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

محمد الصديق بن يحي –جيجل-جامعة

Université Mohammed Seddik Ben Yahia –Jijel-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie — كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire — قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

Mémoire de fin d'études

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

Option : Biochimie et Biologie Moléculaire

Thème

Effet gastro-protecteur et anti-oxydant de l'extrait brute éthanolique de la plante *Ranunculus repens L* chez le rat intoxiqué par l'éthanol

Membres de jury :

Examinateur : Mme BOUTENNOUN H.

Encadreur : Mme ABBES A.

présenté par :

BRELLA Hadjer

HAOUCHE Amira

Année Universitaire 2015-2016

Numéro d'ordre (bibliothèque) :

Remerciements

*Nous remercions tout d'abord «**Allah**», le Tout Puissant, qui nous a permis de mener à bien ce travail.*

*Un grand merci à monsieur **Dr. RECHRECHE Hocine** pour tous ses orientations scientifiques, sa patience, ses précieux conseils et notamment son bon foi.*

*Nous tenons à remercier notre encadreur **Mme ABBES Arbia**. Merci pour ton encadrement, ta disponibilité et ton efficacité.*

*Nous tenons particulièrement à remercier les membres du jury **Mme BOUTENNOUN Hanane**.*

*Nous remercions profondément **nos familles et nos chers amis** pour leurs encouragements*

Nous sommes très reconnaissantes envers toute personne, qui nous aider à réaliser ce travail.

Sommaire

Sommaire…….....I

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction ……...1

Revue bibliographique

I.Estomac……2

I.1.Généralités……2

a. Anatomie de l'estomac……2

b. Histologie de l'estomac……3

I.2. L'ulcère gastrique……...3

I.3. Cancer de l'estomac……4

II. L'inflammation……4

II.1. Initiation de l'inflammation……5

II.2. Cytokines et initiation de la phase aigue de l'inflammation……5

II.3. Migration leucocytaire……..5

III. La plante *Ranunculus repens L*……...6

III.1. Systématique de la plante……6

III.2. Description de la plante……7

III.3. Composition chimique et activités biologiques……....7

IV. Radicaux libres et stress oxydant……..7

V. Système antioxydant……..8

a. Système antioxydants enzymatiques……8

b. Système antioxydants non enzymatiques……9

VI. Les polyphénols……...9

VII. Les flavonoïdes……10

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

I. Matériel……11

II. Préparation des extraites bruts de la plante *Ranunculus repens L.*……11

II.1. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes……...12

II.2. Evaluation de l'activité antiradicalaire (Test DPPH°)……...……13

III. Mise en évidence de l'effet protecteur de la plante RLL contre l'ulcère gastrique induit par l'éthanol…….14

III.1.Préparation de la fraction cytosolique……14

III.2. Préparation des coupes histologiques……15

III.3.Dosage des paramètres du stress oxydatif…….……15

III.3.1. Dosage de glutathion total (GSH)…….……15

III.3.2. Dosage de la catalase (CAT)……..16

III.3.3. Dosage de glutathion-s-transférase (GST)……...……..17

IV. Evaluation statistique…….....17

Résultats et discussion

I. Caractérisation de l'extrait BE de la plante RRL et évaluation de son activité in vitro

I.1.Rendement en extrait sec……..18

I.2.Teneur des polyphénols et flavonoïdes…….18

I.3.Etude de l'activité antioradicalaire de la plante RRL……...19

II. Mise en évidence de l'effet protecteur de la plante RRL contre l'ulcère gastrique induit par l'agent ulcèrogène……..20

II.1. Evaluation de l'activité antiulcérogénique de la plante RRL…….20

II.2. Evaluation histologique des lésions gastriques……..21

II.3. Evaluation biochimique du stress oxydatif gastrique induit par l'éthanol…….23

a. Dosage du glutathion total (GSH)…….……23
b. Dosage de la catalase (CAT)…….……24
c. Dosage du glutathion-s-transférase……...……25

Conclusion et perspectives……...……27

Références bibliographiques……...…28

Annexes……...……..35

Résumé

Liste des abréviations

$AlCl_3$: Chlorure d'aluminium

APP : Acute phase protein

BE : Brute éthanolique

CAT : Catalase

CDNB : Chlorodinitrobenzène

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

DTNB : Acide 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoique

ED : Eau distillée

EthOH: Ethanol

GSH: Glutathion

GST: Glutathion-S-transferase

Hcl : Acide chlorhydrique

H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène

IκB: Inhibitor of κB
IL: Interleukine

Nacl : Chlorure de sodium

Na_2Co_3 : Carbonate de sodium

NF : Facteur nucléaire

RLL : *Ranunculus repens L*

SAA: Sérum amyloïde A

TCA: Tricholoroacetic acid

TNB: Acide thionitrobenzoique

TNF : Facteur nucléaire de tumeur

Liste des figures

Figure 1 : Anatomie de l'estomac……...2

Figure 2 : Structure histologique de la paroi gastrique……...…3

Figure 3 : (a) Fleur de la plante RRL ; **(b)** Plante RRL (région de Texenna Mai 2016)……7

Figure 4 : Protocole de préparation de l'extrait BE de la plante RRL……...12

Figure 5 : Pouvoir antiradicalaire de l'extrait de la plante RLL ……..19

Figure 6 : Analyse macroscopique des lésions aigues de la muqueuse gastrique induites par le mélange éthanol/acide. ……21

Figure 7 : Coupes histologiques du l'estomac (×4)……..22

Figure 8 : Variation des taux de GSH après traitement par EthOH/Hcl, EthOH/Hcl + l'extrait de la plante et par l'extrait tout seul à la dose 100 mg/ml……..24

Figure 9 : Variation de l'activité enzymatique de la CAT après traitement par EthOH/Hcl, EthOH/Hcl + l'extrait de la plante et par l'extrait tout seul à la dose 100 mg/ml……..24

Figure 10 : Variation des taux de GST après traitement par EthOH/Hcl, EthOH/Hcl + l'extrait de la plante et par l'extait tout seul à la dose 100 mg/ml……25

Figure 11 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique……34

Figure 12 : Courbe d'étalonnage de la quercitine……..35

Figure 13 : Courbe d'étalonnage du BSA……36

Liste des tableaux

Tableau I : Caractéristiques de l'extrait sec de la plante RRL……18

Tableau II : Estimation des concentrations en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait BE de la plante RRL……..18

Tableau III : Absorbance de la gamme de concentration d'acide gallique…….34

Tableau IV : Absorbance de la gamme de concentration de la quercitine……..35

Tableau V : absorbance de la gamme de concentration du BSA…….....36

Introduction

L'ulcère gastrique est un trouble fréquent de l'appareil digestif, il touche de nombreuses personnes dans le monde et résulte d'un déséquilibre entre les facteurs agressifs et protecteurs de la muqueuse gastrique (Boligon *et al.,* 2014). La muqueuse de l'estomac est fréquemment exposée à divers agents toxiques exogènes et endogènes qui sont largement distribués dans l'environnement et la maintenance de l'intégrité de la muqueuse est assurée par un système complexe de médiateurs (Li et al., 2008). La couche de la muqueuse correspond à une barrière de protection de l'estomac contre les facteurs agressifs tels que la pepsine et l'acide chlorhydrate (Brown et Wilson, 1999).

