la plante *Daphne gnidium*. Notre travail vise donc deux objectifs principaux :

- ❖ L'estimation des composés phénoliques présents dans la plante étudiée en utilisant la technique de dosage spectral UV-VIS.
- ❖ L'évaluation de l'activité antioxydante et hépatoprotectrice de cette plante contre la toxicité hépatique induite par le PCM (paracétamol).



# *Partie*

# *Bibliographique*



*Chapitre I :*  
*Stress oxydatif et*  
*les antioxydants*

## I. Le stress oxydatif :

### I.1. Définition et généralité :

L'oxygène (ou dioxygène, O<sub>2</sub>), molécule indispensable à la vie, a joué un rôle extraordinaire dans l'évolution des formes vivantes, à l'exception des organismes unicellulaires anaérobies, tous les organismes vivants requièrent de l'oxygène moléculaire (O<sub>2</sub>) pour une production d'énergie sous forme d'ATP, appelée phosphorylation oxydative se fait notamment par l'intermédiaire de chaînes de transport d'électrons présente au niveau de la membrane interne des mitochondries (Francois Rees et *al.*, 2004 ; Migdal et Serres., 2011).

Néanmoins, l'oxygène est toxique lorsqu'il est fourni à des concentrations supérieures à celles de l'aire (Martinez-Cayuella, 1995) et lorsqu'il subit à des étapes successives de réduction, cela conduit à la formation des radicaux libres et d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Barouki, 2006).

Ces espèces oxygénées sont produits par l'organismes au cours des réactions métaboliques normales des cellules (Amarti et *al.*, 2011), et agissent comme des molécules régulatrices et de signalisation, participent à la division, à la différenciation et à la mort cellulaire c'est-à-dire participent à l'homéostasie cellulaire (Magallón et *al.*, 2021).

D'un autre côté et dans certaines situations telle que la pollution, le tabagisme, une consommation excessive d'alcool, l'inflammation chronique et malnutrition, les radicaux libres sont produits en excès et provoquent une diminution de la capacité de défense antioxydant (Defralgne et Pincemail., 2008). L'excès de radicaux libres non neutralisés par les systèmes de défense de notre organisme est un acteur clé dans l'apparition de nombreuses pathologies chroniques comme les maladies cardio-vasculaires, le cancer ou diabète sucré (Zbadi et *al.*, 2018). Pour échapper à ces graves conséquences des radicaux libres et pour renforcer les défenses endogènes de l'organismes l'apport d'antioxydants synthétiques s'avère nécessaire, mais ces derniers sont connus pour leurs effets négatifs dangereux sur la santé humaine en raison de leurs effets cancérogènes et toxicologiques (Amarti et *al.*, 2010), pour cela la recherche de substances naturelles issues des plantes possède des propriétés anti-radicalaires actuellement prend un intérêt croissant (Ben-Moussa et *al.*, 2020), qui fonctionnent pour inhiber l'initiation ou la propagation de la réaction oxydative en chaîne et agissant comme des pièges de radicaux libres (Ping Xu et *al.*, 2017).

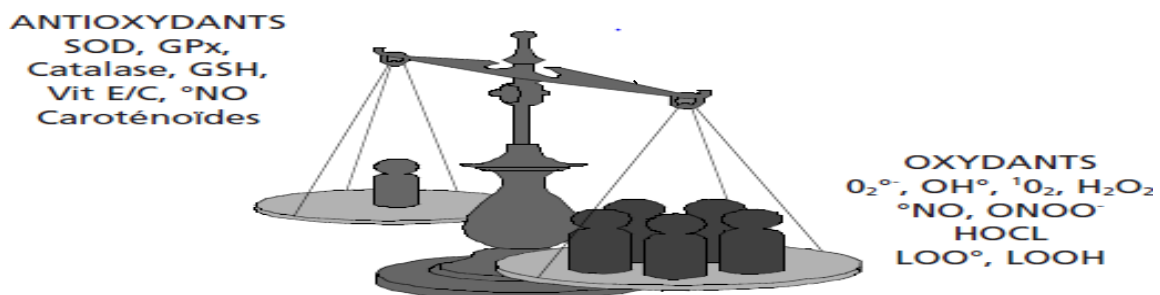
Dans des conditions physiologiques la balance antioxydants / pro-oxydants est en équilibre (Figure 01) (Zbadi et *al.*, 2018), et la perturbation de cet équilibre provoque des

effets délétères dus, soit à une défense antioxydant défailante, soit à un état pro-oxydatif accru, nommé stress oxydant (Berger, 2006).



**Figure 01** : Pertinence clinique d'espèces réactives d'oxygène (Magallón et al., 2021).

**Le stress oxydant** est un état qui résulte d'un déséquilibre entre la production d'éléments oxydants et de mécanismes de défense antioxydants (Figure 02) (Morena et al., 2002). Ce déséquilibre provient soit d'une production exagérée d'agents oxydants, soit d'une altération des mécanismes de défense (Favier., 2003). Le stress oxydant résultera d'une situation où l'organismes ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques (Zbadi et al., 2018).



**Figure 02** : Définition du stress oxydant (Morena et al., 2002).

## I.2. Les radicaux libres

**Les radicaux libres** sont des espèces chimiques (molécules ou atomes) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (non appariés) dans leur orbite extérieure (Sanders et Greenamyre., 2013), généralement instables, très réactifs et de très courte demi-vie, sont formés de manière continue en petites quantités pendant le métabolisme normal des cellules (Zweier et Talukder, 2006). L'ensemble des radicaux libres et leurs précurseurs est souvent appelé **espèces réactives de l'oxygène (ROS)** (Merouane et al., 2014).

### I.3. Les types de radicaux libres

Les ROS est un terme collectif utilisé pour décrire les petites molécules dérivées de l'oxygène, qui comprend à la fois les radicaux libres et les molécules non radicales avec des électrons appariés comme indiqué dans le tableau suivant (Rubio et Ceron, 2021).

**Tableau I** : Métabolites de l'oxygène radical et non radical (Kohen et Nyska, 2002).

Espèces radicalaires		Espèces non radicalaires	
Nom	Symbole	Nom	Symbole
Anion superoxyde	O <sub>2</sub> •-	Peroxyde d'hydrogène	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Radical hydroxyle	OH•	Peroxyde organique	ROOH
Radical peroxyde	ROO•	Acide hypochlorique	HOCl
Radical alkoxyde	RO•	Oxygène singulet	O <sub>2</sub>
Monoxyde d'azote	NO•	Peroxyde nitrite	ONOO

### I.4. Sources des radicaux libres

Les ROS proviennent de deux sources principales.

La source exogène généralement liée aux modes de vie (Tabac, alcool, Médicaments, faibles consommations en fruits et légumes, la prise de pilule contraceptive, l'exposition immodérée au soleil, Exercice intense ou mal géré...etc.) et une exposition environnementale à des facteurs pro oxydants (pollution, radiations, ozone, Contacts avec des substances cancérigènes, etc.).

L'autre source est endogène, résultat de certains mécanismes biochimiques tels que Inflammation, Altérations mitochondriales, activations enzymatiques comme le cas des Xanthine-oxydase (ischémie-reperfusion), surcharge en fer et l'oxydation de certains Molécules comme l'hémoglobine...etc. Tous conduit à une production accrue des d'EOA dans notre organisme (Defraigne et Pincemail., 2008 ; Haleng et al., 2007).

### I.5. Les cibles principales des ROS

La production excessive des radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques : oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides.

En effet, l'attaque des lipides, des protéines ou de l'ADN par les ROS génère des biomolécules oxydées peuvent être utilisées comme des " empreintes digitales" pour détecter la contrainte oxydative dans les cellules (Powers et Jackson., 2008).

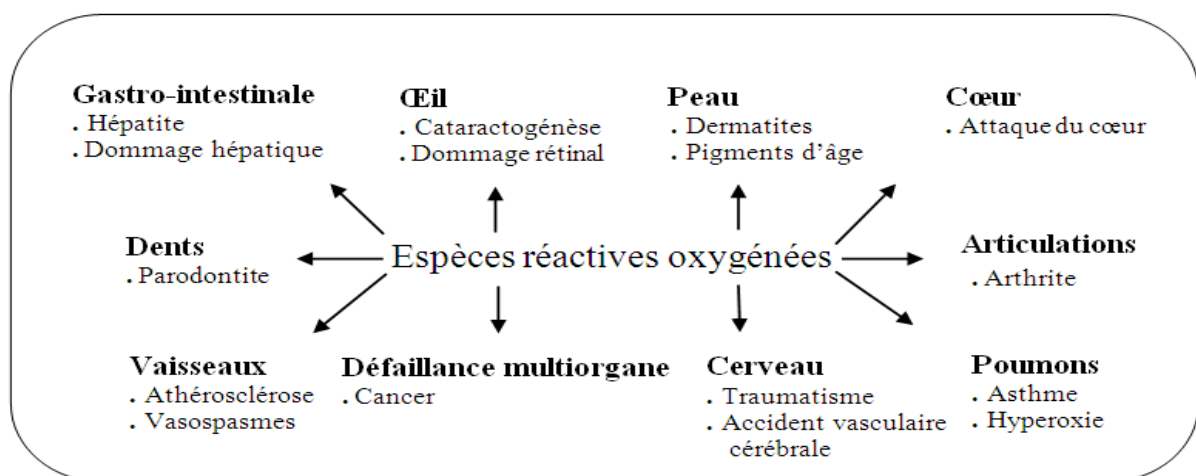
**-La peroxydation lipidique :** Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle ( $\text{HO}\bullet$ ) ; par conséquent, cela endommage la membrane cellulaire et les lipoprotéines et entraîne à son tour la formation de malondialdéhyde (MDA) et de composés diènes conjugués ; ces deux sont appelés composés cytotoxiques et mutagènes. (Hajam et al., 2022).

**-l'oxydation de l'ADN :** L'ADN est une cible privilégiée pour les EOA (Haleng et al., 2007), la destruction de l'acide nucléique se produise par des altérations de leurs bases et de leurs sucres de désoxyribose (Martinez-Cayuella, 1995). L'évaluation de l'oxydation de l'ADN par analyse des niveaux de la base oxydée. (Powers et Jackson., 2008).La guanine, par exemple, peut réagir avec  $\bullet\text{OH}$  pour former la 8-hydroxy-2-déoxyguanosine (8-OH-DG) (Haleng et al., 2007).

**- l'oxydation des protéines :** Les ROS peuvent agir directement ou indirectement sur les protéines pour provoquer une gamme de modifications oxydatives, l'oxydation de la chaîne polypeptidique de la protéine, le clivage des liaisons peptidiques, la réticulation protéine-protéine et des modifications sur la chaîne latérale des acides aminées (Kelly et Mudway, 2003), la mesure des carbonyles protéiques comme indicateurs d'oxydation de protéines (Powers et Jackson., 2008).

## I.6. Les conséquences des ROS

La perturbation métabolique et cellulaire par les ROS conduit à l'apparition de maladie plurifactorielle telle le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires, et associé à des nombreuses complications de l'évolution (Figure 03). (Favier, 2003 ; Mezouar et al., 2014).



**Figure 03 :** Conditions cliniques impliquant des espèces d'oxygène réactives (Lee et al., 2004).

## 1.7. Hépatotoxicité et paracétamol

Lorsque le foie est exposé à des substances toxiques, telles que les produits chimiques environnementaux, les médicaments hépatotoxiques ou l'alcool, ces substances peuvent induire des réactions d'oxydation et générer des radicaux libres (Larson et al., 2018). Les radicaux libres peuvent endommager les structures cellulaires, y compris les membranes, les protéines et l'ADN, en provoquant une oxydation excessive (Jakubczyk et al., 2020 ; Lobo et al., 2010 ; Pizzino et al., 2017).

La relation entre la toxicité et l'oxydation dans le foie due à une prise excessive de paracétamol est bien documentée. Le paracétamol, également connu sous le nom d'acétaminophène, est un analgésique et un antipyrétique largement utilisé (Prescott, 2000). Cependant, à des doses élevées, il peut entraîner des lésions hépatiques graves, des fois mortelles (Popiolek et al., 2021). Lorsque le paracétamol est métabolisé dans le foie, une petite fraction est transformée en un métabolite toxique appelé N-acétyl-p-benzoquinone imine (NAPQI) (Rotundo et Prysopoulos., 2020). Le NAPQI est normalement neutralisé par le glutathion, un antioxydant endogène présent dans les cellules hépatiques. Cependant, lorsqu'une forte dose de paracétamol sont prises, la quantité de NAPQI produite dépasse la capacité du glutathion à le neutraliser. En conséquence, le NAPQI réagit avec des protéines et des lipides cellulaires, induisant un stress oxydatif important. Le stress oxydatif provoque des dommages aux membranes cellulaires, à l'ADN et aux protéines, ce qui peut entraîner une dysfonction hépatique grave (Chiew et Buckley., 2021). De plus, le NAPQI peut également provoquer une inflammation et une réponse immunitaire, aggravant les lésions hépatiques. Le stress oxydatif résultant de la prise excessive de paracétamol peut également épuiser les réserves de glutathion dans le foie, ce qui réduit davantage la capacité de neutralisation des radicaux libres. Cela crée un cercle vicieux où le stress oxydatif augmente, entraînant une toxicité hépatique accrue (Rotundo et Prysopoulos., 2020).

La modulation du stress oxydatif peut viser la formation des espèces oxydantes, leur neutralisation ou leur destruction (Descamps et al., 2006), pour cela les systèmes biologiques sont équipés de systèmes antioxydants très protecteurs, suffisamment efficaces pour neutraliser les radicaux libres excessifs et protéger les cellules contre leurs effets nocifs (Aslani et Ghobadi., 2016), c'est-à-dire pour se protéger des effets délétères des EOA, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydants ( Haleng et al., 2007).

## II. Les antioxydants

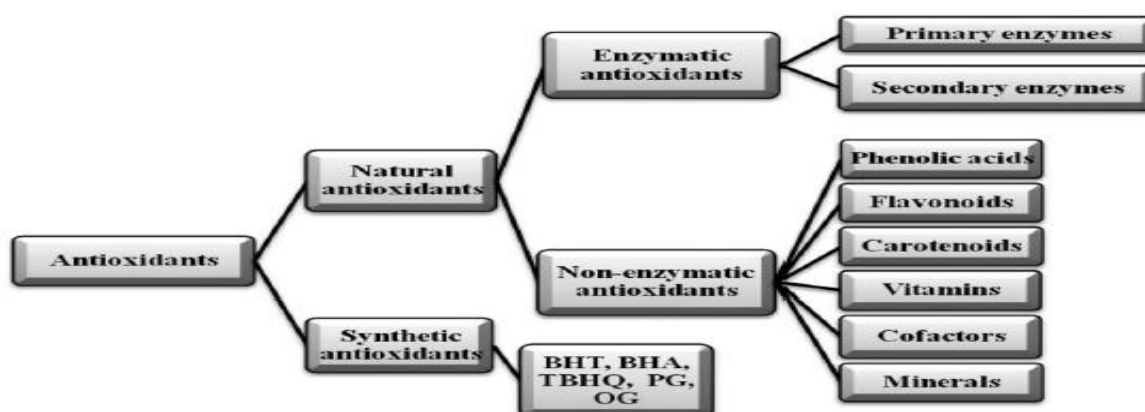
### II.1. Définition des antioxydants

Un antioxydant est une molécule capable de ralentir ou d'empêcher l'oxydation d'autres molécules (Kabel, 2014), ou toute substance qui présente à faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat (Berger., 2006).

Les antioxydants sont des molécules qui peuvent donner des électrons ou un atome d'hydrogène (atome H) aux oxydants, ainsi d'arrêter les réactions en chaîne (Atta et al., 2017), donc les antioxydants permettent de maintenir des niveaux non cytotoxiques de ROS (Rees et al., 2004) et peuvent protéger les humains des processus d'oxydation et par conséquent diminuer les maladies chroniques liée au stress oxydatif (Bensida et al., 2020).

### II.2. Principaux antioxydants

Un grand nombre d'antioxydants naturels et synthétiques ont été trouvés (Figure 04) (Neha et al., 2019).



**Figure 04 :** Différents groupes d'antioxydants (antioxydants naturels et synthétiques) (Bensida et al., 2022).

#### II.2.1. Les antioxydants synthétiques

**Les antioxydants synthétiques** utilisés comme additifs alimentaires pour maintenir la qualité des aliments et protéger des phénomènes d'oxydations, par exemple le BHT (Butyl Hydroxy Toluène) et le BHA (Butyl Hydroxy Anisole). L'utilisation de ces derniers est restreinte en raison des effets indésirables sur la santé humaine et leurs effets cancérigènes et toxicologiques (Amarti et al., 2013). Pour cela, de nouvelles recherches sont donc menées afin de découvrir de nouveaux antioxydants d'origine naturelle (Bougandoura et Bendimerad, 2013).



## II.2.2. Les antioxydants naturels

**Les antioxydants naturels** sont classés en deux groupes principaux :

Les antioxydants endogènes ( **enzymatiques** ) représentée par des enzymes fabriquées par l'organisme et sont composés d'enzymes primaires et secondaires, les enzymes primaires sont la glutathion peroxydase (GPx), la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase (CAT) et ces enzymes catalysent directement la décomposition des espèces ROS en composés inactifs, tandis que les enzymes secondaires comprennent la glutathion réductase (GR) et la glucose-6-phosphate déshydrogénase (Bensida et al., 2020 ; Haleng et al., 2007).

Et les antioxydants exogènes (**non enzymatiques**), proviennent principalement des aliments et des plantes médicinales, telles que les fruits, les légumes et les herbes médicinales traditionnelles, travaille pour éliminer les contaminants de métaux de transition pro-oxydants, désactivent l'oxygène singulet et piègent les radicaux libres.

Ces antioxydants naturels issus des matières végétales sont principalement des polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, anthocyanes, lignanes et stilbènes), des caroténoïdes (xanthophylles et carotènes) et des vitamines (vitamines E et C). (Ping Xu et al., 2017 ; Bensida et al., 2020).

### II.2.2.1. Sources et types

Les plantes sont fréquemment utilisées dans la médecine traditionnelle, car elles produisent un vaste répertoire de métabolites secondaires bioactifs leurs voies métaboliques normales, ces métabolites jouent un rôle majeur dans la protection des plantes contre les infections microbiennes et un rôle vital dans le domaine du développement des médicaments ,aussi largement utilisées comme antioxydants exogènes tels que les huiles essentielles, les alcaloïdes et les composés phénoliques extraites d'elles. (Soumia al., 2019 ; Martelli et Giacomini., 2018 ; Ben-Moussa et al.,2020).

**Les polyphénols** sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal (Djeddi et al., 2015), ces composés découlent du métabolismes secondaires des plantes (Carocho et al., 2018), caractérisés par la présence de plusieurs groupement phénols et un ou plusieurs groupe hydroxyles associés en structures plus ou moins complexes, généralement les composés phénoliques hydrosolubles et de haut poids moléculaires (Chira et al., 2008 ), ils prennent un grand intérêt notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé.

En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et leur traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires ; ils sont

également utilisés comme additifs en industrie agroalimentaires, pharmaceutique et cosmétique (Bougandoura et Bendimerad, 2013).

Parmi les mécanismes d'action des composés phénoliques impliqués dans la prévention de pathologies chroniques les effets suivants :

- un effet inhibiteur sur les enzymes oxydatives comme les cyclooxygénases et lipoxygénases.
- un effet d'économie d'enzymes antioxydants (SOD, catalase, glutathion peroxydase ...).

- un effet de diminution de la cholestérolémie et de « rééquilibrage » des lipides sanguins (HDL/LDL).

- ce sont d'excellents piègeurs des EOA et de très bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivre (Chira et al., 2008 ; Haleng et al., 2007).

**Les alcaloïdes** sont des composés hétérocycliques azotés et basiques, dérivant d'acides aminés (Yinyang J et al., 2014), et l'une des classes importantes de métabolites secondaires isolés des plantes qui possèdent des propriétés pharmacologiques importante, comme l'activité anticancéreuses, antibactériennes, antivirales, antioxydants et antifongiques. Néanmoins, lorsque les métabolites secondaires sont consommés à des doses élevées, des effets toxiques peuvent être observés (Thawabteh et al., 2019).

Les alcaloïdes classés en fonction de leur structure chimique (système de cycle hétérocyclique) et leur origine naturelle en différentes catégories, notamment lesalcaloïdesindole, tropane, pipéridine, purine, imidazole, pyrrolizidine, pyrrolidine, quinolizidine et isoquinoline (Kaur et Arora, 2015)

**Les huiles essentielles** ou essences sont des complexes naturels de molécules volatiles et odorantes synthétisées par les plantes aromatiques et médicinales comme métabolites secondaires, ces huiles possèdent des intérêts croissant dans les industries et les recherches scientifique en raison de leurs propriétés antiseptiques, antimicrobiennes, antivirales, antiparasitaires, anticancéreuses et anti-oxydants et utiles comme conservateurs naturels dans les industries agroalimentaires (Farah et Abdelhafid, 2008 ; Angone et al., 2014). L'huile essentielle a été obtenue par hydrodistillation de la matière végétale (Djeddi et al., 2015) et généralement peu polaire (liposoluble), volatils et odoriférants (Farah et Abdelhafid, 2008).

*Chapitre II :*  
*Daphne gnidium*

## I. Généralités sur la famille de Thymelaeaceae

Les Thymelaeaceae est une famille de taille moyenne composée de 50 genres et Environ 900 espèces, principalement réparties en Afrique, Australie et Asie (Rogers, 2009). Les membres de cette famille sont largement distribués dans les régions tropicales et Les régions tempérées de la planète, en particulier l'Afrique, ne sont que La région au climat le plus froid (Borris et *al.*, 1988).

La famille du thym est polyvalente et économiquement importante dans les régions où elle pousse (Neffatiet Sghaie, 2014).

Parmi les principaux genres de Thymelaeaceae, nous avons le genre *Daphne*, C'est Genre le plus répandu en raison de sa valeur médicinale, il contient environ 70 espèces. (Barka et Benmoussa, 2018).



**Figure 05 :** Répartition géographique des Thymélaeaceae d'après Heywood (1996).

## II. Généralités sur le genre *Daphne*

*Daphne* est le nom grec du laurier d'après le nom de nymphe, fille de Pénéée, courtisée par Apollon et changée en laurier. Le nom gnidium est le nom grec du Daphne, de Gnidium, ile de Crète (Guide illustré de la flore Algérienne).

**Garou** ou *Daphne gnidium* L. est un arbuste de la famille du *Thymelaeaceae* (Mahmoud DIF et al., 2015). Il est fréquent chez les nomades méditerranéens, en surtout dans les montagnes nord –africaines de la Tunisie et du Maroc. Nous se produit généralement sur des pentes abruptes le long des limites de la vallée. La pièce la plus utilisée sont les feuilles, les fruits et l'écorce (El Fennouni, 2012).

**Tableau II** : Noms de *Daphne gnidium*.

<b>Noms communs</b>	Garou, Daphné paniculé, Garouette, Saint bois, Thymélée de Montpellier, Thymélée à feuilles de lin, Lin bâtard, Lin sauvage, Bois d'oreilles, Bois de garou, Coquenaudier, Camélée noire, Trintanelle (LEANDRI Jacques, 1928).
<b>Nom scientifique</b>	<i>Daphne gnidium</i> L.
<b>Nom Français</b>	Garouette, Garou, Sain-bois, Thymélée, Lin batrad, Boi d'oreille, Trintanelle (Letouzey, 1982).
<b>Nom Anglais</b>	Flax-leaved Daphne, Flax-leaved Thymelea (Marshall, 2017).
<b>Nom Kabyle</b>	Lazzaz, inif, methnane (Bnouham et al., 2002)
<b>Nom arabe</b>	Arzzaz (Ballakhdar, 1997).

### III. Systématique

Le tableau IV résume la classification systématique de daphné, commesuit :

Pareek et Sharmas, (2017) ; Dupont et Guignard, (2015) ; Sovrlic et Manojlovic, (2016).

**Règne** : *Plantae*

**Embranchement** : *Magnoliophyta*

**Sous-embranchement** : *Angiospermes*

**Classe** : *Dicotylédones (Magnoliopsida)*

**Sous- Classe** : *Rosidae*

**Ordre** : *Malvales*

**Famille** : *Thymelaeaceae*

**Genre** : *Daphne*

**Espèce** : *Daphne gnidium* L.



## VI. L'utilisation traditionnelle et pharmacologique

*Le daphne gnidium* a été utilisé à des fins médicinales depuis l'Antiquité, tout d'abord au Maroc le *daphne gnidium* est l'une des espèces les plus signalées et citées dans les études ethnobotaniques. Les feuilles sont utilisées dans différentes régions marocaines pour le soin des cheveux (Khouchlaa et al., 2021), où elles sont séchées, pulvérisées et mélangées avec celles de henné, de thuya et harmmel et sont utilisées en cataplasme sur le cuir chevelu contre la chute de cheveux et les pellicules (Benkhniq et al., 2010). *Daphne gnidium* est également utilisé pour traiter les maladies dermatologiques par infusion des feuilles, contre les intoxications et le diabète. En Algérie, cette espèce est également utilisée pour les soins capillaires, dans le cas de dépression nerveuses, contre la sinusite, les douleurs rhumatismales (Khouchlaa e tal., 2021) et plus particulièrement a été utilisée avec l'huile d'olive contre les douleurs inflammatoires (Ameni, 2015). En Tunisie, les feuilles de *daphne gnidium* sont prescrites contre le cancer de la peau. En Espagne *daphne gnidium* et utilisé comme insecticide pour l'odontalgie, les maladies de la peau, du tissu sous cutané et de la gorge. En Italie, cette espèce est utilisées pour son effet antiparasitaire, et comme remède contre les infections gastro-intestinales (Khouchlaa et al., 2021).

Il a été démontré dans ses travaux que divers extraits organiques de cette plante ont une activité antiproliférative, insecticide, anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique et antioxydante, grâce à sa richesse en composés naturels tels que les coumarines, les flavonoïdes..., etc. (Ladhari et al., 2011).

D'ailleurs l'étude de (Chaouki et al., 2009) a montré l'effet antiprolifératif des racines de *Daphne gnidium* par l'inhibition de la prolifération cellulaire et d'induire l'apoptose dans la lignée cellulaire de cancer du sein humain MCF-7.

De plus (Harizi et al., 2011) ont rapporté que l'extrait alcoolique des feuilles de *Daphne gnidium* a démontré des propriétés anti-inflammatoires in vitro en inhibant les macrophages de souris et les lymphocytes activés. En outre l'extrait alcoolique des feuilles a également montré une activité antibactérienne contre *Bacillus lentus* et *Escherichia coli*. Cela suggéré que la plante pourrait être utile pour le traitement des infections bactériennes.

Une autre la recherche de (Vidal et al., 2012) a démontré que l'analyse in vitro d'un extrait de dichlorométhane (CH<sub>2</sub>CL<sub>2</sub>) obtenu à partir des parties aériennes de *Daphne*

*gnidium* présente une forte activité antirétrovirale, il est intéressant de noter que cet extrait est riche en diterpènes tels que la daphnétoxine, la gnidicine, la gniditrine et l'exocoecariatoxine.

D'autre part, Une étude in vitro de (Mohammadi et Atik., 2013) a montré qu'un extrait méthanoïque de feuille de *D. gnidium* possédait une activité antifongique et anti aflatoxine contre le champignon *Aspergillus flavus*, grâce à son abondance de flavonoïdes et de coumarines.

En effet, *Daphne gnidium* est une plante qui présente une activité antioxydant importante. Les études adaptées sur cette plante ont montré que les extraits de ses différentes parties, notamment les feuilles, les tiges et les fleurs, présentent une forte capacité antioxydant.

Par exemple, l'étude menée par (Dessi et al., 2001) a montré que l'extrait méthanoïque de feuilles de *D. gnidium* en Italie présentait une forte activité antioxydante avec un IC50 de 2,0 µg dans le test examinant l'oxydation de l'acide linoléique et l'auto-oxydation à 37°C.

De même, l'extrait méthanoïque de fleurs de *D. gnidium* en Algérie a montré un pouvoir anti radicalaire important à une concentration de 5,90 mg/g (Dif et al., 2015), tandis que l'extrait méthanoïque de feuilles de *D. gnidium* en Tunisie a présenté le pourcentage d'inhibition maximal de 74,52 % avec une valeur IC50 de 45 mg/ml (Chaabane et al., 2016).

Ces activités antioxydants ont été attribuées à la richesse en composés phénoliques et flavonoïdes de la plante, tels que les coumarines, les acides phénoliques et les flavanols, qui ont entraîné des pièges à radicaux libres et permis les cellules contre les dommages oxydatifs.

En raison de ses propriétés pharmacologiques le *daphne gnidium* est considérée une plante médicinale.



*Chapitre III :*

*Biomasse  
végétale*

## **I. Définition et généralité sur la biomasse**

Le terme "**biomasse**" est apparu en 1966 et est composé de deux mots : "bio" qui signifie la vie et "masse" qui se réfère à la quantité ou à la masse totale d'une substance, ou à la quantité totale de matière organique vivante dans un écosystème, qu'il s'agisse de plantes, d'animaux, de micro-organismes ou de déchets organiques (Administration., 2022; Dictionary).

En France, la définition de la biomasse est donnée par l'article 29 de la loi 2005-781 de programmation fixant les orientations de la politique énergétique dite "POPE". Selon cette loi, la biomasse est définie comme "la fraction biodégradable des produits, déchets et résidus provenant de l'agriculture, y compris les substances végétales et animales, de la sylviculture et des industries connexes ainsi que la fraction biodégradable des déchets industriels et ménagers".

## **II. Les différents types de la biomasse**

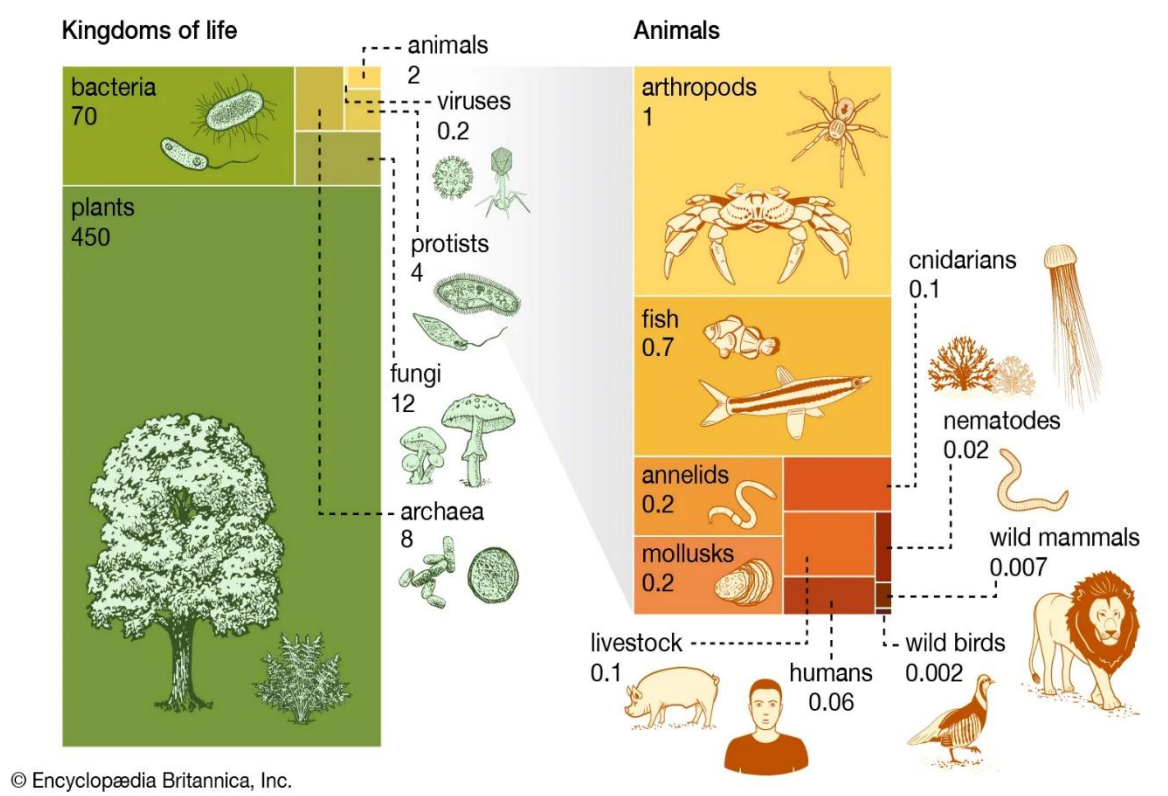
La biomasse peut être caractérisée selon trois critères différents :

- ✓ La teneur en eau : la biomasse peut être fraîche ou sèche. La biomasse fraîche contient une quantité importante d'eau, tandis que la biomasse sèche est dépourvue d'eau.
- ✓ La vitalité : la biomasse peut contenir des organismes morts ou vivants. Cette caractéristique peut être importante dans le cadre de l'utilisation de la biomasse en tant que source d'énergie renouvelable, car la présence d'organismes vivants peut avoir un impact sur les processus de dégradation et de fermentation.
- ✓ L'origine : la biomasse peut être d'origine végétale ou animale ou microbienne. La biomasse végétale est issue de la photosynthèse et comprend par exemple les arbres, les herbes, les cultures, etc. La biomasse animale est constituée de déchets organiques issus de l'élevage, de la pêche, ou encore des déchets alimentaires (Skorupski,R et der Landschaft ; Zafar,S, 2023).

L'analyse de ces critères permet de mieux comprendre les caractéristiques et les propriétés de la biomasse, ce qui facilite la sélection et l'optimisation de son utilisation pour des applications spécifiques. Une approche scientifique rigoureuse tenant compte de ces facteurs est essentielle pour exploiter au mieux le potentiel de la biomasse en tant que ressource précieuse dans le contexte d'une économie durable et circulaire (Fantini, 2017).

### III. Pourquoi la biomasse végétale ?

La biomasse végétale (la biomasse forestière, la biomasse agroalimentaire et la biomasse urbaine) qui présentent la biomasse la plus lourde dans l'environnement : 82,4 % de la biomasse totale (Bar-On et al., 2018) et la proportion de forêts par rapport à la surface terrestre mondiale est tombée à 31,2% en 2020, couvrant au total 4,1 milliards d'hectares, selon l'agence des Nations unies chargée de l'agriculture et de l'alimentation (FAO) Plus de 28 000 espèces végétales sont actuellement recensées comme ayant un usage médicinal et nombre d'entre elles se trouvent dans les écosystèmes forestiers (**Figure 07**).



**Figure 07:** biodiversités de la biomasse mondiale (Britannica, 2023).

Les forêts abritent une ressource renouvelable précieuse : les arbres et les plantes qui les composent peuvent être utilisés pour produire de la biomasse. L'utilisation de cette biomasse végétale est souvent considérée comme une option simple et peu coûteuse en matière de traitement et de transformation, comparée à d'autres matières organiques (Lyubchik et al., 2019). Cette biomasse est principalement constituée de parties de plantes qui sont souvent inutilisées, telles que les feuilles, les racines...etc. De plus, elle peut provenir de plantes délaissées qui n'ont pas été exploitées. Cette biomasse contient des éléments importants et

indispensables, notamment pour l'industrie pharmaceutique. Ainsi, il est crucial de valoriser cette ressource naturelle et renouvelable de manière responsable et durable pour préserver les forêts et leur biodiversité (Kumar et al., 2021 ; Titus et al., 2021).

La biomasse végétale se compose de composants biologiques essentiels, tels que l'eau, les fibres alimentaires (cellulose, hémicellulose et la lignine), la matière minérale (composants inorganiques) et la matière organique (Les métabolites primaires et secondaires). Ces composants de la biomasse végétale sont d'une importance capitale pour exploiter pleinement les ressources naturelles des plantes, que ce soit pour l'alimentation, la médecine ou la production d'énergie (Cabañas-García et al., 2021)

## **IV. Les Fractions de la biomasse et son utilisation**

### **IV.1. La fraction Cellulosique, hémicellulosique et la lignine**

La cellulose, l'hémicellulose et la lignine sont des composants importants des parois cellulaires des plantes et constituent la majeure partie de la biomasse végétale (Terrett et Dupree, 2019).

La cellulose est un polymère de glucose qui forme des fibres solides et rigides dans les cellules végétales. Elle est considérée comme le principal composant des parois cellulaires et représente environ 40 à 50 % de la matière sèche des plantes (Dampanaboina et al., 2021)

L'hémicellulose est un polymère de sucre complexe qui est également présent dans les parois cellulaires des plantes. Elle représente environ 20 à 30 % de la matière sèche des plantes. (Rao et al., 2023)

La lignine est un polymère complexe d'unités phénoliques qui se dépose dans les parois cellulaires des plantes. Elle représente environ 15 à 25 % de la matière sèche des plantes. La lignine est importante pour la rigidité et la résistance mécanique des tissus végétaux, mais elle peut également constituer un obstacle pour la production de biocarburants car elle est difficile à décomposer (Kang et al., 2019).

Les applications de la cellulose, de l'hémicellulose et de la lignine sont diverses et variées. Utilisation dans l'industrie papetière et textile : La cellulose est le principal composant des fibres de bois, qui sont utilisées pour la production de papier et de carton ; peut être utilisée pour produire des fibres textiles, telles que le coton et la viscose (Li et al., 2021).

Dans l'industrie alimentaire : L'hémicellulose peut être utilisée comme agent de texture dans les aliments, la cellulose, un agent de remplissage et la lignine comme colorant alimentaire (Tao et *al.*, 2020)

Dans l'industrie pétrolière, La cellulose et l'hémicellulose peuvent être hydrolysées en sucres simples et fermentées pour produire des biocarburants tels que le bioéthanol, bio-essence...etc. La lignine peut également être utilisée comme source d'énergie dans les centrales électriques à biomasse (Prasad et *al.*, 2022).

## **IV.2. La matière minérale (les cendres)**

Les cendres végétales sont les résidus minéraux qui restent après la combustion complète d'une plante ou d'une matière végétale. Ces cendres sont riches en minéraux tels que le potassium, le calcium, le magnésium et le phosphore (Bhatla et *al.*, 2018).

En agriculture : les cendres peuvent être utilisées comme amendement du sol pour améliorer sa fertilité. Elles apportent des minéraux essentiels tels que le calcium, le potassium, le phosphore et le magnésium, qui sont nécessaires à la croissance des plantes.. Elles peuvent également aider à ajuster le pH du sol (Basu et *al.*, 2009; Martirena et Monzó, 2018)

Construction et génie civil : Les cendres peuvent être utilisées dans la fabrication de matériaux de construction tels que les briques, les blocs de béton et les revêtements routiers. Elles peuvent servir de liant ou d'additif pour améliorer les propriétés mécaniques des matériaux (Galvín et *al.*, 2021 ; Sall et *al.*, 2020).

Production d'énergie : Les cendres produites lors de la combustion de biomasse ou de combustibles fossiles peuvent être utilisées comme combustible dans les centrales thermiques pour générer de l'électricité. Elles contiennent une quantité importante de carbone et de minéraux qui peuvent être valorisés énergétiquement (Zhou et *al.*, 2022).

Industrie chimique : Certains composants des cendres peuvent être extraits et utilisés dans l'industrie chimique pour la production de produits tels que les engrais, les produits chimiques, les pigments et les matériaux de construction spéciaux (Patel, 2020).

Traitement des eaux : Les cendres peuvent être utilisées dans le traitement des eaux usées pour éliminer certains contaminants. Elles ont des propriétés adsorbantes qui peuvent aider à l'élimination des métaux lourds et d'autres substances indésirables (Zhai et *al.*, 2021)

### IV.3. Les métabolites primaires

Sont des composés chimiques synthétiser à partir de matières premières simples telles que le dioxyde de carbone, l'eau et les sels minéraux présents dans le sol. Ils sont appelés "primaires" car ils sont produits par toutes les plantes et sont nécessaires à leur métabolisme de base. Comprennent les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques .(Ouedraogo et *al.*, 2021)

➤ **Les glucides végétaux** sont des macronutriments composés de carbone, d'hydrogène et d'oxygène que l'on trouve dans les aliments d'origine végétale (Knudsen et *al.*, 2022). Les glucides végétaux sont constitués de chaînes de molécules de sucre reliées entre elles par des liaisons glycosidiques et se présentent sous différentes formes selon leur structure, leur composition et leur fonction. Ils peuvent être classés en deux catégories principales : les glucides simples (monosaccharides et disaccharides) et les glucides complexes (oligosaccharides et polysaccharides) (BeMiller, 2014 ; Knudsen et *al.*, 2022 ; Navarro et *al.*, 2019).

On les trouve dans les fruits, les légumes, les céréales, les légumineuses et les graines. ils sont cruciaux pour le métabolisme des plantes, car ils sont utilisés comme source et stockage d'énergie, (Piper & Paula, 2020) régulent la croissance et le développement, et protègent contre le stress environnemental (Mishra et *al.*, 2022; Yoon et *al.*, 2021).

Les glucides végétaux peuvent être utilisés comme source de matières premières pour la production de nombreux bioproduits, notamment :

Les bioplastiques : Les glucides végétaux peuvent être utilisés pour produire des bioplastiques, qui sont des plastiques biodégradables fabriqués à partir de matières premières renouvelables. L'amidon de maïs est utilisé pour produire du PLA (acide polylactique), un bioplastique utilisé dans les emballages alimentaires et les produits jetables (Fethiza et *al.*, 2022 ; Krishnamurthy et Amritkumar, 2019 ; Lors et *al.*, 2022 ; Sagnelli et *al.*, 2016).

Les produits chimiques biosourcés : Les glucides végétaux peuvent être utilisés comme matière première pour la production de nombreux produits chimiques, tels que les acides organiques, les alcools, les solvants et les colorants. Ces produits chimiques peuvent être utilisés dans des applications industrielles telles que la production de produits pharmaceutiques, de cosmétiques et de produits chimiques fins (Piper et Paula, 2020).

Aliments fonctionnels : Les glucides végétaux tels que les fibres alimentaires peuvent être utilisés comme ingrédients dans la production d'aliments fonctionnels. Les aliments fonctionnels sont des aliments qui ont des propriétés bénéfiques pour la santé, telles que la réduction du cholestérol, la régulation du sucre dans le sang et la promotion de la santé intestinale (Huang et al., 2022).

➤ **Les lipides végétaux** : sont des graisses d'origine végétale qui se trouvent dans les Huiles, les graines et les fruits oléagineux (l'huile d'olive, l'huile de tournesol, l'huile de colza ...etc.). Les noix et les graines.(Dayeswari et al., 2019) Ils sont constitués principalement d'acides gras, qui sont des composés organiques contenant des atomes de carbone, d'hydrogène et d'oxygène. Les acides gras peuvent être saturés, monoinsaturés ou poly-insaturés en fonction de la structure de leur chaîne carbonée. Les lipides végétaux contiennent souvent des acides gras insaturés qui sont bénéfiques pour la santé.(Stuchlík et Zak, 2002)

Les lipides végétaux ont plusieurs fonctions clés dans le métabolisme des plantes. Ils sont principalement utilisés comme réserves d'énergie, sont utilisés pour construire les phospholipides membranaires (Colin et Jaillais., 2020; Xu et Shanklin, 2016). Ils sont également importants dans la signalisation cellulaire chez les plantes. Certains lipides agissent comme des hormones végétales et régulent la croissance, le développement et la réponse au stress de la plante (Colin et Jaillais, 2020).

Les lipides végétaux, sont dérivés de diverses plantes et sont couramment utilisés dans une variété d'applications (Bellou et al., 2014 ; Tao, 2007 ; Xu et al., 2023). Sont utilisées dans la production de revêtements et de polymères pour améliorer leurs propriétés, telles que l'adhérence, la flexibilité et la durabilité. Elles peuvent également être utilisées comme alternative renouvelable et biodégradable aux huiles et résines synthétiques (Ataei et al., 2019; Paraskar et al., 2021). Les huiles végétales peuvent être utilisées comme lubrifiants dans diverses applications, telles que le travail des métaux, l'automobile et la machinerie. Elles offrent une bonne lubrification et ont une faible toxicité par rapport aux huiles synthétiques (Hájek et al., 2021)

Les huiles végétales sont utilisées dans la formulation de cosmétiques et de produits pharmaceutiques comme émoullients, hydratants et transporteurs d'ingrédients actifs. Elles sont également utilisées dans la production de liposomes et de microémulsions (Alves et al., 2019) ; sont utilisées comme adjuvants dans les formulations de pesticides et d'herbicides pour améliorer leur efficacité et réduire l'impact environnemental (Mehdizadeh et al., 2020)

➤ **Les protéines végétales :** Certaines protéines végétales de haute qualité

Comprennent le soja, le chanvre et la protéine de pois. Ces protéines sont considérées comme des protéines complètes, ce qui signifie qu'elles contiennent tous les neuf acides aminés essentiels que le corps ne peut pas produire seul (Guéguen et *al.*, 2016)

Les protéines végétales jouent un rôle crucial dans la croissance et le développement des plantes. Les cellules des plantes contiennent différents types de protéines qui remplissent diverses fonctions. Les enzymes sont des protéines qui facilitent les réactions chimiques essentielles pour la photosynthèse et la respiration. Les protéines structurelles fournissent un support et une forme à la plante, notamment la cellulose dans les parois cellulaires. (Zhang et *al.*, 2021). Les protéines de défense protègent la plante contre les pathogènes et les prédateurs. La diversité des protéines végétales joue un rôle crucial dans la survie et la croissance des plantes, et leur compréhension est essentielle pour améliorer la production agricole et la sécurité alimentaire (Boutrot et Zipfel, 2017 ; Ya Li et *al.*, 2020 ; Tang et *al.*, 2019).

Les protéines végétales ont une large gamme d'applications dans l'industrie alimentaire, ainsi que dans d'autres industries telles que les cosmétiques, les produits pharmaceutiques et les aliments pour animaux (Katiyar et *al.*, 2021 ; Liu et *al.*, 2021 ; Mobin et *al.*, 2019). Sont couramment utilisées comme source de protéines dans une variété de produits alimentaires, notamment les alternatives à la viande, des produits laitiers et de boulangerie, les snacks et les compléments nutritionnels. Des exemples comprennent le tofu, le tempeh, les burgers à base de plantes et les barres protéine (Njakou Djomo et *al.*, 2020).

Les protéines végétales peuvent être utilisées comme émulsifiants et stabilisants dans les produits alimentaires pour aider les ingrédients à se mélanger et à maintenir leur consistance. Des exemples comprennent l'isolat de protéine de soja et l'isolat de protéine de pois. (Perez et *al.*, 2016). Elles peuvent être utilisées comme texturisant dans les produits alimentaires pour imiter la texture et la sensation en bouche des produits carnés et laitiers (Sim et *al.*, 2021) Des exemples comprennent le gluten de blé et le concentré de protéine de soja ,comme adhésifs dans des industries telles que la fabrication de papier et le traitement du bois (Arif et *al.*, 2018).

Dans les cosmétiques et les produits de soins personnels pour hydrater et conditionner la peau et les cheveux, comprennent la protéine de blé hydrolysée et la protéine de soja (Santo et *al.*, 2022).



#### IV .4. Les métabolites secondaires

Ce sont des composés organiques produits par les plantes, les champignons et les bactéries qui ne sont pas essentiels à leur croissance et leur développement, mais qui jouent des rôles écologiques importants tels que la défense contre les prédateurs, les pathogènes et les stress environnementaux. Ces composés sont souvent synthétisés en réponse à des signaux environnementaux spécifiques ou à des interactions avec d'autres organismes. (Macheix et al., 2005).

Les métabolites secondaires des plantes sont classés en quatre grandes catégories selon la classification de la British Nutrition Foundation. Les terpénoïdes sont des composés organiques dérivés de l'isopentényl pyrophosphate et comprennent des sous-catégories telles que les caroténoïdes, les stérols, les glycosides cardiaques et les volatils végétaux. Les composés phénoliques sont des composés organiques contenant un ou plusieurs groupes phénoliques et comprennent des sous-catégories telles que les lignanes, l'acide phénolique, les tanins, les coumarines, les lignines, les stilbènes et les flavonoïdes. Les composés azotés comprennent des sous-catégories telles que les acides aminés non protéiques, les glucosides cyanogéniques et les alcaloïdes. Enfin, les composés soufrés comprennent des sous-catégories telles que le GSH (cité l'abréviation), le GSL (cité l'abréviation), les phytoalexines, les thionines, les défensines et les lectines. La classification des métabolites secondaires des plantes est basée sur leur structure chimique, leur biosynthèse et leur fonction biologique. (Ahmed et al., 2017)

Les plantes possèdent des métabolites secondaires différents en termes de qualité et de quantité, ce qui peut les distinguer les unes des autres. Ces métabolites peuvent varier en fonction de différents facteurs tels que l'espèce, la variété, le stade de croissance, les conditions environnementales, les pratiques agricoles, etc. (Yang et al., 2018). La présence et la quantité de ces métabolites secondaires peuvent affecter les propriétés physiologiques et les interactions écologiques de la plante, ainsi que leur utilisation pour l'alimentation humaine, la médecine et d'autres applications (Yanqun Li et al., 2020).

La plante *Daphné gnidium* sur laquelle porte notre étude, elle est constituée de plusieurs classes chimiques qui ont été identifiées dans l'huile essentielle et les extraits de cette plante. Les terpénoïdes sont l'une des principales classes de composés présents dans *D. gnidium*, avec des monoterpènes tels que le  $\beta$ -pinène et le limonène, ainsi que des sesquiterpènes tels que le

Agents anticancéreux : Le paclitaxel, que l'on trouve dans l'if du Pacifique, et L'artémisinine, que l'on trouve dans l'armoise annuelle, ont été utilisés pour développer des médicaments pour traiter le cancer. Ces composés se sont révélés avoir des propriétés antitumorales et peuvent être utilisés pour ralentir ou arrêter la caryophyllène et l' $\alpha$ -humulène. Les flavonoïdes, tels que la quercétine et la luteoline, ont également été identifiés dans cette plante, tout comme les coumarines, comme la scopoletine ont également été trouvés dans les extraits de cette plante, tout comme les alcanes, tels que l'heptacosane et le nonacosane (Khouchlaa et al., 2021)

➤ **Les terpénoïdes** : Un groupe de métabolites secondaires des plantes qui sont les plus Abondants et les plus diversifiés sur le plan structural, avec une grande variété d'activités biologiques et ont de nombreuses utilisations dans diverses industries, y compris l'industrie des parfums et des arômes, l'industrie alimentaire, cosmétiques et des produits de soins personnels, pharmaceutique et l'industrie des produits de nettoyage. Ont été utilisés en médecine traditionnelle depuis 1960. Avec l'avancée de la science moderne, les terpénoïdes ont été identifiés comme des produits biopharmaceutiques potentiels, avec une gamme d'applications dans le développement de médicaments (Yang et al., 2020) comme :

Agents anti-inflammatoires : Tels que la curcumine, que l'on trouve dans le curcuma, et l'acide boswellique, ont des propriétés anti-inflammatoires et peuvent être utilisés pour développer des médicaments pour traiter des affections liées à l'inflammation, telles que l'arthrite et l'asthme (Ge et al., 2022; Kieliszek et al., 2020)

croissance des cellules cancéreuses (Kamran et al., 2022).

Agents neurologiques : Le menthol, que l'on trouve dans la menthe poivrée, la thuyone, dans l'armoise, ont des effets neurologiques et peuvent être utilisés pour développer des médicaments pour traiter des affections telles que l'épilepsie et la maladie d'Alzheimer (González-Cofrade et al., 2019).

Agents cardiovasculaires : Le resvératrol, que l'on trouve dans les raisins et le vin rouge, ont des effets cardiovasculaires et peuvent être utilisés pour développer des médicaments pour traiter des affections telles que l'hypertension et les maladies cardiaques (Hua et al., 2022)

Parfums et arômes : Les terpénoïdes sont largement utilisés dans l'industrie des parfums

Et des arômes. Les huiles essentielles, qui sont riches en terpénoïdes, sont utilisées pour produire des parfums naturels pour les cosmétiques, les produits de soins personnels et les produits ménagers (Manina et Forlani, 2023).

➤ **Les flavonoïdes** : Ils appartiennent à la sous-classe des composés polyphénoliques, Caractérisés par leurs multiples cycles phénoliques dans leur structure chimique. Les flavonoïdes sont essentiels pour divers processus physiologiques chez les plantes, servant de pigments, offrant une protection contre les rayons ultraviolets (UV) nocifs et participant aux mécanismes de défense contre les agents pathogènes et les ravageurs (Agati et al., 2020; Hernández et al., 2009). Sont connus pour leurs applications diverses et étendues dans de nombreux domaines. Leur intérêt s'est accru encore davantage avec la pandémie de COVID-19, ce qui a entraîné une multiplication par cinq des études entre 2018 et 2020 (Carrillo et Borthakur, 2021)

Les flavonoïdes sont utilisés dans la formulation de nutraceutiques et de compléments alimentaires. En raison de leurs avantages potentiels pour la santé, des extraits riches en flavonoïdes ou des composés isolés sont incorporés dans des suppléments visant à soutenir la santé cardiovasculaire, la fonction immunitaire, la défense antioxydante et le bien-être général (Georgiev et al., 2014 ; Lin et Weng, 2006 ; Tapas et al., 2008). Sont utilisés dans l'industrie des cosmétiques et des produits de soins personnels en raison de leurs propriétés antioxydantes et anti-âge. On les retrouve dans les produits de soins de la peau tels que les crèmes, les sérums et les lotions, ainsi que dans les produits capillaires pour leurs potentiels bienfaits dans le maintien de la santé de la peau et la promotion de la croissance des cheveux. (Čižmarová et al., 2023). Ont été étudiés pour leur application potentielle en agriculture en tant qu'agents protecteurs naturels des cultures. Certains flavonoïdes possèdent des propriétés antimicrobiennes et insecticides, ce qui peut contribuer à la protection des plantes contre les parasites et les maladies. Ils peuvent être utilisés dans la formulation de biopesticides ou en tant que régulateurs de croissance des plantes (Shah et Smith, 2020).

Certains flavonoïdes présentent des activités pharmacologiques et ont été étudiés pour leurs applications thérapeutiques potentielles, y compris la quercétine, l'héspéridine et l'EGCG, ont été étudiés pour leurs propriétés anti-inflammatoires. Ils peuvent inhiber la production de médiateurs inflammatoires et d'enzymes, réduisant ainsi l'inflammation dans le corps. Ces effets anti-inflammatoires font des flavonoïdes des candidats potentiels pour la gestion des affections inflammatoires telles que l'arthrite, l'asthme et les maladies

inflammatoires de l'intestin (Khan et al., 2020 ; Maleki et al., 2019). Certains flavonoïdes ont démontré des activités antimicrobiennes contre un large éventail d'agents pathogènes, y compris les bactéries, les champignons et les virus. Cela en fait des candidats potentiels pour le développement de nouveaux agents antimicrobiens ou de thérapies complémentaires pour les maladies infectieuses (Biharee et al., 2020 ; Górnjak et al., 2019 ; Wang et al., 2019).

Les flavonoïdes ont attiré l'attention en raison de leur potentiel effet anticancéreux. Plusieurs études ont montré que les flavonoïdes peuvent inhiber la croissance des cellules cancéreuses, induire leur mort cellulaire (apoptose) et prévenir la formation de nouveaux vaisseaux sanguins qui alimentent les tumeurs (angiogenèse). Des flavonoïdes tels que la quercétine, l'hespéridine et l'EGCG ont démontré une activité anticancéreuse prometteuse dans des études précliniques et des essais cliniques précoces (Kikuchi et al., 2019 ; Kopustinskiene et al., 2020 ; Liskova et al., 2020 ; Tavsan et Kayali, 2019).

Les flavonoïdes, sont associés à des bienfaits pour la santé cardiovasculaire. Ils peuvent aider à réduire la pression artérielle, diminuer l'inflammation des vaisseaux sanguins, améliorer la circulation sanguine et prévenir l'oxydation du cholestérol LDL. La quercétine et l'hespéridine, en particulier, ont démontré des effets positifs sur la santé cardiovasculaire. (Ciumărnean et al., 2020 ; Mahmoud et al., 2019 ; Vazhappilly et al., 2019).

➤ **Les coumarines** : Ces composés se composent d'un noyau benzène lié à un noyau Pyrone, exerçons des propriétés pharmacologiques et biologiques importantes. Elles peuvent être utilisées comme alternatives naturelles aux pesticides synthétiques. Leurs propriétés insecticides et répulsives en font des agents précieux pour la lutte contre les ravageurs en agriculture, en horticulture et dans les programmes de gestion des nuisibles. Leur utilisation permet de réduire la dépendance aux pesticides chimiques et de favoriser des pratiques agricoles plus durables (Brooker et al., 2007 ; Brooker et al., 2008 ; Hussain et al., 2018).

Les coumarines sont utilisées dans l'industrie cosmétique et de la parfumerie en tant que composants de fragrance en raison de leurs odeurs agréables. Les coumarines peuvent ajouter des notes sucrées, boisées, vanillées ou épicées aux formulations, leur donnant une signature olfactive distincte. Leur utilisation dans les produits cosmétiques permet de créer des expériences sensorielles agréables pour les consommateurs, en ajoutant une dimension olfactive à la routine de beauté quotidienne (Annunziata et al., 2020).

Les coumarines végétales ont diverses utilisations dans le domaine pharmaceutique en raison de leurs propriétés pharmacologiques (Flores-Morales et al., 2023). La warfarine et

l'acenocoumarol sont largement utilisées comme anticoagulants oraux pour prévenir et traiter les troubles de la coagulation sanguine. Elles inhibent l'activité des facteurs de coagulation dépendants de la vitamine K, réduisant ainsi le risque de thrombose (Gao et al., 2021; Nayeli et al., 2020). Certaines coumarines présentent des propriétés anti-inflammatoires en inhibant les médiateurs inflammatoires et les enzymes impliquées dans la réponse inflammatoire (Alshibl et al., 2020 ; Nayeli et al., 2020). Les coumarines possèdent des propriétés antioxydants qui aident à neutraliser les radicaux libres nocifs et à protéger les cellules des dommages oxydatifs. Elles peuvent être utilisées dans la formulation de compléments alimentaires antioxydants et de produits de soins de la peau (Li et al., 2019; Nibin Joy et al., 2020). Certaines coumarines ont montré un potentiel en tant qu'agents anticancéreux. Elles peuvent inhiber la prolifération des cellules tumorales, induire l'apoptose (mort cellulaire) et inhiber l'angiogenèse (formation de nouveaux vaisseaux sanguins). Les coumarines font l'objet d'études pour leur utilisation potentielle dans le traitement et la prévention du cancer (Önder et al., 2020 ; Rawat et Reddy et al., 2022). Certaines coumarines ont démontré des effets neuroprotecteurs en protégeant les neurones du stress oxydatif, en réduisant la neuroinflammation et en favorisant la survie neuronale. Elles pourraient être utilisées dans le développement de médicaments pour les troubles neurodégénératifs tels que la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson (Carneiro et al., 2021).

Dans notre étude on a choisi la plante du *Daphne gnidium* comme une biomasse végétale afin d'étudier sa composition et ses effets antioxydants, c'est pour la première fois qu'il y a l'étude de la biomasse de cette plante et de valoriser ses différentes parties de biomasse comme antioxydant.

# *Matériel et méthodes*



Depuis quelques années, une attention croissante est portée à la biomasse végétale comme matière première de la chimie. Celle-ci constitue une source importante des produits pharmaceutique ainsi qu'industrielle. Pour cette raison notre travail est basé sur la valorisation d'une plante médicinales algérienne : Le *Daphne gnidium* dans l'objectif d'étudier leur différent rapport de biomasse primaire et secondaire et de valoriser ses derniers comme antioxydant. Le choix de la plante est en relation avec l'utilisation traditionnelle après une enquête ethnopharmacologie auprès de la population de Jijel ayant connaissance de leur usage en médecine traditionnelle réalisé l'année passée, associer par une recherche bibliographique des travaux scientifiques effectués sur la même plante.

## **I. Caractérisation de la biomasse de *Daphne gnidium***

La biomasse du *Daphne gnidium* (**Figure 09**) a été déterminée en suivant la procédure du laboratoire national des énergies renouvelables (NREL) des États-Unis « Détermination of Extractives in Biomasse » (Sluiter et al., 2005).

### **I.1. Préparation des échantillons**

Les échantillons de tiges et feuilles du *Daphne gnidium* ont été récoltés lors de la floraison en mois mars 2023 à 8h à Harratene-Jijel (Nord-Est algérien, 36°79'55.7"N 5°80'28.1"E). L'identification de la plante a été réalisée en se référant à la description rapportée par Miara et al., (2013). Les différentes parties ont été séparées, nettoyées avec de l'eau puis séchées à 40°C dans l'étuve pendant 10 jours. Chaque organe de la plante a été broyé séparément à l'aide d'un broyeur électrique puis tamisés jusqu'à l'obtention d'une poudre fine d'un diamètre inférieur à 125µm. Les poudres obtenues sont conservées dans des flacons en verre bien fermés jusqu'à une utilisation ultérieure.



**Figure 08 :** Localisation géographique de la station de récolte de *Daphne gnidium* a Harratene-Jijel- Algérie (Google maps).

## I.2. Détermination du taux de matière sèche (MS)

La teneur en eau pour les différentes parties des du *Daphne gnidium* a été déterminée par la perte de masse d'un échantillon d'environ 1g de matière, ayant subi un séchage de 16 h dans une étuve à 105°C. la matière sèche est calculé suivant la formule ci-dessous :

Avec:

$$MH(\%) = 100 \times \frac{M_i - M_f}{M_i}$$

M<sub>i</sub> : La masse initiale du creuset et son contenu en gramme ; M<sub>f</sub> : La masse finale du creuset et son contenu sec en gramme ; MH : La teneur en eau de l'échantillon en %.

**Soit la Matière Sèche : MS (%) = 100 – MH**

## I.3. Détermination du taux de matières minérales (Cendre)

La teneur en matières minérales, ou cendres, est déterminée par la perte de masse d'un échantillon d'environ 1g de matière, ayant subi une combustion de 5 h dans un four a moufle à 550°C.

$$MM = 100 \times \frac{(M_i - M_f)}{M_i}$$

Avec M<sub>i</sub> : la masse initiale du creuset et son contenu en gramme ; M<sub>f</sub> : la masse finale du creuset et en gramme, et MM : la teneur en matières minérales de l'échantillon en %.



#### I.4. Détermination du taux d'azote protéique et non protéique

Le dosage d'azote protéique et non protéique a été déterminé par la méthode de précipitation préalable des azotes protéiques de l'échantillon en présence de solution de TCA 12%. Sachant que, la solution de TCA 12% précipite complètement l'azote protéique contenu dans un échantillon et ne solubilise que l'azote non protéique comme l'urée par exemple. L'azote non protéique du surnageant ainsi que l'azote total dans l'échantillon sont ensuite dosés par Kjeldahl. On peut déterminer ainsi la quantité (masse) et le % d'azote protéique dans l'échantillon.

#### I.5. Détermination des extractibles au soxhlet et la masse cellulosique et hémicellulosique du *Daphne gnidium*

Cinq grammes (5g) de poudre végétale ont été placés dans des cartouches celluloses avec 300 ml du solvant d'extraction, soumis à une extraction solide/liquide par l'appareil de Soxhlet, avec trois solvants de polarité croissantes : éther du pétrole, éthanol et eau distillée successivement. Une extraction de 6 h pour chaque solvant, les ballons sont retirés et évaporés et pesés afin de déterminer la biomasse des extractibles pour chaque solvant, puis conservés à 4°C pour les tests phytochimiques et antioxydants.

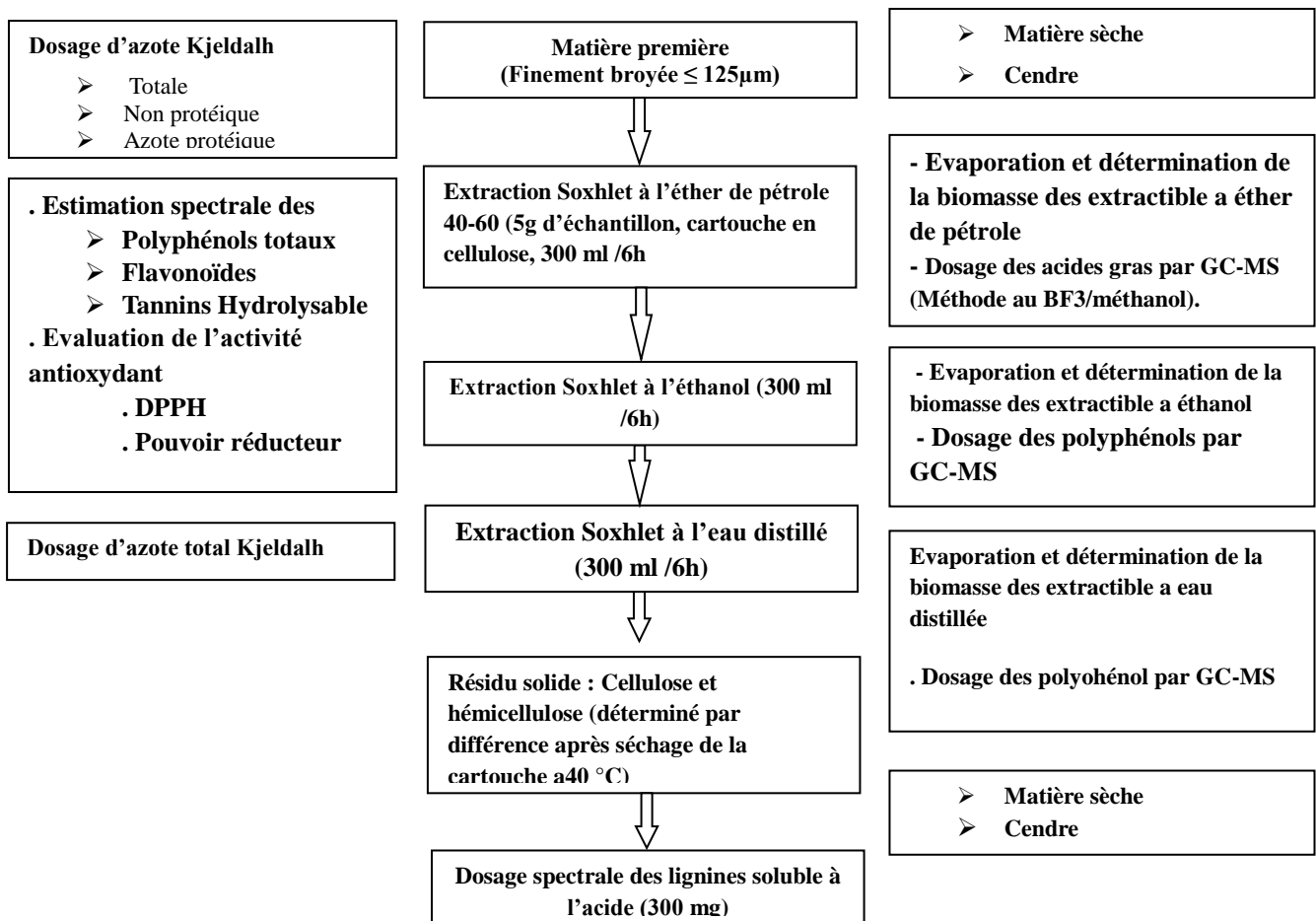


Figure 09 : la détermination de la biomasse du *Daphne gnidium* (Sluiter et al., 2005).

## II. Dosage phytochimique des composés phénoliques des extractibles au soxhlet du *Daphne gnidium*

### II.1. Dosage des polyphénols totaux

#### ❖ Principe

La méthode de Folin-Ciocalteu, développée par **Singleton et al., 1999**, est largement utilisée pour estimer la teneur en polyphénols totaux dans les extraits de plantes. Cette méthode est considérée comme l'une des meilleures méthodes de quantification des polyphénols totaux (**Robards, 2003**).

La méthode de Folin-Ciocalteu est basée sur l'oxydation des polyphénols par le réactif de Folin-Ciocalteu, qui est une solution alcaline de réactifs à base d'acide phosphotungstique et de phosphomolybdique. Les polyphénols présents dans l'échantillon réagissent avec le réactif de Folin-Ciocalteu et forment un complexe bleu intense. La quantité de complexe formé est directement proportionnelle à la concentration totale de polyphénols présents dans l'échantillon. (**Singleton et al., 1999**). La teneur en polyphénols totaux a été déterminée selon la méthode de (**Coe et al., 2013**).

#### ❖ Mode opération

200 µL de chaque extrait à une concentration de 1 mg/ml ont été mélangés avec 1,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10 %) et après incubation pendant 5 min dans l'obscurité, 1,5 ml de solution de carbonate de sodium (7,5 %) ont été ajoutés. Le mélange a été incubé à température ambiante dans l'obscurité pendant 2 heures. L'absorbance a été mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, par rapport à un blanc préparé dans les mêmes conditions en substituant l'extrait au solvant utilisé.

La teneur en polyphénols de nos extraits est calculée à partir de la courbe Étalonnage linéaire ( $y = ax + b$ ), établi avec des concentrations exactes d'acide gallique (20 – 200 µg/ml).

Les Résultats exprimés en microgrammes d'équivalent d'acide gallique par un milligramme des extraits (µg EAG/mg).

## II.2. Dosage des Flavonoïdes

### ❖ Principe

Lors de la réaction entre les flavonoïdes et le trichlorure de fer, une liaison covalente est formée entre les groupements hydroxyles (OH) des flavonoïdes et le trichlorure de fer. Cette réaction conduit à la formation d'un complexe de couleur jaune (Maksimović et al., 2005). Le contenu en flavonoïdes des extraits a été estimé par la méthode de (Djeridane et al., 2006).

### ❖ Mode opération :

Un volume de 1 ml de chaque extrait à concentration (1mg/ml) a été mélangé avec 1 ml De chlorure d'aluminium (2%). Après 15 min d'incubation à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance a été lue à 430 nm.

La Courbe d'étalonnage ( $y = ax + b$ ) établie avec des concentrations exactes de quercétine (5µg-25µg), aux mêmes conditions opératoires que les échantillons seront utilisés pour la quantification des flavonoïdes.

La Teneur en flavonoïdes exprimée en microgrammes équivalents de la quercétine par milligrammes des extraits (µg EQ/mg).

## II.3. Dosage des tanins hydrolysables

### ❖ Principe

Cette méthode est basée sur une réaction avec le trichlorure de fer, le mélange d'extrait tannique plus le réactif du trichlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) provoque une coloration rouge violette du complexe d'où la formation des ions de (Fe<sup>3+</sup>) (Dif et al., 2015). La teneur en les tanins hydrolysables a été déterminée selon la méthode (Mamadou, 2002).

### ❖ Mode opération

Un volume de 1 ml des extraits à concentration 1mg/ml est ajouté à 3.5 ml (FeCl<sub>3</sub> (0.01%) dans HCl (0.01M), après homogénéisation l'absorbance est mesurée à 660 nm.

La Courbe d'étalonnage ( $y = ax + b$ ) établie par l'acide tannique, aux mêmes conditions opératoires que les échantillons seront utilisés pour la quantification des tanins hydrolysables.

La Teneur en tanins hydrolysables exprimée en microgrammes équivalents de l'acide tannique par milligrammes des extraits ( $\mu\text{g EQ/mg}$ ).

### **III. Identification phytochimique des extractibles au soxhlet par GC-MS**

L'analyse chimique des extractibles au soxhlet a été réalisée en utilisant la chromatographie gazeuse Shimadzu GC-2010 couplée au spectromètre de masse QP2010. 1  $\mu\text{l}$  de l'échantillon a été injecté dans l'injecteur sur une colonne capillaire en verre OV1701 de 25 m. Le gaz vecteur (He) a été utilisé à un débit de 1ml/min. Les températures de l'injecteur et du détecteur ont été maintenues à 250 °C. Le programme de température était de 80°C/120°C/250°C. La durée totale de fonctionnement a été achevée en 45 minutes. Le chromatogramme obtenu par chromatographie en phase gazeuse a ensuite été analysé en spectrométrie de masse pour obtenir la masse de toutes les fractions séparées. L'identification des composants a été réalisée par le temps de rétention et la comparaison des spectres de masse de pics inconnus avec ceux stockés dans Wiley 8 et la bibliothèque GC-MS de l'Institut National des Standards et de la Technologie (Nist 05).

### **IV. Evaluation de l'activité antioxydant**

Dans la présente étude, l'activité antioxydant des extraits éthanoliques de *Daphnognidium* a été évaluée *in vitro* avec le test du DPPH et le pouvoir réducteur. *In-vivo* explorée par la capacité des extractible éthanolique contre la toxicité hépatique avec le model du paracétamol.

#### **IV.1. Activité antioxydant *in vitro***

##### **IV.1.1. Activité « scavenger » du radical DPPH**

###### **❖ Principe**

La technique au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est largement employée pour évaluer l'activité anti-oxydante. Le DPPH est un radical libre, stable et caractérisé par une couleur violette. La substance anti-oxydant agit en transférant un électron ou un atome d'hydrogène ce qui conduit à la réduction du DPPH au cours de la réaction et à un changement de coloration jaune pâle. Ce passage, de la première forme à la deuxième, est accompagné d'une diminution de l'absorbance qui peut exprimer le pourcentage de réduction de DPPH. (**Adab et al., 2020**).

### ❖ Mode opération

L'effet « scavenger » des extraits des différentes parties (tiges et feuilles) de *Daphné gnidium* vis-à-vis du radical DPPH est mesuré selon la méthode de (Kroyer et Hegedus, 2001).

Un volume de 2,7 ml de DPPH (60 µM) est ajouté à 0,3 ml de chaque extrait (à différentes concentrations). L'absorbance a été lue à 517 nm, après une heure d'incubation à l'obscurité. Le témoin est préparé de la même manière sauf que l'extrait est remplacé par l'éthanol.

La BHA est utilisé pour la préparation de la courbe standard pour quantifier l'effet scavenger. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est exprimé par la formule suivante :

$$\% \text{ Scavenger du radical DPPH} = (AT - AEch / AT) \times 100$$

D'où :

AT : Absorbance du témoin (300µL éthanol + 2700µL DPPH).

AEch : Absorbance de l'extrait (300 µL extrait + 2700µL DPPH).

## IV.1.2. Pouvoir réducteur de fer FRAP

### ❖ Principe

La méthode de la réduction du fer est basée sur la réduction de fer ferrique en sel de fer par les antioxydants qui donnent la couleur bleue dans le milieu réactionnel à 700 nm. L'augmentation de l'absorbance indique une augmentation de la réduction du fer ferrique donc du pouvoir réducteur des extraits testés (EFFO et al., 2021).

### ❖ Mode opération

Le pouvoir réducteur des extraits a été déterminé selon la méthode de (Limetal., 2006).

0,5ml de différentes concentrations d'extraits sont ajoutés à 20µl de tampon phosphate (0,2M, pH=6,6) puis 1ml de ferricyanure de potassium 1%. Le mélange est incubé à 50° C pendant 20 minutes, puis 1ml d'acide trichloracétique à 10% est ajouté au mélange, suivi d'une centrifugation à 3000 rpm pendant 10minutes. Un volume de 1ml de surnageant a été mélangé avec 1ml d'eau distillée et 0,2 ml de chlorureferrique (0,1%) dans un tube à essai.

L'absorbance à 700nm a été mesurée après homogénéisation et incubation à température ambiante pendant 10 minutes.

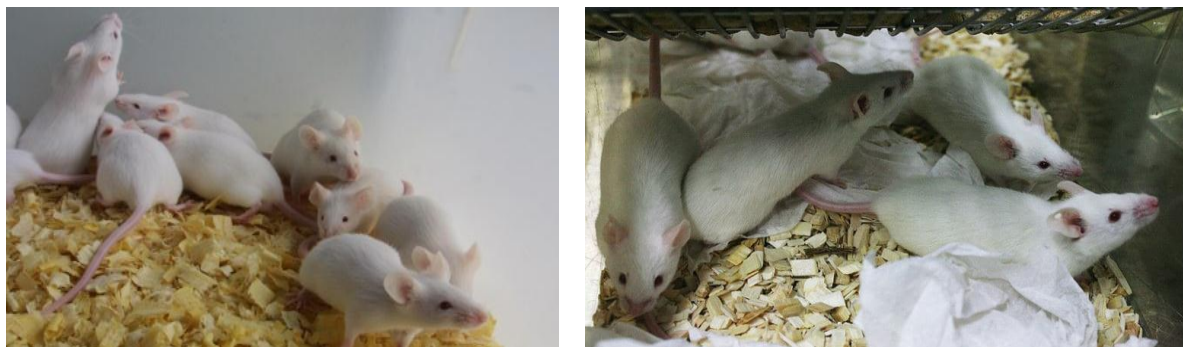
L'acide ascorbique est utilisé pour générer une courbe standard pour quantifier l'activité réductrice.

## IV.2. Activité antioxydant *in vivo*

L'activité antioxydant *in vivo* des extractibles au soxhlet du *Daphne gnidium* a été évalué contre la toxicité hépatique avec le model du paracétamol. Le teste a été exploré par le dosage des paramètres biochimiques, telle que les transaminases, la phosphatase alcaline, la bilirubine et le billon lipidique : cholestérol et triglycéride ainsi que les paramètres du stress oxydatif enzymatique et no enzymatique.

### IV.2.1. Traitement des Animaux

Notre étude de l'activité antioxydant *in vivo* a été réaliser sur 48 souris femelle de type *Balb/C*, pesant entre 19 g et 30 g au début d'expérience, (**Figure 12**) fournis par l'institut Pasteur, Alger. Les souris ont été hébergées dans l'animalerie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université MohamedSeddik Ben Yahia Jijel. Lessourisavaientlibreaccèsà l'eau etàlanourrituredanslesconditionsde l'animalerie pendant une période d'adaptation de 7 jours.



**Figure 10 :** Photographie des souris Balb/C de la partie expérimentale *in vivo* de l'effet préventif des extraits éthanolique des feuilles du *Daphne gnidium* contre la toxicité hépatique par le paracétamol.

Les souris ontétérépartis selon le poids dansdes cages. Ils ontétérépartis 6 lots (8 sourisparcage). Les extraits éthanoliques des feuilles de *Daphne gnidium* (25 ; 75 et 100mg/Kg) ainsi que le véhicule eau physiologique, le standard (Silymarine à 200 mg/kg) et le paracétamol (1g/kg) ont été administrés aux souris par voie intra-gastrique (IG), à l'aide d'une sonde gastroœsophagienne comme ci-dessous :

**Lot 1 (control) :** A reçu l'eau physiologique.

**Lot 2 (paracétamol) :** A reçu de l'eau physiologique et une dose de 2g /kg de PCM.

**Lot 3 (Silymarine) :** A reçu Silymarine et une dose de 2g/kg de PCM.

**Lot 4 (hépatoprotectrice 25mg /kg) :** A reçu une dose de 25mg /kg de l'extrait des feuilles et une dose de 2g/kg de PCM.