En effet, la toxicologie du tube digestif semble avoir plusieurs origines et dépend du premier cout de l'alimentation de l'être humain, elle peut avoir aussi comme relation, des intoxications accidentelles, comme volontaire et aussi l'ingestion de certains produits nocifs avec ignorance complète de leur dangereuse action tant sur le côté aigu, ou chronique à long terme. Les causes les plus retenues comme candidates fortes impliquées dans le développement des troubles digestif, sont la respiratoire du fumée et la consommation d'alcool.

Plusieurs études ont montré que l'alcool provoque la dégradation de la muqueuse gastrique et induit comme conséquence des lésions intenses qui pénètrent dans la sous-muqueuse, en augmentant l'infiltration de neutrophiles, ce qui retarde alors le processus de cicatrisation des tissus gastriques ulcérés (Hoogerwerf Pasricha, 2001).

Depuis des milliers d'années, diverses plantes médicinales présentent un réservoir immense de molécules primaires qui constituent des précurseurs potentiels aux métabolites secondaires. Ces dernières qui ont une grande diversité de structure chimique, possédant un très large éventail d'activités biologiques et pharmacologiques.

Dans notre travail nous sommes intéressé à étudier une plante médicinale nommée *Ranunculus repens L*, cette plante appartienne à la famille Ranunculaceae, elle est utilisée dans la médecine traditionnelle comme un traitement des maladies liées aux gastro-intestinaux tels que des crampes d'estomac, moins primitifs, et la digestion lente…etc.

Dans cette étude nous avons essayé d'évaluer le potentiel gastro protectif de son extrait éthanolique de tiges feuillées contre des lésions provoquées par le mélange éthanol/acide au niveau des couches de la muqueuse gastrique chez les rats expérimentaux comme modèle animal.

Revue bibliographique

I. Estomac

I.1. Généralités

L'estomac est un organe creux qui permet de stocker les aliments, d'amorcer leur digestion et de les délivrer progressivement au duodénum. La production d'acide chlorhydrique est spécifique de l'estomac. L'infection à Helicobacter pylori est aussi spécifique de l'estomac et participe à la genèse de maladies gastriques variées (ulcères, cancers). Du fait de sa situation anatomique, l'estomac est aisément accessible à l'endoscopie (Elsevier-Masson, 2014).

a. Anatomie de l'estomac

Interposé entre l'oesophage et le duodénum, l'estomac constitue une énormeglande digestive en forme de poche qui occupe la loge sous phrénique gauche et l'épigastre. Cette loge est située entre le foie, la rate, le diaphragme et le colon transverse. Son orifice supérieur le cardia, se projette à la hauteur de la dixièmevertèbre thoracique, son orifice inférieur, le pylore est à droite de la première vertèbre lombaire (Kamina et Di Marino, 1993).

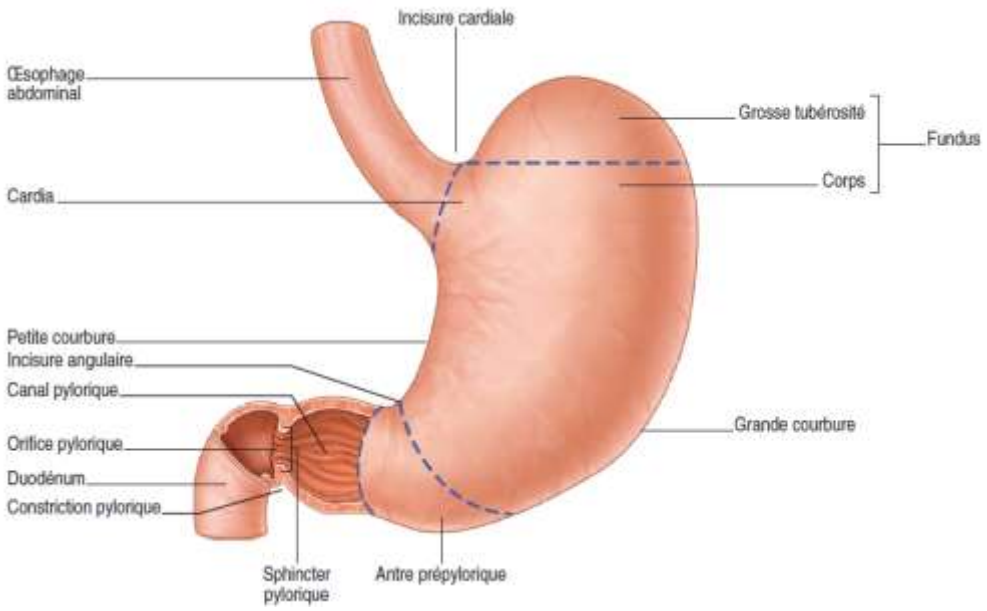

Figure 1 : Anatomie de l'estomac (Elsevier Masson, 2 édition, 2011).

b.Histologie de l'estomac

La paroi gastrique est constituée d'une muqueuse (épithélium, chorion et musculaire muqueuse), d'une sous-muqueuse, d'une musculeuse, et d'une sous-séreuse. Elle est recouverte d'une séreuse (péritoine viscéral).

Histologiquement, la muqueuse de l'estomac est constituée deglandes gastriques, entourée d'un chorion contenant des capillaireset de la musculaire muqueuse (figure 2). L'épithélium de surface (couche superficielle en regard de la lumière gastrique) est en continuité avec les cryptes gastriques (invagination de l'épithélium de surface) (Kierszenbaum, 2006).

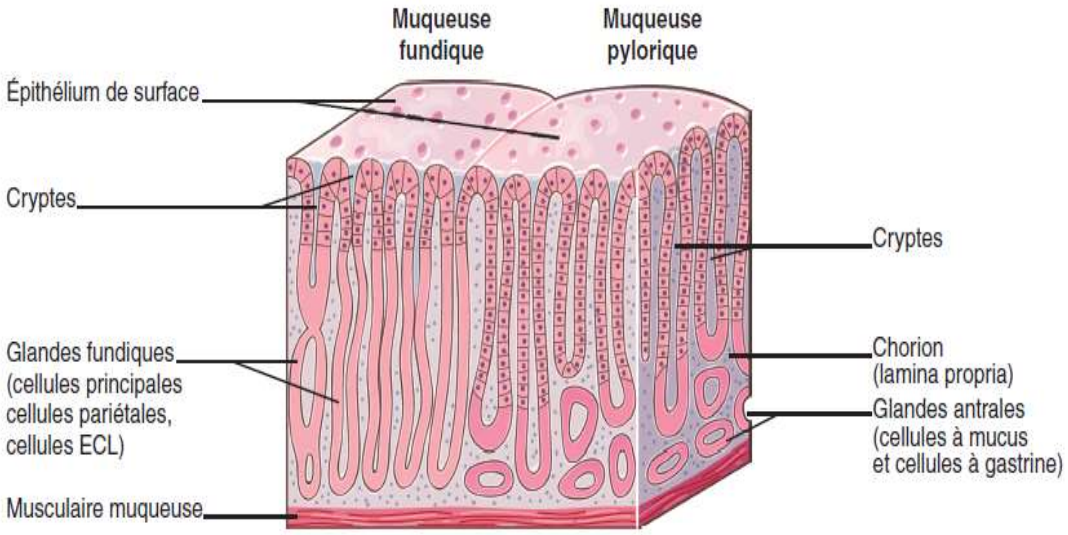

Figure 2. Structure histologique de la paroi gastrique(CoPath, 2013).