**Lot 5 (hépatoprotectrice 75mg/kg) :** A reçu une dose de de 75mg/kg de l'extrait des feuilles et une dose de 2g/kg de PCM.

**Lot 6 (hépatoprotectrice 100mg/kg) :** A reçu une dose de de 100mg /kg de l'extrait des feuilles et une dose de 2g/kg de PCM.

### **IV.2.2. Sacrifice des souris et prélèvement du sang et des organes**

En sacrifiant les souris après la période de suivi de 24 heures par décapitation sous légère anesthésie à la vapeur de chloroforme, cela après un jeûne nocturne. Au moment du sacrifice, les organes prélevés dans des tubes secs pour déterminer les paramètres biochimiques. Les tubes de sang ont ensuite été centrifugés à 3000 rpm pendant 15 min pour séparer le sérum. Le sérum a été récupéré et stocké à -20°C pour des analyses ultérieures. Le foie de chaque souris a été récupéré soigneusement après dissection et submergé dans l'eau physiologique pour drainer le sang, puis congelé à -20 °C pour le dosage des paramètres du stress oxydant.

### **IV.2.3. Paramètre hépatique**

#### **IV.2.3.1. Etude Macroscopique et détermination de L'indice d'anomalie hépatique**

Les foies ont été ouverts pour examiner les anomalies hépatiques. Les échantillons ont été rincés avec de l'eau physiologique pour éliminer les contaminants et ensuite étalés pour faciliter l'observation des lésions. L'indice d'anomalie hépatique (IAH) a été déterminé selon les méthodes décrites par (Main et Whittle, 1975) et (Ajaikumar et al., 2005).

L'IAH est calculé en attribuant des valeurs numériques aux différents niveaux d'anomalie hépatique. Par exemple, un score de 0 indique l'absence d'anomalie, un score de 1 correspond à une anomalie superficielle, un score de 2 représente une anomalie profonde et un score de 3 indique une perforation.

$$\text{IAH} = [1 \times (\text{Nombre de lésions de garde 1}) + 2 \times (\text{Nombre de lésions de garde 2}) + 3 \times (\text{Nombre de lésions de garde 3})] \times 10^{-1}$$

$$\% \text{ d'inhibition} = [(\text{IAH du témoin} - \text{IAH du traité}) / (\text{IAH du témoin})] \times 100$$

### IV.2.3.2. Paramètre biochimique

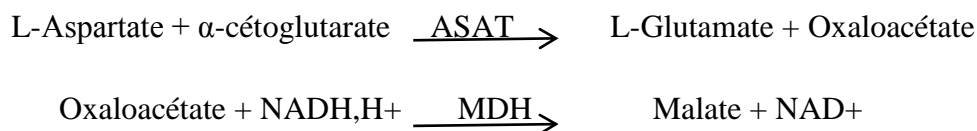
#### a) Dosage sanguin des transaminases (ASAT/ALAT)

La concentration des enzymes est indiquée en unités internationales par litre de substrat (UI/L). Une unité internationale (UI) correspond à la quantité d'enzymes capable de transformer 1 micromole ( $\mu\text{mol}$ ) de substrat par minute.

##### ❖ Principe

##### ➤ Aspartate aminotransférase (ASAT)

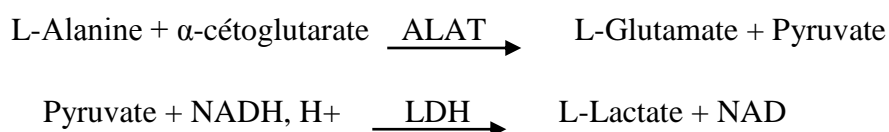
L'aspartate aminotransférase (ASAT) appelée aussi le glutamate oxaloacétate transaminase (GOT) catalyse le transfert d'un groupe aminé à partir de l'aspartate à l'acétoglutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate. Ce dernier est réduit en malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH, H<sup>+</sup> (Nicotinamide adénine dinucléotide) selon les réactions suivantes :



Le taux de diminution de la concentration en NADH, H<sup>+</sup> mesuré par spectrophotométrie à 340 nm, est proportionnel à l'activité catalytique de ASAT (Davila et *al.*, 1989).

##### ➤ Alanine amino transférase (ALAT)

L'alanine aminotransférase (ALAT) appelée aussi le glutamate-pyruvate transaminase (GPT) catalyse le transfert d'un groupe aminé à partir de l'alanine à l' $\alpha$ -cétoglutarate formant le glutamate et le pyruvate. Ce dernier est réduit en lactate par le lactate déshydrogénase (LDH) et le NADH, H<sup>+</sup> selon les réactions suivantes :



Le taux de la diminution de la concentration en NADH, H<sup>+</sup> mesuré par spectrophotométrie à 340 nm, est proportionnel à l'activité catalytique de ALAT (Davila et *al.*, 1989).

##### ❖ Mode opératoire

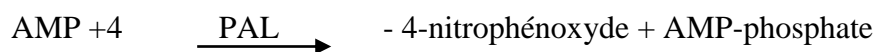
Le sang a été prélevé dans des tubes héparinés, puis centrifugé à 4000 g pendant 5 minutes. Le sérum obtenu a été utilisé pour mesurer les transaminases (ASAT et ALAT) en utilisant des kits enzymatiques SPINREACT. Pour chaque test et chaque échantillon, 100  $\mu\text{l}$  de sérum



ont été mélangés avec 1000 µl du réactif approprié. Après agitation, l'absorbance à 340 nm a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre.

### b) Dosage de phosphatase alcaline (PAL)

Le dosage de phosphatase alcaline été réalisé par la méthode cinétique selon la fiche technique du Kit Spinréact (Espagne). La phosphatase alcaline (ALP) hydrolyse le 4-nitrophénylphosphate ester incolore (4-NPP) en 4-nitrophénoxyde et en phosphate. Le 4-nitrophénoxyde produit par l'hydrolyse enzymatique a une couleur jaune. L' amino-2 méthyl-1 propèno (-1) (AMP) joue le rôle d'accepteur de phosphate et de tampon (Tietz et *al.*, 1983)

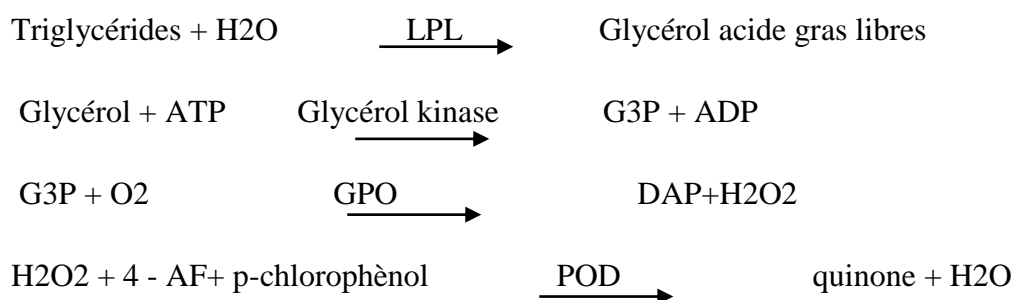


La vitesse initiale de formation du 4-nitrophénoxyde est directement proportionnelle à l'activité catalytique de l'ALP. Elle est mesurée par l'augmentation de l'absorbance à 409 nm (Jaffé, 1886).

### c) Dosage des paramètres lipidiques sériques

#### ❖ Principe

Dans notre étude, Les triglycéride ont été déterminés suivant une méthode colorimétrique, en utilisant le Kit de réactif de triglycérides Spinréact (Espagne). Les triglycérides incubés avec la lipoprotéine lipase (LPL) libèrent du glycérol et des acides gras libres, le glycérol est phosphorylé par du glycérophosphate déshydrogénase (GPO) et de l'ATP en présence de glycérol kinase (GK) pour produire du glycérol-3-phosphates (G3P) et de l'adénosines -5-di phosphate (ADP). Le G3P est alors transformé dihydroxiacétonephosphate (DAP) et en peroxydée d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) par GPO. Au final, le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) réagit avec du 4 aminophénazone (4-AF) et du p-chlorophénol, réaction catalysée par la peroxydase (POD), ce qui donne une couleur rouge.

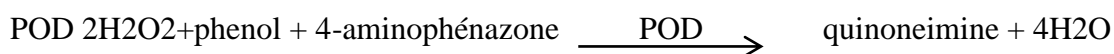


Le taux des triglycérides est déterminé à une longueur d'ondes de 505 nm. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de triglycérides présents dans l'échantillon testé.

### ➤ Méthode de dosage du cholestérol total

#### ❖ Principe

Dans notre étude, Cholestérol total ont été déterminés suivant une méthode colorimétrique en utilisant le Kit de réactif de cholestérol total Spinréact (Espagne). La réaction consiste à libérer le cholestérol de la liaison ester par la cholestérol-estérase, et d'oxyder le cholestérol libre non estérifié par la cholestéroxydase. L'indicateur est une quinoneimine formée à partir de peroxyde d'hydrogène, de la 4aminophénazone, sous l'action catalytique de la peroxydase. La concentration en quinoneimine colorée est mesurée à 505 nm, elle est proportionnelle à la concentration en cholestérol total.



## IV.2.4. Dosage des paramètres du stress oxydant

### a) Préparation de la fraction cytosolique du foie

Pour déterminer les paramètres cytosoliques du foie, la fraction de ce dernier est préparée selon la méthode décrite par Iqbal et *al.*, (2003). Pour cela 1g du foie est coupé et homogénéisé avec 3 volumes du tampon phosphate (0.1M, pH7.4) contenant du KCl à 1.17% à l'aide d'un broyeur. L'homogénat est ensuite centrifugé à 2000rpm pendant 15mn à 4°C pour séparer les débris nucléaires. Le surnageant récupéré de cette centrifugation est également centrifugé à 9600rpm à 4°C, pendant 30min. Le surnageant ainsi obtenu est utilisé comme source d'enzymes.

### b) Dosage des protéines

Les protéines ont été dosées selon la méthode de Bradford (1976). Cette méthode est basée sur un dosage colorimétrique détectant le changement de couleur du Bleu de Coomassie à 590 nm, après complexation avec les acides aminés aromatiques et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans l'échantillon. Le changement de l'absorbance est

proportionnel à la quantité de colorant lié donc à la concentration en protéines dans l'échantillon. Pour cela, 1ml de Bleu de Coomassie a été ajouté à 50 µl de l'échantillon dilués au 1/10ème. Ensuite le mélange a été incubé à température ambiante pendant 20 min et la DO a été lue à 590 nm. La concentration des protéines a été déterminée en à l'aide d'une courbe d'étalonnage préparée avec de l'albumine sérique bovin (BSA) aux concentrations (0-1mg/ml) dans les mêmes conditions (Annexe III).

### **c) Dosage du glutathion (GSH)**

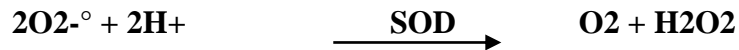
Le dosage du glutathion a été réalisé selon la méthode d'Ellman (1959). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman, DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour ce dosage, 20 µl de la fraction cytosolique a été prélevé et dilué dans 3 ml du tampon phosphate (0.01 M, pH8). Ensuite 20 µl de DTNB à 0.01 M a été ajouté. Le mélange a été incubé pendant 5 minutes à 25° C et les densités ont été ensuite mesurées à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions. Le taux du GSH est déduit à partir d'une gamme d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions que le dosage par le glutathion, et les concentrations sont exprimés en millimoles de glutathion par mg de protéine (Annexe IV).

### **d) Dosage du Malone-dialdéhyde (MDA)**

Le MDA est un produit des réactions de peroxydation lipidique qui se forme lors de l'attaque des lipides polyinsaturés par des espèces réactives de l'oxygène. Dans notre étude, les taux du MDA tissulaire sont évalués selon la méthode d'Okhawa et *al.*, (1979). Le dosage repose sur la formation en milieu acide et à chaud (100°C) entre le MDA et l'acide thiobarbiturique (TBA) d'un complexe coloré qui absorbe à 530 nm, extractible par les solvants organiques comme le n-butanol. Pour cela, 0.5 ml de la fraction cytosolique a été ajouté à 0.5 ml d'acide trichloracétique (TCA) 20% et 1ml d'acide thiobarbiturique (TBA) à 0.67%. Après incubation au bain marie à 100°C durant 15 minutes puis refroidissement, 4 ml de n-butanol ont été additionnés, le mélange est ensuite centrifugé pendant 15 minutes à 3000 tours /min. L'absorbance du surnageant est mesurée à 530 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions. La concentration du MDA dans l'échantillon est exprimée en mmole/mg de protéines. Elle est obtenue grâce à une courbe d'étalonnage réalisée avec du 1,1',3,3'- tetraethoxypropane faite dans les mêmes conditions (Annexe IV).

### e) Mesure de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase (SOD)

La SOD est une enzyme antioxydant très importante dans le maintien d'une basse concentration de l'anion superoxyde. Elle catalyse la dismutation de l'O<sub>2</sub><sup>-°</sup> en peroxyde d'hydrogène et en oxygène selon la réaction suivante :



L'activité enzymatique de la superoxyde dismutase cytosolique a été déterminée selon la méthode décrit par Marklund et Marklund, (1974). La mesure de l'activité de cet enzyme est basée sur la capacité de la SOD à inhiber l'auto-oxydation du pyrogallol.

Pour la mesure de l'activité de la SOD, dans la cuve de mesure on met : 850µL du tampon tris HCL (50mM, PH=8.2), 16 µL de la fraction cytosolique, 100µL de l'EDTA (10mM) et ensuite 50µL de pyrogallol (2.5 mM dans HCL 10mM). La lecture de la DO est effectuée à 420 nm chaque minute pendant 5 minutes. L'activité enzymatique de la superoxyde dismutase est exprimée en UI/mg de protéines selon la relation suivante /

$$\text{Inhibition total (\%)} = (\text{DO Blanc} - \text{DO Echantillon} / \text{DO Blanc}) \times 100$$

$$\text{SOD (UI /mg)} = (\text{Inhibition total (\%)} / n) \times 50$$

Avec : n : la quantité de protéines (en mg) présente dans le volume de l'échantillon utilisé.

### f) Mesure de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)

La méthode utilisée est celle de Clairborne (1985). L'activité enzymatique de la catalase a été mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, par la mesure de la variation de la densité optique consécutive à la consommation de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) à 25°C en présence de la catalase de la fraction cytosolique. Pour cela, 50 µl de la fraction cytosolique a été prélevée puis 1 ml de tampon phosphate (0.1M, pH 7.2) et 950 µl du peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0.019M) ont été ajoutés. L'absorbance a été mesurée à 240 nm chaque minute pendant 2mn. L'activité de la catalase est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité CAT (UI/mg de protéine)} = (2.30333/T * \log A_1/A_2) / [\text{protéines}].$$

Avec : T : intervalle du temps en mn. A<sub>1</sub> : densité optique au temps 0 mn et A<sub>2</sub> : densité optique au temps 1 mn.

### g) Mesure de l'activité enzymatique de la glutathionne peroxydase (GPx)

L'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px) a été mesurée par la méthode Flohé et Günzler (1984). Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de GSH -Px. Pour cela, 0.4 ml de GSH (0.1mM) est ajouté à 0.2 ml de l'homogénat, puis nous avons additionné 0.2 ml de solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH7.4), après 5 mn d'incubation 0.2 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1.3 mM) sont ajoutés pour initier la réaction. Après 120 mn, 1 ml de TCA (1%) est additionné pour l'arrêter. Le mélange est mis dans un bain de glace pendant 30 mn, puis centrifuger durant 10 minutes à 3000 rpm. 2.2 ml de solution tampon TBS sont additionnés à 0.48 ml de surnageant et 0.32 ml de DTNB (1 mM). Après agitation, la lecture de la densité optique est effectuée à 412 nm. La détermination de l'activité enzymatique de la GSH-Px a été calculée à l'aide de la formule suivante :

$$\text{GSH-Px } (\mu\text{mol GSH/mg protéine}) = X / [\text{protéine}]$$

$$X = [(\text{DO Echantillon} - \text{DO Blanc}) * 0.04] / \text{DO Blanc}$$

X = Quantité de GSH disparue (oxydée).

### h) Mesure de l'activité enzymatique de la glutathionne-S-transférase (GST)

La mesure de l'activité de la GST a été réalisée par la méthode de Habig et *al.*, (1974), celle-ci consiste à fournir à l'enzyme le substrat 1-chloro, 2,4-dinitrobenzène (CDNB), qui réagit facilement avec nombreuses formes de GST et du glutathion. La réaction de conjugaison de ces deux produits entraîne la formation d'une nouvelle molécule qui absorbe la lumière à 340 nm, la variation de la densité optique est mesurée chaque minute pendant 5 minutes. Après incubation du mélange réactionnel contenant 1700 µl du tampon phosphate (0.1 M, pH = 6.5) et 100µl du CDBN (20 mM), à 37°C pendant 10 mn, la réaction est démarrée par l'addition de 100µl de l'homogénat dilué à 1/100 et de 100 µl de glutathion (20mM). La densité optique est lue chaque minute pendant 5 minutes à 340 nm. Le calcul de l'activité de la GST se fait selon la réaction suivante :

$$\text{Enzyme (UI/ml)} = [(\Delta A_{340} / \text{min test} - \Delta A_{340} / \text{min blanc}) / (Vt) (fd)] / [(9,6) (ve)].$$

Vt : Volume total (en millilitre) de l'essai. Fd : Facteur de dilution. Ve : (volume en millilitre)

De l'enzyme utilisée et 9,6 : coefficient d'extinction millimolaire du glutathion-1-chloro-2,4-dinitrobenzène conjugué à 340nm.

$$\text{UI/ mg de protéine} = \text{Enzyme (UI/ml)} / [\text{protéine}] (\text{mg/ml}).$$

## **Analyses statistiques**

Toutes les données représentent la moyenne de trois essais et les résultats sont exprimés par la moyenne  $\pm$  l'écart type. Les valeurs des IC50 ont été calculées en utilisant logiciel Origin 8. Les données expérimentales ont été analysées à l'aide de l'Excel 2007. Les résultats ont fait l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA/MANOVA) suivie d'une comparaison multiple des moyennes par le biais du logiciel Statistique (5.5) et la comparaison des données est prise à la probabilité (**P<0,05**).

*Résultats*  
*Et*  
*Discussion*

## I. La biomasse du *Daphne gnidium*

### I.1. Le taux de la matière sèche (MS), humidité, cendre et l'azote (N) protéique et non protéique du *Daphne gnidium*

Le taux de la matière sèche (MS), humidité, cendre et l'azote (N) protéique et non protéique du *Daphne gnidium*.

**Tableau III :** Le taux de la matière sèche (MS), humidité, cendre et l'azote (N) protéique et non protéique du *Daphne gnidium*

Echantillon	MS %	Humidité %	Cendre	N- total	N- protéique	N- non protéique
Feuille D G	88.93 ±	11.07 ±	4.6 ±	8.74 ±	7.03 ±	1.71 ±
Tige D G	92.69 ±	7.31 ±	2.9 ±	3.31 ±	2.76 ±	0.55 ±

Les résultats d'étude de la biomasse azotée et minérale du *Daphne gnidium* montrent la richesse des feuilles en azote protéique par rapport à l'azote non protéique, mais des résultats assez fiables dans les tiges avec une différence de deux fois inférieure à celle des feuilles. Les rapports en cendre est inférieur à celle d'azote, avec une prédominance dans les feuilles que les tiges.

### I.2. Les rapports des biomasses des extractibles au Soxhlet

**Tableau IV :** Les rapports des biomasses des extractibles au Soxhlet

Partie de plante	Extractible éther pétrole%	Extractible éthanol %	Extractible Eau distillé %	Total %	Cellulose Hémicellulose%
Feuille D. G	4.79 ± 0.31	26.21 ± 1.44	8.71 ± 1.19	39.71 ± 2.94	25.78 ± 7.23
Tige D. g	0.91 ± 0.36	21.44 ± 3.88	4.77 ± 1.75	27.12 ± 5.99	50.05 ± 9.52

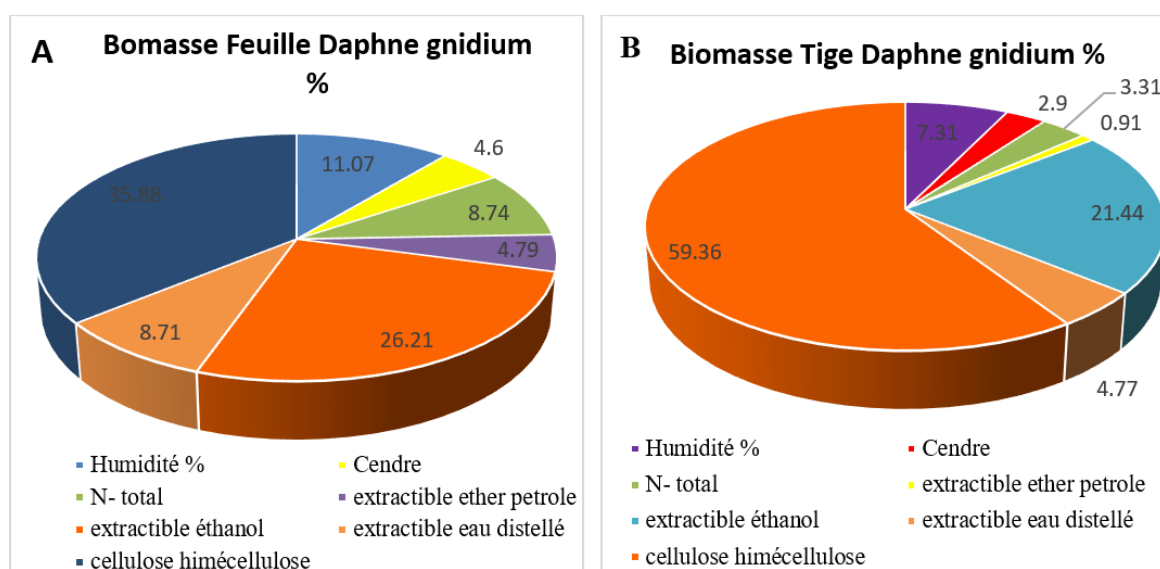
La biomasse des extractibles au Soxhlet de feuille et de tige du *Daphne gnidium*, montre une différence significative entre les parties de la plante d'étude, dans la feuille est plus concentrée dans tous les solvants d'extraction, et l'éthanol comme le plus puissant solvant d'extraction de la biomasse de *D.g*, suivie par les extractibles à l'eau distillée, et les faibles rendements d'extraction ont été observés dans l'extrait d'éther du pétrole.



Cette différence de biomasse dans les différents solvants d'extraction est expliquée par la solubilité des constituants de la biomasse du *Daphne gnidium* dans les solvants organiques polaires qu'apolaires.

### I.3. La biomasse totale du *Daphne gnidium*

Le **figure 11**, montre la distribution de la biomasse totale du *Daphne gnidium* dans les feuilles (A) et de tige (B).



**Figure 11** : La biomasse des feuilles (A) et des tiges (B) du *Daphne gnidium*

Les résultats montrent la richesse de ces derniers en résidus cellulosique et hémicellulosique et en extractible à éthanol, suivie par l'azote total et les extractibles à l'eau distillée qui ne présentent aucune différence significative, soit dans les feuilles ou les tiges, les faibles rapports ont été constatés dans les extractibles à l'éther du pétrole et les cendres.

Ces résultats, nous permettront de prendre quelque perspective à propos de la biomasse du *Daphne gnidium*, sachant que ; leur richesse en extractible à éthanol nous permet de conclure que cette plante est riche en substance bioactive telle que les polyphénols, flavonoïdes, coumarines ...etc. qui peuvent entrer dans la composition des traitements pharmaceutiques ainsi qu'industriels.

Le rapport de 8.74% d'azote dans les feuilles avec un rapport de 7.03 d'azote protéique nous permet de considérer cette plante comme une alternative de protéines animales qui est difficile à récupérer.

La biomasse majoritaire est présentée par les résidus cellulosiques et hémicellulosique, qui constitués les sujets d'actualité dans les domaines des énergies renouvelables telle que les biocarburants et les bioéthanol.

## **II. Identification des extractibles au soxhlet des feuilles de *Daphne gnidium***

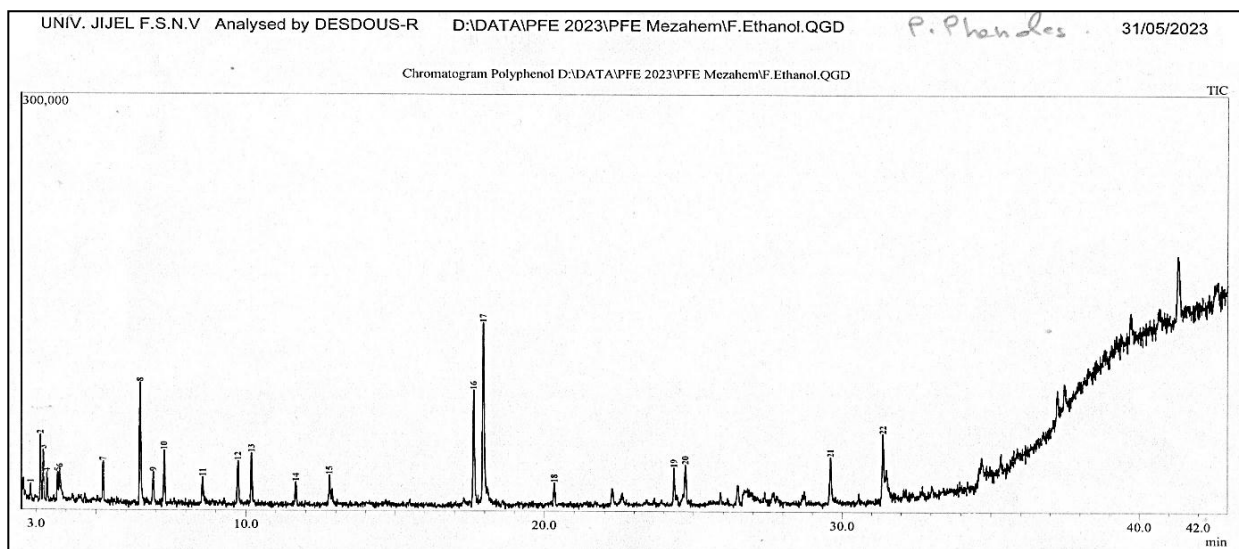
La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-MS) est une technique analytique avancée utilisée pour l'analyse et l'identification des composés présents dans un échantillon. Elle associe les capacités de la chromatographie en phase gazeuse pour la séparation des composés à celles de la spectrométrie de masse pour l'identification basée sur les rapports masse sur charge (Bouchonnet et Libong, 2004).

Cette technique est largement utilisée dans divers domaines, tels que le dosage de médicaments et de stupéfiants, l'analyse des extraits végétaux, la médecine légale et l'identification de substances inconnues (Becam et al., 2021; Chousterman et al., 2010)

La CG-MS permet de déterminer les composants présents dans un échantillon en analysant leurs spectres de masse distinctifs. Chaque composant possède un spectre de masse unique, ou presque unique, qui peut être comparé à des bases de données de référence pour identifier et quantifier précisément de nombreuses substances, même présentes à des concentrations très faibles ou en traces dans un mélange (Stéphane, 2009).

Dans le contexte de cette étude, les extractibles au soxhlet (éther du pétrole, éthanol et eau distillé) des feuilles de *Daphnie gnidium*, ont été soumis à une analyse par CG-MS. Les chromatogrammes obtenus, est présentés dans **les Figures14 ; 15 ;16** grâce à la spectrométrie de masse, il est possible d'identifier les substances présentes dans les feuilles de *Daphnie gnidium*de en comparant les spectres de masse des pics avec des bases de données de référence des chaque solvant.

## II.1. Analyse chromatographie de l'extrait éthanolique de feuille de daphnie gnidium



**Figure 12 :** Chromatogramme de l'extrait éthanolique de feuille de *Daphne gnidium* extrait par soxhlet.

Le chromatogramme obtenu après analyse par CG-MS de l'extrait éthanolique par l'analyse globale des résultats de chromatographie montre la présence de différents composants dans l'extrait éthanolique étudié, notamment des phénols (Phénol, 2-méthyl-5-(1-méthyléthyl), Thymol) des terpènes (Limonène), des acides gras (Acide n-hexadécanoïque) et d'autres composés (Composés aromatiques ; cycliques et organiques). Parmi ces composants, le phénol 2-méthyl-5-(1-méthyléthyl) (20.31%) se distingue en tant que composé majoritaire, suivi du limonène (11.37%) et de Thymol (11.33%)

**Le phénol 2-méthyl-5-(1-méthyléthyl)** est un composé phénolique présent dans certaines sources végétales, telles que la menthe et le *Thymus* (Magi et al., 2015). Il est caractérisé par la présence d'un groupe méthyle en position 2 et d'un groupe isopropyle en position 5. Ce composé a été étudié pour ses propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires (Soleimani et al., 2022). Grâce à ses propriétés antioxydantes, le phénol 2-méthyl-5-(1-méthyléthyl) présente des applications potentielles dans les domaines de cosmétique, pharmaceutique, et comme additif alimentaire dans le domaine de l'industrie (Shimoda et al., 2006).

**Tableau V** : Composition chimique de l'extrait éthanolique de feuille du *Daphne gnidium* après analyse par CG-MS.

TIC DE RAPPORT DE PIC		
PIC	Pourcentage %	Nom
1	1.23	(S)-(+)-3-Methyl-1-pentanol
2	4.14	1,3,3-Trimethoxybutane
3	3.58	1,3-Dioxolane-4-methanol, 2-ethyl-
4	1.72	Hexane, 2,4-dimethyl-
5	1.61	P-Xylène
6	2.36	Acétamide, 2-fluoro-
7	2.68	Décane
8	11.37	Limonène
9	2.6	Benzène, 1-methyl-2-(1-methylethyl) -
10	4.15	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1methylethyl) -
11	1.6	Oxime-, methoxy-phenyl-
12	3.57	Bicyclo [2.2.1] heptan-2-one, 1,3,3-trimethyl-
13	4.11	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, 2-aminobenzoate
14	1.94	Bicyclo [2.2.1] heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl-, (IR)-
15	2.11	Cyclotrisiloxane, hexamethyl-
16	11.33	Thymol
17	20.31	Phénol, 2-methyl-5-(1-methylethyl) -
18	1.82	3-Octadecene, (E)-
19	3.18	Diethyl Phthalate
20	3.68	Decane, 5,6-bis(2,2-dimethylpropylidene) -, (Z, Z) -
21	4.7	1,2-Benzenedicarboxylic Acid, bis(2-methylpropyl) ester
22	6.22	N-Hexadecanoic Acid

Le **limonène** est un composé organique volatil appartenant à la classe des monoterpènes. Il est principalement présent dans l'écorce des agrumes tels que les oranges, les citrons et les pamplemousses (Sun, 2007). Il contribue à l'arôme caractéristique des agrumes, leur conférant leur parfum frais et citronné. Le limonène agit également comme un agent de défense naturel contre les prédateurs et les pathogènes. Il peut repousser les insectes nuisibles et inhiber la croissance de certains micro-organismes (Thielmann & Muranyi, 2019).

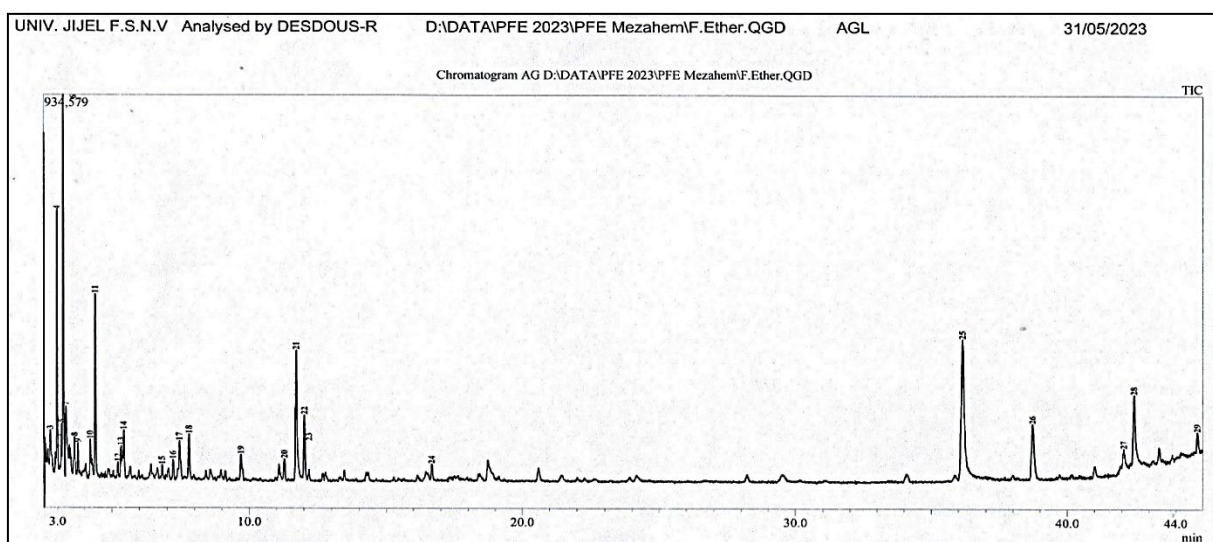
En dehors du règne végétal, le limonène est largement utilisé dans de nombreux domaines. Dans l'industrie alimentaire (Sun, 2007), il est utilisé comme additif aromatique pour donner une saveur d'agrumes à divers produits alimentaires tels que les boissons, les desserts et les confiseries. Dans l'industrie des produits de nettoyage, le limonène est utilisé pour son pouvoir solvant, dégraissant et désodorisant. Il est également utilisé dans les

cosmétiques, les parfums et les produits de soins personnels en raison de son agréable parfum et de ses propriétés bénéfiques pour la peau (Ciriminna et al., 2014; Vieira et al., 2018).

En médecine, le limonène présente des propriétés intéressantes, notamment des effets antioxydantes (Roberto et al., 2010 ; Shah et Mehta, 2018) anti-inflammatoires, antimicrobiens (Yu et al., 2017) . Il est étudié pour son potentiel d'utilisation dans le traitement de diverses affections, y compris le cancer, l'inflammation et les infections (Miller et al., 2011).

## II.2. Analyse chromatographie de l'extrait éther du pétrole de feuille de *Daphne gnidium*

La figure 13, ci-dessous montre la composition chimique de l'extrait éther du pétrole des feuilles de *Daphne gnidium* après analyse chromatographie gazeux associée aux spectrométries de masse (GC-MS).



**Figure 13** : Chromatogramme de l'extrait d'éther du pétrole de feuille de *Daphne gnidium* extrait par soxhlet.

Le chromatogramme de l'extrait d'éther du pétrole de feuille de *Daphne gnidium* extrait par soxhlet (**Figure 13**), met en évidence une gamme diversifiée de composés apolaires dans l'extrait de la plante étudiée, comprenant des hydrocarbures, (décane, le bêta-pinène, le 1-éthyl-3-méthylbenzène, le benzène 1,3,5-triméthyl, le 1,4-cyclohexadiène 1-méthyl-4-(1-méthylethyl), l'undécane, le 2,4-heptadiène (E,E), le dodécane, le dodécane 4,6-diméthyl, le tridécane, le nonadécane et le bicyclo[2.2.1]heptane 2-chloro-1,7,7-triméthyl (1R-endo)) des alcools (le pentan-2-ol 4-allyloxy-2-méthyl, le nonanal, le 1-(+)-ascorbic Acid 2,6-dihexadecanoate, le 3,7,11,15-tétraméthyl-2-hexadécen-1-ol et le cis-9-tétradécen-1-ol.), des

Composés aromatiques (le phénol 2-méthyl-5-(1-méthylethyl) et le phénol 2-méthoxy-4-(1-propenyl) (Z).) et d'autres composés organiques (le diméthyle sulfoxyde, diméthylsulfoxonium formylméthylide, le cyclopentasiloxane dodecaméthyl, le trifluoroacétyl-épiisoborneol, l'éthanol 2-(2-butoxyéthoxy) acétate, le cyclohexasiloxane dodecaméthyl, le 9, 12, 15-octadécatriénoic Acid éthyle ester (Z, Z, Z) et le tributylacétyl-citrate).

**Tableau VI :** Composition chimique de l'extrait éther du pétrole de feuille du *Daphne gnidium* après analyse par CG-MS.

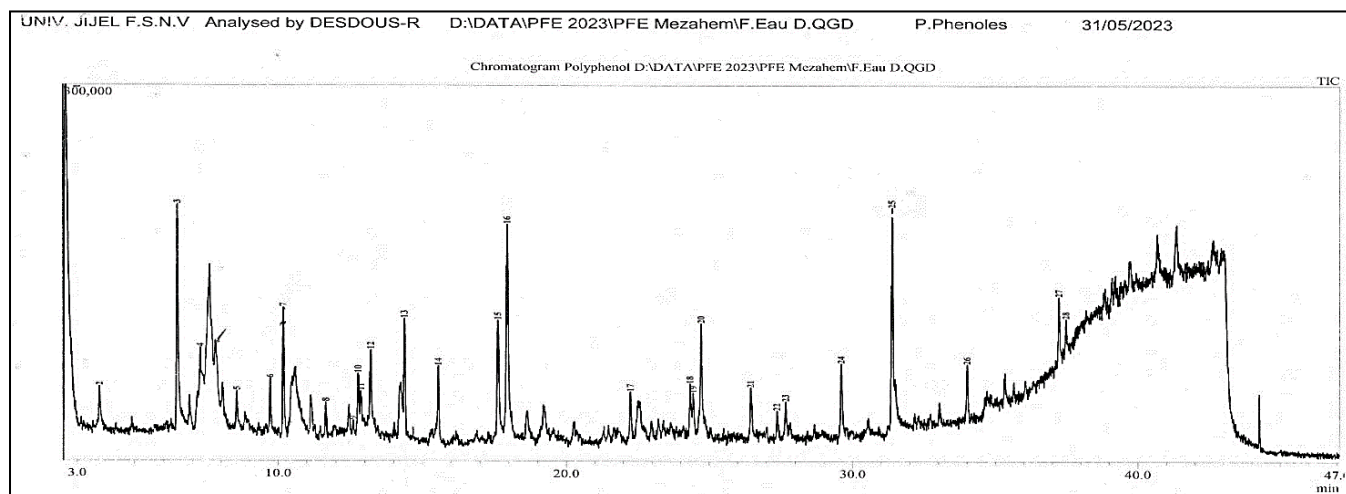
Pic	Pourcentage %	Nom
1	3.47	Decane
2	3.59	Beta. -Pinène
3	4.15	1-Ethyl-3-méthylbenzene
4	10.24	Pentan-2-ol, 4-allyloxy-2-méthyl-
5	2.85	Benzene, 1,3,5-triméthyl-
6	12.65	Diméthyl Sulfoxyde
7	4.98	Diméthylsulfoxonium formylméthylide
8	2.15	1,4-Cyclohexadiène, 1-méthyl-4-(1-méthylethyl) -
9	0.97	Undecane
10	1.38	2,4-Heptadiénal, (E, E) -
11	6.07	Cyclopentasiloxane, dodecaméthyl-
12	0.48	Bicyclo [2.2.1] heptan-2-one, 1,3,3-triméthyl-
13	1.18	Nonanal
14	1.61	Dodecane
15	0.62	Dodecane, 4,6-diméthyl-
16	0.91	Trifluoroacétyl-épiisoborneol
17	1.97	Tridecane
18	1.97	Cyclohexasiloxane, dodecaméthyl-
19	1.57	Nonadecane
20	0.92	Bicyclo [2.2.1] heptane, 2-chloro-1,7,7-triméthyl-, (1R-endo) -
21	7.45	Ethanol, 2-(2-butoxyéthoxy) -, acetate
22	3.38	Phénol, 2-méthyl-5-(1-méthylethyl) -
23	0.44	Phénol, 2-méthoxy-4-(1-propenyl) -, (Z)-
24	0.68	Cyclohexane, (2,2-diméthylcyclopentyl) -
25	12.8	1-(+) -Ascorbic Acid 2,6-dihexadécanoate
26	4.86	3,7,11,15-Tetraméthyl-2-hexadécen-1-ol
27	1.23	Cis-9-Tétradécen-1-ol
28	4.28	9,12,15-Octadécatriénoic Acid, éthyle ester, (Z, Z, Z) -
29	1.16	Tributylacétyl-citrate

Le composé majeur présenté dans l'extrait éther de pétrole est l'acide ascorbique (vitamine C) (12.80) sous forme estérifier ; L'acide ascorbique 2,6-dihexadécanoate (O'KEEFE, 2001). Cette estérification implique la liaison de l'acide ascorbique à une molécule d'hexadécanoate, un acide gras à longue chaîne. En raison de cette modification chimique, l'acide ascorbique 2,6-dihexadécanoate présente une solubilité liposoluble, ce qui signifie qu'il se dissout plus facilement dans les solvants lipidiques tels que l'éther de pétrole.

L'acide ascorbique (vitamine C) est un nutriment essentiel largement utilisé dans divers domaines. Il est couramment utilisé sous forme de compléments alimentaires pour compenser les carences en vitamine C, en particulier chez les individus ayant une faible consommation d'aliments riches en vitamine C. Cette vitamine joue un rôle crucial dans le renforcement du système immunitaire, agissant comme un antioxydant puissant pour protéger les cellules contre les dommages oxydatifs (Varvara et al., 2016). En plus de ses propriétés antioxydantes, l'acide ascorbique contribue à la santé cardiovasculaire en réduisant le risque de maladies cardiaques et en améliorant la fonction endothéliale. Il est également impliqué dans la synthèse du collagène, une protéine essentielle pour la santé des articulations, de la peau, des os et des tissus conjonctifs (Al-Niaimi et Chiang, 2017; Enescu et al., 2022). Il peut contribuer à réduire les signes du vieillissement cutané, à éclaircir le teint et à améliorer l'apparence générale de la peau (Boo, 2022).

### II.3. Analyse chromatographie de l'extrait d'eau distillé de feuille de *Daphnie gnidium*

Le chromatogramme obtenu après analyse par CG-MS de l'extrait d'eau distillé par soxhlet de feuille de *Daphne gnidium* est présentée dans la figure 14 ci-dessous.



**Figure 14** : Chromatogramme de l'extrait d'eau distillé de feuille de *Daphne gnidium* extrait par soxhlet.

L'analyse de chromatographie révèle la présence d'une multitude de composés dans l'extrait eau distille, témoignant d'une composition chimique d'une grande diversité. Telle que Composés acides ; Composés alcooliques ; Composés cycliques ; Composés phénoliques ; Composés organiques divers ; Esters et autres composés Les composants majeurs de l'extrait d'eau distillée, en fonction des pourcentages mentionnés, sont les suivants : 7-Oxo-octanoic Acid - 29.69%, Thymol - 9.78%, Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-méthylethényl) -, acetate - 7.91%, Phénol, 2-méthyl-5-(1-méthylethyl) - - 5.25%, Acetic acid, 1,7,7-triméthyl-bicyclo [2.2.1] hept-2-yl ester - 3.75%.

**Tableau VII** : Composition chimique de l'extrait d'eau distillé de feuille du *Daphne gnidium* Après analyse par *CG-MS*.

Pic	Pourcentage %	Nom
1	29.69	7-Oxo-octanoic Acid
2	1.22	Acetamide, 2-fluoro-
3	7.91	Cyclohexanol, 1-méthyl-4-(1-méthylethényl) -, acetate
4	0.89	1.4-Cyclohexadiene, 1-méthyl-4-(1-méthylethyl) -
5	0.86	Oxime-, methoxy-phenyl-
6	1.33	Bicyclo [2.2.1] heptan-2-one, 1,3,3-triméthyl-
7	3.96	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-diméthyl-
8	0.99	Bicyclo [2.2.1] heptan-2-one, 1,7,7-triméthyl-, (IS)-
9	0.29	5,7-Octadien-2-ol, 2,6-diméthyl-
10	1.47	Cyclotrisiloxane, hexaméthyl-
11	1	3-Cyclohexene-1-méthanol, alpha., Alpha.4-triméthyl-
12	2.29	Cyclohexasiloxane, dodecaméthyl-
13	3.75	Acetic Acid, 1,7,7-triméthyl-bicyclo [2.2.1] hept-2-yl ester
14	2.29	(-) -Myrtenylacetate
15	5.25	Phénol, 2-méthyl-5-(1-méthylethyl) -
16	9.78	Thymol
17	1.43	Phénol, 2,4-bis(1,1-diméthylethyl) -
18	1.52	DiethylPhthalate
19	1.51	1-Propene, 3-(2-cyclopentényl) -2-méthyl-1,1-diphényl-
20	3.18	Benzene,1,1'-(1,3,3-triméthyl-1-propene-1,3-diyl) bis- -
21	1.45	Dicumylperoxide
22	1.01	2,4-Diphényl-4-méthyl-2(E)-pentene
23	1.16	Tetradecanoic acid
24	2.43	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-méthylpropyl) ester
25	8.53	1-(+) -Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate
26	2.15	Tetracosane
27	2.09	Nonacosane
28	0.55	Cyclononasiloxane, octadecaméthyl-



**L'acide 7-oxooctanoïque** est un composé chimique qui appartient à la famille des acides carboxyliques. Il est également connu sous le nom d'acide 7-céto-octanoïque. Il est synthétisé par diverse tissus biologiques, notamment les plantes l'acide 7-oxooctanoïque peut être utilisé comme acidifiant alimentaire, inhibiteur de l'activité de l'acide arachidonique, stimulant de l'activité de la décarboxylase des acides aminés aromatiques et potentiellement jouer un rôle dans la régulation de la production d'acide urique. Son rôle et ses effets spécifiques peuvent varier en fonction de la concentration et des conditions d'utilisation(Otuokere et *al.*, 2016).

**Le thymol** est un phénol monoterpénique dérivé du cymène, qui se trouve principalement dans les plantes de la famille des Lamiacées, telles que le thym, l'origan et le romarin. Le thymol a suscité un intérêt scientifique en raison de ses diverses propriétés biologiques et de son potentiel médicinal (Rathod et *al.*, 2021).

Sur le plan biologique, le thymol présente des activités antimicrobiennes, antifongiques et antiparasitaires. Il agit en perturbant les membranes cellulaires des micro-organismes, ce qui entraîne leur mort ou leur inhibition de croissance. En raison de cette activité antimicrobienne, le thymol est souvent utilisé comme agent conservateur dans les aliments, les produits pharmaceutiques et les cosmétiques.(Nieto, 2017). Également, il est étudié pour ses propriétés antioxydantes (Krause et *al.*, 2021; Nieto, 2017), il neutralise les radicaux libres et protéger les cellules contre les dommages oxydatifs (Escobar Caicedo et *al.*, 2020).

En médecine, le thymol est utilisé pour ses propriétés antiseptiques (Kavoosi et *al.*, 2013) et anesthésiques locales. Il peut être utilisé dans les produits d'hygiène buccale pour aider à combattre les infections buccales et soulager les maux de gorge. Le thymol a également montré des effets antispasmodiques (Begrow et *al.*, 2009).

L'analyse des résultats de chromatographie gazeuse associée en spectrométrie de masse, démontre la complexité de la composition chimique des extractibles au Soxhlet du *Daphné gnidium*, avec la présence de 72 composants identifiés. Cette diversité de composés suggère une large gamme de molécules qui pourraient contribuer aux propriétés thérapeutiques potentielles de la plante.

Les études antérieures mentionnées ont confirmé les propriétés thérapeutiques de ces composés, incluant des activités antioxydantes, anti-inflammatoires, antifongiques,

antibactériennes et analgésiques. La présence de ces composés dans la plante *Daphne gnidium*, que ce soit de manière combinée ou individuelle, semble être responsable de ses propriétés médicinales.

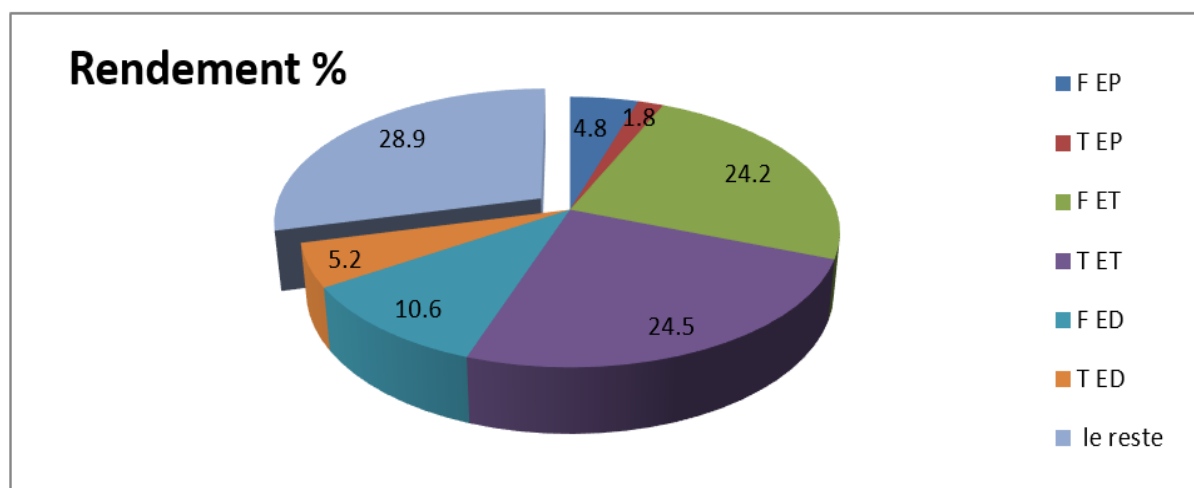
### III. Etude phytochimique de *daphne gnidium*

Le dosage des composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes et tannins) des extractibles au soxhlet des feuilles et tiges du *Daphne gnidium* a été effectuée par trois solvants (éther de pétrole, éthanol, l'eau distillée). Son activité antioxydant a été évaluée en utilisant la méthode de DPPH et le pouvoir réducteur de fer. Ainsi que, son effet sur le système endogène enzymatique et non enzymatique à savoir (SOD, CAT, MDA ...) contre la toxicité hépatique avec le modèle du paracétamol a été testé dans le but d'élucider son effet antioxydants.

Les résultats de l'étude phyto-chimique des matières végétales (feuilles et tiges) de *Daphne gnidium* sont représentés ci-dessous.

#### III.1. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction des extractibles au soxhlet avec les différents solvants exprimés en pourcentage par rapport au poids du matériel végétal sec, les résultats du rendement sont mentionnés dans **la figure15** suivante :



**Figure 15 :** Rendement d'extraction des extractibles au soxhlet de feuille et tige du *Daphne gnidium* exprimé en pourcentage.

D'après les résultats obtenus, le rendement d'extraction avec les différents solvants par Soxhlet est important, où les quantités les plus élevées ont été extraites avec l'éthanol avec un pourcentage de 24.2 % pour les feuilles et 24.5% pour les tiges, suivies par l'extrait de l'eau distillée avec des rendements assez importants. Les faibles rendements ont été observés dans les extraits de l'éther de pétrole.

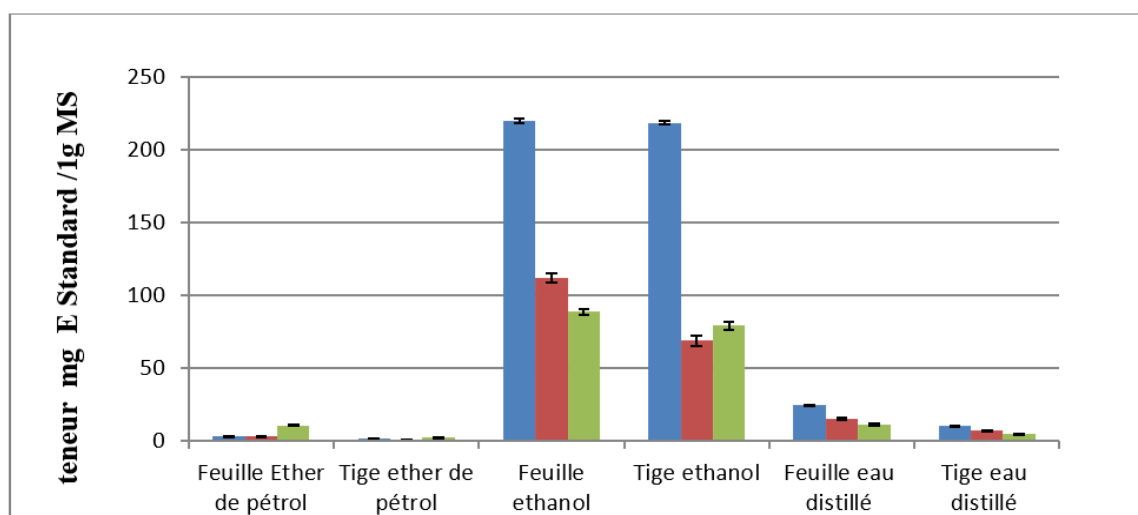
En comparant nos résultats avec la littérature, les rendements d'extraction méthanolique et aqueux trouvés par Ameni et al., (2015), de la partie aérienne du *Daphne gnidium* est de l'ordre de (13.65%). Ses résultats sont inférieurs à nos résultats dans le cas d'extrait éthanolique des feuilles et des tiges. Tandis que l'extrait aqueux donné un taux d'extraction inférieure (07.06 %) aux résultats obtenus avec l'extrait aqueux des feuilles et supérieure aux résultats obtenus avec l'extrait aqueux des tiges de *D. gnidium*. De même, Bouyahya et al., 2016, en constatant des rendements similaires à nos résultats avec le même solvant d'extraction (21.51%).

Nos rendements d'extraction des extraits à l'éther de pétrole est important à celle trouvés par Chaouki et al., (2009) avec l'hexane (0.72 %) comme solvant d'extraction, et des taux inférieurs aux rendements d'extraction par l'acétate d'éthyle (7.09 %).

En effet, L'origine géographique, l'efficacité de la technique et le solvant d'extraction pour dissoudre les composés endogènes, ainsi que la température d'extraction et la durée d'extraction et du séchage, constituent les paramètres susceptibles d'influencer le taux d'extraction (Sultana et al, 2009 ; Sultana et al, 2007 ; Benchaachoua et al., 2018).

### III.2. Teneur en phénols totaux, flavonoïdes et tanins hydrolysables

La détermination de la teneur en phénols totaux, flavonoïdes et tanins hydrolysables des extractibles au soxhlet des feuille et tige du *Daphne gnidium*, a été réalisée selon la méthode colorimétrique. Les résultats obtenus ont été exprimées respectivement en mg EAG/g d'extrait, mg EQ/g d'extrait et mg EAT/g d'extrait, en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée à l'aide de l'acide gallique, la quercétine et l'acide tannique (Annexe II). Les résultats obtenus sont représentés dans la **figure16** suivant.



**Figure 16** : représentations graphiques de teneurs en phénol totaux, flavonoïdes et tanins hydrolysable des feuilles et tiges de daphne gnidium

Les résultats de différents extraits de la plante *Daphne gnidium* ont montré la présence de différentes quantités de polyphénols, flavonoides et de tannins hydrolyables qui révèlent la richesse de *D. gnidium* en composés phénoliques qui donneraient à la plante des activités biologiques intéressantes. A partir de ces résultats, on conclut que *Daphne gnidium* peuvent être utilisées comme source accessible d'antioxydants naturels. L'activité anti-oxydant des plantes dépendre de leur richesse en métabolites secondaire comme les composés phénoliques sont des antioxydants puissants, jouer un rôle important dans la neutralisation des radicaux libres et l'inhibition de l'oxydation des macromolécules, sont considérés comme agents thérapeutiques prometteurs pour les pathologies liées aux stress oxydatif (Chaabane et al., 2012 ; Zengin et al., 2013).

L'analyse statistique des teneurs en composés phénoliques a révélé une différence significative entre les tiges et les feuilles et une grande différence significative entre les solvants d'extraction (éthanol, l'eau distillé, l'éther de pétrole) ( $p < 0,05$ ).

L'extrait éthanolique des feuilles et des tiges montrent des bons résultats, avec la teneur la plus élevée dans tous les composants phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes et tannins hydrolysables), dont les meilleures concentrations ont été observées dans l'extrait de feuilles avec la concentration de ( $219.57 \pm 1.62$  mg EAG/g MS,  $111.95 \pm 3.45$  mg EQ/g MS,  $88.5 \pm 1.94$  mg EAT/g MS), et les tiges ( $218.63 \pm 1.52$  mg EAG/g MS,  $68.65 \pm 3.64$  mg EQ/g MS ;  $79.07 \pm 2.95$  mg EAT/g MS). Suivies par l'extrait de l'eau distillé et de l'éther de pétrole qui ont été signalée une différence significative dans les concentrations en phénols totaux dans les deux parties étudiée ( $24.55 \pm 0.18$  mg EAG/g MS ;  $3.32 \pm 0.039$  mg EAG/g MS) pour les feuilles, ( $10.4 \pm 0.04$  mg EAG/g MS ;  $1.13 \pm 0.06$  mg EAG/g MS) pour les tiges, et aussi dans les concentrations en flavonoïdes avec ( $15.15 \pm 0.55$  mg EQ/g MS ;  $2.92 \pm 0.5$  mg EQ/g MS) pour les feuilles, et ( $6.91 \pm 0.45$  mg EQ/g MS ;  $0.39 \pm 0.22$  mg EQ/g MS) pour les tiges, respectivement ; tandis que ne présentent aucune différence significative ( $p < 0.05$ ) en terme de concentration en tannins hydrolysables ( $11.16 \pm 0.71$  mg EAT/g MS;  $10.57 \pm 0.4$  mg EAT/g MS) pour les feuilles ( $4.5 \pm 0.13$  mg EAT/g MS;  $2.04 \pm 0.07$  mg EAT/g MS), et les tiges, dont les meilleures concentrations ont été observées dans les extraits de l'eau distillé.

Ces résultats du dosage phytochimique ont montré que les extraits éthanoliques du *Daphne gnidium* présentent des concentrations importantes en composés phénoliques. En effet, les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes dans les extraits de feuille et de tige, sont largement supérieures à celle rapporté par Bouyahya et al., (2016) ( $83.46$  mg EAG/g MS ;  $17.68$  mg EQ/g MS) trouvées dans les feuilles de *Daphne gnidium*, utilisant le même solvant d'extraction. De même, des résultats inférieures à nos résultats, rapportés par Sanda et al., 2015, des extraits méthanolique des feuilles et des tiges ( $123.09 \pm 3.62$  mg EAG/g E,  $79.40 \pm 0.20$  mg ER/g E) ( $60.64 \pm 2.06$  mg EAG/g E,  $42.49 \pm 0.27$  mg ER/g E), respectivement, d'une autre espèce de *Daphne* (*D. pontica*). Tandis que les résultats obtenus par Dif et al., (2014), ont révélé des teneurs plus élevées en phénols totaux ( $385.5 \pm 0.84$  mg EAG/g MS), mais des teneurs faibles en flavonoïdes ( $15.5 \pm 0.00$  mg EQ/g MS), avec le méthanol comme solvant d'extraction des feuilles de *Daphne gnidium*. L'extrait aqueux de feuilles et de tiges de *Daphne gnidium* présentent des teneurs élevées en phénol totaux ( $24.55 \pm 0.18$  mg EAG/g MS ;  $10.4 \pm 0.04$  mg EAG/g MS) respectivement, par rapport à la valeur obtenus par chaabane

et al., 2014(9.8±0.05 mg EAG/g MS), mais la valeur en flavonoïdes (45±0.02 mg EQ/g MS) est supérieure à nos résultats (15.15±0.55 mg EQ/g MS ; 6.91±0.45 mg EQ/g MS), avec le même solvant d'extraction.

Les teneurs en phénol totaux et flavonoïdes de l'extrait de l'éther de pétrole des feuilles et des tiges de *Daphne gnidium* (3.32±0.039 mg EAG/g MS ; 2.92±0.5 mg EQ/g MS) (1.13±0.06 mg EAG/g MS ; 0.39±0.22 mg EQ/g MS) respectivement. Sont inférieures à celle rapporté par **Zengin et al., 2013**, avec hexane comme solvant d'extraction des matières végétales aérienne de deux espèces de *Daphne*, le *D. serica* (10.03± 1.181 mg EAG/g E ; 4.716± 0.479 mg ER/g E), mais dans l'autre espèce *D. oleoides* la teneur en phénol totaux est inférieur à nous résultats pour l'extrait des feuilles de *daphne gnidium* (3.182± 1.814 mg EAG/g E) et supérieure pour le teneur en flavonoïdes (11.586± 0.446 mg ER/g E).

Les résultats des tanins hydrolysables de différents extraits (éthanoliques, ether de pétrole, l'eau distillée) des feuilles et des tiges (88.5±1.94 mg EAT/g MS, 79.07±2.95 mg EAT/g MS), (10.57±0.4 mg EAT/g MS, 2.04±0.07 mg EAT/g MS), (11.16±0.71 mg EAT/g MS, 4.5±0.13 mg EAT/g MS) respectivement. Son supérieur aux résultats des tanins condensés obtenus par (Dif et al., 2014), travaillée sur les feuilles de même espèce de différentes altitudes avec le méthanol comme solvant d'extraction (Sud : (3.5±0.05 mg E catéchine/g MS) ; nord :(2.4±0.02 mg E catéchine/g MS), mais elle est supérieure aux teneurs de l'extrait des tiges éther de pétrole de nos études. Tandis que les résultats de cette étude sont nettement inférieurs aux teneurs de tannins totaux obtenus à partir d'une étude menée par Chaabane et al., (2012) sur la même espèce, rapportent que les extraites méthanolique et les extraites d'acétate d'éthyle des feuilles de *Daphne gnidium* ont enregistré de 116 mg EAT/g MS et 136.64 mg EAT/g MS. Cependant, aucune étude n'a permis de quantifier le taux en tanin hydrolysables.

Ces variations dans les teneurs en composés phénoliques dépendent du climat, la localisation géographique, l'organe de la plante utilisée, l'espèce de la plante, le stade de développement et des facteurs environnementaux, tels que la température, la contrainte d'eau, et les conditions de lumière. Ainsi que, la méthode d'extraction et la nature du solvant utilisé, y compris la polarité du solvant utilisé. (Ahmane et al., 2019 ; Chaves et al., 2020 ; Sultana et al., 2007).

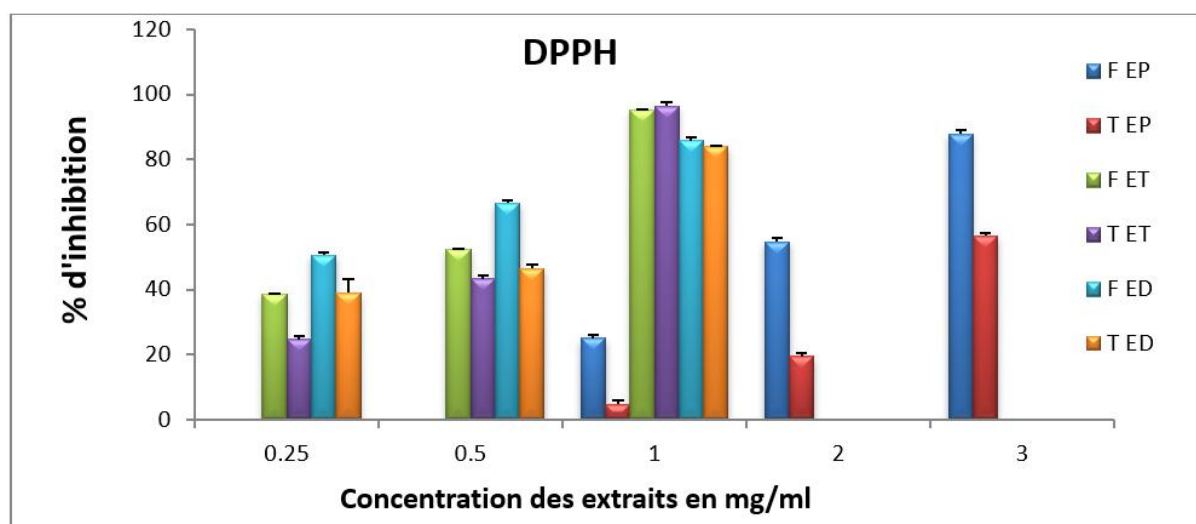
#### IV. Détermination de l'activité antioxydant

En générale, la capacité antioxydant des extraits des plantes est largement dépendant de la composition de ces extraits. Dans la présente étude, l'activité antioxydant des extraits (éthanolique, l'éther de pétrole, l'eau distillé) des feuilles et des tiges de *Daphne gnidium* a été évaluée *in vitro*. Deux tests chimiques ont été utilisés, la première consiste à évaluer la capacité de transfert d'électron et/ou de proton par les radicaux DPPH. Le deuxième est le pouvoir réducteur qui mesure la capacité de transfert d'électron par la réduction des ions fer ferrique (Fe<sup>+3</sup>) en fer ferreux (Fe<sup>+2</sup>).

##### IV.1. Activité scavenger du radical DPPH•

Le radical DPPH est largement utilisé pour l'évaluation de l'activité antioxydant des molécules biologiques. Est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composés anti-radicalaire, le radicale DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune. L'intensité de cette couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Bentabet et al., 2014).

Les résultats de l'activité anti-radicalaire de différents extraits du *Daphne gnidium*,



**Figure 17 :** Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• par différents extraits des feuilles et des tiges de *Daphne gnidium*.

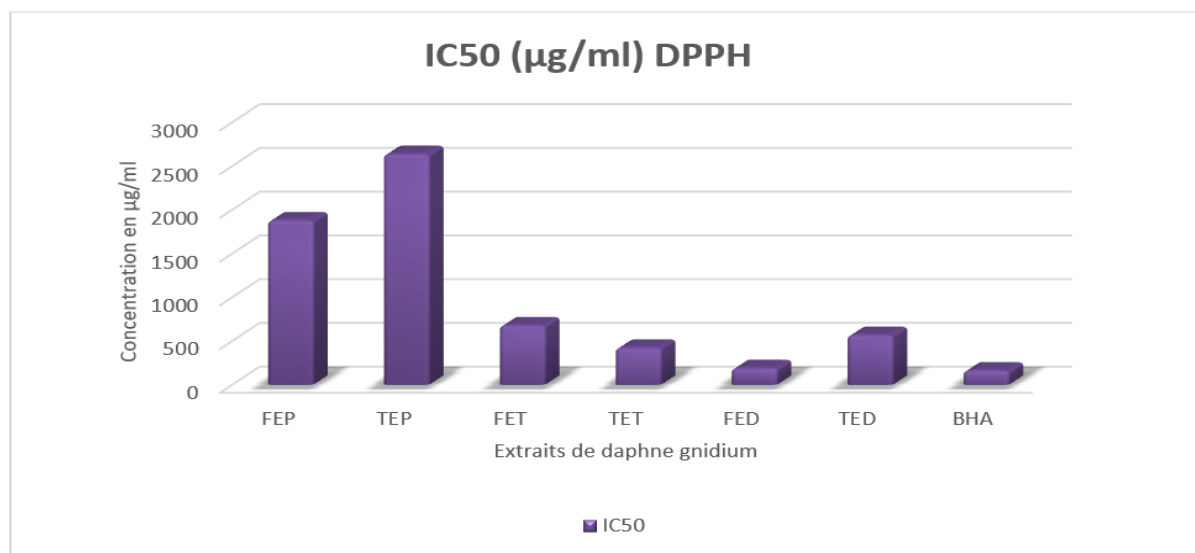
exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH sont illustrés dans la figure ci-dessous.

D'après les résultats obtenus dans **la figure 17**, en constatant que les différents extraits du *Daphne gnidium* possèdent une activité anti-radicalaire concentration-dépendante. Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH par les différents extractibles au soxhlet, varient

entre 4,8%  $\pm$ 2,9 et 96,48%  $\pm$ 1,15. Où les pourcentages d'inhibition les plus élevés ont été obtenus avec les extractibles éthanolique suivie par les extractible d'eau distillé, tandis que, les faibles activités ont été observé avec les extractible d'éther du pétrole.

L'activité anti-radicalaire des différents extraits obtenus à partir des feuilles et des tiges de *Daphne gnidium* et du standard a été exprimée en IC50, elle correspond à la concentration d'antioxydant requise pour neutraliser 50% de la concentration initiale du radical libre dans le milieu. Plus la valeur d'IC50 est faible, plus l'activité anti-radicalaire d'un composé est élevée (Ouibrahim et al., 2015).

La figure 18 illustre les résultats globale d'IC50 DPPH et le standard BHA, dans les meilleures efficacités ont été observé avec les extractibles de feuille à l'eau distillé avec une concentration de  $189.97 \pm 0.48$   $\mu$ g/ml, qui ne présente aucune différence significative avec le standard (BHAIC50 =  $163.52 \pm 0.21$   $\mu$ g/ml). Suivies par les tiges éthanol ( $423.79 \pm 0.19$   $\mu$ g/ml), les tiges l'eau distillée ( $568,83 \pm 0.23$   $\mu$ g/ml) et les feuilles éthanol ( $678.54 \pm 0.58$   $\mu$ g/ml). Les faibles efficacités ont été observés dans les extractibles éthers du pétrole (IC50=  $1879,47 \pm 0.38$   $\mu$ g/ml et  $2638,27 \pm 0.28$   $\mu$ g/ml  $\mu$ g/ml) pour les feuilles et les tiges respectivement.



**Figure 18 :** Les valeurs des IC50 exercées par les extraits de *Daphne gnidium* et de BHA

Dans une étude effectuée par Allal et al., 2019 sur l'extrait d'huile essentielle et d'hydrosol des parties aériennes (feuilles et tiges) du *Daphne gnidium* a montré une IC50



DPPH de  $1140 \pm 0.015 \mu\text{g/ml}$  et  $620 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$  respectivement, Ces résultats sont hautement inférieurs à ceux obtenus dans l'extrait éthanolique et l'extrait de l'eau distillée, et largement supérieure aux résultats obtenus dans l'extrait de l'éther de pétrole. Concernent l'extrait de l'eau distillée dans l'étude de (sanda et al., 2015) sur les feuilles et les tiges des d'autre espèces de Daphne (*D. pontica*) représente une valeur d'IC50 de (80 et 420  $\mu\text{g/ml}$ ) respectivement, Ces résultats sont nettement supérieurs à ceux obtenus dans le même extrait (189.97  $\mu\text{g/ml}$  et 568.83  $\mu\text{g/ml}$ ). L'étude réalisée par (Chaabane et al., 2015 et Ameni et al., 2015) sur l'extrait méthanolique des feuilles, l'extrait de chloroforme et d'acétate d'éthyle de la partie aérienne (tiges et feuilles) de *Daphne gnidium* respectivement, a montré des IC50 de l'ordre de 45 $\mu\text{g/ml}$ , 240 $\mu\text{g/ml}$  et 260 $\mu\text{g/ml}$ , ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus dans notre étude.

L'activité antioxydant observée de *Daphne gnidium* peut être principalement due à un ou plusieurs des composés présents dans des extraits de cette plant tels que (le phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)) et (limonene), présentant les pics majoritaires dans l'extrait de feuilles éthanolique, et (1-(+) -ascorbic acid 2,6-diheexadecanoate), (Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethenyl) -, acetate) et (thymol) comme molécules majoritaires observer chez l'extrait de feuille de l'eau distillée. Ainsi que, le (Cyclopentasiloxane, decamethyl) et (Ethanol, 2-(2-butoxyethoxy) -, acetate) qui présentent les concentrations les plus élevées, selon les résultats de GC/SM.

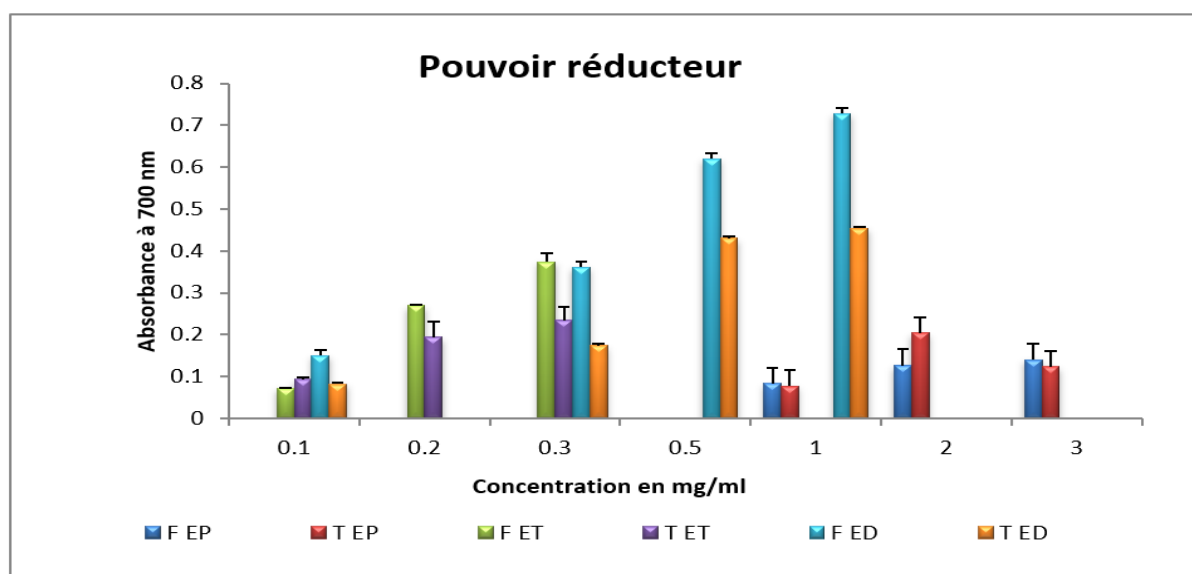
Ces composés sont des antioxydants puissants telle que l'acide ascorbique qui réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène (Bougandoura et Bendimerad, 2013). Sachant que, la capacité antioxydant des extraits dépendait fortement du profil phénolique qualitatif et quantitatif (Ameni et al., 2015).

En effet l'activité antioxydant ne dépend pas seulement de la concentration des polyphénols, mais également de la nature et la structure des antioxydants dans l'extrait. Généralement, les polyphénols ayant un nombre élevé des groupements hydroxyles présentent une activité anti-radicalaires très importante (Fadili et al., 2015), due à leur pouvoir de donner plus d'atomes pour stabiliser les radicaux libres, ce qui peut expliquer en partie que l'activité anti-radicalaire est dépendante du nombre, de la position et de la nature des substituants sur les cycles (groupements hydroxyles, metaxylés, glycosylés) et le degré de polymérisation (Akabassi et al., 2021).

## IV.2. Pouvoir réducteur

Les capacités réductrices des extractibles au soxhlet, ont été évalué avec la capacité réduire le fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) en donnant un électron qui est l'un des mécanismes antioxydants. C'est une technique rapide, facile et reproductible (Bentabet et al., 2014 ; Ghedadba et al., 2015 ; Bougandoura et Bendimerad, 2012).

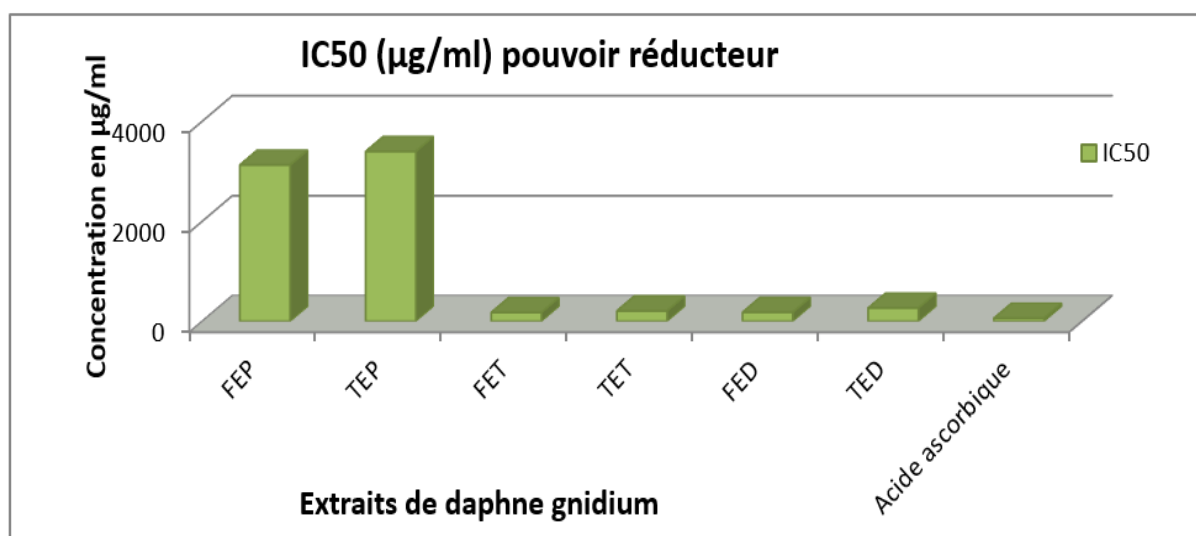
D'après (la figure 19), on remarque que les différents extraits des feuilles et des tiges de daphne gnidium possèdent une activité réductrice concentration- dépendants.



**Figure 19** : Pouvoir réducteur de fer des feuilles, des tiges de *Daphne gnidium*.

Les résultats obtenus révèlent les meilleures efficacités réductrices dans les extractibles éthanolique de feuille ( $0.373 \pm 0.02$ ) à une concentration de 0.3 mg/ml, suivie par les feuilles l'eau distillée ( $0.361 \pm 0.002$ ), les tiges éthanolique ( $0.235 \pm 0.031$ ), les tiges l'eau distillée ( $0.174 \pm 0.021$ ) pour la même concentration. Une faible activité réductrice observée dans les extraits de feuilles et des tiges d'éther de pétrole ( $0.127 \pm 0.001$  ;  $0.205 \pm 0.036$ ) respectivement, à une concentration de 2 mg/ml.

L'activité réductrice des différents extraits obtenus à partir des feuilles et des tiges de daphne gnidium et du standard a été exprimée en IC<sub>50</sub> (**Figure 20**). Où les meilleures activités réductrices ont été observées avec l'extrait éthanolique et l'extrait de l'eau distillée des feuilles et des tiges respectivement, de *Daphne gnidium*. Par rapport à l'extrait de l'éther de pétrole à montrer une faible activité réductrice dans les deux extraits des feuilles et des tiges. Avec des IC<sub>50</sub> de l'ordre de 177.87, 181.63, 209.93, 267.41, 3127.18 et 3397.23 µg/ml respectivement, par comparaison à l'acide ascorbique qui a une IC<sub>50</sub> de 62.03 µg/ml, ce qui démontre que les différents extraits de daphne gnidium ont une activité antioxydante inférieure à celle de standard. Donc l'efficacité anti-radicalaire est de l'ordre suivant : F ET > F ED > T ET > T ED > F EP > T EP.



**Figure 20** : Histogramme représentant les IC<sub>50</sub> des extraits de *Daphne gnidium* et de l'acide ascorbique.

Selon l'analyse statistique, une différence significative a été indiquée entre les différents extraits de plante et le standard ( $p < 0.05$ ).