I.2. L'ulcère gastrique

L'ulcère gastrique est un trouble fréquent de l'appareil digestif, il touche de nombreuses personnes dans le monde et résultent d'undéséquilibre entre les facteurs agressifs et de protection de la muqueuse gastrique (Boligon*et al.*, 2014).Il se caractérise par la réduction de l'écoulement du sang, l'induction de stress oxydatif, l'infiltration de neutrophiles, et la sécrétion de cytokines pro-inflammatoire(Bi*et al.*, 2014 ;Viana *et al.*, 2013 ;De Souza Almeida *et al.*, 2011).

La gastrite peuvent être aigue ; histologiquement, la lésion est de profondeur variable, allant de la simple érosion à l'ulcère profond. La lésion aigue est caractérisée par l'absence de sclérose, la discrétion de la réaction inflammatoire, et par la cicatrisation rapide, sans sclérose (Lahlaidi, 1986), ou bien chronique ; histologiquement, il s'agit d'une perte de substance à bord net interrompant la

musculaire muqueuse et la musculeuse qui se retrousse vers la musculaire muqueuse. Elle constitue un facteur de risque de cancérisation (Diarra, 1992).

I.3. Cancer de l'estomac

Le cancer gastrique est la deuxième cause la plus fréquente de décès liés au cancer dans le monde (Jemal *et al.,* 2010).C'est une maladie multifactorielle qui requit l'étude environnementale, génétique, et la relation de l'hôte avec son entourage. C'est un processus complexe et une évolution d'une gastrite chronique suivie d'une atrophie, métaplasie intestinale, dysplasie, et éventuellement un carcinome (Correa, 1992).

La relation entre les ulcères gastriques et le cancer a longtemps été contestée, il y a accumulation de preuves que la maladie de l'ulcère gastrique est positivement associée au risque de développer un cancer de l'estomac (Hansson, 2000). Les symptômes présentant de cancer gastrique au début ressemblent à celles d'un ulcère gastrique bénin (Everett et Axon., 1997 ; Ren., *et al* 2013). Ce qui les rend difficiles à les différencier, ce qui conduit à un diagnostic tardif et la poursuite du développement du cancer gastrique. Par conséquent, un outil pour distinguer le cancer gastrique au début des ulcères est nécessaire (Marrelli *et al.,* 1999).

II. L'inflammation

L'inflammation, est une réponse biologique complexe des tissus corporels à des stimuli nocifs ; comme des pathogènes, des cellules endommagées ou des irritants. Elle est définie par les signes cliniques rougeur, œdème, chaleur, et douleur. C'est un processus normal de protection ; impliquant les systèmes immunitaires innés et adaptatif, a fin d'éliminer la cause initiale de la lésion cellulaire, les cellules nécrotique et les tissus endommager découlant de l'agression d'origine et du processus inflammatoire et d'entamer la réparation tissulaire (Abbas*et al.,* 2014 ; Dinarello, 2010). L'inflammation peut être aiguë ou chronique ; l'inflammation aiguë est la réponse initiale de l'organisme à des stimuli nocifs et résulte du flux important de plasma et de leucocytes (en particulier les granulocytes) du sang vers les tissus lésés. Une série d'événements biochimiques favorisent la propagation et la progression de la réaction inflammatoire, faisant intervenir le système vasculaire local, le système immunitaire et les différentes cellules du tissu lésé. Une inflammation prolongée, appelée inflammation chronique, mène à un changement progressif du type de cellules présentes sur le site de l'inflammation (SerhanetSavill., 2005 ; Hartmann *et al.,* 2000 ; Hackett et Roach, 2001).

II.1. Initiation de l'inflammation

De nombreuses réponses sont initiées par le tissu lésé après une agression par des microorganismes ou une lésion tissulaire ; tel que la libération des cytokines pro-inflammatoires, qui activent le système vasculaire et les cellules immunitaire. Ces réponses sont à leur tour associées à une production accrue de cytokines et d'autres médiateurs de l'inflammation qui diffusent dans les fluides extracellulaires et circulent dans le sang (Gruys*et al.*,2005).

II.2. Cytokines et initiation de la phase aigue de l'inflammation

Les cytokines sont des peptides de faible poids moléculaire, qui participent dans la communication intercellulaire, sécrétés par les cellules inflammatoires (neutrophiles polymorphonucléaires et macrophages) et impliqués dans l'initiation, l'amplification et la régulation de la réponse inflammatoire (Gruys*et al.*, 2005 ;Ponvert., 1997).

Les trois principales cytokines pro-inflammatoires synthétisées sont le TNF-α, l'IL-1β et l'IL-6. La liaison de ces cytokines à leurs récepteurs à la surface des hépatocytes induit la transmission du signal inflammatoire via la phosphorylation de facteurs de transcription tels que NF-IL6 (Nuclear Factor-IL6) ou l'inhibiteur IκB auquel est associé NF-κB. Ceci permet la translocation de ces facteurs de transcription dans le noyau, suivie de la transcription des gènes des protéines de la phase aiguë également nommées APP (Acute Phase Proteins) (Moshage, 1997 ; Joyce *et al.*,2001 ; Ceciliani *et al.*, 2002).

Lors de la phase aiguë de l'inflammation, une rapide augmentation ou diminution dela concentration de certaines protéines plasmatiques est observée. Il s'agit des protéines de la phase aiguë (APP) qui jouent un rôle important dans la restauration de l'homéostasie après une infection. Parmi ces protéines, on distingue deux groupes : les APP de type I telles que la sérum amyloïde A (SAA), la CRP, le complément C3 ou l'haptoglobine, dont les expressions sont induites par les cytokines de type IL-1 like (IL-1α/β, TNF-α, TNF-β) et les APP de type II : fibrinogène, haptoglobine et α2-macroglobuline dont l'expression est régulée par les cytokines IL-6 like (IL-6, IL-11) (Moshage, 1997).