L'étude réalisée par Allal et al., 2019 a montré les résultats d'IC<sub>50</sub> FRAP de l'extrait d'huile essentielle du *Daphne gnidium*, d'hydrosol et de l'acide ascorbique de l'ordre de (1100±0.04, 420±0.01, 910±0.09 µg/ml) respectivement. Ces résultats sont inférieurs à nos résultats dans l'extrait éthanolique et l'eau distillée, mais supérieurs à celle d'éther de pétrole. D'autre étude réalisée par Zegin et al., 2013 sur l'autre espèce de *Daphne* (*D. serica*) par différents extraits donner les résultats IC<sub>50</sub> FRAP de : Hexane (3452±63.640 µg/ml) inférieure aux résultats obtenus dans l'extrait d'éther de pétrole, méthanol (66.973±7.542

$\mu\text{g/ml}$ ), Ethanol ( $90.324 \pm 4.463 \mu\text{g/ml}$ ), ces résultats sont supérieurs à nos résultats dans l'extrait éthanolique et de l'eau distillée.

Le pouvoir réducteur des extraits de la plante est dose-dépendante, probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (Bougandoura et Bendimerad, 2013).

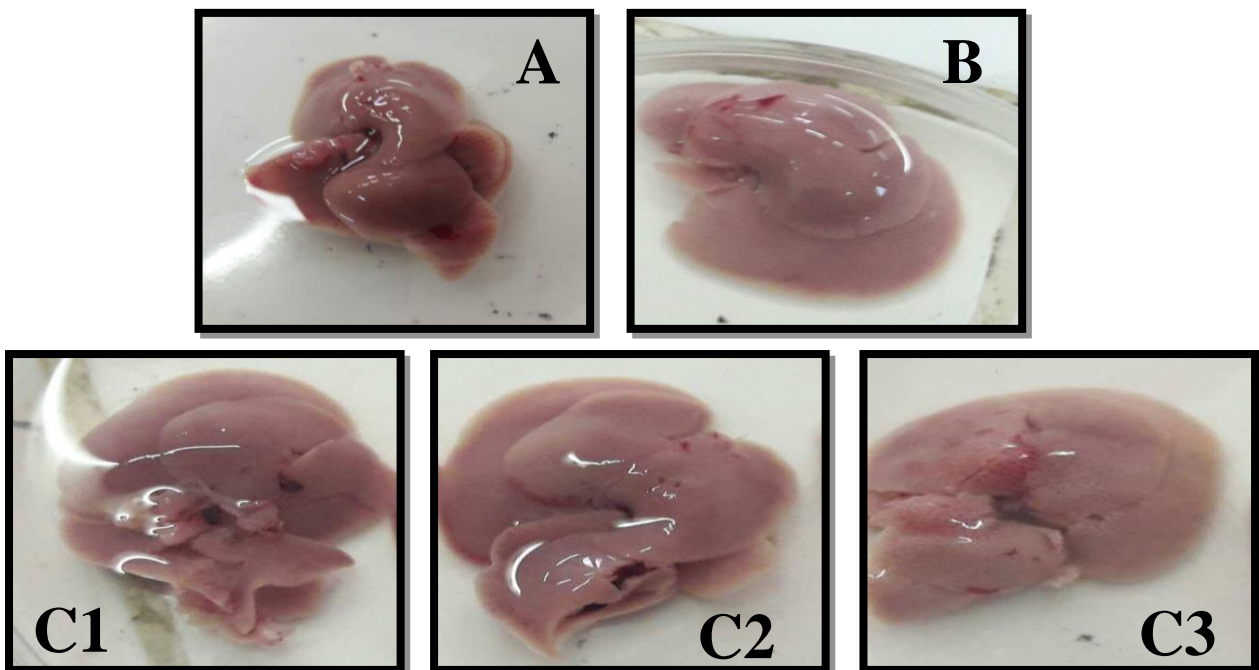
## V. Etude in vivo de l'effet de *Daphne gnidium* sur le stress oxydatif hépatique.

### V.1. Etudes macroscopique

Une lésion hépatique fait référence à un dommage, une anomalie ou un changement pathologique qui affecte le foie. L'observation macroscopique désigne l'examen visuel direct d'un échantillon ou d'un organe à l'œil nu, sans l'aide d'un microscope. Lorsqu'il s'agit de lésions hépatiques, l'observation macroscopique permet de décrire les caractéristiques visuelles de la lésion.

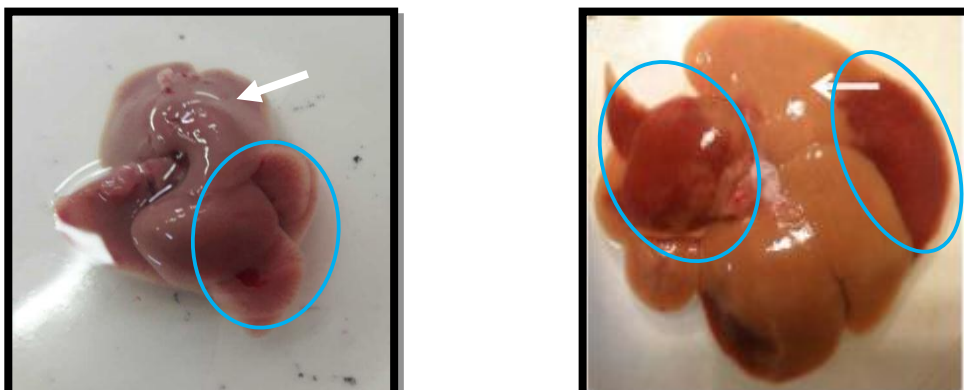
Dans notre étude, les foies des souris ont été prélevés par dissection après le sacrifice des animaux. Une fois les foies extraits, nous avons procédé à un lavage minutieux à l'eau physiologique stérile dans le but d'éliminer tout contaminant potentiel et de préserver l'intégrité des échantillons

Les différences macroscopiques et les types de lésions hépatique observés chez les rats traités par le paracétamol seul à (1g/kg) ou en cas de prétraitement par silymarin à (200 mg/kg), extraite éthanolique de *Daphne gnidium* a (25mg/kg ;75mg/kg et 100mg/kg) pendant 7 jours, sont représentées dans **la figure 21** ci-dessous :



**Figure 21** : Observations macroscopiques de foie non traité et traité de souris. A) foie intoxiqué avec 1 g/kg de paracétamol. B) foie prétraité avec 200 mg/kg de Silymarine et induit avec du paracétamol. C1 C2 C3) foie prétraité avec extrait éthanolique de D.g 25.

Nous avons observé une différence notable dans la couleur et la texture du foie des souris exposées au paracétamol (groupe 2) par rapport aux souris témoins (groupe 1). Les souris exposées au paracétamol présentaient une coloration brunâtre, tandis que les souris témoins posaient une couleur rouge clair. De plus, la texture du foie des souris exposées au paracétamol était altérée, avec une membrane hépatique présentant des lésions et des trous, tandis que les souris témoins présentaient une texture lisse et une membrane hépatique brillante. Ces observations sont identiques à ceux obtenues par (Mamat et al., 2013) avec utilisation de 3g/kg de paracétamol sur des Rats mâles (figure 20 ) en plus Plusieurs études microscopiques soutenant ces observations existent comme une étude (Nazir et al., 2021). Nous avons également constaté des résultats similaires pour les groupes traités avec de la Silymarine (groupe 3) et différentes doses de l'extrait éthanolique de *Daphné gnidium* (groupes 4, 5 et 6) par rapport au groupe témoin (groupe 1)



**Figure 22** : comparaison entre le foie de notre étude et le foie de l'étude de (Mamat et al., 2013).

Ces observations macroscopiques suggèrent la présence de lésions hépatiques induites par le paracétamol, indiquant une toxicité hépatique induite par cette dose du paracétamol. De plus, la capacité de la Silymarine et de l'extrait éthanolique de *Daphné gnidium* à protéger le foie contre les altérations causées par le stress oxydatif induit par le paracétamol a été mise en évidence. Les observations sont accordées avec l'étude de (Medila et al., 2021) de l'extrait aqueux (300 mg/kg) de *Daphni gnidium*

Les observations macroscopiques précédentes sont en accord avec les résultats des analyses des enzymes hépatiques élevées (ASAT, ALAT, PAL) dans le groupe exposé au paracétamol, confirmant ainsi l'effet protecteur de l'extrait de plante de *Daphné* sur le foie lors d'une intoxication par le paracétamol. Ces résultats démontrent de manière concluante les

effets bénéfiques de l'extrait de *Daphné* dans la protection contre les dommages hépatiques induits par le paracétamol. Ils sont également cohérents avec les études antérieures qui ont montré une diminution des taux d'enzymes hépatiques élevées, ce qui témoigne d'une amélioration de la fonction hépatique. Comme la composition chimique de la plante *Daphné gnidium* lui confère la capacité de protéger le foie des diverses agressions du stress oxydatif.

## V.2. Les paramètres biochimiques

L'évaluation de l'effet protecteur de l'extrait éthanolique des feuilles de *Daphne gnidium* contre le stress hépatique créée par une forte dose du paracétamol, a été effectuée en se basant sur l'évaluation de l'influence de ce traitement sur les paramètres biochimiques, par le dosage des transaminases, phosphatases alcalines, bilirubines, cholestérol et triglycéride chez les souris témoins, traitées par le paracétamol, prétraitées par le médicament de référence (silymarin) et par les extraits du *Daphne gnidium*. Les résultats obtenus ont été exprimés dans le tableau suivant :

**Tableau VIII** : les variations des taux des transaminases (ASAT /ALAT), phosphatase alcaline et bilirubine, cholestérol et triglycéride chez différents groupes des souris.

Groupe	ASAT (UI/L)	ALAT (UI/L)	PAL (UI/L)	Bilirubine (Mg/dL)	Cholestérol (g/L)	Triglycéride (g/L)
Control	01	06	26	03	1.25	2.1
PMC	651	600	260	08	2.6	3.1
Silymarine	07	01	223	02	1.45	2.4
D1	367	583	86	03	2.2	2.85
D2	394	281	114	04	1.95	2.91
D3	334	125	142	05	1.77	2.55
Valeur normale	233	74	204		1.1	1.9

D'après le **tableau VIII**, nous avons observé une différence significative ( $p \leq 0.001$ ) importantes des taux des paramètres biochimiques entre les différents groupes traités et non traités. Une augmentation hautement significative ( $p \leq 0.05$ ) de l'activité de transaminases ASAT et ALAT (651 UI/L ; 600 UI/L) respectivement. PAL (260 UI/L), Bilirubine (8 mg/L), cholestérol (2.6 g/L) et triglycéride (3.1 g/L) chez le groupe intoxiqué par une forte dose du

paracétamol par rapport au groupe de control normal (01 UI/L de ASAT, 06 UI/L de ALAT, 26 UI/L de PAL, 03 mg/dL de bilirubine, 1.25 mg/dL de cholestérol, 1.10 UI/L de triglycéride) et par rapport aux groupes traité par sylimarin (médicament de référence) et les extraits éthanoliques des feuilles de *Daphne gnidium* avec la dose de paracétamol.

Concernent les groupes de souris prétraitées par les extraits de *Daphne gnidium* à différentes doses 25 mg/ml, 75 mg/ml et 100 mg/ml, puis intoxiqué par le paracétamol (dose 1g/kg) de test préventif, on a observé une diminution significative dans les taux de paramètre biochimique, où la dose 25 mg/ml donner (367 UI/L de ASAT, 583 UI/L de ALAT, 86 UI/L de PAL, 03 UI/L de bilirubine, 1.25 g/L de cholestérol, 0.85 g/L de triglycéride). Par ailleurs la dose 75 mg/ml donner (394 UI/L de ASAT, 281 UI/L de ALAT, 114 UI/L de PAL, 04 UI/L de bilirubine, 1.04 g/L de cholestérol, 0.85 g/L de triglycéride). Et la dose 100 mg/ml donner (334 UI/L de ASAT, 125 UI/L de ALAT, 142 UI/L de PAL, 05 UI/L de bilirubine, 1.14 g/L de cholestérol, 1.32 g/L de triglycéride), par rapport au groupe intoxiqué par le paracétamol.

Les résultats ont montré que l'administration du paracétamol (1g/kg) avait augmenté les taux des marqueurs hépatiques sériques, ASAT, ALAT, PAL, Bilirubine, Cholestérol et Triglycéride, par rapport au contrôle normal. Nos résultats concordent avec les résultats publiés par (Subramanian et al., 2013 ; Abirami et al., 2015 ; Kanchana et al., 2011), travaillé sur des extraits de feuilles d'autre plante et la toxicité hépatique induite par le paracétamol chez les rats où les niveaux des paramètres biochimiques chez le groupe control normal se sont de (94.1 UI/L de ASAT, 36.39 UI/L de ALAT, 159.77 UI/L de PAL, 0.55 mg/dL de bilirubine, 28.57 mg/dL de cholestérol, 2.02 UI/L de triglycéride). Tandis qu'une élévation de ces paramètres a été observée chez le groupe intoxiqué par le paracétamol (410.74 UI/L de ASAT, 183.15 UI/L de ALAT, 312.4 UI/L de PAL, 2.14 mg/dL de bilirubine, 65.37 mg/dL de cholestérol, 4.82 IU/L de triglycéride).

Cette augmentation massive dans les activité sériques ASAT, ALAT, PAL...,etc, chez le groupe traité par le paracétamol indique directement l'étendue des dommages et de la toxicité hépatique par le paracétamol (Afroz et al., 2014), En tant qu'organe internes plus important du corps qui joue un rôle crucial dans le métabolisme et la régulation des processus biochimiques et physiologiques essentiels (Henneh et al., 2022), le foie est le site principal de la biotransformation et de détoxifiant de xénobiotiques toxiques exogène (Sarg et al., 2011).

Le paracétamol (acétaminophène) est un antipyrétique et un analgésique largement utilisé pouvaient produire une nécrose hépatique grave chez l'homme et dans des animaux



expérimentaux lorsqu'il consommées en surdoses (Kanchana et Sadiq., 2011 ; Subramanian et al., 2013). Ils sont principalement métabolisés dans le foie, par le cytochrome P450 pour donner un métabolite hautement réactif et toxique N-acétyl-p-Benz quinone imine (NAPQI) qui est immédiatement détoxifié par conjugaison avec glutathion réduit (GSH) et est éliminé sous forme de dérivés mercapturiques dans les urines (Subramanian et al., 2013 ; Abirami et al., 2015).

L'utilisation excessive du paracétamol provoqué une hépatotoxicité représentée dans une cytolysse et une nécrose hépatocytaire dose-dépendante, initiée par la formation en excès de NAPQI, en raison de la saturation des voies de conjugaison et de la déplétion rapide de glutathion intracellulaire. Par conséquent, le NAPQI former une liaison covalente aux protéines cytosolique, activant alors une cascade de kinases, à l'origine d'un stress oxydant (Mégarbane, 2017). L'effet résultant est l'accumulation d'espèces réactives d'oxygènes qui affectent la membrane des hépatocytes, induisent la peroxydation lipidique et provoquent la nécrose du foie (Henneh et al., 2022). La perturbation de l'homéostasie hépatique permettant une fuite d'enzymes cellulaires dans le plasma en raison de la perturbation causée dans les fonctions de transport des hépatocytes (Subramanian et al., 2013).

En particulier, l'augmentation du taux sérique des enzymes hépatiques (ASAT, ALAT et PAL) reflète la libération de ces enzymes dans le compartiment extracellulaire (plasma sanguin), associés à des lésions cellulaires hépatiques et des dommages à la membrane cellulaire et aux fuites d'enzymes hépatocytes ainsi que la perte de capacité fonctionnelle de la membrane cellulaire dans le foie, ce sont des enzymes spécifique au foie et considérer comme des biomarqueurs important pour l'hépatotoxicité (Benkhaled et al., 2020).

Une autre enzyme hépatique qui mérite d'être étudiée est la phosphatase alcaline (ALP). Un niveau élevé dans le sérum sanguin a été obtenu après l'administration de paracétamol est lié à l'augmentation de sa synthèse par les cellules, généralement en réponse à la cholestase, à l'augmentation de la pression biliaire et des lésions hépatobiliaires. L'hépatotoxicité est connue pour provoquer une congestion biliaire, C'est-à-dire l'incapacité du corps à excréter l'ALP, entraînant ainsi une élévation comme on le voit dans le groupe PCM (Henneh et al., 2022 ; Kanchana et al., 2011).

La bilirubine est un produit de dégradation du l'hème dans le système réticuloendothélium ; hyperbilirubinémie a été observée dans le groupe de paracétamol par rapport aux contrôle normal, en raison de la destruction de l'hème excessive et blocage des voies biliaires, par conséquent l'inhibition de la masse de la réaction de conjugaison et

libération de la bilirubine non conjuguée à partir des hépatocytes endommagés (Abirami et al., 2015 ; Kanchana et al., 2011).

Le paracétamol induit des modifications dans le métabolisme de cholestérol et triglycérides. Une augmentation de ces derniers a été enregistrée dans le groupe de souris traité par le paracétamol, par rapport au contrôle normal. L'élévation des niveaux du triglycéride au cours de l'intoxication par le paracétamol pourrait être liée à la disponibilité accrue des acides gras libres, qui a diminué la libération hépatique de lipoprotéines et l'estérification augmenté d'acide gras libres, suite à la perte d'intégrité fonctionnelle de membrane cellulaire (Kanchana et al., 2011).

Le changement de l'activité de ces marqueurs sériques peut être le résultat de nombreuses affections, y compris une nécrose hépatique, une fuite cellulaire et la perte d'intégrité fonctionnelle de la membrane plasmique dans le foie (Sivakumar et al., 2014 ; Kanchana et al., 2011).

Les résultats de prétraitement des souris par la Silymarine montrent qu'une diminution significative de taux sérique des ASAT, ALAT, PAL, Bilirubine, cholestérol et triglycéride. Était similaire à celle observée dans le groupe de contrôle normal, est une indication de la stabilisation de la membrane plasmique, ainsi que l'amélioration fonctionnelle des hépatocytes et la réparation des dommages des tissus hépatiques, causés par le paracétamol, ce qui suggère que ce médicament exerce un effet hépato-protecteur (Abirami et al., 2015).

La Silymarine est un mélange de flavonoïdes (taxifoline, silybine, isosilybine, silydianine, silychristine et isosilychristine), extraits de graines de *Silybum marianum* (Das et al., 2011). Une agent hépatoprotecteur bien connu contre l'hépatotoxicité induite par le paracétamol (Abirami et al., 2015). De ce fait, elle est considérée comme molécule de référence dans les évaluations hépatoprotectrice des extraits de plantes (Sivakumar et al., 2014). Où la Silymarine inhibe le cytochrome P450 hépatique oxydase, la principale enzyme responsable de l'activation de paracétamol (PCM) et sa transformation en métabolites toxique NAPQI (Benchiha et al., 2015 ; Saadlbichr., 2017)

Le prétraitement des souris avec des doses croissantes de l'extrait éthanolique des feuilles de *Daphne gnidium* (25 mg/kg ; 75 mg/kg et 100 mg/kg) suivi d'une dose de PCM (1 g/kg) ont entraîné une diminution significative des paramètres biochimiques hépatiques (123.24 UI/L de ASAT, 111.3 UI/L de ALAT, 210.8 UI/L de PAL, 0.85 mg/dL de bilirubine,

45.23 mg/dL de cholestérol) en comparaison au groupe de paracétamol. Ces résultats sont en accord avec d'autres travaux réalisés par (Nunes et al., 2017, Rathee et al., 2018, Henneh et al., 2022, Lakshmi et al., 2018) où les extraits de plantes ont prouvé leurs effets hépatoprotecteurs, chez les souris après l'exposition à une forte dose de paracétamol.

La réduction concomitante des activités enzymatiques sériques des ALAT, ASAT, PAL et de Bilirubine, cholestérol et triglycéride montre l'effet protecteur d'extrait éthanolique des feuilles de *Daphne gnidium*, et indiquant qu'ils protègent des hépatocytes et maintiennent la physiologie du foie normal et provoquent d'avantage la stabilisation de la membrane plasmique et de régénération des cellules hépatiques endommagées (Sivakumar et al., 2014).

Ces résultats suggèrent que l'extrait éthanolique de feuilles de *Daphne gnidium* possède des propriétés protectrices contre les lésions hépatiques induites par le paracétamol, due à leur potentiel antioxydant associés à la présence de métabolites secondaires notamment les polyphénols, les flavonoïdes et les tannins dans l'extrait principalement responsables de la puissance antioxydante et l'effet hépatoprotecteur (Subramanian et al., 2013). Par conséquent, peuvent être réduites les ROS générés qui accompagnent la formation des NAPQI et réduire les dommages oxydatifs causés par l'activité toxique des accumulations du produit du métabolisme de paracétamol : le N-acétyl p-benzoquinone-imine (NAPQI) dans le foie, ce qui peut provoquer une destruction cellulaire ou augmenter la perméabilité des cellules hépatiques. Améliorer les activités des enzymes antioxydantes du foie et protéger ainsi le foie de dommages induit par le paracétamol dans les animaux expérimentaux (Abirami et al., 2015 ; Saad albichr., 2017).

### **V.3. Evaluation du potentiel antioxydant de l'extrait éthanolique de *Daphne gnidium***

Le potentiel antioxydant est une mesure de la capacité d'une substance à neutraliser ou à réduire les effets néfastes des espèces réactives de l'oxygène, communément appelées radicaux libres. Les radicaux libres sont des molécules hautement réactives qui peuvent endommager les cellules et les tissus en oxydant les composants cellulaires, tels que les lipides, les protéines et l'ADN (Saidurrahman et al., 2022)

Les antioxydants agissent en neutralisant les radicaux libres, en les rendant moins réactifs ou en les éliminant du système. Ils peuvent accomplir cela de plusieurs manières, notamment en donnant un électron à un radical libre, en réduisant sa réactivité ou en piégeant les radicaux libres dans des complexes stables (Rathee et al., 2018)

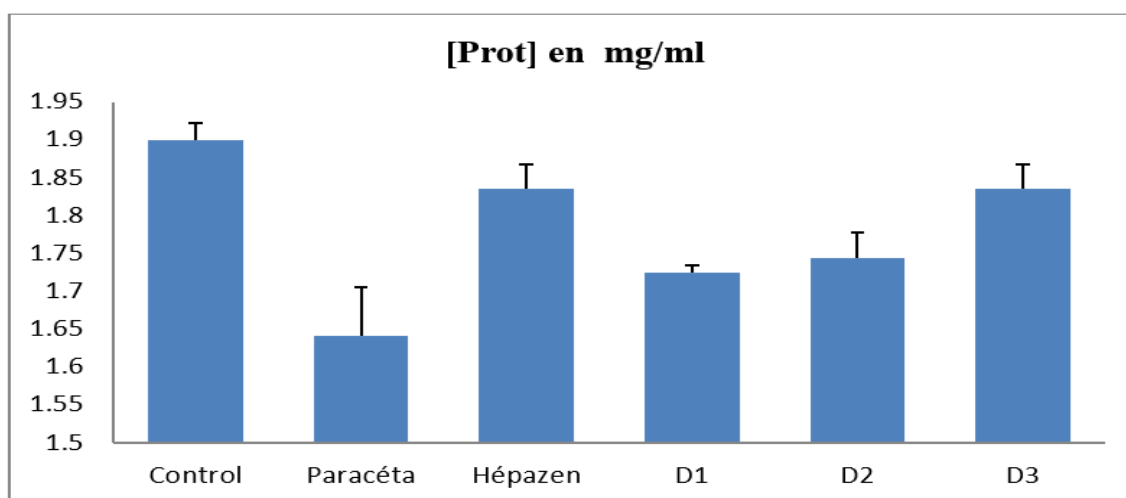
Le pouvoir antioxydant peut être mesuré à l'aide de différentes méthodes, telles que l'évaluation de l'activité enzymatique des enzymes antioxydants telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx) et la GST (Glutathione S-transférase), ou en mesurant les niveaux de composés antioxydants tels que le glutathion (GSH) et des marqueurs de stress oxydatif comme Le malondialdéhyde (MDA) (Saidurrahman et *al.*, 2022)

En tant qu'organe de désintoxication, le foie est le premier organe qui rencontre tous les matériaux qui sont absorbés par le tractus gastro-intestinal. Il a été démontré qu'il réagissait aux effets toxicologiques de plusieurs façons, y compris la dégénérescence cellulaire et la nécrose (Onu et *al.*, 2013). Plusieurs rapports scientifiques, réalisés sur des souris, ont montré que le paracétamol peut induire une destruction du foie par l'élévation des taux sanguins des transaminases (ASAT/ ALAT), Ainsi que, la perturbation du système endogène antioxydant enzymatique et non enzymatique (Hozayen et *al.*, 2014).

L'effet hépatoprotecteur des extraits éthanoliques des feuilles du *Daphne gnidium*, a été évalué en utilisant des souris femelles comme modèle animal. L'hépatotoxicité est induite par l'administration par voie orale d'une dose de 1g/kg du paracétamol. Plusieurs tests ont été réalisés pour déterminer l'effet préventif des extraits éthanoliques de feuille du *Daphne gnidium*, à savoir, le dosage des paramètres biochimiques hépatique, telle que les transaminases et le billon lipidique, ainsi que, les paramètres du stress oxydatif enzymatique (SOD, CAT, GPX, GST) et non enzymatique de MDA et de GSH, et le taux des protéines totales cytosolique. Les résultats sont illustrés dans les figures ci-dessous.

### **V.3.1. Concentration des protéines totales du cytosol hépatique**

Les résultats de **la figure 25** présentent le dosage des protéines totales au niveau du cytosol hépatique.



**Figure 23 :** Variations des concentrations des protéines totales du cytosol hépatique après traitement par le paracétamol (1g/kg) ou en cas de prétraitement par les doses du D.g avec D1 (25mg/kg), D2 (75mg/kg), D3 (100mg/kg) ou par l'hépazen (200mg/kg)

Nos résultats démontrent une diminution significative ( $P < 0.05$ ) de la concentration des protéines totales du cytosol hépatique chez les souris traitées avec du PCM ( $1.64 \pm 0.06 \text{ mg/ml}$ ) par rapport au groupe control ( $1.9 \pm 0.021 \text{ mg/ml}$ ). Cependant, cette concentration a augmenté lorsque les souris ont été prétraitées avec l'hépazen (Silymarine) ( $1.83 \pm 0.32 \text{ mg/ml}$ ) ou des extraits éthanoliques des feuilles de *Daphne gnidium* ( $1.72 \pm 0.01 \text{ mg/ml}$ ,  $1.74 \pm 0.03 \text{ mg/ml}$  et  $1.83 \pm 0.03 \text{ mg/ml}$ ) à des doses de 25mg/Kg, 75mg/Kg et 100mg/kg respectivement, par rapport au groupe traité au PCM. Cette déplétion en protéines suggère que le model hépato-toxicité par le paracétamol avec la dose 1g/kg est réussie, cette diminution du taux de protéines peut être expliquée par la mauvaise synthèse de protéines à cause de la lyse cellulaire des hépatocytes par NAPQI suite à un surdosage de paracétamol, et par la dissociation du poly-ribosome par rapport au réticulum endoplasmique ce qui perturbe le mécanisme de synthèse des protéines.

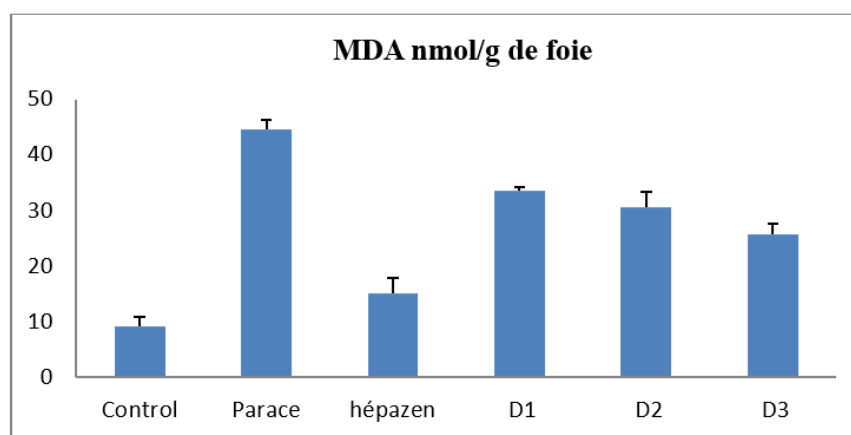
L'étude de Sharmila et *al.*, 2021 a montré des résultats concordants à nos résultats, révélant également une diminution du niveau des protéines cytosoliques. En parallèle, Akharaiyi et *al.*, 2022, a enregistré une perturbation de synthèse protéique suite à un traitement par le PMC.

Le prétraitement avec l'extrait éthanolique de feuilles de *Daphne gnidium*, est significativement restauré la concentration des protéines totales, confirmant ainsi l'effet

préventif et hépatoprotecteur du *Daphne gnidium* contre la toxicité du paracétamol. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Akharaiyi et *al.*, 2022, qui ont démontrés également une élévation de la concentration des protéines totales après un prétraitement par l'extrait éthanolique de feuilles d'*Hoslundia opposita*.

### V.3.2. Peroxydation lipidique

La figure 24 présente les variations du MDA (malondialdéhyde) cytosolique dans le foie des souris, qu'elles aient été prétraitées ou non avec l'extrait de feuilles de *Daphne gnidium*. Les résultats sont exprimés en mmole/g de foie en utilisant une courbe étalonnage de tetraethoxypropane (TEP).



**Figure 24** :Variations des taux du MDA cytosolique hépatique après traitement par le paracétamol (200mg/kg) ou en cas de prétraitement par les doses du D.g avec D1 (25 mg/kg), D2 (75 mg/kg), D3 (100mg/kg) ou par l'hépazen (200 mg/kg) pendant 7 jours.

Selon nos résultats, nous avons observé une augmentation significative ( $p < 0.05$ ) du MDA cytosolique chez les souris traitées avec du PCM à 1 g/Kg ( $44.65 \pm 1.72$  nM/g de foie) par rapport au control ( $9.18 \pm 1.72$  nM/g de foie). De plus, nous avons également constaté une diminution du taux de MDA chez les souris prétraitées avec de Hépazen à 200 mg/Kg ( $15.17 \pm 2.71$  nM/g de foie), ainsi que, les souris prétraitées par les doses d'extrait éthanolique des feuilles de *Daphne gnidium* ( $33.54 \pm 0.74$ ,  $30.55 \pm 2.71$  et  $25.64 \pm 1.97$  nM/g de foie) à la dose de 25 mg/Kg, 75mg/kg et 100mg/kg respectivement, par rapport au groupe intoxiqué par le PCM.

La peroxydation lipidique correspond à un processus de dégradation oxydative des acides gras polyinsaturés présents dans les phospholipides membranaires. Ce processus entraîne progressivement une altération de l'intégrité de la membrane cellulaire, perturbant

ainsi la fonction de transport membranaire et l'homéostasie des ions cellulaires. Les phospholipides membranaires sont une cible importante des dommages causés par les radicaux libres, et la peroxydation lipidique est généralement le premier paramètre analysé pour évaluer ces atteintes (Hinson et *al.*, 2010).

Les résultats de cette étude révèlent une augmentation significative du taux de MDA (malondialdéhyde) cytosolique dans le tissu hépatique du groupe traité par le paracétamol. Cette augmentation du MDA indique clairement une augmentation de la peroxydation lipidique dans le tissu hépatique en raison de l'administration d'une forte dose de paracétamol. Ces effets sont liés à la génération de radicaux libres oxygénés (ROS) suite à la dégradation du paracétamol en NAPQI (N-acétyl-p-benzoquinone imine) (Reid et *al.*, 2005). En présence d'oxygène, le radical NAPQI génère des ROS, notamment le radical hydroxyle, qui peut profondément altérer les lipides membranaires, entraînant ainsi la peroxydation lipidique (Hinson et *al.*, 2010). Dans le même contexte, des études précédentes, ont montré que l'administration d'une forte dose du paracétamol, induit une augmentation de la peroxydation lipidique au niveau du tissu hépatique (Kresnamurti et *al.*, 2021 ; ElsayedElgarawany et *al.*, 2020)

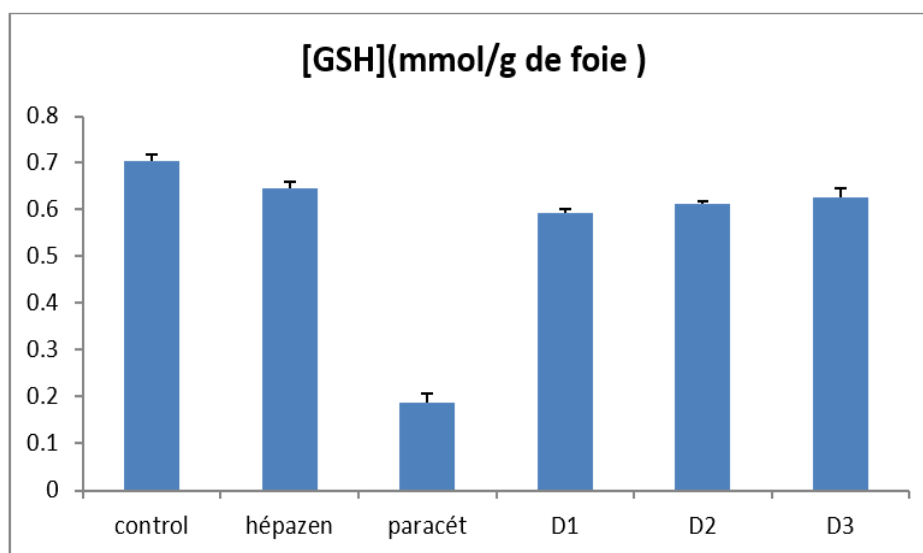
De plus, il a été observé que le prétraitement avec les extraits de feuilles de *Daphne gnidium* entraîne une diminution du taux de MDA cytosolique. Cette observation suggère que les extraits de *Daphne gnidium* protègent le tissu hépatique contre les effets toxiques du stress oxydant, en particulier dans le contexte de la peroxydation lipidique. Cette action protectrice pourrait être attribuée à la capacité des extraits de feuilles de *Daphne gnidium* à réduire les niveaux de MDA dans le tissu hépatique. En effet, on peut expliquer l'effet hépato-protecteur du *Daphne gnidium* par sa composition chimique illustrée dans la section analyse GC-MS qui a montré la richesse de cette plante en composés chimiques qui ont déjà démontrés ses effets hépato-protecteurs, telle que, l'acide ascorbique, le thymol, limonene et Phenol, 2-méthyl-5-(1-méthylethyl). En parallèles, des résultats similaires ont été enregistrés après prétraitement des souris par l'extrait éthanolique d'artichaut, étudié par ElsayedElgarawany et *al.*, (2020).

### V.3.3. Glutathion (GSH) cytosolique hépatique

L'un des antioxydants endogènes les plus importants impliqués dans l'hépatoprotection est le glutathion (GSH). C'est la première barrière et l'un des piègeurs de radicaux libres non enzymatiques les plus abondants produits par le foie. Il élimine les radicaux libres comme les

peroxydes d'hydrogène et les radicaux superoxydes, tout en stabilisant les protéines membranaires (Henneh et al., 2022).

La figure 25, présente le taux de glutathion hépatique chez les souris prétraitées et non par l'extrait éthanolique de feuilles de *Daphne gnidium* avec la dose de 25 mg/Kg, 75 mg/kg et de 100 mg/kg.



**Figure 25 :** Variations de taux de GSH cytosolique hépatique après traitement par le paracétamol (1g/kg) ou en cas de prétraitement par les doses du D.g avec D1 (25mg/kg), D2 (75mg/kg), D3 (100mg/kg) ou par l'hépazen (200mg/kg) pendant 7 jours.

Les résultats de notre étude ont montré une diminution extrêmement significative du GSH hépatique ( $p < 0.05$ ) chez les souris recevant uniquement du PCM ( $0.18 \pm 0.01$  mM/g de foie) par rapport au control ( $0.70 \pm 0,01$  mM/g de foie). Cependant, le prétraitement des souris avec de l'hépazen à une dose de 200 mg/kg a augmenté de manière très significative les niveaux de GSH ( $0.64 \pm 0,01$  mM/g de foie) par rapport au groupe recevant du PCM. De plus, une augmentation significative du GSH a été observée chez les souris prétraités avec l'extrait éthanolique de feuilles de *Daphne gnidium* à une dose de 25 mg/kg, 75 mg/kg et 100mg/kg ( $0.59 \pm 0,009$  mM/g de foie,  $0.61 \pm 0,004$  mM/g de foie et  $0.62 \pm 0.01$  mM/g de foie) respectivement. Ces résultats peuvent être expliqués par la consommation accrue de GSH dans la neutralisation des radicaux libres produits par le paracétamol. L'oxydation du GSH conduit à la formation de GSSG (glutathion oxydé), qui est la forme désactivée du glutathion. Cette conversion du GSH en GSSG diminue le rapport GSH/GSSG, ce qui reflète un



déséquilibre entre les antioxydants et les espèces réactives de l'oxygène dans le tissu. Ce déséquilibre indique une augmentation du stress oxydatif, où les radicaux libres peuvent causer des dommages cellulaires et tissulaires. (Mishra et al., 2013, Pushpakiran et al., 2004 ; Jordao et al., 2004 et Emre et al., 2014).

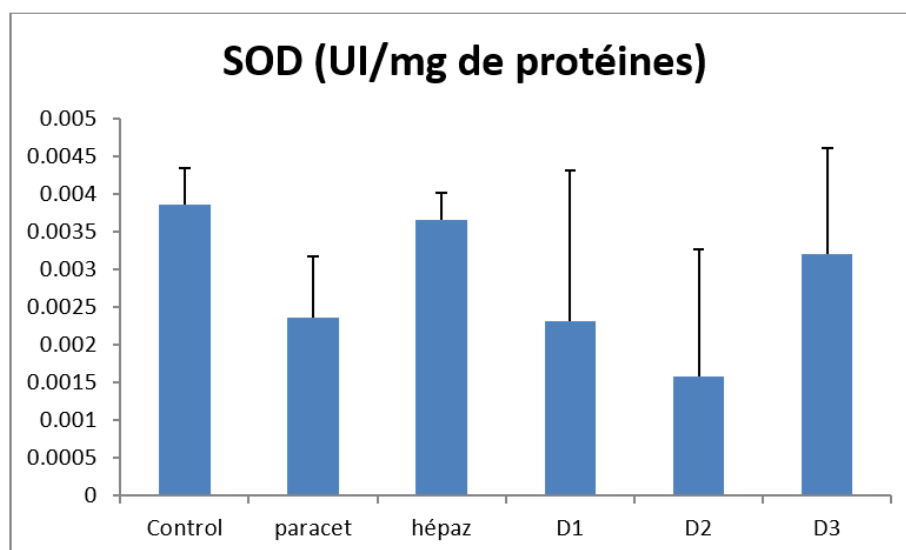
Le prétraitement des souris par l'extrait éthanolique de feuille de *Daphne gnidium* semble être bénéfique, en augmentant le taux du GSH hépatique, en comparant aux souris traitées seulement par le PCM. L'augmentation du niveau de GSH observée dans cette étude est attribuée à la présence de composés phytochimiques de la plante étudiée, tels que les polyphénols notamment l'acide ascorbique, qui est connus par ses effets pharmacologiques intense. Ces composés peuvent agir de différentes manières pour favoriser la synthèse du GSH ou influencer les étapes de sa biosynthèse (Halliwell, 1994).

D'autre part, ces composés peuvent également agir en tant que "scavengers" ou pièges à radicaux libres. Au lieu de permettre aux métabolites réactifs toxiques de réagir avec et consommer le glutathion, les flavonoïdes les captent et les neutralisent. Cela permet de protéger le GSH et de maintenir son niveau dans les cellules hépatiques, favorisant ainsi son rôle antioxydant. Des résultats similaires ont été enregistrés après prétraitement des souris par l'extrait éthanolique des feuilles d'artichaut (ElsayedElgarawany et al., 2020).

#### **V.3.4. Activité enzymatique de la superoxyde dismutase SOD**

La superoxyde dismutase (SOD) est une métalloprotéine, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion superoxyde  $O_2^{\bullet-}$  par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène (Haleng et al., 2007).

**La figure 26**, représente le taux de superoxyde dismutase chez les souris prétraitées ou non par l'extrait éthanolique de feuille de *Daphne gnidium* à la dose de 25mg/Kg, 75mg/kg et de 100mg/kg.



**Figure 26 :** Variations de taux de SOD cytosolique hépatique après traitement par le paracétamol (1g/kg) ou en cas de prétraitement par les doses du D.g avec D1 (25mg/kg), D2 (75mg/kg), D3 (100mg/kg) ou par l'hépaZen (200mg/kg) pendant 7 jours.

Les résultats de notre étude ont montré une diminution extrêmement significative du SOD hépatique ( $p < 0.05$ ) chez les souris recevant uniquement du PCM ( $0.0023 \pm 0.0004$  UI/mg de protéines) par rapport au control ( $0.0038 \pm 0.0004$  UI/mg de protéines). Cependant, le prétraitement des souris avec de l'hépaZen à une dose de 200 mg/kg a augmenté de manière très significative les niveaux de SOD ( $0.0036 \pm 0.0003$  UI/mg de protéines) par rapport au groupe recevant du PCM seul. De plus, une augmentation significative du SOD a été observée chez les souris prétraités avec un extrait éthanolique de feuilles de *Daphne gnidium* à une dose de 25 mg/kg, 75 mg/kg et 100mg/kg ( $0.0023 \pm 0.0001$  UI/mg de protéines,  $0.0015 \pm 0.0016$  UI/mg de protéines et  $0.003 \pm 0.0001$  UI/mg de protéines) respectivement.

Les résultats de cette étude indiquent une diminution du taux de SOD chez les groupes de souris traitées par le paracétamol (PCM). Cette diminution peut être attribuée au fait que le NAPQI, le métabolite toxique du paracétamol, réagit avec les composants cellulaires, ce qui entraîne des dommages oxydatifs et une production accrue de radicaux libres. Ce stress cellulaire peut conduire à la destruction ou à l'inactivation de l'enzyme SOD, ce qui réduit son taux dans les hépatocytes (SAAD et al., 2017). Ces résultats sont en accord avec Salem et al., 2018 qui ont montré une déplétion sévère de la quantité de SOD dans l'homogénat de tissu hépatique lors de l'intoxication par le PCM et sont en accord avec la notion que la formation de NAPQI par PCM génère des radicaux libres qui épuisent les réserves d'enzymes antioxydantes dans les cellules hépatiques conduisant à la formation hépatocellulaire nécrose.

Le prétraitement des souris par l'extrait éthanolique de feuille de *Daphné gnidium* a montré une augmentation du SOD en appliquant la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) par rapport au groupe traité par le paracétamol (PCM). De plus, le *Daphne gnidium* a démontré un effet hépatoprotecteur important contre les dommages hépatiques induits par le PCM. Ces effets bénéfiques du *Daphne gnidium* peuvent être attribués à sa teneur élevée en polyphénols, flavonoïdes et en tanins, ainsi qu'à sa capacité à maintenir l'intégrité de la membrane cellulaire, à réduire la peroxydation des lipides et à préserver et/ou à activer les enzymes antioxydantes, telles que la SOD (Deiana et al., 2003 ; Chaabane et al., 2012)

Ainsi, l'administration préalable de l'extrait éthanoliques de feuilles de *Daphné gnidium* a permis de renforcer le système antioxydant, notamment en préservant ou en activant l'enzyme SOD, tout en utilisant la production d'ERO. Cela contribue à protéger le foie contre les dommages induits par le paracétamol.

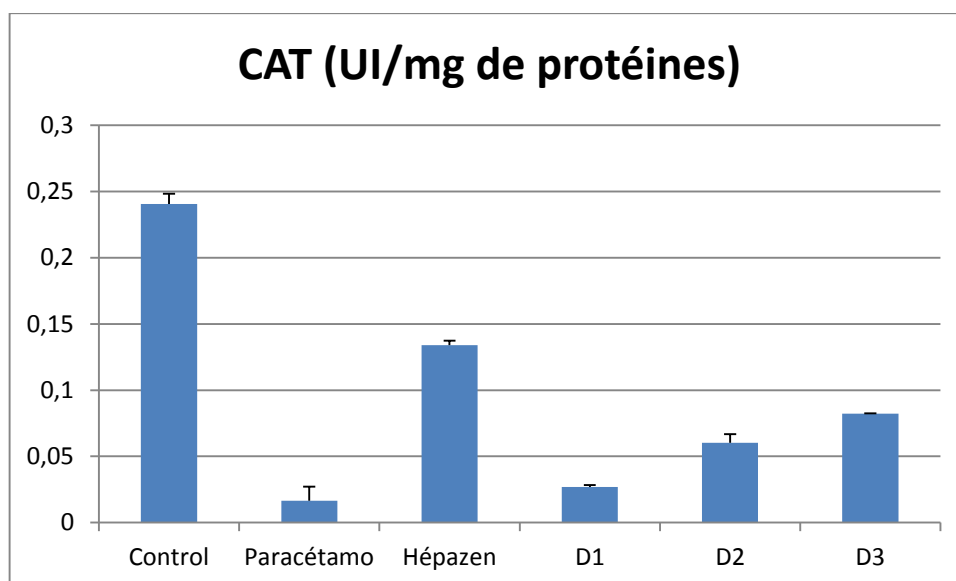
Des résultats similaires ont été observés dans une étude menée par Johnson et al., 2015. Cette étude a montré que le prétraitement par l'extrait éthanolique de *Vernonia amygdalina*, a également renforcé le système antioxydant et a eu un effet hépatoprotecteur contre les dommages hépatiques induits par le paracétamol (PCM).

### **V.3.5. Activité enzymatique de la catalase**

La catalase est une enzyme essentielle à la détoxification de l'hydrogène peroxyde (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en oxygène (O<sub>2</sub>) et en eau (H<sub>2</sub>O). Elle joue un rôle crucial dans la protection des cellules contre les dommages causés par les substances réactives de l'oxygène, notamment le peroxyde d'hydrogène, qui peut être toxique pour les cellules (Niki et al., 2007).

**La figure 27**, illustre le taux de catalase chez les souris prétraitées ou non par l'extrait éthanolique de feuilles de *daphne gnidium* à la dose de 25mg/Kg, 75mg/kg et de 100mg/kg.

Il est important de souligner que la SOD (superoxyde dismutase) et la catalase sont deux enzymes antioxydant qui neutralisent les ROS d'une manière complémentaire. La SOD intervient en amont en convertissant les superoxydes en peroxyde d'hydrogène, tandis que la catalase agit en aval pour décomposer rapidement le peroxyde d'hydrogène en produits non toxiques tels que l'eau et l'oxygène. Leur collaboration confirme l'équilibre redox dans les cellules, préservant ainsi l'intégrité cellulaire et prévenant les dommages oxydatifs. (Tremellen, 2008).



**Figure 27** : Variations de taux de catalase cytosolique hépatique après traitement par le paracétamol (1g/kg) ou en cas de prétraitement par les doses du D.g avec D1 (25mg/kg), D2 (75mg/kg), D3 (100mg/kg) ou par l'hépazen (200mg/kg) pendant 7 jours.

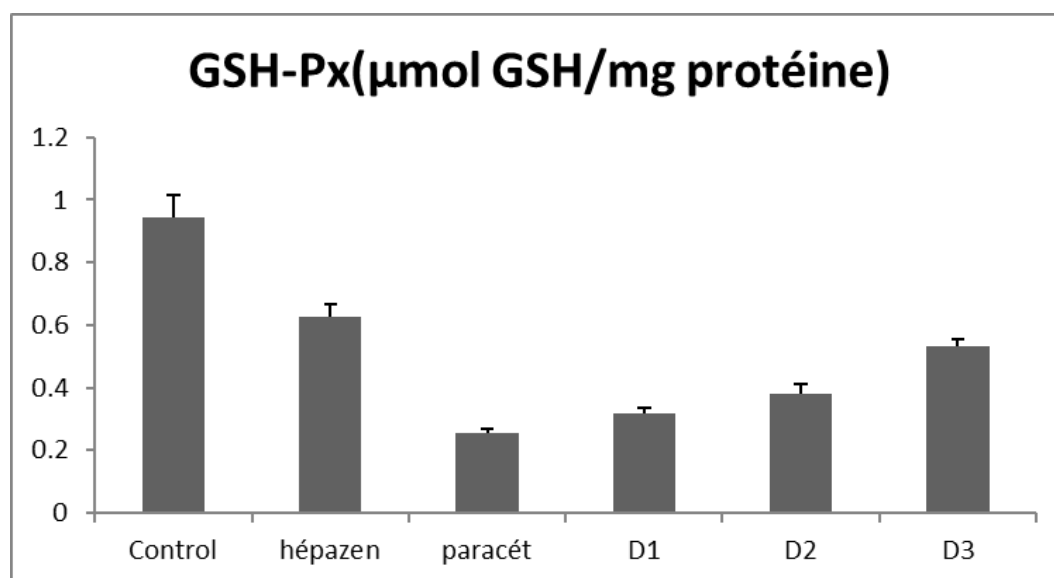
Dans cette étude, une réduction significative ( $p < 0.05$ ) de l'activité de la CAT a été enregistrée chez des souris ayant reçu le PCM seul ( $0.016 \pm 0.01$  UI /mg de protéines) par rapport au control ( $0.24 \pm 0.23$  UI /mg de protéines). La réduction de l'activité CAT reflète l'installation d'un stress oxydatif (Niki et al., 2007). L'activité de la CAT dans les groupes prétraités avec l'extrait éthanolique de *Daphne gnidium* a des doses 25mg/kg, 75mg/kg et 100mg/kg ( $0.02 \pm 0,001$  UI /mg de protéines,  $0.06 \pm 0.03$  UI /mg de protéines et  $0.08 \pm 0.05$  UI /mg de protéines) a été augmenté de façon significative ( $P \leq 0.05$ ) par rapport au groupe traité par le PCM seul ( $0.016 \pm 0.01$  UI /mg de protéines).

Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par plusieurs auteurs (Okokon et al., 2017 ; Sabina et al., 2017). Cette diminution pourrait être due à la destruction de ces enzymes suite au stress cellulaire induit par le PCM, ou encore suite à son inactivation par les ERO (Gillet, 2011). Par contre le prétraitement des souris par des doses croissantes de l'extrait éthanolique de la plante atténué complètement ces effets puisque les taux de la catalase et de SOD reviennent à la normal, ces résultats expliquent la propriété antioxydante des principes actifs de l'extrait de *Daphne gnidium*.

### V.3.6. La glutathion peroxydase

La glutathion peroxydase (GSH-PX) ou GPx est une sélénoprotéine (cinq isoformes) qui réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH). Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés ( Haleng et al .,2007). Dans les cellules hépatiques le GPx joue un rôle essentiel dans le maintien de l'équilibre du statut redox des cellules soumis à un stress oxydatif aigu et protège contre la destruction oxydative des lipides ( Abirami et al., 2015).

La figure 28 illustre les variations de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px) après un traitement par le PCM seul (1g/kg), ou en cas de prétraitement par l'extrait éthanolique de feuilles de *Daphne gnidium* à 25mg/kg ,75mg/kg et 100mg/kg.



**Figure 28** :Variations de taux de GPX cytosolique hépatique après traitement par le paracétamol (1g/kg) ou en cas de prétraitement par les doses du D.g avec D1 (25mg/kg), D2 (75mg/kg), D3 (100mg/kg) ou par l'hépazen (200mg/kg) pendant 7 jours.

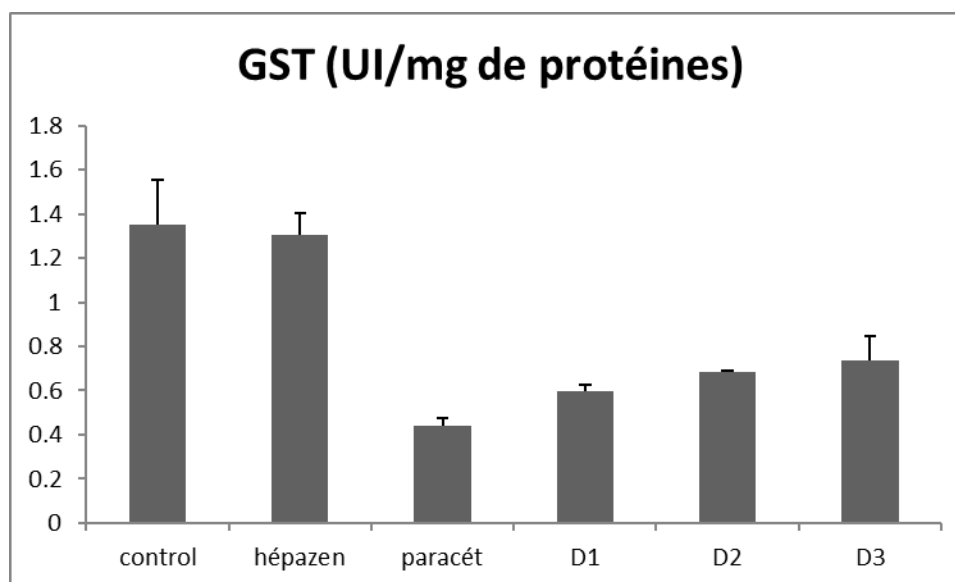
Une diminution significative ( $P \leq 0.05$ ) de l'activité enzymatique de la GPx a été constatée chez les souris traitées uniquement avec le PCM ( $0.25 \pm 0.01$  µmol de GSH/mg de protéine), par rapport aux control dont l'activité était de ( $0.94 \pm 0.07$  µmol de GSH/mg de protéine). Cette diminution peut indiquer les effets toxiques des espèces réactives de l'oxygène produites par le PCM. Cependant, une augmentation significative ( $P \leq 0.05$ ) a été enregistrée chez les souris prétraités par l'extrait éthanolique de *Daphne gnidium* à la dose

25mg/kg ,75mg/kg et 100mg/kg. ( $0.31 \pm 0.015$   $\mu\text{mol GSH/mg}$  de protéine ;  $0.37 \pm 0.03$   $\mu\text{mol GSH/mg}$  de protéine et  $0.53 \pm 0.02$   $\mu\text{mol GSH/mg}$  de protéine) respectivement. Ceci peut être expliqué que les extraits de feuilles peuvent réduire les ROS qui peuvent atténuer les dommages oxydatifs aux hépatocytes et améliorer les activités des enzymes antioxydantes du foie, protégeant ainsi le foie contre les dommages induits par le paracétamol. Nos résultats est similaire à celle de Folarin et *al.*, 2014 qui ont montré que l'extrait éthanolique des feuilles de *cuscuta australis* présente un effet stimulateur des mécanismes anti-oxydants et inhibiteur des mécanismes pro-oxydants dans le tissu cytosolique hépatique.

### V.3.7. La glutathion S-transférase (GST)

La glutathion-S-transférases constitue une famille d'isoenzymes principalement cytosoliques (Bouraoui et *al.*, 2009). Ce système est très important dans la protection de la cellule contre les espèces réactives de l'oxygène, par sa capacité de conjuguer le glutathion avec les composés électrophiles et la réduction des peroxydes (Gattas et *al.*, 2004; Zhihua et *al.*, 2004).

La figure 29 illustre les variations de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST) après un traitement par le PCM seul (1g/kg), ou en cas de prétraitement par l'extrait éthanolique de feuilles de *Daphne gnidium* à 25mg/kg ,75mg/kg et 100mg/kg.



**Figure 29** : Variations de taux de GST cytosolique hépatique après traitement par le paracétamol (1g/kg) ou en cas de prétraitement par les doses du D.g avec D1 (25mg/kg), D2 (75mg/kg), D3 (100mg/kg).

L'activité de la GST (glutathion-S-transférase) a été étudiée cinétiquement et a montré une diminution significative ( $P < 0.05$ ) chez les souris traitées uniquement avec le PCM ( $0,43 \pm 0,03$  UI/mg de protéine), par rapport au groupe control ( $1,35 \pm 0,2$  UI/mg de protéine). Cette réduction peut être attribuée à la formation et à l'accumulation de ROS sous l'effet du PCM, comme l'ont indiqué par Manal et *al.* En 2016.

Cependant, dans les groupes de souris prétraitées avec l'extrait éthanolique de *Daphne gnidium* à des doses de 25 mg/kg, 75 mg/kg et 100 mg/kg, on a constaté une augmentation significative ( $P \leq 0.05$ ) de l'activité de la GST. Les valeurs d'activité étaient respectivement de  $0,59 \pm 0,03$  UI/mg de protéine,  $0,68 \pm 0,001$  UI/mg de protéine et  $0,73 \pm 0,1$  UI/mg de protéine, par rapport au groupe traité uniquement avec le PCM ( $0,43 \pm 0,03$  UI/mg de protéine).

Ces résultats indiquent que le prétraitement avec l'extrait éthanolique de *Daphne gnidium* a permis de restaurer l'activité de la GST chez les souris émises par le PCM, ramenant ainsi les niveaux d'activité à des valeurs plus proches de celles du groupe control. Cette augmentation significative suggère que les composés actifs présents dans l'extrait de *Daphné gnidium* ont un effet protecteur sur l'activité de la GST, potentiellement en neutralisant les ROS induits par le PCM.

Ces résultats sont cohérents avec d'autres études où les extraits de plantes ont démontré leurs effets hépatoprotecteur chez les souris exposant à des doses élevées de paracétamol (Nunes et *al.*, 2017 ; Rathee et *al.*, 2018 ; Henneh et *al.*, 2022 ; Lakshmi et *al.*, 2018) ou à d'autres substances hépatotoxiques telles que le tétrachlorure de carbone (CCl<sub>4</sub>) (Serairi et *al.*, 2014 ; Prerona et *al.*, 2011).

Par ailleurs, l'effet anti oxydantes de cette plante dû à sa richesse en phyto-constituants qui ont été déjà identifiés par GC-MS, tels que l'acide ascorbique (vitamine C) qui exerce des effets pharmacologiques intense essentiellement antioxydant (Firouzabadi et *al.*, 2022), le thymol et le limonène.. Le thymol, un composé phénolique (Sarra et *al.*, 2022), et le limonène, un composant des huiles d'agrumes, ont également des propriétés antioxydantes et peuvent neutraliser les radicaux libres et réduire les dommages oxydatifs (Suh et *al.*, 2017). Ces composés sont étudiés pour leurs effets bénéfiques, tels que la protection contre les processus inflammatoires, tumorigènes et les dommages oxydatifs (Ansari et Akhtar, 2019 ; Bouyahya et *al.*, 2022).

*Conclusion****et***  
***Perspectives***





## **Conclusion et Perspectives**

La recherche sur l'utilisation de la biomasse végétale inexploitée en tant que source de matières premières suscite un intérêt croissant dans le domaine de la santé. Pour cela notre étude vise à valoriser la biomasse d'une plante médicinale, le *Daphne gnidium*, ayant connaissance de leur usage en médecine traditionnelle algérienne, comme un remède potentiel pour les soins capillaire, les douleurs inflammatoires....etc.

La biomasse du *Daphne gnidium* a été déterminée en suivant la procédure du laboratoire national des énergies renouvelables (NREL) des États-Unis « Détermination of Extractives in Biomass », puis en a valorisées ses extractibles par une étude phytochimique par le dosage des composés phénoliques (polyphénol, flavonoïdes et tanins) et leur identification par une GC-MS, par la suite en a exploré le potentiel antioxydant des extractibles *in vitro* par le teste de DPPH et le pouvoir réducteur du fer et *in vivo* par l'effet préventif de ses extractibles contre le stress oxydatif hépatique créée par une dose de paracétamol de 1 g/kg.

Les résultats de cette étude montrent la richesse de cette plante en différents composés de biomasse, notamment les extractibles à l'éthanol avec un pourcentage de  $26.21 \pm 1.44\%$  ;  $21.44 \pm 3.88\%$ ) des feuilles et tiges respectivement, constituant ainsi la biomasse majoritaire avec les résidus cellulosique et hémicellulosique ( $25.78 \pm 7.23\%$  ;  $50.05 \pm 9.52\%$ ), suivie par la biomasse protéiques ( $8.74 \pm 47\%$  ;  $3.31 \pm 85\%$ ) des feuilles et tige respectivement.

L'étude phytochimique révèle la richesse du *Daphne gnidium* en composé phénolique, en flavonoïde avec l'acide ascorbique, le limonène, le thymol et le phénol, 2-méthyl-5-(1-méthyléthyl) ...etc comme molécules majoritaires, identifiées par la GC-MS. Dans les feuilles est la partie la plus riche par rapport à la tige.

Le *Daphne gnidium* a également démontré un potentiel anti-radicalaire, avec des propriétés antioxydantes remarquables attribuées par les méthodes DPPH et FRAP exprimées par les IC<sub>50</sub> dans les meilleures efficacités ont été observées avec les extractibles de feuilles à l'eau distillée avec une concentration de  $189.97 \pm 0.48 \mu\text{g/ml}$  ;  $215.23 \mu\text{g/ml}$  avec le radical DPPH et FRAP respectivement..

L'effet hépato-protecteur *in vivo* des extractibles à l'éthanol des feuilles de *Daphne gnidium* est attribué à l'amélioration de l'équilibre antioxydant-pro-oxydant. Cela se traduit

par le renforcement des capacités antioxydantes enzymatiques (CAT, SOD, GPx et GST) et non enzymatiques (GSH), ce qui inhibe la peroxydation lipidique et réduit les dommages hépatiques causés par le PCM. En conséquence, les taux de transaminases, de phosphatases alcalines et de bilirubines restent à des niveaux cellulaires normaux.

Enfin, l'étude macroscopique des foies a montré que l'extrait éthanolique de *Daphné gnidium* prévient les lésions hépatiques induites par le PCM, avec des effets similaires à ceux de l'hépazen.

En somme, cette étude met en évidence les multiples bénéfices de *Daphné gnidium* en tant que source de biomasse végétal comme matières premières dans le domaine de la santé, essentiellement antioxydant et en particulier pour ses propriétés hépatoprotectrice.

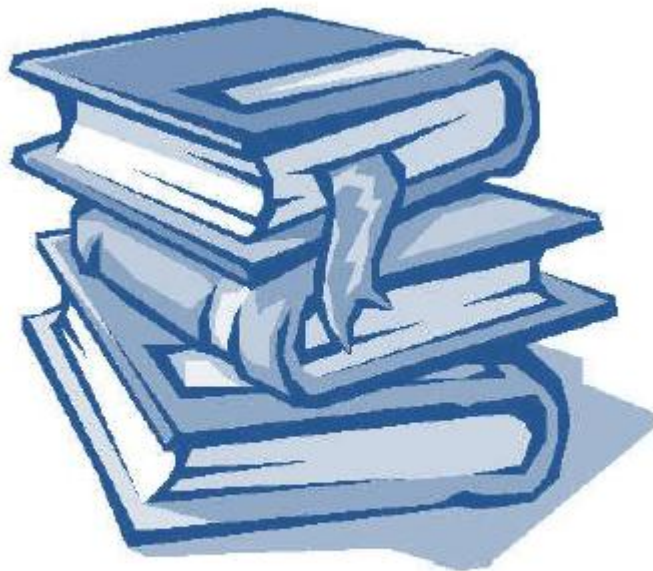
Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour déterminer les molécules bioactives et comprendre les différents mécanismes moléculaires responsables de l'effet hépatoprotecteur de cet extrait à travers des études plus détaillées telle que :

- Le fractionnement et l'isolement des composés bioactifs des extraits de *Daphné gnidium* afin de déterminer les molécules spécifiques responsables de l'activité hépatoprotectrice. Des analyses plus approfondies, telles que la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS), pourraient être utilisées pour identifier et caractériser ces composés.
- De plus, des études *in vitro* et *in vivo* supplémentaires pourraient être nécessaires pour explorer les mécanismes moléculaires sous-jacents de l'effet hépatoprotecteur du *Daphné gnidium*. Cela pourrait inclure des évaluations de l'activité antioxydante, des études sur l'expression génique et protéique, ainsi que des investigations sur les voies de signalisation impliquées.

Exploitation de la biomasse des résidus cellulosique et hémicellulosique dans la fabrication des biocarburants et des bioéthanol. Ainsi que la biomasse azotée comme source de protéine qui peuvent remplacer les protéines animales,...etc.

*Références*

*Bibliographiques*



## Références Bibliographiques



- ❖ Abirami, A., Nagarani, G. et Siddhuraju, P. (2015). Effet hépatoprotecteur des extraits de feuilles de *Citrus hystrix* et *C. maxima* contre les lésions hépatiques induites par le paracétamol chez le rat. *Science alimentaire et bien-être humain*, 4 (1), 35-41.
- ❖ Administration, U. S. E. I. (2022). *Biomass explained*
- ❖ Afroz, R., Tanvir, E. M., Hossain, M. F., Gan, S. H., Parvez, M., Islam, A., & Khalil, M. I. (2014). Protective effect of Sundarban honey against acetaminophen-induced acute hepatonephrotoxicity in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014.
- ❖ Agati, G., Brunetti, C., Fini, A., Gori, A., Guidi, L., Landi, M., Sebastiani, F., & Tattini, M. (2020). Are flavonoids effective antioxidants in plants? Twenty years of our investigation. *Antioxidants*, 9(11), 1098.
- ❖ Ahmane, N., Atmani-Kilani, D., Chaher, N., Ayouni, K., Rahmani-Berboucha, M., Costa, G. D., ... & Atmani, D. (2019). Identification of bioactive compounds from *Fraxinus angustifolia* extracts with anti-NADH oxidase activity of bovine milk xanthine oxidoreductase. *Turkish Journal of Biology*, 43(2), 133-147.
- ❖ Ahmed, AA, Rahman, MA, Hossen, MA, Reza, AA, Islam, MS, Rashid, MM, ... & Uddin, MN (2021). L'orchidée épiphyte *Acampeochracea* soulage l'hépatotoxicité induite par le paracétamol en inhibant le stress oxydatif et en régulant à la hausse les gènes antioxydants dans le criblage in vivo et virtuel. *Biomédecine & Pharmacothérapie*, 143, 112215.
- ❖ Ahmed, E., Arshad, M., Khan, M. Z., Amjad, M. S., Sadaf, H. M., Riaz, I., Sabir, S., & Ahmad, N. (2017). Secondary metabolites and their multidimensional prospective in plant life. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(2), 205-214.
- ❖ Akabassi, B. S., Djossou, J. A., Tchobo, P. F., Tchatcha, D. A., Houénon, G. H. A., Yovo, M., ... & Soumanou, M. M. (2021). Criblage phytochimique et évaluation des activités antiradicalaire et antimicrobienne des organes du *Detarium microcarpum* Guill. & Perr de la zone soudanienne du Bénin. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 50, 68-75.

- ❖ Akharaiyi, F. C., Imarhiagbe, O., Isunu, L. E., & Ajibola, A. T. (2022). Ethanol leaf extract of *Hoslundia opposita* in in vivo antioxidant and hepatoprotective activity using an animal model. *BioMedicine*, 12(3), 48–55.
- ❖ Al-Niaimi, F., & Chiang, N. Y. Z. (2017). Topical vitamin C and the skin: mechanisms of action and clinical applications. *The Journal of clinical and aesthetic dermatology*, 10(7), 14.
- ❖ Albichr, I. S., & Hantson, P. (2018). Le paracétamol à dose thérapeutique : quelles populations à risque d'hépatotoxicité ? *Toxicologie Analytique et Clinique*, 30(1), 19-34.
- ❖ Allal, A., Bellifa, S., Benmansour, N., Selles, C., Semaoui, M., Hassaine, H., & Muselli, A. (2019). Essential oil and hydrosol extract chemical profile, antioxidant and antimicrobial potential of *Daphne gnidium* L. from Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(5), 1277-1288.
- ❖ Almazroo, O. A., Miah, M. K., & Venkataramanan, R. (2017). Drug metabolism in the liver. *Clinics in liver disease*, 21(1), 1-20.
- ❖ Alshibl, H. M., Al-Abdullah, E. S., Haiba, M. E., Alkahtani, H. M., Awad, G. E., Mahmoud, A. H., Ibrahim, B. M., Bari, A., & Villinger, A. (2020). Synthesis and evaluation of new coumarin derivatives as antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory agents. *Molecules*, 25(14), 3251.
- ❖ Alves, A. Q., da Silva Jr, V. A., Góes, A. J. S., Silva, M. S., de Oliveira, G. G., Bastos, I. V. G. A., de Castro Neto, A. G., & Alves, A. J. (2019). The fatty acid composition of vegetable oils and their potential use in wound care. *Advances in skin & wound care*, 32(8), 1-8.
- ❖ Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Aafi, A., Farah, A., Aarab, L., ElAjjouri, M., Guedira, A., & Chaouch, A. (2011). Activité antioxydante et composition chimique des huiles essentielles de quatre espèces de thym du Maroc. *Acta botanica gallica*, 158(4), 513-523.
- ❖ Ameni, D. (2018). Effets antioxydants des extraits de la plante médicinale *daphne gnidium* L. utilisée en Algérie
- ❖ Ameni, D. J. A. M. I. L. A., Baghiani, A., Boumerfeg, S., Dahamna, S. A. L. I. H. A., Khennouf, S. E. D. D. I. K., Zarga, M. A., & Arrar, L. E. K. H. M. I. C. I. (2015). Phytochemical profiles, antioxidant capacity and protective effect against AAPH-induced mouse erythrocyte damage by *Daphne gnidium* L. Shoots extracts. *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 7.(11)

- ❖ Annunziata, F., Pinna, C., Dallavalle, S., Tamborini, L., & Pinto, A. (2020). An overview of coumarin as a versatile and readily accessible scaffold with broad-ranging biological activities. *International journal of molecular sciences*, 21(13), 4618.
- ❖ Ansari, IA et Akhtar, MS (2019). Aperçus actuels sur le rôle des terpénoïdes en tant qu'agents anticancéreux : une perspective sur la prévention et le traitement du cancer. *Composés bioactifs naturels : Volume 2 : Chimie, pharmacologie et pratiques de soins de santé*, 53-80.
- ❖ Arif, M., Chia, L.-S., & Pauls, K. P. (2018). Protein-based bioproducts. *Plant bioproducts*, 143-175.
- ❖ Ataei, S., Khorasani, S. N., & Neisiany, R. E. (2019). Biofriendly vegetable oil healing agents used for developing self-healing coatings: A review. *Progress in Organic Coatings*, 129, 77-95.
- ❖ Atta, E. M., Mohamed, N. H., & Silaev, A. A. A. (2017). Antioxidants: An overview on the natural and synthetic types. *European Chemical Bulletin*, 6(8), 365-375.
- ❖ Azevedo, M., Baczyńska, M., Bingoto, P., Callaway, G., Hoffman, K., & Ramsbottom, O. (2022). The raw-materials challenge: How the metals and mining sector will be at the core of enabling the energy transition. McKinsey & Company. In.

### Æ

- ❖ Bar-On, Y. M., Phillips, R., & Milo, R. (2018). The biomass distribution on Earth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(25), 6506-6511.
- ❖ Barba, C., Méndez, S., Roddick- Lanzilotta, A., Kelly, R., Parra, J., & Coderch, L. (2008). Cosmetic effectiveness of topically applied hydrolysed keratin peptides and lipids derived from wool. *Skin Research and Technology*, 14(2), 243-248.
- ❖ BARKA, D., & BEN MOUSSA, R. (2018). Evaluation in vivo de l'activité hépatoprotectrice de l'extrait aqueux de *Daphne gnidium* L. face à une hépatotoxicité induite par le CCl<sub>4</sub>.
- ❖ Bahorun, T. (1998, March). Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. In *Second Annual Meeting of Agricultural Scientists* 83
- ❖ Barouki, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Médecine/sciences*, 22(3), 266-272.
- ❖ Basu, M., Pande, M., Bhadoria, P., & Mahapatra, S. (2009). Potential fly-ash utilization in agriculture: a global review. *Progress in natural science*, 19(10), 1173-1186.

- ❖ Becam, J., Paolantonacci, M., Pourriere-Fabiani, C., Lacarelle, B., Solas, C., & Fabresse, N. (2021). Évaluation d'une méthode de criblage toxicologique en chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. *Toxicologie Analytique et Clinique*, 33(4), 288-301.
- ❖ Begrow, F., Engelbertz, J., Feistel, B., Lehnfeld, R., Bauer, K., & Verspohl, E. J. (2009). Impact of thymol in thyme extracts on their antispasmodic action and ciliary clearance. *Planta Medica*, 311-318.
- ❖ Bellakhdar, J. (1997). *Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle au Maroc: la situation actuelle, les produits, les sources du savoir (enquête ethnopharmacologique de terrain réalisée de 1969 à 1992)* (Doctoral dissertation, Université Paul Verlaine-Metz).
- ❖ Bellou, S., Baeshen, M. N., Elazzazy, A. M., Aggeli, D., Sayegh, F., & Aggelis, G. (2014). Microalgallipids biochemistry and biotechnological perspectives. *Biotechnology Advances*, 32(8), 1476-1493.
- ❖ BeMiller, J. N. (2014). *Essentials of carbohydrate chemistry. Functionalizing carbohydrates for food applications: texturizing and bioactive/flavor delivery systems*. Lancaster: DEStech Publications, Inc, 1-39.
- ❖ Ben-Moussa, M. T., Khelil, K., Harkat, H., Lakehal, S., & Hadeif, Y. (2020). Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Brocchia cinerea* VIS. d'Algérie. *Batna Journal Of Medical Sciences*, 122.
- ❖ Benchaachoua, A., Bessam, H. M., Saidi, I., & Bel-abbes, S. (2018). Effects of different extraction methods and solvents on the phenolic composition and antioxidant activity of *Silybum marianum* leaves extracts. *Int. J. Med. Sci. Clin. Invent*, 5(3), 3641-3647.
- ❖ Benchiha, W., Mahroug, S., Aoued, L., & Bouterfas, K. (2017). Activité antihépatotoxique des extraits des feuilles de *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae). *Phytothérapie*, 15(1), 10-15.
- ❖ Benkhaled, A., BOUDJELAL, A., KHENICHE, A., BELBAHI, A., RÉGGAMI, Y., CHEBIKA, A., ... & RUBERTO, G. (2020). ORAL ACUTE TOXICITY AND RED BLOOD CYTOTOXICITY OF THE MEDICINAL HALOPHYTE *LIMONIASTRUM GUYONIANUM* LEAF EXTRACT. *Farmácia*, 68.(6)
- ❖ Benkhiguel, O., Zidane, L., Fadli, M., Elyacoubi, H., Rochdi, A., & Douira, A. (2010). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). *Acta botánica barcinonensia*, 191-216.

- ❖ Bensid, A., El Abed, N., Houicher, A., Regenstein, J. M., &Özogul, F. (2022). Antioxidant and antimicrobialpreservatives:Properties, mechanism of action and applications in food—a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 62(11), 2985-3001.
- ❖ Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., &Boucherit, K. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredoliaaretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, 12(6), 364-371.
- ❖ Berger, M. M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant: état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(1), 48-53.
- ❖ Bhatla, S. C., A. Lal, M., Kathpalia, R., &Bhatla, S. C. (2018). Plant mineral nutrition. *Plant physiology, development and metabolism*, 37-81.
- ❖ Biharee, A., Sharma, A., Kumar, A., &Jaitak, V. (2020). Antimicrobialflavonoids as a potential substitute for overcomingantimicrobialresistance. *Fitoterapia*, 146, 104720.
- ❖ Bnouham, M., Legssyer, A., Mekhfi, H., &Ziyyat, A. (2002). Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *DubaiDiabetes and Endocrinology Journal*, 10, 33-50.
- ❖ Boo, Y. C. (2022). Ascorbic Acid (Vitamin C) as a Cosmeceutical to IncreaseDermalCollagen for Skin AntiagingPurposes:Emerging Combination Therapies. *Antioxidants*, 11(9), 1663.
- ❖ Borris, R. P., Blaskó, G., &Cordell, G. A. (1988). Ethnopharmacologic and phytochemicalstudies of the Thymelaeaceae. *Journal of ethnopharmacology*, 24(1), 41-91.
- ❖ Bouchonnet, S., &Libong, D. (2004). Le couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse. *Actualité Chimique*, 7-14.
- ❖ BOUGANDOURA, N., & BENDIMERAD, N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Saturejacalaminthasp. Nepeta (L.) Briq.* *Nature &Technology*, 9, 14.
- ❖ Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Saturejacalaminthasp. Nepeta (L.) Briq.* *Nature &Technology*, (9), 14.
- ❖ Boutrot, F., & Zipfel, C. (2017). Function, discovery, and exploitation of plant pattern recognition receptors for broad-spectrumdiseaseresistance. *Annualreview of phytopathology*, 55, 257-286.



- ❖ Bouyahya, A., Abrini, J., El-Baabou, A., Bakri, Y., & Dakka, N. (2016). Determination of phenol content and antibacterial activity of five medicinal plants ethanolic extracts from North-West of Morocco. *J Plant Pathol Microbiol*, 7(342), 2.
- ❖ Bouyahya, A., Guaouguaou, FE, El Omari, N., El Menyiy, N., Balahbib, A., El-Shazly, M., & Bakri, Y. (2022). Propriétés anti-inflammatoires et analgésiques des plantes médicinales marocaines : Phytochimie, investigations in vitro et in vivo, aperçu des mécanismes, preuves cliniques et perspectives. *Tourillon d'analyse pharmaceutique*, 12 (1), 35-57.
- ❖ Britannica, T. E. o. E. (2023). Biomass. *Encyclopedia Britannica*. <https://www.britannica.com/science/biomass>
- ❖ Brooker, N., Kuzimichev, Y., Laas, J., & Pavlis, R. (2007). Evaluation of coumarin derivatives as anti-fungal agents against soil-borne fungal pathogens. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 72(4), 785-793.
- ❖ Brooker, N., Windorski, J., & Bluml, E. (2008). Halogenated coumarin derivatives as novel seed protectants. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 73(2), 81-89.