II.3. La migration leucocytaire

La circulation des leucocytes du sang vers le tissu, est favorisée par la production des cytokines dans le site d'infection. Les neutrophiles polymorphonucléaires (PNN) sont les premières cellules à gagner le site de l'infection. S'en suit une activation des phagocytes mononucléaires et des

lymphocytes. Lorsque l'inflammation devient chronique, de nombreux lymphocytes T porteurs du

CD4 ainsi que des phagocytes mononucléaires sont recrutés. Les leucocytes sont recrutés au cours de l'agression par la synthèse de molécules d'adhérence et d'agents chimiotactiques. Parmi les cellules impliquées dans la synthèse de ces facteurs, les phagocytes mononucléaires qui libèrent les cytokines inflammatoires TNF-α ou IL-1 qui induisent l'expression de l'E-sélectine à la surface des cellules endothéliales ainsi que de la P-sélectine conservée dans le corps de Weibel-Palade de l'endothélium et qui pourra être libérée à la surface des cellules lorsque l'endothélium est activé ou endommagé. Ces deux protéines exprimées à la surface des cellules endothéliales favorisent le phénomène de margination en permettant l'interaction avec les PNN circulants et le ralentissement de ceux-ci via leurs glycoprotéines de surface (Roittet*et al.*, 2002;Rahman *et al.*,2008).

III. *Ranunculus repens L*

La famille Ranunculaceae se compose de 59 genres et environ 2500 espèces de plantes, qui sont distribuées dans le monde entier et sont généralement trouvées dans les régions tempérées et froides de l'hémisphère du Nord. De nombreux taxons de la famille Ranunculaceae sont pharmaceutiquement importants, et la valeur médicinale de certaines espèces a été confirmée (Szczecińska et Sawicki, 2015).

III.1. Systématique de la plante (Gerard et Camille, 2003 ; Pierre, 2003)

- Phylum:*Dictotylédone*.
- Famille : *Ranunculaceae*.
- Ordre : *Ranale* ou polycarpique.
- Genre:*Ranunculus*.
- Espèce:*Ranunculus repens* L.
- Nom Arabe: Mergheris (El-houdane).
- Nom commun : Ranunculus rampante.

III.2. Description de la plante

Les Ranunculus repens est une espèce largement reconnu par ses fleurs jaunes brillantes. Elle est une plante rampement et vivace, avec des racines fibreuses et des tiges plus au moins velues, pluri florales redressées. Les feuilles triangulaires ont trois dentés, celui du milieu étant pétiolé. Elle s'accroît jusqu'à 91 centimètres de hauteur (Vignolini *et al.,* 2011).

(a) **(b)**

Figure 3. (a) Fleur de la plante RRL ;**(b)** Plante RRL (région de Texenna Mai 2016)

III.3.Composition chimique et activités biologiques

La richesse de la plante RRL en composés phénoliques, avec une teneur importante en flavonoïdes, démontre le fort potentiel antioxydant et anti radicalaire, et la capacité thérapeutique antidiabétique de cette plante, ainsi que son effet cytoprotecteur (Vignolini*et al.,* 2011). La consultation de lalittérature scientifique ne montre aucune recherche phytopharmacologique sur cette plante (Holm *et al.,* 1997 ; Sarukhan, 1976 ; Alex, 2001).

IV. Radicaux libres et stress oxydant

Le stress oxydant survient lorsque la balance entre les systèmes oxydants et antioxydants bascule en faveur des premiers, entrainant la génération de radicaux libre oxygénés (powers*et al.,* 2010). Un radical libre est une espèce chimique, atome molécule, contenant un électron non apparié. Extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour apparier son électron. Il peut soit arracher un électron (se comportant comme un Oxydant), soit en céder un autre (agissant alors comme une réductrice) **(**Gutteridge et Halliwell, 1992).La présence d'un électron célibataire confère aux radicaux libres une grande réactivité (demi-vie courte) et ils peuvent être aussi bien des espèces oxydantes que réductrices (Delattre *et al.,* 2007).

Parmi toutes les espèces susceptibles de se produire dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule. Les radicaux primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tel l'anion superoxyde ($O_2^{\circ-}$) et le radical hydroxyle (OH °), ou de l'azote tel le monoxyde d'azote (NO°). D'autres espèces dérivées de l'oxygène tel que l'oxygène singlet ($1O_2$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde (ONOOH) peuvent être des précurseurs de radicaux libres. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (EOR) (Favier, 2003). Lorsque ces espèces réactives de l'oxygène ne sont pas contrôlés, ils entrainent de nombreux dommages cellulaires et tissulaires (Pincimail*et al.,* 2004).

Les radicaux libres sont principalement produits d'une part, par des sources endogènes, telles que les chaines de transport d'électron, les peroxysomes et le système de cytochrome P-450(Favier, 2003) et d'autre part, par des sources exogènes peuvent être représentées par des facteurs environnementaux, pollutions diverses, produits chimiques ainsi que des contaminations par des métaux lourds ou certaines carences nutritionnelle (Priyadarsini,2005).

V.Système antioxydant

a. Système antioxydants enzymatiques

Le système antioxydant enzymatique se composent d'enzymes antioxydantes tels que la superoxydedismutase, la catalase et la glutathion peroxydase et réductase (Krzystek*et al.,* 2011).Ces enzymes existent à l'état endogène (cytoplasme, cytosol ou mitochondrie) et permettent de protéger les cellules contre les radicaux libres produits de manière physiologique au cours du métabolisme cellulaire normal (Jacob *et al.,* 2006 ;Menon *et al.,*2007).

Les catalases réduisent le peroxyde d'hydrogène H_2O_2, en libérant l'oxygène et l'eau. Elles sont localisées surtout dans les peroxysomes (Lindau-Sehpard et Shaffer, 1993). Les catalases sont surtout actives lorsque le niveau du stress oxydant est élevé ou que la quantité de glutathion peroxydase est limitée et elles jouent un rôle significatif dans le développement d'une tolérance au stress oxydatif dans la réponse adaptative des cellules (Niki *et al.,* 2007).

Les glutathions peroxydases et réductases (GSHPX) sont localisées dans le cytosol et dans les mitochondries. Le rôle de la glutathion peroxydase (GPX) est de réduire d'une part le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools.

Lors de cette réaction, demande l'intervention de deux molécules de glutathion (GSH), celles-ci se transforment en glutathion-disulfure (GSSG) (Marfak, 2003).

b. Système antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatique ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant, nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), les vitamines E et C et les polyphénols.

Les oligoéléments (le cuivre, le zinc, le manganèse, le sélénium et le fer) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale à besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPx de sélénium (Garait, 2006).

Le glutathion réduit (GSH), réduit le peroxyde d'hydrogène et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par la glutathion peroxydase (GPx). Il peut aussi réduire les radicaux formés par l'oxydation des vitamines E et C, baissent ainsi les nivaux de peroxydation lipidique (Power et Lennon, 1999 ; Packer*et al.,* 1997).Les vitamines E (α-tocophérol) et C (acide ascorbique) semblent être des plus importants dans la lutte contre le stress oxydant. La vitamine Eétant liposoluble, elle se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres et empêche la propagation des réactions de peroxydation lipidique. La vitamine C, hydrosoluble, se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire, elle peut capter directement l'$O_2^{\cdot -}$ et l'$OH^{\bullet}$.Elle peut aussi réduire le radical α-tocophérol et ainsi permettre une meilleure efficacité de la vitamine E (Evans, 2000 ; Packer *et al.,* 1997).