### Г

- ❖ Cabañas-García, E., Areche, C., Gómez-Aguirre, Y. A., Borquez, J., Muñoz, R., Cruz-Sosa, F., & Balch, E. P.-M. (2021). Biomass production and secondary metabolite identification in callus cultures of *Coryphanthamacromeris* (Engelm.) Britton & Rose (Cactaceae), a traditional medicinal plant. *South African Journal of Botany*, 137, 1-9.
- ❖ Carneiro, A., Matos, M. J., Uriarte, E., & Santana, L. (2021). Trending topics on coumarin and its derivatives in 2020. *Molecules*, 26(2), 501.
- ❖ Carrillo, J. T., & Borthakur, D. (2021). Do uncommon plant phenolic compounds have uncommon properties? A mini review on novel flavonoids. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 6(4), 279-291.
- ❖ Chaabane, F., Boubaker, J., Loussaif, A., Neffati, A., Kilani-Jaziri, S., Ghedira, K., & Chekir-Ghedira, L. (2012). Activités antioxydantes, génotoxiques et antigénotoxiques des extraits de feuilles de daphné gnidium. *BMC médecine complémentaire et alternative*, 12 (1), 1-10.
- ❖ Chaabane, F., Boubaker, J., Loussaif, A., Neffati, A., Kilani-Jaziri, S., Ghedira, K., & Chekir-Ghedira, L. (2012). Antioxidant, genotoxic and antigenotoxic activities of

- daphne gnidium leafextracts. *BMC complementary and alternative medicine*, 12(1), 1-10.
- ❖ Chaabane, F., Krifa, M., Matera, E., Loussaeif, A., Dijoux-Franca, M. G., Ghedira, K., ... & Chekir-Ghedira, L. (2014). In vitro antileukaemic activity of extracts from *Daphne gnidium* leaves against sensitive and multidrug resistant K562/R7 cells. *Tumor Biology*, 35, 8991-8998.
  - ❖ Chaabane, F., Mustapha, N., Mokdad-Bzeouich, I., Sassi, A., Kilani-Jaziri, S., Dijoux Franca, M. G., ... & Chekir-Ghedira, L. (2016). In vitro and in vivo anti-melanoma effects of *Daphne gnidium* aqueous extract via activation of the immune system. *Tumor Biology*, 37, 6511-651.
  - ❖ Chaouki, W., Leger, D. Y., Liagre, B., Cherrah, Y., Beneytout, J. L., & Hmamouchi, M. (2009). Roots of *Daphne gnidium* L. inhibit cell proliferation and induce apoptosis in the human breast cancer cell line MCF-7. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 64(8), 542-546.
  - ❖ Chaves, N., Santiago, A., & Alías, J. C. (2020). Quantification of the antioxidant activity of plant extracts : Analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used. *Antioxidants*, 9(1), 76.
  - ❖ Chiew, A. L., & Buckley, N. A. (2021). Acetaminophen poisoning. *Critical care clinics*, 37(3), 543-561.
  - ❖ Chirane, M. S., Benchabane, O., Bousbia, N., & Zenia, S. (2019). Antioxydant and antimicrobial activities of essential oil and ethanol extract of *Santolinachamaecyparissus* L. *Revue Agrobiologia*, 9(2), 1660-1668.
  - ❖ Chousterman, B., Payen, D., Mégarbane, B., & Laprévote, O. (2010). Éléments de chromatographie et de spectrométrie de masse à l'usage des cliniciens. *Réanimation*, 19(6), 593-596.
  - ❖ Ciriminna, R., Lomeli-Rodriguez, M., Cara, P. D., Lopez-Sanchez, J. A., & Pagliaro, M. (2014). Limonene: a versatile chemical of the bioeconomy. *Chemical Communications*, 50(97), 15288-15296.
  - ❖ Ciumărnean, L., Milaciu, M. V., Runcan, O., Vesa, Ș. C., Răchișan, A. L., Negrean, V., Perné, M.-G., Donca, V. I., Alexescu, T.-G., & Para, I. (2020). The effects of flavonoids in cardiovascular diseases. *Molecules*, 25(18), 4320.
  - ❖ CNRTL. BIOMASSE : Définition de BIOMASSE In Centre National de Ressources Textuelles et Lexicales.

- ❖ Colin, L. A., & Jaillais, Y. (2020). Phospholipids across scales: lipid patterns and plant development. *Current opinion in plant biology*, 53, 1-9.

### Đ

- ❖ Dampanaboina, L., Yuan, N., & Mendu, V. (2021). Estimation of crystalline cellulose content of plant biomass using the updegraff method. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*(171), e62031.
- ❖ Dayeswari, D., AVD, D. R., Rajasekhar, M., Subbaramamma, P., & DR, S. S. (2019). Effect of crude edible and non-edible oils on plants growth, yield and quality: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(4), 2024-2029.
- ❖ Defraigne, J.-O., & Pincemail, J. (2008). Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Revue médicale de Liège*, 63.
- ❖ Deiana, M., Rosa, A., Casu, V., Cottiglia, F., Bonsignore, L. et Dessi, MA (2003). Composition chimique et activité antioxydante des extraits de *Daphne gnidium* L. *Journal of the American Oil Chemists' Society* , 80 (1), 65-70.
- ❖ Dessí, M.A., Deiana, M., Rosa, A., Piredda, M., Cottiglia, F., Bonsignore, L., Deidda, D., Pompei, R., Corongiu, F.P., 2001. Antioxidant activity of extracts from plants .
- ❖ Dictionary, O. E. <https://www.etymonline.com/word/biomass>. In Online Etymology Dictionary. <https://www.etymonline.com/>.
- ❖ Dif M M., Toumi F B., Benyahia M., Bouzid K., Rahmani M. and Sellam F. (2014). First determination of polyphenol variation in *Daphne gnidium* L. Flower extracts. *Global J. Med. Plant Res.* 3, 4 .
- ❖ Dourmad, J.-Y., Guilbaud, T., Tichit, M., & Bonaudo, T. (2019). Les productions animales dans la bioéconomie. *INRAE Productions Animales*, 32(2), 205-220.

### £

- ❖ El Fennouni, M. (2012). Les plantes réputées abortives dans les pratiques traditionnelles d'avortement au Maroc. *Doctorat, université Mohammed V, Rabat*.
- ❖ Elsayed Elgarawany, G., Abdou, A. G., Maher Taie, D., & Motawea, S. M. (2020). Hepatoprotective effect of artichoke leaf extracts in comparison with silymarin on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Journal of Immunoassay and Immunochemistry*, 41(1), 84-96.

- ❖ Emre, M.H., Aktay, G., Polat, A., Öztürk, F., 2014. Effects of Benzo(a) pyrene and Ethanol on Morphology and Antioxidant Status and Transaminases in Rat Liver. *Medicine Science* 3(1), 1054- 1067.
- ❖ Enescu, C. D., Bedford, L. M., Potts, G., & Fahs, F. (2022). A review of topical vitamin C derivatives and their efficacy. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 21(6), 2349-2359.
- ❖ Escobar Caicedo, A. M., Perez, M. C., Romanelli, G. P., & Blustein, G. (2020). Thymol bioactivity: A review focusing on practical applications.

### F

- ❖ Fadili, K., Amalich, S., N'dedianhoua, S. K., Bouachrine, M., Mahjoubi, M., El Hilali, F., & Zair, T. (2015). Teneurs en polyphénols et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc : *Rosmarinus Officinalis* et *Thymus Satureioides*. *Int J Innov Sci Res ISSN*, 17, 2351-8014.
- ❖ Fantini, M. (2017). Biomass availability, potential and characteristics. *Biorefineries: targeting energy, high value products and waste valorisation*, 21-54.
- ❖ Farag, A. G., Elhalwagy, M. E., & Farid, H. E. (2010). Effect of ginger supplementation on developmental toxicity induced by fenitrothion insecticide and/or lead in albino rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 97(3), 267-274.
- ❖ Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
- ❖ Ferraro, V., Anton, M., & Santé-Lhoutellier, V. (2016). The “sisters”  $\alpha$ -helices of collagen, elastin and keratin recovered from animal by-products: Functionality, bioactivity and trends of application. *Trends in Food Science & Technology*, 51, 65-75.
- ❖ Ferrari, J. (2002). Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des *Thymelaeaceae* et investigation phytochimique de l'une d'elles: *Gnidia involucrata* Steud. ex A. Rich. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences. Université de Lausanne. 242p
- ❖ Fethiza, A. S., Hebieb, T., Ahmouda, C., & Senigra, A. (2022). Valorisation des déchets de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) par la fabrication de bioplastique dans la région d'EL OUED.
- ❖ Firouzabadi, AM, Imani, M., Zakizadeh, F., Ghaderi, N., Zare, F., Yadegari, M., ... & Fesahat, F. (2022). Évaluation de l'effet de l'acrylamide et de l'acide ascorbique sur le stress oxydatif et l'apoptose dans le tissu ovarien du rat wistar. *Rapports de toxicologie*, 9, 1580-1585.

- ❖ Flores-Morales, V., Villasana-Ruíz, A. P., Garza-Veloz, I., González-Delgado, S., & Martínez-Fierro, M. L. (2023). Therapeutic Effects of Coumarins with Different Substitution Patterns. *Molecules*, 28(5), 2413.
- ❖ Folarin, R. O., Omirinde, J. O., Bejide, R., Isola, T. O., Usende, L. I., & Basiru, A. (2014). Comparative hepatoprotective activity of ethanolic extracts of *Cuscuta australis* against acetaminophen intoxication in wistar rats. *International scholarly research notices*, 2014.
- ❖ Franck, Z., & ToMés, J.-P. (2004). Enfer et paradis: la toxicité de l'oxygène chez les organismes abyssaux.



- ❖ Galvín, A. P., López-Uceda, A., Cabrera, M., Rosales, J., & Ayuso, J. (2021). Stabilization of expansive soils with biomass bottom ashes for an eco-efficient construction. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 24441-24454.
- ❖ Gao, L., Wang, F., Chen, Y., Li, F., Han, B., & Liu, D. (2021). The antithrombotic activity of natural and synthetic coumarins. *Fitoterapia*, 154, 104947.
- ❖ Gasco, L., Acuti, G., Bani, P., Dalle Zotte, A., Danieli, P. P., De Angelis, A., Fortina, R., Marino, R., Parisi, G., & Piccolo, G. (2020). Insect and fish by-products as sustainable alternatives to conventional animal proteins in animal nutrition. *Italian Journal of Animal Science*, 19(1), 360-372.
- ❖ Ge, J., Liu, Z., Zhong, Z., Wang, L., Zhuo, X., Li, J., Jiang, X., Ye, X.-Y., Xie, T., & Bai, R. (2022). Natural terpenoids with anti-inflammatory activities: Potential leads for anti-inflammatory drug discovery. *Bioorganic Chemistry*, 105817.
- ❖ Georgiev, V., Ananga, A., & Tsoleva, V. (2014). Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. *Nutrients*, 6(1), 391-415.
- ❖ Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M. C., Bousselsela, H., & Oueld-Mokhtar, S. M. (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*, 13(2), 118-129.
- ❖ GILLET, F. X. (2011). Régulation conformationnelle redox dépendante du suppresseur de silencing P1 du virus RYMV (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MONTPELLIER 2).
- ❖ Giulia, M., & Daria, G. (2018). Antibacterial and antioxidant activities for natural and synthetic dual-active compounds. *European journal of medicinal chemistry*, 158, 91-105. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.09.009>

- ❖ González-Cofrade, L., de Las Heras, B., Ticona, L. A., & Palomino, O. M. (2019). Molecular targets involved in the neuroprotection mediated by terpenoids. *Planta Medica*, 85(17), 1304-1315.
- ❖ Guéguen, J., Walrand, S., & Bourgeois, O. (2016). Les protéines végétales: contexte et potentiels en alimentation humaine. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 51(4), 177-185.
- ❖ Górniak, I., Bartoszewski, R., & Króliczewski, J. (2019). Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry reviews*, 18, 241-272.

### 7f

- ❖ Hajam, Y. A., Rani, R., Ganie, S. Y., Sheikh, T. A., Javaid, D., Qadri, S. S., ... & Reshi, M. S. (2022). Oxidative stress in human pathology and aging: Molecular mechanisms and perspectives. *Cells*, 11(3), 552.
- ❖ Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.-O., Charlier, C., & Chapelle, J.-P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62.(10)
- ❖ Halliwell, B., 1994. Free radicals, antioxidants and human diseases: curiosity, cause, or consequence?. *Lancet medical journal* 344, 721-724.
- ❖ Harizi, H., Chaabane, F., Ghedira, K., & Chekir-Ghedira, L. (2011). Inhibition of proinflammatory macrophage responses and lymphocyte proliferation in vitro by ethyl acetate leaf extract from *Daphne gnidium*. *Cellular Immunology*, 267(2), 94-101.
- ❖ Henneh, I. T., Ahlidja, W., Alake, J., Kwabil, A., Ahmed, M. A., Kyei-Asante, B., ... & Armah, F. A. (2022). *Ziziphus abyssinica* root bark extract ameliorates paracetamol-induced liver toxicity in rats possibly via the attenuation of oxidative
- ❖ Henneh, I. T., Ahlidja, W., Alake, J., Kwabil, A., Ahmed, M. A., Kyei-Asante, B., ... & Armah, F. A. (2022). *Ziziphus abyssinica* root bark extract ameliorates paracetamol-induced liver toxicity in rats possibly via the attenuation of oxidative stress. *Toxicology Reports*, 9, 1929-1937.
- ❖ Hernández, I., Alegre, L., Van Breusegem, F., & Munné-Bosch, S. (2009). How relevant are flavonoids as antioxidants in plants? *Trends in plant science*, 14(3), 125-132.
- ❖ Hinson J A., Roberts D W. and James L P. (2010). Mechanisms of acetaminophen induced liver necrosis. *Handbook of experimental pharmacology*, 196: 369-405.

- ❖ Hua, F., Shi, L., & Zhou, P. (2022). Phenols and terpenoids: Natural products as inhibitors of NLRP3 inflammasome in cardiovascular diseases. *Inflammopharmacology*, 30(1), 137-147.
- ❖ Huang, M., Mehany, T., Xie, W., Liu, X., Guo, S., & Peng, X. (2022). Use of food carbohydrates towards the innovation of plant-based meat analogs. *Trends in Food Science & Technology*.
- ❖ Hussain, M., Qamar Abbas, S., & Reigosa, M. (2018). Activities and novel applications of secondary metabolite coumarins. *Planta Daninha*, 36.
- ❖ Hájek, M., Vávra, A., de Paz Carmona, H., & Kocík, J. (2021). The catalysed transformation of vegetable oils or animal fats to biofuels and bio-lubricants: a review. *Catalysts*, 11(9), 1118.

### *I*

- ❖ J. Haleng (1), J. Pincemail (2), J.O. Defraigne (3), C. Charlier (4), J.P. Chapelle (5), 2007. Le stress oxydant 62 : 10 : 628-638.
- ❖ Jaeschke, H., McGill, M. R., & Ramachandran, A. (2012). Oxidant stress, mitochondria, and cell death mechanisms in drug-induced liver injury: lessons learned from acetaminophen hepatotoxicity. *Drug metabolism reviews*, 44(1), 88-106.
- ❖ Jakubczyk, K., Dec, K., Kałduńska, J., Kawczuga, D., Kochman, J., & Janda, K. (2020). Reactive oxygen species-sources, functions, oxidative damage. *Polski merkuriusz lekarski: organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*, 48(284), 124-127.
- ❖ Johnson, M., Olufunmilayo, L. A., Anthony, D. O., & Olusoji, E. O. (2015). Hepatoprotective effect of ethanol leaf extract of *Vernonia amygdalina* and *Azadirachta indica* against acetaminophen-induced hepatotoxicity in Sprague-Dawley male albino rats. *American Journal of Pharmacological Sciences*, 3(3), 79-86.
- ❖ Jordão, A.A., Chiarello, P.G., Arantes, M.R., Meirelles, M.S., Vannucchi, H., 2004. Effect of an acute dose of ethanol on lipid peroxidation in rats: action of vitamin E. *Food and chemical toxicology* 42(3), 459-464.

### *K*

- ❖ Kabel, A. M. (2014). Free radicals and antioxidants: role of enzymes and nutrition. *World Journal of Nutrition and Health*, 2(3), 35-38.

- ❖ Kamran, S., Sinniah, A., Abdulghani, M. A., & Alshawsh, M. A. (2022). Therapeutic potential of certain terpenoids as anticancer agents: a scoping review. *Cancers*, 14(5), 1100.
- ❖ Kanchana, N., & Sadiq, A. M. (2011). Hepatoprotective effect of *Plumbago zeylanica* on paracetamol-induced liver toxicity in rats. *Int J Pharm Pharm Sci*, 3(1), 151-154.
- ❖ Kang, X., Kirui, A., Dickwella Widanage, M. C., Mentink-Vigier, F., Cosgrove, D. J., & Wang, T. (2019). Lignin-polysaccharide interactions in plant secondary cell walls revealed by solid-state NMR. *Nature communications*, 10(1), 347.
- ❖ Katiyar, R., Banerjee, S., & Arora, A. (2021). Recent advances in the integrated biorefinery concept for the valorization of algal biomass through sustainable routes. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 15(3), 879-898.
- ❖ Kavosi, G., Dadfar, S. M. M., Mohammadi Purfard, A., & Mehrabi, R. (2013). Antioxidant and antibacterial properties of gelatin films incorporated with carvacrol. *Journal of Food Safety*, 33(4), 423-432.
- ❖ Kelly, F. J. (2003). Oxidative stress: its role in air pollution and adverse health effects. *Occupational and environmental medicine*, 60(8), 612-616.
- ❖ Khan, A., Ikram, M., Hahm, J. R., & Kim, M. O. (2020). Antioxidant and anti-inflammatory effects of citrus flavonoid hesperetin: Special focus on neurological disorders. *Antioxidants*, 9(7), 609.
- ❖ Khouchlaa, A., El Menyiy, N., Guaouguaou, F.-E., El Baaboua, A., Charfi, S., Lakhdar, F., El Omari, N., Taha, D., Shariati, M. A., & Rebezov, M. (2021). Ethnomedicinal use, phytochemistry, pharmacology, and toxicology of *Daphne gnidium*: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 275, 114124.
- ❖ Kieliszek, M., Edris, A., Kot, A. M., & Piwowarek, K. (2020). Biological activity of some aromatic plants and their metabolites, with an emphasis on health-promoting properties. *Molecules*, 25(11), 2478.
- ❖ Kikuchi, H., Yuan, B., Hu, X., & Okazaki, M. (2019). Chemopreventive and anticancer activity of flavonoids and its possibility for clinical use by combining with conventional chemotherapeutic agents. *American journal of cancer research*, 9(8), 1517.
- ❖ Knudsen, K. E. B., Lærke, H. N., & Jørgensen, H. (2022). Carbohydrates and carbohydrate utilization in swine. *Sustainable swine nutrition*, 151-187.



- ❖ Kohen, R., & Nyska, A. (2002). Invited review: oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology*, 30(6), 620-650.
- ❖ Kopustinskiene, D. M., Jakstas, V., Savickas, A., & Bernatoniene, J. (2020). Flavonoids as anticancer agents. *Nutrients*, 12(2), 457.
- ❖ Krause, S. T., Liao, P., Crocoll, C., Boachon, B., Förster, C., Leidecker, F., Wiese, N., Zhao, D., Wood, J. C., & Buell, C. R. (2021). The biosynthesis of thymol, carvacrol, and thymohydroquinone in Lamiaceae proceeds via cytochrome P450s and a short-chain dehydrogenase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(52), e2110092118.
- ❖ Kresnamurti, A., Rakhma, D. N., Damayanti, A., Santoso, S. D., Restryarto, E., Hadinata, W., & Hamid, I. S. (2021). AST/ALT levels, MDA, and liver histopathology of Echinometra mathaei ethanol extract on paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 32(4), 511-516.
- ❖ Krishnamurthy, A., & Amritkumar, P. (2019). Synthesis and characterization of eco-friendly bioplastic from low-cost plant resources. *SN Applied Sciences*, 1(11), 1432.
- ❖ Kumar, A., Adamopoulos, S., Jones, D., & Amian Damhen, S. O. (2021). Forest biomass availability and utilization potential in Sweden: a review. *Waste and Biomass Valorization*, 12, 65-80.

### L

- ❖ Lakshmi, T., Renukadevi, B. S., Senthilkumar, S., Haribalan, P., Parameshwari, R., Vijayaraghavan, R., & Rajeshkumar, S. (2018). Seed and bark extracts of *Acacia catechu* protect liver from acetaminophen-induced hepatotoxicity by modulating oxidative stress, antioxidant enzymes and liver function enzymes in Wistar rat model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 108, 838-844.
- ❖ Larson, A., Kaplan, M., & Bonis, P. (2018). *Drugs and the liver: metabolism and mechanisms of injury*. UpToDate, Waltham, MA. Accessed, 16.
- ❖ Leandri, J. (1928). Structure particulière du rhizome d'un *Daphne*. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 75(2), 243-248.
- ❖ Letouzey, R. (1982). *Manuel de botanique forestière. Afrique tropicale. Tome 1: botanique générale. Tome 2A: familles (1ère partie). Tome 2B: familles (2è partie)*.

- ❖ Li, Q., Wei, L., Zhang, J., Gu, G., & Guo, Z. (2019). Significantly enhanced antioxidant activity of chitosan through chemical modification with coumarins. *Polymer Chemistry*, 10(12), 1480-1488.
- ❖ Li, T., Chen, C., Brozena, A. H., Zhu, J., Xu, L., Driemeier, C., Dai, J., Rojas, O. J., Isogai, A., & Wågberg, L. (2021). Developing fibrillated cellulose as a sustainable technological material. *Nature*, 590(7844), 47-56.
- ❖ Li, Y., Han, Y., Qu, M., Chen, J., Chen, X., Geng, X., Wang, Z., & Chen, S. (2020). Apoptotic cell death-inducing proteins of filamentous plant pathogens: Roles in plant-pathogen interactions. *Frontiers in Genetics*, 11, 661.
- ❖ Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M. R., & Wu, H. (2020). The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 148, 80-89.
- ❖ Lin, J.-K., & Weng, M.-S. (2006). Flavonoids as nutraceuticals. *The science of flavonoids*, 213-238.
- ❖ Lin, K., Zhang, D., Macedo, M. H., Cui, W., Sarmiento, B., & Shen, G. (2019). Advanced collagen-based biomaterials for regenerative biomedicine. *Advanced Functional Materials*, 29(3), 1804943.
- ❖ Liskova, A., Koklesova, L., Samec, M., Smejkal, K., Samuel, S. M., Varghese, E., Abotaleb, M., Biringer, K., Kudela, E., & Danko, J. (2020). Flavonoids in cancer metastasis. *Cancers*, 12(6), 1498.
- ❖ Liu, Y., Xu, H., Yu, C., & Zhou, G. (2021). Multifaceted roles of duckweed in aquatic phytoremediation and bioproduct synthesis. *Gcb Bioenergy*, 13(1), 70-82.
- ❖ Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*, 4(8), 118.
- ❖ Lors, C., Leleux, P., & Park, C.-H. (2022). Biodégradabilité des plastiques biosourcés: revue bibliographique sur l'acide polylactique. *Materiaux et Techniques*, 110(6), 604.
- ❖ Lyubchyk, S., Shapovalova, O., Lygina, O., Oliveira, M. C., Appazov, N., Lyubchyk, A., Charmier, A. J., Lyubchik, S., & Pombeiro, A. J. (2019). Integrated green chemical approach to the medicinal plant *Carpobrotus edulis* processing. *Scientific Reports*, 9(1), 18171.



- ❖ Macheix, J.-J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.
- ❖ Magallón, M., Pastor, S., Carrión, A. E., Bañuls, L., Pellicer, D., Castillo, S., Bondía, S., Navarro-García, M. M., González, C., & Dasí, F. (2021). Oxidative stress and endoplasmicreticulum stress in rare respiratorydiseases. *Journal of clinicalmedicine*, 10(6), 1268.
- ❖ Magi, G., Marini, E., & Facinelli, B. (2015). Antimicrobialactivity of essential oils and carvacrol, and synergy of carvacrol and erythromycin, against clinical, erythromycin-resistant Group A Streptococci. *Frontiers in microbiology*, 6, 165.
- ❖ Mahmoud Dif, M., Benali Toumi, F., Benyahia, M., Bouzid, K., Rahmani, M., & Sellam, F. (2014). First determination of polyphenol variation in *Daphne gnidium* L. leavesdepending on altitude and slope at TessalaMounts (North-West Algeria). *Revue d'Écologie (La Terre et La Vie)*, 69(3), 338-344.
- ❖ Mahmoud, A. M., Hernandez Bautista, R. J., Sandhu, M. A., & Hussein, O. E. (2019). Beneficialeffects of citrus flavonoids on cardiovascular and metabolichealth. *Oxidativemedicine and cellular longevity*, 2019.
- ❖ Maleki, S. J., Crespo, J. F., & Cabanillas, B. (2019). Anti-inflammatoryeffects of flavonoids. *Food chemistry*, 299, 125124.
- ❖ Mamat, S., Kamarolzaman, M. F., Yahya, F., Mahmood, N., Shahril, M., Jakius, K., Mohtarrudin, N., Ching, S. m., Susanti, D., Taher, M., & Zakaria, Z. A. (2013). Methanolextract of *Melastomamalabathricum*leavesexertedantioxidant and liver protective activity in rats. *BMC complementary and alternative medicine*, 13, 326. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-326>
- ❖ Manal M., Chandrasekar MJN., Gomathipriya J et Nanjan MJ. (2016). Inhibitors of histone deacetylase as antitumoragents: A criticalreview. *Bioorganicchemistry*. 67: 18-42.
- ❖ Manhart, A., Vogt, R., Priester, M., Dehoust, G., Auberger, A., Blepp, M., Dolega, P., Kämper, C., Giegrich, J., & Schmidt, G. (2019). The environmentalcriticality of primaryrawmaterials–A new methodology to assess global environmentalhazardpotentials of minerals and metalsfrommining. *MineralEconomics*, 32, 91-107.

- ❖ Manina, A. S., & Forlani, F. (2023). Biotechnologies in Perfume Manufacturing: Metabolic Engineering of Terpenoid Biosynthesis. *International journal of molecular sciences*, 24(9), 7874.
- ❖ Martirena, F., & Monzó, J. (2018). Vegetable ashes as supplementary cementitious materials. *Cement and Concrete Research*, 114, 57-64.
- ❖ Marfak, A. (2003). Radiolyse Gamma des flavonoïdes, étude de leur réactivité avec les radicaux. Thèse de doctorat. Université de Limoges.
- ❖ Medila, I., Toumi, I., & Adaïka, A. (2021). Hepatoprotective and Curative Activities of *Daphne Gnidium L.* Aqueous Extract Against CCl<sub>4</sub>-Induced Liver Injury in Rats. *Current Bioactive Compounds*, 17(7), 19-26.
- ❖ Mehdizadeh, M., Mehdizadeh, Z., & Baghaeifar, Z. (2020). Efficacy evaluation of tribenuronmethyl herbicide by using different adjuvants for common Lambsquarters (*Chenopodium album L.*) control. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 8(1), 1-8.
- ❖ Merouane, A., Noui, A., Ali, K. N. B., & Saadi, A. (2014). Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *International journal of biological and chemical sciences*, 8(4), 1865-1870.
- ❖ Mezouar, D., Lahfa, F., Djaziri, R., & Boucherit-Otmani, Z. (2014). Évaluation de l'activité antioxydante de *Berberis vulgaris L.* *Phytothérapie*, 12(5), 297-301.
- ❖ Miara, M., Hammou, M. A., & Aoul, S. H. (2013). Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). *Phytothérapie*, 11(4), 206-218.
- ❖ Miller, J. A., Thompson, P. A., Hakim, I. A., Chow, H.-H. S., & Thomson, C. A. (2011). d-Limonene: a bioactive food component from citrus and evidence for a potential role in breast cancer prevention and treatment. *Oncology Reviews*, 5, 31-42.
- ❖ Mishra, B. S., Sharma, M., & Laxmi, A. (2022). Role of sugar and auxin crosstalk in plant growth and development. *Physiologia plantarum*, 174(1), e13546.
- ❖ Mishra, S.K., Singh, P., Rath, S.K., 2013. Protective Effect of Quercetin on Chloroquine-Induced Oxidative Stress and Hepatotoxicity in Mice. *Malaria Research and Treatment*.
- ❖ Mobin, S. M., Chowdhury, H., & Alam, F. (2019). Commercially important bioproducts from microalgae and their current applications—A review. *Energy Procedia*, 160, 752-760.

- ❖ Mohammadi, Z., & Atik, F. (2013). Fungitoxic effect of natural extracts on mycelial growth, spore germination and aflatoxin B1 production of *Aspergillus flavus*. *Australian J. Crop Sci*, 7(3), 293-298.
- ❖ Morena, M., Martin-Mateo, M., Cristol, J., & Canaud, B. (2002). Stress oxydant, hémoincompatibilité et complications de la dialyse au long cours. *Néphrologie*, 23(5), 201-208.
- ❖ Mozhiarasi, V., & Natarajan, T. S. (2022). Slaughterhouse and poultry wastes: Management practices, feedstocks for renewable energy production, and recovery of value added products. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-24.
- ❖ Mégarbane, B. (2017). Intoxication par le paracétamol : quoi de neuf ?. *Médecine Intensive Réanimation*, 26(5), 383-395.



- ❖ Navarro, D. M., Abelilla, J. J., & Stein, H. H. (2019). Structures and characteristics of carbohydrates in diets fed to pigs: a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 10(1), 1-17.
- ❖ Nayeli, M.-B., Maribel, H.-R., Enrique, J.-F., Rafael, B.-P., Margarita, A.-F., Macrina, F.-M., Ivan, M.-D., & Manasés, G.-C. (2020). Anti-inflammatory activity of coumarins isolated from *Tagetes lucida* Cav. *Natural product research*, 34(22), 3244-3248.
- ❖ Nazir, N., Muhammad, J., Ghaffar, R., Nisar, M., Zahoor, M., Uddin, F., Ullah, R., & Alotaibi, A. (2021). Phytochemical profiling and antioxidant potential of *Daphne mucronata* Royle and action against paracetamol-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rabbits. *Saudi journal of biological sciences*, 28(9), 5290-5301.
- ❖ Neffati, M., & Sghaier, M. (2014). Développement et valorisation des plantes aromatiques et médicinales (PAM) au niveau des zones désertiques de la région MENA (Algérie, Egypte, Jordanie, Maroc et Tunisie). *Observatoire du Sahara et du Sahel: Tunis, Tunisia*.
- ❖ Nibin Joy, M., Bodke, Y. D., Telkar, S., & Bakulev, V. A. (2020). Synthesis of coumarins linked with 1, 2, 3-triazoles under microwave irradiation and evaluation of their antimicrobial and antioxidant activity. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 64(1), 53-73.
- ❖ Nieto, G. (2017). Biological activities of three essential oils of the Lamiaceae family. *Medicines*, 4(3), 63.

- ❖ Niki L., Reynaert S., Aesif W., Amy TM., Emiel B., Wouters FM., Irvin CG., Yvonne MW et Janssen-Heininger. (2007). Catalase over expression fails to attenuate allergic airways disease in the mouse. *The journal of Immunology*. 178 : 3814 – 3821.
  - ❖ Njakou Djomo, S., Knudsen, M. T., Martinsen, L., Andersen, M. S., Ambye- Jensen, M., Møller, H. B., & Hermansen, J. E. (2020). Green proteins: An energy- efficient solution for increased self- sufficiency in protein in Europe. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 14(3), 605-619.
  - ❖ Nunes, B., Nunes, J., Soares, A. M., Figueira, E., & Freitas, R. (2017). Toxicological effects of paracetamol on the clam *Ruditapes philippinarum* : exposure vs recovery. *Aquatic Toxicology*, 192, 198-206.
  - ❖ Nunes, B., Nunes, J., Soares, A. M., Figueira, E., & Freitas, R. (2017). Toxicological effects of paracetamol on the clam *Ruditapes philippinarum*: exposure vs recovery. *Aquatic Toxicology*, 192, 198-206.
- 
- ❖ Odonne, G., Houël, E., Bourdy, G., & Stien, D. (2017). Healing leishmaniasis in Amazonia: review of ethnomedicinal concepts and pharmaco-chemical analysis of traditional treatments to inspire modern phytotherapies. *Journal of Ethnopharmacology*, 199, p. 211-230.
  - ❖ Okokon, JE, Siméon, JO et Umoh, EE (2017). Activité hépatoprotectrice de l'extrait de tige d'*Homalium letestui* contre les lésions hépatiques induites par le paracétamol. *Avicenne journal of phytomedicine* , 7 (1), 27.
  - ❖ Otuokere, I., Amaku, F., Igwe, K., & Bosah, C. (2016). Characterization of *Landolphia dulcis* Ethanol Extract by Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis. *International Journal on Advances in Engineering Technology and Science*, 2(4), 13-17.
  - ❖ Ouedraogo, S., Yoda, J., Traore, T. K., Nitiema, M., Sombie, B. C., Diawara, H. Z., Yameogo, J. B., Djande, A., Belemnaba, L., & Kini, F. B. (2021). Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. *International journal of biological and chemical sciences*, 15(2), 750-772.
  - ❖ OUIBRAHIM, A., KAKI, Y. T. A., BENNADJA, S., MANSOURI, R., KAKI, S. A., KHBIZI, S., & DJEBAR, M. R. (2015). Activité antioxydante et anti-candidosique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. provenant de la région d'El Kala (Nord-Est Algérien). *Algerian Journal Of natural Products*, 3(3), 209-216.

- ❖ O'KEEFE, T. (2001). Ascorbic acid and stable ascorbate esters as sources of vitamin C in aquaculture feeds. Singapore: American Soybean Association (ASA)–United SoybeanBoard.

### *P*

- ❖ Paraskar, P. M., Prabhudesai, M. S., Hatkar, V. M., & Kulkarni, R. D. (2021). Vegetableoilbasedpolyurethanecoatings–A sustainableapproach: A review. *Progress in OrganicCoatings*, 156, 106267.
- ❖ Patel, H. (2020). Environmental valorisation of bagasse flyash: A review. *RSC advances*, 10(52), 31611-31621.
- ❖ Patel, K., Munir, D., & Santos, R. M. (2022). Beneficial use of animal hides for abattoir and tannerywastemanagement:areview of unconventional, innovative, and sustainableapproaches. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-17.
- ❖ Perea-Moreno, M.-A., Samerón-Manzano, E., &Perea-Moreno, A.-J. (2019). Biomass as renewableenergy: Worldwide research trends. *Sustainability*, 11(3), 863.
- ❖ Perez, V., Felix, M., Romero, A., & Guerrero, A. (2016). Characterization of peaprotein-basedbioplasticsprocessed by injection moulding. *Food and bioproductsprocessing*, 97, 100-108.
- ❖ Piper, F. I., & Paula, S. (2020). The role of nonstructural carbohydrates storage in forestresilienceunderclimate change. *CurrentForestry Reports*, 6, 1-13.
- ❖ Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., &Bitto, A. (2017). Oxidativestress:harms and benefits for humanhealth. *Oxidativemedicine and cellular longevity*, 2017.
- ❖ Pl@ntNet, P. (2023). *Daphne gnidium L. Daphné garou, Garou, Sain-bois, Sainbois* Version 1.8. Pl@ntNet) plantnet.org. <https://doi.org/https://doi.org/10.15468/mma2ec>
- ❖ Popiolek, I., Hydzik, P., Jagielski, P., Zrodowska, M., Mystek, K., &Porebski, G. (2021). Risk factors for hepatotoxicity due to paracetamol overdose in adults. *Medicina*, 57(8), 752.
- ❖ Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). Exercise-inducedoxidativestress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiologicalreviews*, 88(4), 1243-1276.
- ❖ Prasad, B., Padhi, R., & Ghosh, G. (2022). A review on key pretreatmentapproaches for lignocellulosicbiomass to producebiofuel and value-addedproducts. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 1-16.

- ❖ Prerona, S., Mazumder<sup>1</sup>, U.K., Haldar<sup>1</sup>, P.K., Bala,A., Biswakanthkar, Sagar naskar.2011. Evaluation of hepatoprotective activity of Cucurbita maxima aerial parts. Journal of Herbal Medicine and Toxicology 5 (1), 17-22. stress. Toxicology Reports, 9, 1929-1937.
- ❖ Prescott, L. F. (2000). Paracetamol: past, present, and future. American journal of therapeutics, 7(2), 143-148.
- ❖ Pushpakiran, G., Mahalakshmi, K., Anuradha, C.V., 2004. Taurine restores ethanol-induced depletion of antioxidants and attenuates oxidative stress in rat tissues. Amino Acids 27(1), 91-6.

### Q

- ❖ Quezel P., et Santa S., 1963.- Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. Centre national de la recherche scientifique, Paris, 670p

### R

- ❖ Rao, J., Lv, Z., Chen, G., & Peng, F. (2023). Hemicellulose: Structure, chemical modification, and application. Progress in Polymer Science, 101675.
- ❖ Rao, P. S., Kalva, S., Yerramilli, A., & Mamidi, S. (2011). Free radicals and tissue damage: Role of antioxidants. Free radicals and antioxidants, 1(4), 2-7.
- ❖ Rathee, D., Kamboj, A., Sachdev, RK et Sidhu, S. (2018). Effet hépatoprotecteur d'Aeglemarmelos augmenté de la co-administration de pipérine dans un modèle de paracétamol. Revista Brasileira de Farmacognosia , 28 , 65-72.
- ❖ Rathee, D., Kamboj, A., Sachdev, RK et Sidhu, S. (2018). Effet hépatoprotecteur d'Aeglemarmelos augmenté de la co-administration de pipérine dans un modèle de paracétamol. Revista Brasileira de Farmacognosia , 28 , 65-72.
- ❖ Rathod, N. B., Kulawik, P., Ozogul, F., Regenstein, J. M., & Ozogul, Y. (2021). Biological activity of plant-based carvacrol and thymol and their impact on human health and food quality. Trends in Food Science & Technology, 116, 733-748.
- ❖ Rawat, A., & Reddy, A. V. B. (2022). Recent advances on anticancer activity of coumarin derivatives. European Journal of Medicinal Chemistry Reports, 100038.
- ❖ Reid A B., Kurten R C., McCullough S S., Brock R W. and Hinson J A. (2005). Mechanisms of acetaminophen-induced hepatotoxicity: Role of oxidative stress and mitochondrial permeability transition in freshly isolated mouse hepatocytes. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 312 (2): 509- 516.



- ❖ Rezvani Ghomi, E., Nourbakhsh, N., AkbariKenari, M., Zare, M., & Ramakrishna, S. (2021). Collagen- based biomaterials for biomedical applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 109(12), 1986-1999.
- ❖ Robaczewska, J., Kedziora-Kornatowska, K., Kozakiewicz, M., Zary-Sikorska, E., pawluk, H., Pawliszak, W., 2016. Role of glutathione metabolism and glutathione-related antioxidant defense system in hypertension. *Journal of physiology and pharmacology* 67 (3), 331-337.
- ❖ Roberto, D., Micucci, P., Sebastian, T., Graciela, F., & Anesini, C. (2010). Antioxidant activity of limonene on normal murine lymphocytes: relation to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> modulation and cell proliferation. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 106(1), 38-44.
- ❖ Roccotiello, E., Casazza, G., Galli, L., Cornara, L., Moncalvo, A., & Minuto, L. (2009). The flower biology of *Daphne gnidium* L. (Thymelaeaceae). *Plant systematics and evolution*, 279, 41-49.
- ❖ Rotundo, L., & Pysopoulos, N. (2020). Liver injury induced by paracetamol and challenges associated with intentional and unintentional use. *World journal of hepatology*, 12(4), 125.
- ❖ Rubio, C. P., & Cerón, J. J. (2021). Spectrophotometric assays for evaluation of Reactive Oxygen Species (ROS) in serum: General concepts and applications in dogs and humans. *BMC Veterinary Research*, 17(1), 226.