VI. Les polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires synthétisés par l'ensemble des végétaux, ils sont répartis de façon ubiquitaire dans les fruits et légumes qui en constituent les principales sources alimentaires, avec de fortes variations selon les espèces. Les plantes consommées par l'homme fournissent plus de 8000 composés phénoliques classés en différentes familles selon la nature de leur squelette carboné. On distingue les acides phénoliques (C6-C1 et C6-C3), les flavonoïdes (C6-C3-C6), les lignanes (C6-C3-C3-C6) et les stilbènes (C6-C2-C6)(Macheix*et al.,*2006). Un très grand nombre de données expérimentales plaide aujourd'hui en faveur de leur implication dans la prévention des maladies dégénératives telles que cancers, maladies cardiovasculaires, ostéoporose ou maladies inflammatoires (Rock, 2003).

VII. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des produits largement distribués dans le règne végétal et sont couramment consommés quotidiennement sous forme de fruits, légumes et boissons. Ils sont capables de moduler l'activité de certaines enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires, suggérant qu'ils pourraient exercer une multitude d'activités biologiques, notamment des propriétés antioxydantes, vasculoprotectrices, antihépatotoxiques, antiallergiques, anti-inflammatoires, antiulcéreuses et même antitumorales significatives. Ils présentent une structure commune en C6-C3-C6 .Deux cycles aromatiques sont liés par une chaîne de 3 carbones formant un hétérocycle oxygéné (Macheix *et al*.,2006).

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

II. Matériel

Le matériel végétal étudié est représenté par les tiges feuillées de *Ranunculus repens L* (RRL), la plante a été récoltée au mois de mai 2016 dans la région de Texenna (Wilaya de Jijel). Les échantillons ont été nettoyés, coupés puis séchés dans une étuve à 37 C° pendant 3 jours. La partie sèche ainsi obtenue a été broyée par un broyeur électrique suivie d'un tamisage.

L'agent ulcérogène est un mélange d'une solution de l'acide chlorhydrique 150mM (Hcl) et de l'éthanol 60% (EthOH), obtenu selon le rapport (v/v).

Les animaux d'expérience sont des rats males de la souche Wistar (Institut Pasteur, Alger) pesant entre 160-190g (N=12). Ils ont été élevés dans l'animalerie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mohammed Seddik Ben Yahia Jijel. Les animaux ont été maintenus dans des conditions standard de laboratoire, dans des cages en plastique.

II. Préparation de l'extrait BE de la plante *Ranunculus repens L*

La matière végétale obtenue (60g) a été mise à une macération dans un mélange ED/EthOH (20/80), cette macération elle dure 24h avec agitation permanente. La solution obtenue a été filtrée sur papier filtre, les filtrats ont été conservés dans des flacons au réfrigérateur pendant 24h suivi par une évaporation au rotavapeur à 55c° jusqu'à séchage complet.

Le pourcentage de rendement de l'extrait a été calculé comme suite :

$$R(\%) = [\text{poids de l'extrait(g)}/\text{poids de la plante(g)}] \times 100$$

Le produit solide a été récupéré par l'ED (1g/10ml) et la phase organique a été séparée par l'incorporation de l'éther de pétrole (v/v) dans une ampoule à décanter. La phase aqueuse a subi une analyse phytochimique (Marston et Hostettmann, 2006).

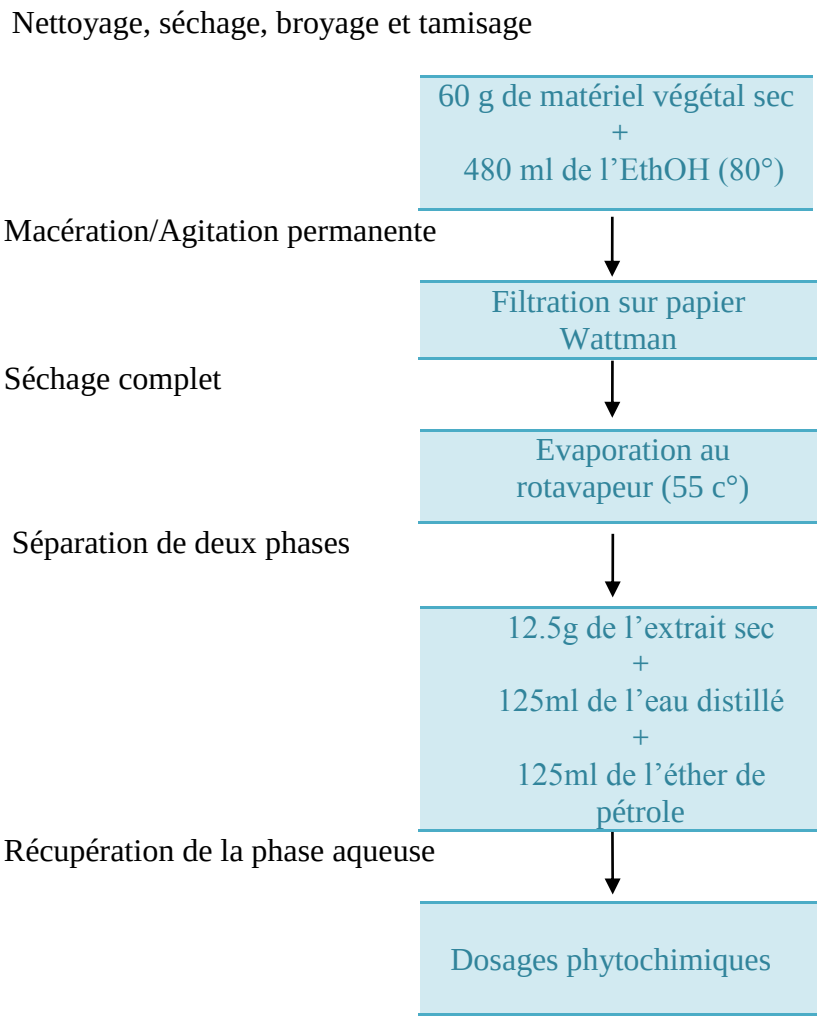

Figure3. Protocole de préparation de l'extrait BE de la plante RRL (Marston et Hostettmann, 2006).

II.1. Dosage des polyphénols et des flavonoides

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par une méthode à base de réactif Folin Ciocalteu, ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H3PW12O40) et l'acide phosphomolybdique (H3PMO12O40). Il est réduit par les phénols en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W8O23) et de molybdène (Mo8O23). Cette coloration bleue dont l'absorption maximum est comprise entre 700 et 750 nm. Elle est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans des extraits végétaux (Ardestani et Yazdanparast, 2007).

Un volume de 0.5 ml de l'extrait a été mélangé avec 2ml d'une solution de carbonate de sodium à 2% (75g /l) , après agitation les tubes a essais ont été incubés à température

ambiante pendant 5min , une solution de 2.5ml de réactif de Folin Ciocalteu (dillué au 1/10) a été additionnée, ces préparations ont été incubés pendant 30 min à température ambiante et à l'abri de la lumière, en fin la lecture se fait à 765 nm contre un blanc (Na2Co3 + RF). Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à différentes concentrations initiales. Les résultats sont exprimés en (µg EAG/mg Ext).

La quantification des flavonoïdes totaux a été réalisée par une méthode du trichlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (Ribéreau Gayon *et al*., 1972).

Un volume de 0.5 ml de l'extrait a été mélangé avec 0.5 ml de la solution de chlorure d'aluminium (AlCl3) (à 2% dans l'éthanol), après agitation le mélange a été incubé pendant 1h à température ambiante et à l'abri de la lumière, La lecture a été faite à l'aide d'un spectrophotomètre à 420 nm contre un blanc (AlCl3+ED).

La concentration des flavonoïdes a été déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la quercitine comme contrôle positif à différentes concentrations initiales.

Les résultats sont exprimés en (µg EQ/mg Ext).

II.2. Evaluation de l'activité antiradicalaire (Test DPPH°)

Le DPPH° est un radical libre de couleur violette qui devient jaune quand il est réduit par un donneur de proton H+. La méthode utilisée pour réaliser ce teste est celle de (Ammar *et al*., 2009).

Un volume de 1ml d'une solution méthanolique de DPPH° (0.06mM) a été mélangé avec 1ml de différentes concentrations de l'extrait BE de la plante RRL, les solutions ainsi obtenues ont été mises au repos pendant 30 min à l'abri de la lumière et à température ambiante, La lecture a été faite au spectrophotomètre à 518 nm contre un blanc (méthanol pur), comparée au standard qui contient l'acide ascorbique à différentes concentrations.

Le pourcentage de l'activité anti-radicalaire a été calculé selon l'équation suivante :

$$\mathbf{I\ (\%) = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100.}$$

Sachant que :

A_0 : c'est l'absorbance du contrôle.

A_1 : c'est l'absorbance de l'extrait/standard.

III. Mise en évidence de l'effet protecteur de la plante RRL contre l'ulcère gastrique induit par l'éthanol

L'induction d'ulcère aigu a été réalisée sur des rats males de la souche Wistar Avant l'expérience, les rats ont été soumis à un jeûne pendant deux jours mais l'eau potable était accessible jusqu'à 2 heures avant le traitement pour faire en sorte que leurs estomacs étaient vides (Garg et al., 1993). Les rats ont été pesés et ensuite administrés en conséquence par un gavage oral.

12 rats ont été répartis en quatre groupes égaux (trois rats pour chacun):

- Lot 1 : témoin négatif
- Lot 2 : témoins ulcéreux (contrôle)
- Lot 3 : traité par la plante après l'induction de l'ulcération
- Lot 4 : témoin positif (référence)

À l'aide d'une sonde à gavage ; les rats du premier lot ont reçus 1 ml d'eau distillé, les rats du deuxième et du troisième lot ont reçus 1 ml de mélange HCl/EthOH comme agent ulcérogène, en fin les rats du lot 4 ont reçus 1ml d'extrait de la plante RRL à 100 mg /ml (Hara et Okabe, 1985).

Après 15 minutes, les rats du lot 3 ont reçus 1 ml de l'extrait BE de la plante *Ranunculus repens L* (Galati et *al*., 2001) à une dose de 100 mg/ml (Hara et Okabe, 1985). Une (1) heure plus tard, tous les rats ont été anesthésiés avec le chloroforme et disséqués. Les estomacs ont été prélevés, ouverts le long de la grande courbure et délicatement lavées avec NaCl afin de ne pas enlever la couche de mucus de la surface de l'estomac, puis pour mieux observer les lésions (Galati *et al*., 2001).

III.1. Préparation de la fraction cytosolique

Après la dissection, l'estomac de chaque rat a été rapidement prélevé et bien rincé avec l'eau physiologique froide puis séché sur le papier buvard pour en débarrasser du sang puis congelés (-20°C), l'organe est fractionné par la suite en vue d'extraire les enzymes (CAT et GST) et des substrats (GSH).

Chaque organe (1.5g) a été coupé en petits morceaux, et homogénéisé à l'aide d'un mortier dans une solution de Nacl à 0.9% (1 g de tissu /8ml de Nacl). Ensuite une centrifugation à 4500 tpm pendant 15 min à 4°C avec un refroidissement successif après chaque 2 min. Le surnageant résultant a été conservé dans un congélateur pour être utilisé dans les dosages des paramètres biochimiques.

III.2. Préparation des coupes histologiques

Après la dissection des rats, les estomacs ont été prélevés, puis lavés par l'eau physiologique. Les morceaux ainsi obtenues ont été immédiatement plongés dans un liquide fixateur (le formol) pendant une semaine afin d'empêcher l'autolyse des constituants. L'étape de déshydratation a été réalisée dans des bains d'alcool (EthOH) à des concentrations allant en ordre croissant : 60 %, 75%, et 100%. Enfin l'alcool a été remplacé par le xylène.

Les échantillons des estomacs ont été placés dans des cassettes et recouverts de paraffine fondue. Après refroidissement, les blocs ont été prêts à la coupe (l'étape de microtome, collage sur lame et coloration a été faite au niveau de l'Hôpital de Jijel).

III.3. Dosage des paramètres du stress oxydatif

III.3.1. Dosage des protéines totales

La méthode colorimétrique de Bradford, (1976) a été suivie pour déterminer la concentration en protéines dans l'homogénat préparé à partir de l'estomac de chaque rat**.** La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une protéine standard, l'albumine sérum de bœuf (BSA).

Un volume de 100µl de l'homogénat diluée est mélangé avec 3ml du réactif de Bradford dilué ; ensuite le mélange est agité puis incubé à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 15min ; la lecture est lue à 595nm contre un blanc dans mêmes conditions sans source enzymatique.

III.3.2. Dosage de glutathion total (GSH)

Selon la méthode colorimétrique d'Ellman (1959), le dosage du GSH repose sur les propriétés réductrices des groupements thiols (SH). En présence des groupements SH de l'échantillon, le pont disulfure (SS) contenu dans le réactif d'ELLMAN ou DTNB (5-

5'dithionitrobenzoicacid) va être réduit en donnant des dérivés thiols aromatiques colorés (TNB : thionitrobenzoique).

Un volume de 50µl de surnageant a été dilué dans 10ml de tampon phosphate (ph=8, 0.1M) ; ensuite un volume de 3ml du mélange a été ajouté au 20µl de DTNB (0.01M), la solution ainsi obtenue a été incubée pendant 15 min et lecture de l'absorbance a été faite à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions qu'avec le TCA (10%).

Le taux de la GSH est déduit à partir d'une gamme d'étalon de GSH qui est préparé dans les mêmes conditions que le dosage.

III.3.3. Dosage de la catalase (CAT)

Ce dosage a été déterminé par la méthode d'Aebi *et al.,* (1984), en basant sur la disparition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en présence de la source enzymatique à 25° C. Le milieu réactionnel contient 50 µl de la fraction cytosolique et 400 µl de tampon phosphate de potassium KH_2PO_4/Na_2HPO_4 (50 mM, pH 7,0). La réaction a été déclenchée par l'addition de 1ml de H_2O_2. La lecture de l'absorbance a été effectuée à 240 nm, après 1 minute et 3 minutes de l'addition de H_2O_2. L'activité enzymatique est mesurée par analyse spectrophotométrique du taux de décomposition du peroxyde d'hydrogène.