- ❖ SAAD, H., KAMMOUN, I., ZEGHAL, K., AMARA, I., MAGNÉ, C., & HAKIM, A. (2017). Effets du selenium sur le stress oxydant au niveau des reins de rats traités par le tebuconazole. *Effects of selenium on tebuconazole-induced nephrotoxicity in adult rats.*
- ❖ Sabina, EP, Rasool, M., Vedi, M., Navaneethan, D., Ravichander, M., Parthasarthy, POORNIMA et Thella, SR (2013). Potentiel hépatoprotecteur et antioxydant de *Withania somnifera* contre les lésions hépatiques induites par le paracétamol chez le rat. *Int J Pharm Pharm Sci* , 5 (2), 648-651.
- ❖ Sagnelli, D., Hebelstrup, K. H., Leroy, E., Rolland-Sabaté, A., Guilois, S., Kirkensgaard, J. J., Mortensen, K., Lourdin, D., & Blennow, A. (2016). Plant-crafted starches for bioplastics production. *Carbohydrate polymers*, 152, 398-408.
- ❖ Saidurrahman, M., Mujahid, M., Siddiqui, MA, Alsuwayt, B., & Rahman, MA (2022). Evaluation de l'activité hépatoprotectrice de l'extrait éthanolique de *Pterocarpus*

- marsupium Roxb. feuilles contre les dommages au foie induits par le paracétamol via la réduction du stress oxydatif. *PhytomédecinePlus* , 2 (3), 100311.
- ❖ Salem, GA, Shaban, A., Diab, HA, Elsaghayer, WA, Mjedib, MD, Hnesh, AM et Sahu, RP (2018). Phoenix dactylifera protège du stress oxydatif et des lésions hépatiques induites par l'intoxication au paracétamol chez le rat. *Biomédecine & Pharmacothérapie* , 104 , 366-374.
  - ❖ Sall, M., Gueye, P. M., Traoré, A., Diouf, S., Sy, M., Bouchez, G., Wade, A. C., Sané, M. L., Dieye, G., & Diop, D. (2020). Assessment of Fine and Coarse Sewage Sludge Ashes for Their Potential Use in Civil Engineering. *Journal of Civil, Construction and Environmental Engineering*, 5(4), 99-106.
  - ❖ Sanda, M. A., Zengin, G., Aktumsek, A., & Cakmak, Y. S. (2015). Evaluation of antioxidant potential of two Daphne species (*D. gnidioides* and *D. pontica*) from Turkey. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 4878-494.
  - ❖ Sanders, L. H., & Greenamyre, J. T. (2013). Oxidative damage to macromolecules in human Parkinson disease and the rotenone model. *Free Radical Biology and Medicine*, 62, 111-120.
  - ❖ Santo, É. d. E., Ishii, M., Pinto, U. M., Matsudo, M. C., & Carvalho, J. C. M. d. (2022). Obtaining Bioproducts from the Studies of Signals and Interactions between Microalgae and Bacteria. *Microorganisms*, 10(10), 2029.
  - ❖ Sarg, T., Ghani, A. A., Zayed, R., & El-Sayed, M. (2011). Antihepatotoxic activity of *Phyllanthus atropurpureus* cultivated in Egypt. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 66(9-10), 447-452.
  - ❖ Sarra, A., Brahmia Boutheina, D. D., & Anissa, O. (2022). Effet hépatoprotecteur d'*Origanum majorana* sur le stress oxydant induit par le bisphénol A chez les rats.
  - ❖ Sarra, A., Brahmia Boutheina, D. D., & Anissa, O. (2022). Effet hépatoprotecteur d'*Origanum majorana* sur le stress oxydant induit par le bisphénol A chez les rats.
  - ❖ Schrijvers, D., Hool, A., Blengini, G. A., Chen, W.-Q., Dewulf, J., Eggert, R., van Ellen, L., Gauss, R., Goddin, J., & Habib, K. (2020). A review of methods and data to determine raw material criticality. *Resources, conservation and recycling*, 155, 104617.
  - ❖ Schuster, R., Zeindl, L., Holzer, W., Khumpirapang, N., Okonogi, S., Viernstein, H., & Mueller, M. (2017). *Eulophia macrobulbon* - an orchid with significant anti-inflammatory and antioxidant effect and anticancerogenic potential exerted by its root extract. *Phytomedicine*, 2017. 24, p. 157-165 .

- ❖ Serairi, R., Msilini, N., Jameleddine, S., & Ksouri, R. (2014). P102: Effets préventifs et curatifs du *Curcuma Longa* sur l'hépatotoxicité induite par le tétrachlorure de carbone chez le rat. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 28, S121.
- ❖ Shah, A., & Smith, D. L. (2020). Flavonoids in agriculture: Chemistry and roles in, biotic and abiotic stress responses, and microbial associations. *Agronomy*, 10(8), 1209.
- ❖ Shah, B. B., & Mehta, A. A. (2018). In vitro evaluation of antioxidant activity of D-Limonene. *Asian J. Pharm. Pharmacol*, 4(6), 883-887.
- ❖ Sharmila, S., Mownika, S. et Ramya, EK ACTIVITÉ HÉPATOPROTECTIVE DE L'EXTRAIT ÉTHANOLIQUE DE *CAYRATIA PEDATA* VAR. *GLABRA* CONTRE LES DOMMAGES AU FOIE INDUITS PAR LE PARACETAMOL CHEZ LES RATS ALBINOS.
- ❖ Shimoda, K., Kondo, Y., Nishida, T., Hamada, H., Nakajima, N., & Hamada, H. (2006). Biotransformation of thymol, carvacrol, and eugenol by cultured cells of *Eucalyptus perriniana*. *Phytochemistry*, 67(20), 2256-2261.
- ❖ Sim, S. Y. J., Sriv, A., Chiang, J. H., & Henry, C. J. (2021). Plant proteins for future foods: A roadmap. *Foods*, 10(8), 1967.
- ❖ Sivakumar, V., Rajan, M. D., Sadiq, A. M., & Rajeshkumar, S. (2014). Hepatoprotective effect of polyherbal formulations in paracetamol induced hepatic damaged experimental rats. *International Research Journal of Pharmaceutical and Biosciences*, 1(1), 30-35.
- ❖ Skorupski, R., & der Landschaft, F. A. Bestimmung der mikrobiellen Biomasse mit Bodenatmungskurven.
- ❖ Sluiter, A., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., & Templeton, D. (2005). Determination of extractives in biomass. *Laboratory analytical procedure (LAP)*, 1617(4), 1-16.
- ❖ Smirnoff, N. (2008). *Antioxidants and reactive oxygen species in plants*. John Wiley & Sons.
- ❖ Soleimani, M., Arzani, A., Arzani, V., & Roberts, T. H. (2022). Phenolic compounds and antimicrobial properties of mint and thyme. *Journal of Herbal Medicine*, 100604.
- ❖ Sourabie, T. S., Nikiema, J. B., Guissou, I. P., & Nacoulma, O. G. (2012). Etude comparée des effets anti-hépatotoxiques d'extraits d'*Argemonemexicana* L. (Papaveraceae), une plante utilisée dans le traitement traditionnel de la jaunisse au Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 6(3), 1139-1147.
- ❖ Stuchlík, M., & Zak, S. (2002). Vegetable lipids as components of functional foods. *Biomedical papers - palacky university in olomouc*, 146(2), 3-10.

- ❖ Stéphane, B. (2009). La spectrométrie de masse en couplage avec la chromatographie en phase gazeuse. Lavoisier.
- ❖ Su bat T, Qun L, Faye Let Lopez JR. Catalase alleviates cardiomyocyte dysfunction in diabetes:role of Akt, Forkheadtranscriptional factor and si lent information regulator 2. (2007). Life Sciences 81: 895-905.
- ❖ Subramanian, M., Balakrishnan, S., Chinnaiyan, S. K., Sekar, V. K., & Chandu, A. N. (2013). Hepatoprotective effect of leaves of *Morinda tinctoria* Roxb. Against paracetamol induced liver damage in rats. Drug Invention Today, 5(3), 223-228.
- ❖ Suh, K. S., Chon, S., & Choi, E. M. (2017). Limonene protects osteoblasts against methylglyoxal-derived adduct formation by regulating glyoxalase, oxidative stress, and mitochondrial function. Chemico-Biological Interactions, 278, 15-21.
- ❖ Sultana, B., Anwar, F., & Ashraf, M. (2009). Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. Molecules, 14(6), 2167-2180.
- ❖ Sultana, B., Anwar, F., & Przybylski, R. (2007). Antioxidant activity of phenolic components present in barks of *Azadirachta indica*, *Terminalia arjuna*, *Acacia nilotica*, and *Eugenia jambolana* Lam. Trees. Food chemistry, 104(3), 1106-1114.
- ❖ Sun, J. (2007). D-Limonene: safety and clinical applications. Alternative medicine review, 12(3), 259.

### *J*

- ❖ Tang, L., Qiu, L., Liu, C., Du, G., Mo, Z., Tang, X., & Mao, Y. (2019). Transcriptomic insights into innate immunity responding to red rot disease in red alga *Pyropia yezoensis*. International journal of molecular sciences, 20(23), 5970.
- ❖ Tao, B. Y. (2007). Industrial applications for plant oils and lipids. In Bioprocessing for value-added products from renewable resources (pp. 611-627). Elsevier.
- ❖ Tao, J., Li, S., Ye, F., Zhou, Y., Lei, L., & Zhao, G. (2020). Lignin—An underutilized, renewable and valuable material for food industry. Critical reviews in food science and nutrition, 60(12), 2011-2033.
- ❖ Tapas, A. R., Sakarkar, D., & Kakde, R. (2008). Flavonoids as nutraceuticals: a review. Tropical journal of Pharmaceutical research, 7(3), 1089-1099.
- ❖ Tavsan, Z., & Kayali, H. A. (2019). Flavonoids showed anticancer effects on the ovarian cancer cells: Involvement of reactive oxygen species, apoptosis, cell cycle and invasion. Biomedicine & pharmacotherapy, 116, 109004.

- ❖ Terrett, O. M., & Dupree, P. (2019). Covalent interactions between lignin and hemicelluloses in plant secondary cell walls. *Current Opinion in Biotechnology*, 56, 97-104.
- ❖ Thielmann, J., & Muranyi, P. (2019). Review on the chemical composition of Litsea cubeba essential oils and the bioactivity of its major constituents citral and limonene. *Journal of essential oil research*, 31(5), 361-378.
- ❖ Titus, B. D., Brown, K., Helmisaari, H.-S., Vanguelova, E., Stupak, I., Evans, A., Clarke, N., Guidi, C., Bruckman, V. J., & Varnagiryte-Kabasinskiene, I. (2021). Sustainable forest biomass: A review of current residue harvesting guidelines. *Energy, Sustainability and Society*, 11(1), 1-32.
- ❖ Tremellen K. (2008). Oxidative stress and male infertility: a clinical perspective. *Human reproduction update*. 14 (3): 243–258.

### T

- ❖ Varvara, M., Bozzo, G., Celano, G., Disanto, C., Pagliarone, C. N., & Celano, G. V. (2016). The use of ascorbic acid as a food additive: technical-legal issues. *Italian journal of food safety*, 5(1)
- ❖ Vazhappilly, C. G., Ansari, S. A., Al-Jaleeli, R., Al-Azawi, A. M., Ramadan, W. S., Menon, V., Hodeify, R., Siddiqui, S. S., Merheb, M., & Matar, R. (2019). Role of flavonoids in thrombotic, cardiovascular, and inflammatory diseases. *Inflammopharmacology*, 27, 863-869.
- ❖ Vieira, A. J., Beserra, F. P., Souza, M., Totti, B., & Rozza, A. (2018). Limonene: Aroma of innovation in health and disease. *Chemico-Biological Interactions*, 283, 97-106.

### W

- ❖ Wang, M., Firman, J., Liu, L., & Yam, K. (2019). A review on flavonoid apigenin: Dietary intake, ADME, antimicrobial effects, and interactions with human gut microbiota. *BioMed research international*, 2019.

### X

- ❖ Xu, C., & Shanklin, J. (2016). Triacylglycerol metabolism, function, and accumulation in plant vegetative tissues. *Annual Review of Plant Biology*, 67, 179-206.
- ❖ Xu, Y., Singer, S. D., & Chen, G. (2023). Protein interactomes for plant lipid biosynthesis and their biotechnological applications. *Plant Biotechnology Journal*.

*Y*

- ❖ Yang, L., Wen, K.-S., Ruan, X., Zhao, Y.-X., Wei, F., & Wang, Q. (2018). Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules*, 23(4), 762.
- ❖ Yang, W., Chen, X., Li, Y., Guo, S., Wang, Z., & Yu, X. (2020). Advances in pharmacological activities of terpenoids. *Natural Product Communications*, 15(3), 1934578X20903555.
- ❖ Yimam, M., Jiao, P., Moore, B., Hong, M., Cleveland, S., Chu, M., ... & Do, S. G. (2016). Hepatoprotective activity of herbal composition SAL, a standardized blend comprised of *Schisandra chinensis*, *Artemisia capillaris*, and *Aloe barbadensis*. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2016.
- ❖ Yoon, J., Cho, L.-H., Tun, W., Jeon, J.-S., & An, G. (2021). Sucrose signaling in higher plants. *Plant Science*, 302, 110703.
- ❖ Yu, L., Yan, J., & Sun, Z. (2017). D-limonene exhibits anti-inflammatory and antioxidant properties in an ulcerative colitis rat model via regulation of iNOS, COX-2, PGE2 and ERK signaling pathways. *Molecular medicine reports*, 15(4), 2339-2346.

*Z*

- ❖ Zafar, S. (2023). Biomass as Renewable Energy Resource
- ❖ Zbadi, R., Mohti, H., & Moussaoui, F. (2018). Stress oxydatif: évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales. *Médecine thérapeutique*, 24(2), 134-141.
- ❖ Zengin, G., Arkan, T., Aktumsek, A., Guler, G. O., & Cakmak, Y. S. (2013). A study on antioxidant capacities and fatty acid compositions of two *Daphne* species from Turkey : new sources of antioxidants and essential fatty acids. *Journal of Food Biochemistry*, 37(6), 646-653.
- ❖ Zhai, J., Burke, I. T., & Stewart, D. I. (2021). Beneficial management of biomass combustion ashes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 151, 111555.
- ❖ Zhang, B., Gao, Y., Zhang, L., & Zhou, Y. (2021). The plant cell wall: Biosynthesis, construction, and functions. *Journal of Integrative Plant Biology*, 63(1), 251-272.
- ❖ Zhou, H., Bhattarai, R., Li, Y., Si, B., Dong, X., Wang, T., & Yao, Z. (2022). Towards sustainable coal industry: Turning coal bottom ash into wealth. *Science of the Total Environment*, 804, 149985.
- ❖ Zweier, J. L., & Talukder, M. H. (2006). The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. *Cardiovascular research*, 70(2), 181-190.

Ö

- ❖ Önder, A. (2020). Anticancer activity of natural coumarins for biological targets. *Studies in Natural Products Chemistry*, 64, 85-109.

Č

- ❖ Čižmarová, B., Hubková, B., Tomečková, V., & Birková, A. (2023). Flavonoids as promising natural compounds in the prevention and treatment of selected skin diseases. *International journal of molecular sciences*, 24(7), 6324.

# *Annexes*



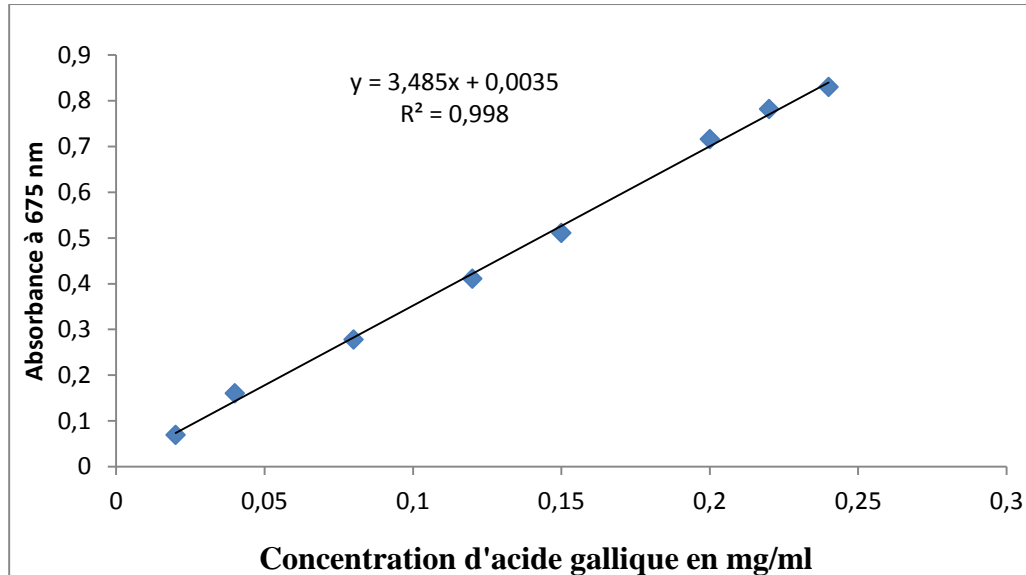
**Annexes :**

**Annexes I : Matériels et Réactifs utilisés.**

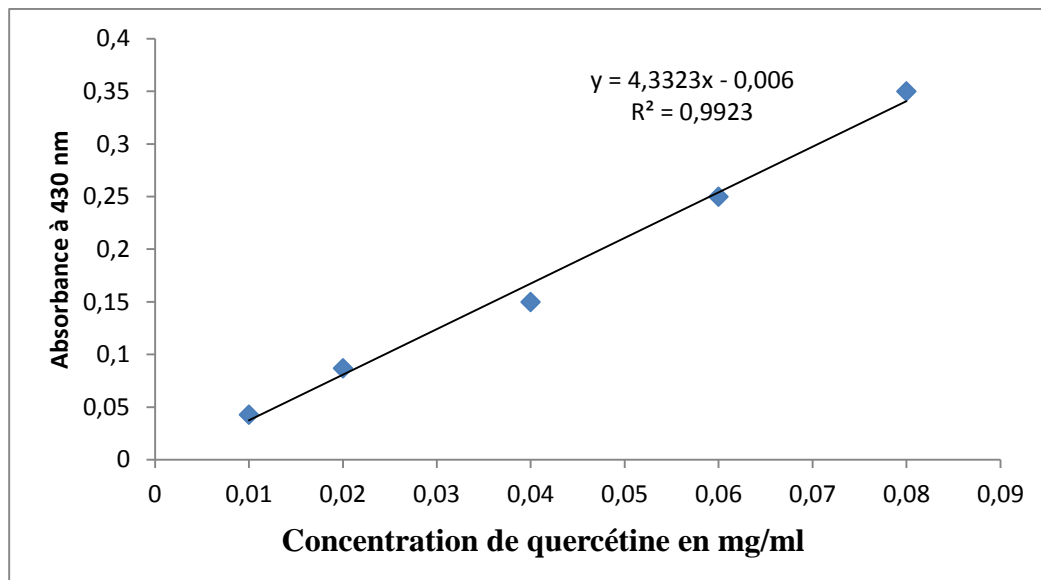
<b>Les appareillages et matériels</b>	<b>Produit chimique</b>
Etuve	Ethanol
Agitateur magnétique	Ether de pétrole
Bécher	L'eau distillée
Barreau magnétique	Folin-ciocalteu
Tube	Carbonate de sodium
Balance	Chlorure d'aluminium
Balance de précision	BSA
PH mètre	HCl
Bain- marin	FeCl <sub>3</sub>
Spectrophotomètre	Acide tanique
Haute	DPPH
Erlenmeyer	BHA
Plaque chauffante agitatrice	Tompon phosphate
Micropipettes	Acide trichloracétique
Centrifugeuse	Chlorure ferrique
Embouts	Acide ascorbique
Papier fileter wattman	Eau physiologique
Papier absorbant	KCl
Papier aluminium	TBA
Papier fille	TCA
Cuves	N-butanol
Tamiseur	CMC
Réfrigérateur	Formol
Seringue	Paracétamol
Sonde gastrique	Chloroforme
Trousse de dissection	Hépazen (200 mg/kg)

**Annexes II** : Courbes d'étalonnage utilisées pour le calcul des teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes, et en tanins hydrolysable respectivement.

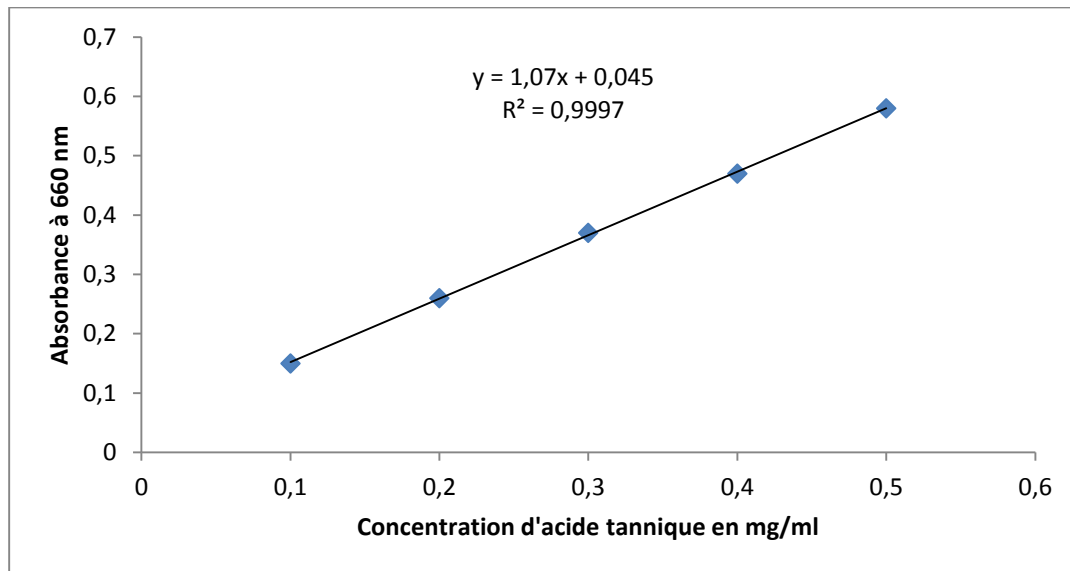
- Courbe d'étalonnage utilisée pour le dosage des polyphénols en utilisant l'acide gallique.



- Courbe d'étalonnage utilisée pour le dosage des flavonoïdes en utilisant la quercétine.

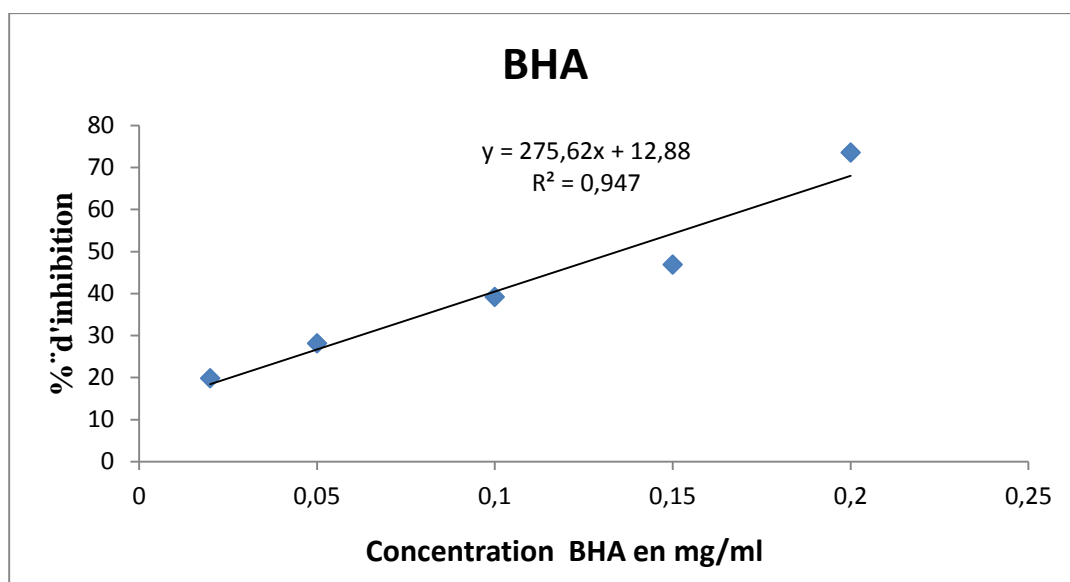


- Courbe d'étalonnage utilisée pour le dosage des tanins hydrolysables en utilisant l'acide tannique.

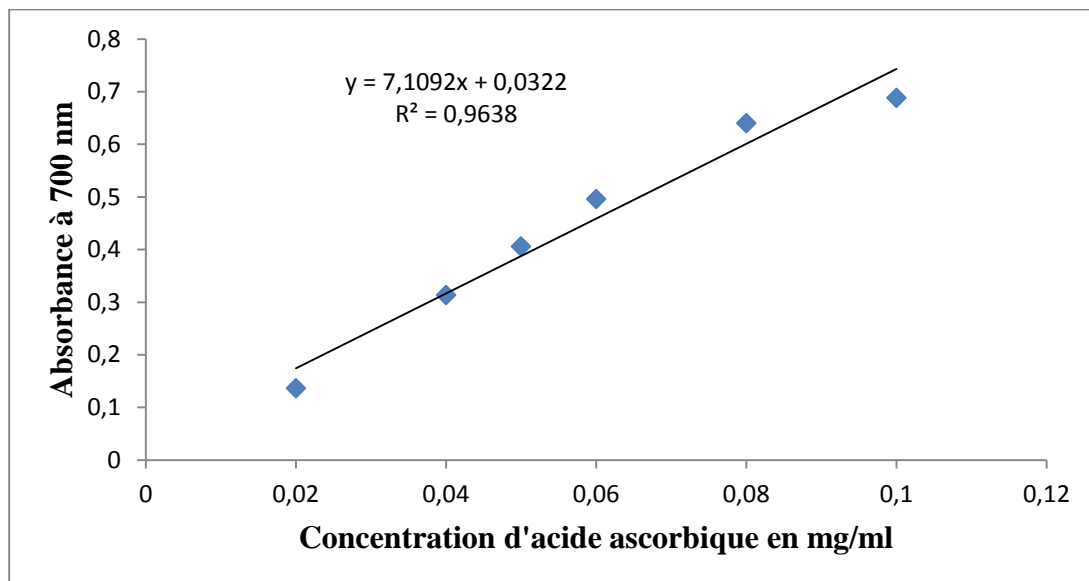


**Annexes III :** Représentes les courbes standards de pourcentages d'inhibition de DPPH et de pouvoir réducteur de fer.

- Courbe standard utilisée pour quantifier effet scavenger en utilisant la BHA.

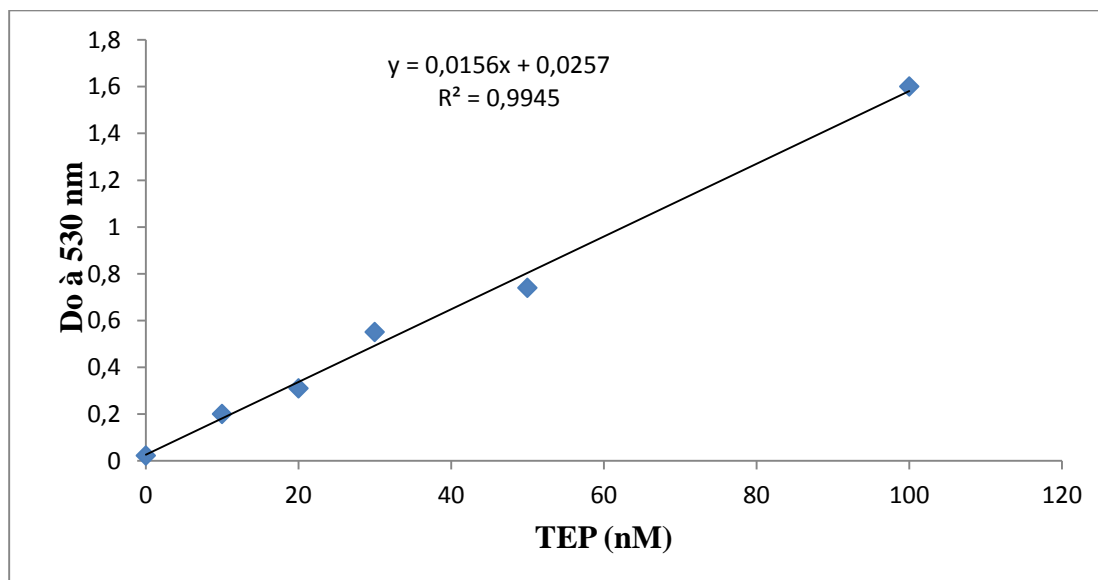


- Courbe standard utilisée pour quantifier l'activité réductrice en utilisant acide ascorbique.

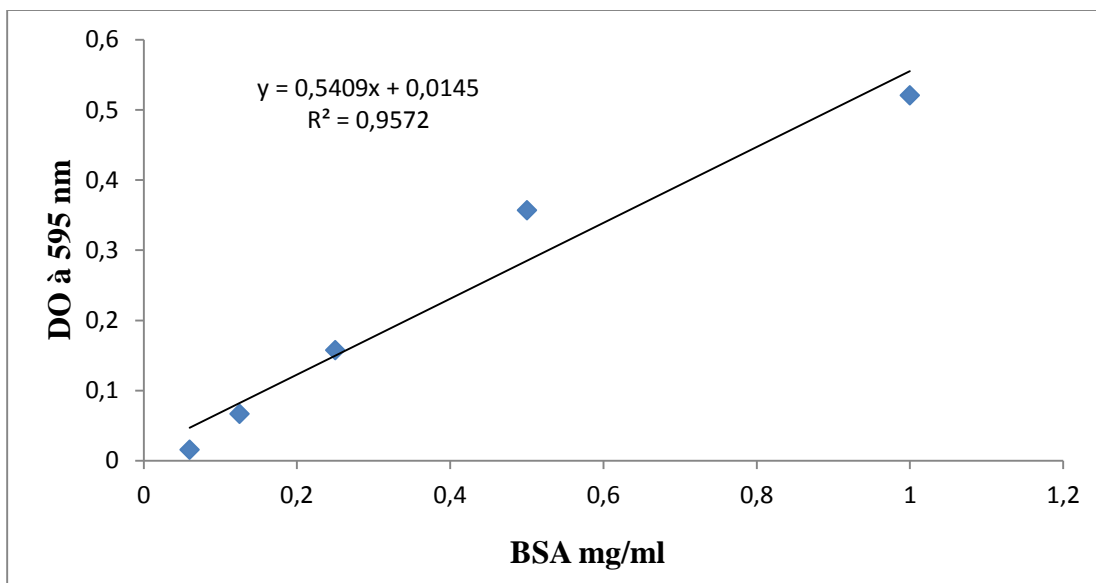


**Annexe IV :** Courbes d'étalonnage utilisé pour calcul les teneurs en MDA et les concentrations des protéines.

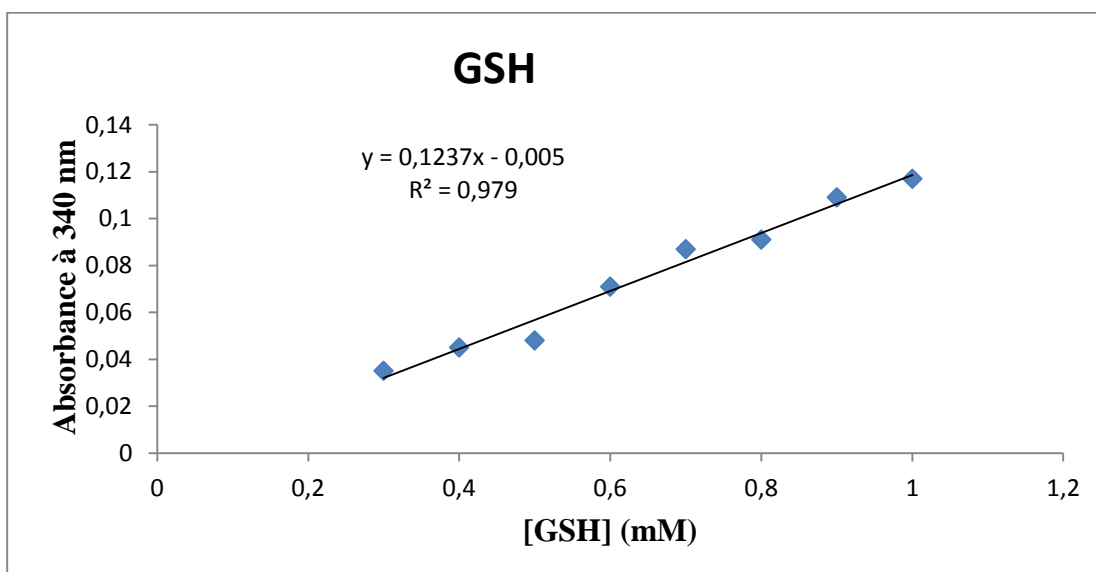
- Courbe standard utilisée pour quantifier la teneur en MDA en utilisant TEP.



- Courbe d'étalonnage des protéines en utilisant BSA comme standard.



- Courbe d'étalonnage de glutathion.



**Annexe V** : Les normes des paramètres sanguins biochimiques de souris.

Blochemicalbloodparameters * Of 10-week old BALB/cJRjmlce		
Parametres	Male	Female
Glucose (g/l)	<b>2.1±0.3</b>	<b>2.1±0.3</b>
Urea (g/l)	<b>0.6±0.1</b>	<b>0.8±0.1</b>
AST (ASAT) (UI/I)	<b>170±50</b>	<b>233±124</b>
ALT (ALAT) (UI/I)	<b>58±17</b>	<b>74±52</b>
Alkaline phosphatase (UI/I)	<b>194±32</b>	<b>204±48</b>
Cholesterolaemia (g/l)	<b>1.5±0.3</b>	<b>1.1±0.2</b>
Triglycerides (g/l)	<b>1.5±0.5</b>	<b>1.9±0.8</b>
Creatinine (mg/l)	<b>5.1±0.4</b>	<b>5.2±0.6</b>

**Réalisée par :**

- LATLI SAFA
- LAHILAH HOSNA
- BOUTADJINE SAMAR

**Encadrante :** Mme MEZAHM**Date de soutenance :** 08/07/2023**Activité antioxydant hépatoprotectrice des extractibles du soxhlet de la biomasse de *Daphne gnidium*****Résumé**

Notre étude vise à étudier la biomasse du *Daphne gnidium* (*D.g*) suivant la procédure du laboratoire national des énergies renouvelables (LNER) des États-Unis « Déterminations des extractibles à partir de la biomasse » et de valoriser ces derniers comme antioxydant *in vivo* et *in vitro*. Les résultats de cette étude montrent la richesse du *D.g* en différentes matières de biomasse telle que ; les cendres, les protéines...ect, dans le composé majoritaire est constatés dans les extractibles à l'éthanol ( $26.21 \pm 1.44\%$  ;  $21.44 \pm 3.88\%$ ) et les résidus cellulosique et hémicellulosique ( $35.88 \pm 9.27\%$  ;  $59.36 \pm 11.38\%$ ) des feuilles et tige du *D.g* respectivement. L'analyse phytochimique des extractibles du *D.g* a révélant sa richesse en composés phénoliques (polyphénol, flavonoïdes et tanins) avec un potentielle antioxydant important évalué par le radical DPPH et le pouvoir réducteur, dans le plus puissant est les feuilles. Ces résultats *in vitro* sont confirmés par la suite, avec une étude *in vivo*, explorant l'effet préventif du *D.g* avec l'aspect antioxydant contre la toxicité hépatique induit par une overdose du paracétamol. Les résultats de cette étude montrent un effet hépatoprotecteur important avec l'amélioration des paramètres du stress antioxydant (SOD, Catalase, MDA, GSH, GST, GPx) ainsi que les paramètres sériques (ASAT, ALAT, PAL, TG, Chol). Ces résultats inspirent que le *D.g* est concéderai comme une biomasse importante qui peut remplacer plusieurs sources d'énergies, surtout en termes de biomasse cellulosique et hémicellulosique, ainsi que sa puissante activité antioxydant des substances bioactives comme hépatoprotecteur contre les affections hépatiques.

**Mots clé :** Biomasse, *Daphne gnidium*, Hépatotoxicité, stress oxydant, étude phytochimique

**Abstract**

Our study's objectives are to evaluate the biomass of *Daphne gnidium* (*D.g*) following the NREL approach "Determinations of extractives in biomass" and to value the latter as an antioxidant both *in vivo* and *in vitro*. The results of this study show the richness of *D.g* in various biomass materials such as ash, proteins, etc., with the majority of compounds found in ethanol extractives ( $26.21 \pm 1.44\%$ ;  $21.44 \pm 3.88\%$ ) and cellulosic and hemicellulosic residues ( $35.88 \pm 9.27\%$ ;  $59.36 \pm 11.38\%$ ) of *D.g* leaves and stems respectively. Phytochemical analysis of *D.g* extractives revealed its richness in phenolic compounds (polyphenol, flavonoids and tannins) with significant antioxidant potential assessed by the DPPH radical and reducing power, which is more pronounced in leaves. These *in vitro* results were subsequently confirmed in an *in vivo* study, exploring the preventive effect of *D.g* with its antioxidant aspect against liver toxicity induced by paracetamol overdose. The results of this study show a significant hepatoprotective effect, with improvements in antioxidant stress parameters (SOD, Catalase, MDA, GSH, GST, GPx) as well as serum parameters (ASAT, ALAT, PAL, TG, Chol). These results suggest that *D.g* is an important biomass that can replace several energy sources, especially in terms of cellulosic and hemicellulosic biomass, as well as its antioxidant activity of bioactive substances as a hepatoprotector against liver diseases.

**Keywords:** Biomass, *Daphne gnidium*, Hepatotoxicity, oxidative stress, phytochemical study

**المخلص**

تهدف دراستنا إلى دراسة الكتلة الحيوية لـ *Daphne gnidium* (*D.g*) باتباع إجراء المختبر الوطني للطاقة المتجددة (LNER) بالولايات المتحدة "تحديد المواد المستخرجة من الكتلة الحيوية" وتقييمها كمضاد للأكسدة في الجسم الحي وفي المختبر. تظهر نتائج هذه الدراسة ثراء *Dg* في مواد الكتلة الحيوية المختلفة مثل؛ الرماد والبروتينات وما إلى ذلك، في معظم المركبات في مستخلصات الإيثانول ( $26.21 \pm 1.44\%$ ؛  $21.44 \pm 3.88\%$ ) وبقايا السليلوز والهيميسليلوز ( $35.88 \pm 9.27\%$ ؛  $59.36 \pm 11.38\%$ ) من أوراق وساق *Dg* على التوالي. كشف التحليل الكيميائي النباتي لمستخلصات *D.g* عن ثرائها في المركبات الفينولية (البوليفينولوالفلافونويد والعفص) مع إمكانات كبيرة كمضاد للأكسدة تم تقييمها بواسطة جنور DPPH وقوة الاختزال، في أقوى الأوراق. تم تأكيد هذه النتائج في المختبر من خلال ما يلي، مع دراسة في الجسم الحي، لاستكشاف التأثير الوقائي لـ *Dg* مع الجانب المضاد للأكسدة ضد سمية الكبد الناتجة عن جرعة زائدة من الباراسيتامول. تظهر نتائج هذه الدراسة تأثيراً مهماً في حماية الكبد مع تحسين معاملات الإجهاد المضادة للأكسدة (SOD، Catalase، MDA، GSH، GST، GPx) بالإضافة إلى معاملات المصل (ASAT، ALAT، PAL، TG، Chol). تلهم هذه النتائج أن *D.g* يعتبر كتلة حيوية مهمة يمكن أن تحل محل العديد من مصادر الطاقة، خاصة من حيث الكتلة الحيوية السليلوزية والهيميسليلوز، فضلاً عن نشاطها القوي كمضاد للأكسدة للمواد النشطة بيولوجياً كواقى للكبد ضد أمراض الكبد.

**الكلمات المفتاحية:** الكتلة الحيوية، دافني الجنديوم، السمية الكبدية، الإجهاد التأكسدي، دراسة الكيمياء النباتية.