L'activité catalase a été mesurée par l'équation suivante :

$$\text{Activité CAT} = \frac{2.3033}{\text{T}} \text{X} \log \frac{\text{A1}}{\text{A2}} \text{ X } \frac{1}{[\,]\text{protéine}}$$

Sachant que :

T : le temps de mesure (2 min)

A1 : c'est l'absorbance de l'échantillon à t_0

A2 : c'est l'absorbance de l'échantillon à t_2

[ ] Protéine : concentration de protéine en mg

III.3.4. Dosage de glutathion-s-transférase (GST)

Le GST est une enzyme qui permet le transfert du glutathion riche en électrons sur le 1-chloro-2-4-dinitrobenzène (CDNB) chargé positivement par gain d'un proton. Son activité a été déterminée selon la méthode de Habig *et al.,* (1974) Un mélange de 1.7 ml du tampon phosphate (0.1 M, pH 6.5) et de 100 µl de CDNB 20 mM (dissoudre dans l'éthanol 95°) a été incubé à 37°C pendant 10 min. La réaction est déclenchée par l'addition à ce mélange de 100 µl d'une solution de GSH 20 mM et 100 µl de fraction cytosolique. Un contrôle a été préparé dans les mêmes conditions qu'avec le tampon phosphate. L'absorbance a été suivie pendant 5 minutes à 340 nm.

L'activité de glutathion-s-transférase est exprimée en UI/ml d'enzyme, en utilisant le coefficient d'extinction (9.6 X 10^3 M^{-1} cm^{-1}) selon la réaction suivante :

$$\text{activité anzymatique GST} = \frac{\frac{\text{intervale DOech}}{\text{t}} - \frac{\text{intervale DOblanc}}{\text{t}} \text{ X Vt X facteur de dillution}}{\text{Vech X } \varepsilon}$$

Sachant que :

Vt : volume totale

V ech : volume de l'échantillon

t: la duré de mesure au spectrophotomètre par min

ε : coefficient d'extinction

IV. Evaluation statistique

Les résultats ont été exprimés en moyenne ± écart type pour chaque échantillon. Ces résultats ont été traités statistiquement à l'aide du logiciel Excel 2007 par l'analyse du test de student. Pour p valeurs, des astérisques (*) sont utilisées afin d'indiquer l'importance de la signification en comparant les différents échantillons avec les témoins.

NS : Différence non significative, $P > 0.05$, (T) : témoin, (*) : $P < 0.05$, (**) : $P < 0.01$, (***) : $P < 0.001$.

Résultats
et
discussion

I. Caractérisation de l'extrait BE de la plante RRL et évaluation de son activité *in vitro*

I.1.Rendement en extrait sec

Après extraction et récupération de l'extrait BE de la plante RRL sous forme de pâte, le rendement, la couleur, l'aspect physique ainsi que la solubilité de l'extrait ont été déterminé et représenté dans le tableau I.

Tableau I : Caractéristiques de l'extrait sec de la plante RRL

Extrait	Aspect physique	Couleur	Rendement (%)	Solubilité
BE	Pate	Verte foncé	10.45	Eau distillée

Le choix du solvant ainsi que de sa polarité est basé sur sa sélectivité vis-à-vis des substances à extraire. Comme on s'intéresse aux composés polaires, l'éthanol à 80% a été employé. L'éthanol était en effet un solvant de choix pour extraire ce type de molécules. Cette méthode de l'extraction menée à température ambiante permet d'extraire le maximum de composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autre méthode d'extraction (Gomez-caravaca *et al.*, 2006 ; Markham, 1982).

1.1. Teneur des polyphénols et flavonoïdes

La méthode utilisée pour le dosage de polyphénols totaux est celle utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, alors que le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé par la méthode colorimétrique au Chlorure d'aluminium (AlCl3). Les teneurs ont été rapportées en µg équivalent d'acide gallique/mg d'extrait et en µg équivalent de quercetine /mg d'extrait respectivementl. Les résultats obtenus au cours du dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux dans l'extrait sont représentés dans le tableau II.

Tableau II : Estimation des concentrations en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait BE de la plante RRL.

Extrait	Concentration des polyphénols	Concentration des flavonoïdes
BE	24.59µgEAG/mgE	0.424 µgEQ/mgE

Les résultats obtenus ont révélés une teneur en polyphénols totaux plus élevée (24.59µg/mg) que celle des flavonoïdes (0.424µg/mg) dans l'extrait BE de la plante RRL. Nous avons constaté que la teneur en phénols totaux représente la fraction majoritaire par rapport aux flavonoïdes, ces polyphénols semblent avoir un rôle important dans l'activité biologique de la plante.

1.2. Etude de l'activité antioradicalaire de la plante RRL

Diverses études ont déterminées expérimentalement les capacités des extraits naturelles à piéger les radicaux libres. Cette activité dépend d'un certain nombre de paramètres ; la dose, la structure, les substituants et le degré de polymérisation de la molécule. Le DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl) est un radical libre stable, qui accepte un électron ou un proton pour donner une molécule diamagnétique stable (Gordon, 2001). Les antioxydants réagissent avec le DPPH° ayant une couleur violette pour le convertir en un composé jaune (Sanchez-Moreno, 2002). Le degré de décoloration exprime le potentiel de piégeage de l'antioxydant. Cependant, la présence de ces substances indique que notre extrait est doté d'une activité antiradicalaire importante. La figure 5 représente l'activité antiradicalaire en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique et de l'extrait de la plante RRL.

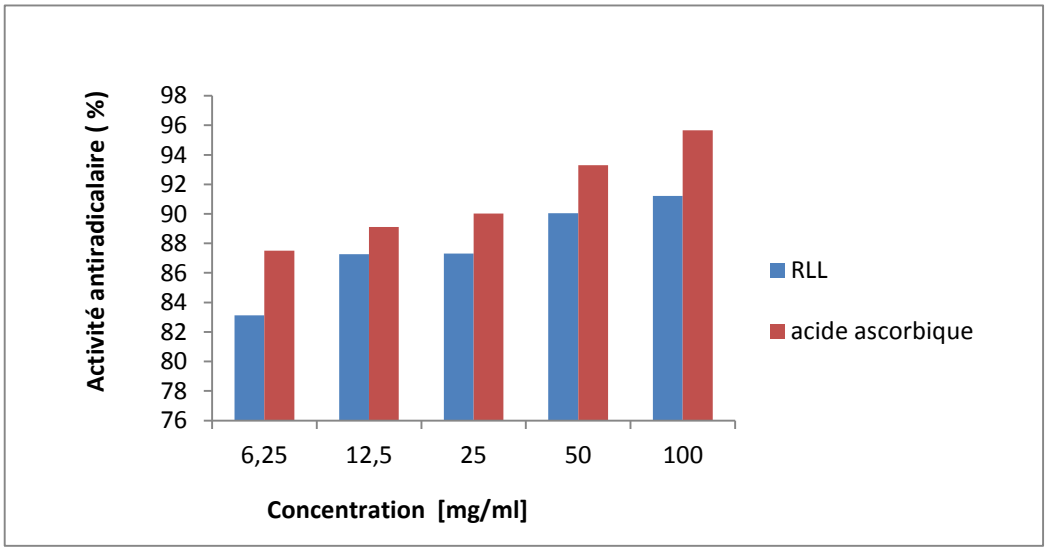

Figure 5 : Pouvoir antiradicalaire de l'extrait de la plante RLL

L'acide ascorbique (vitamine C) est l'un des antioxydants les plus connus, il est capable de résister à l'oxydation et piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH•) et superoxydes (O2•) (Rice-Evans *et al.*, 1995 ; Bartosz, 2003).

Et a partir de ce teste on effectue la comparaison entre l'extrait et l'acide ascorbique selon leur capacité à piéger le DPPH. Les résultats révèlent clairement que l'extrait BE de la plante RLL a une activité antiradicalaire remarquable si on le compare avec la vitamine C. L'étude confirme une certaine corrélation entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antiradicalaire mise en évidence dans un grand nombre des travaux (Makris *et al*., 2008 ; Hua *et al*., 2008).

II. Mise en évidence de l'effet protecteur de la plante RRL contre l'ulcère gastrique induit par l'agent ulcèrogène

Cette étude nous a permis d'évaluer le degré de protection de la plante de la muqueuse gastrique contre les ulcérations causées par le mélange Acide/Alcool par examination de l'activité de la CAT, la GST, ainsi que le taux de GSH dans l'organe de l'estomac.

II.1. Evaluation de l'activité antiulcérogénique de la plante RRL

L'administration par gavage de la solution EthOH/Hcl a produit des lésions caractéristiques dans la portion glandulaire de l'estomac chez les rats. L'acide chlorhydrique et l'alcool sont parmi les rares éléments que l'estomac absorbe. Les ions H+ sont de puissants inducteurs d'ulcères car ils traversent les cellules productrices de mucus et atteignent les couches profondes (Samsong, 1980). De plus, l'alcool possède une triple action inductrice d'ulcères, il érode la muqueuse, provoque sa congestion et provoque la nécrose cellulaire (Apfelbaum et Roman, 2009 ; Sherwood, 2006).

L'effet de l'EthOH/Hcl se traduit par l'apparition des lésions importantes de couleur rouge foncé. A cet effet nous avons utilisé l'extrait BE de plante Ranunculus repens L pour rechercher l'activité anti-inflammatoire voir antiulcéreuse provoqué par l'agent ulcèrogène chez les rats wistar. Les lésions ont été significativement réduites chez les rats traités à l'extrait éthanolique de RRL à dose de 100 mg/ml (Lot 3). Ces résultats sont traduits par la présence d'un effet gastro-protecteur significatif de cet extrait contre les dommages gastriques au niveau de la muqueuse.

Lot n° 1, on n'observe aucune lésion dans la muqueuse.

Pour le lot n°2 des rats qu'on recevant l'agent ulcérogène, on a remarqué une muqueuse abîmée, des lésions importantes et profondes de couleur rouge foncé avec une longueur importante tout le long de l'estomac.

Lot n°3, des rats traités avec l'extrait BE de la plante RRL, ont un estomac avec une muqueuse abîmée (moins accentuée comparablement au groupe non traité), elle contient une substance blanche visqueuse, des petites lésions, superficiels de couleur noir-rouge, mais la longueur de celle-ci sont significativement réduites par rapport aux rats non traités.

Lot n° 4, des rats qu'on recevant seulement l'extrait de la plante on observe une rougeur (petite inflammation) dans la muqueuse (figure 6).

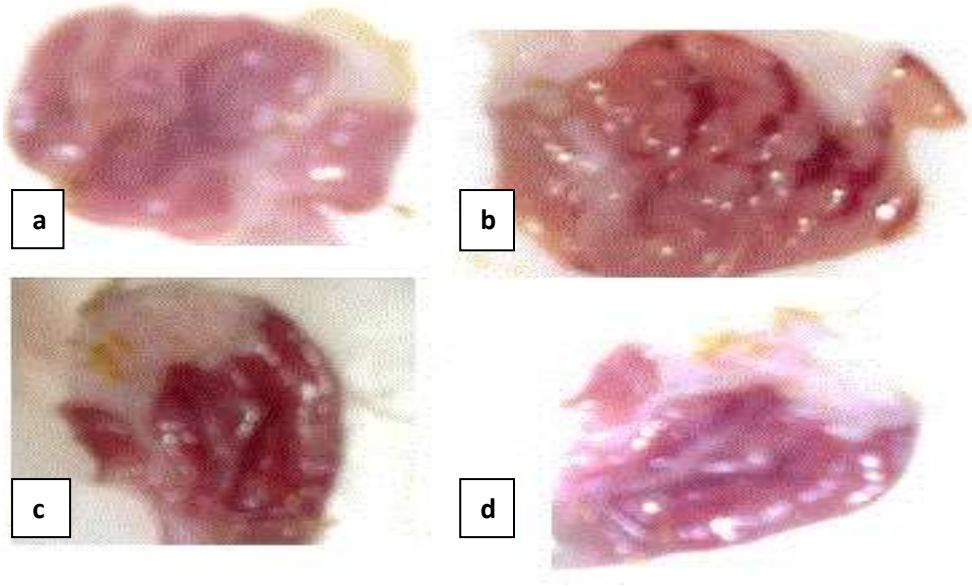

Figure 6. Analyse macroscopique des lésions aigues de la muqueuse gastrique induites par le mélange éthanol/acide. Les images des estomacs ont été prises à l'aide d'un appareil photo numérique. Les estomacs provenant des rats traités de différentes manières. [a] : rats recevant de l'eau distillé, [b] : rats recevant de l'agent ulcérogène, [c] : rats recevant de l'agent ulcérogène + l'extrait BE de la plante RRL, [d] : rats recevant de l'extrait de la plante tout seul.

II.2. Evaluation histologique des lésions gastriques

Le résultat histologique a montré que les rats traités avec EthOH/Hcl + l'extrait avaient nettement une meilleure protection de la muqueuse gastrique par infiltration leucocytaire doux et un œdème dans la couche sous-muqueuse, ainsi que moins de perturbations de l'épithélium de surface et de la muqueuse profonde (Fig 6 [C]). En comparaison, les rats du groupe témoin de l'ulcère représentent une forte destruction de l'épithélium de surface et lésions nécrotiques pénétrant profondément dans la muqueuse (Fig 6 [B]), en outre, l'infiltration leucocytaire était présente aussi. Le traitement des rats avec l'extrait de la plante RRL n'a pas montré toute infiltration importante de leucocytes, (Fig 6 [D]). Le tissu de la muqueuse gastrique prétraité par l'extrait de tiges feuillées a montré l'apparence intacte de la structure histologique en tant que groupe témoin normal Fig 6 [A]).

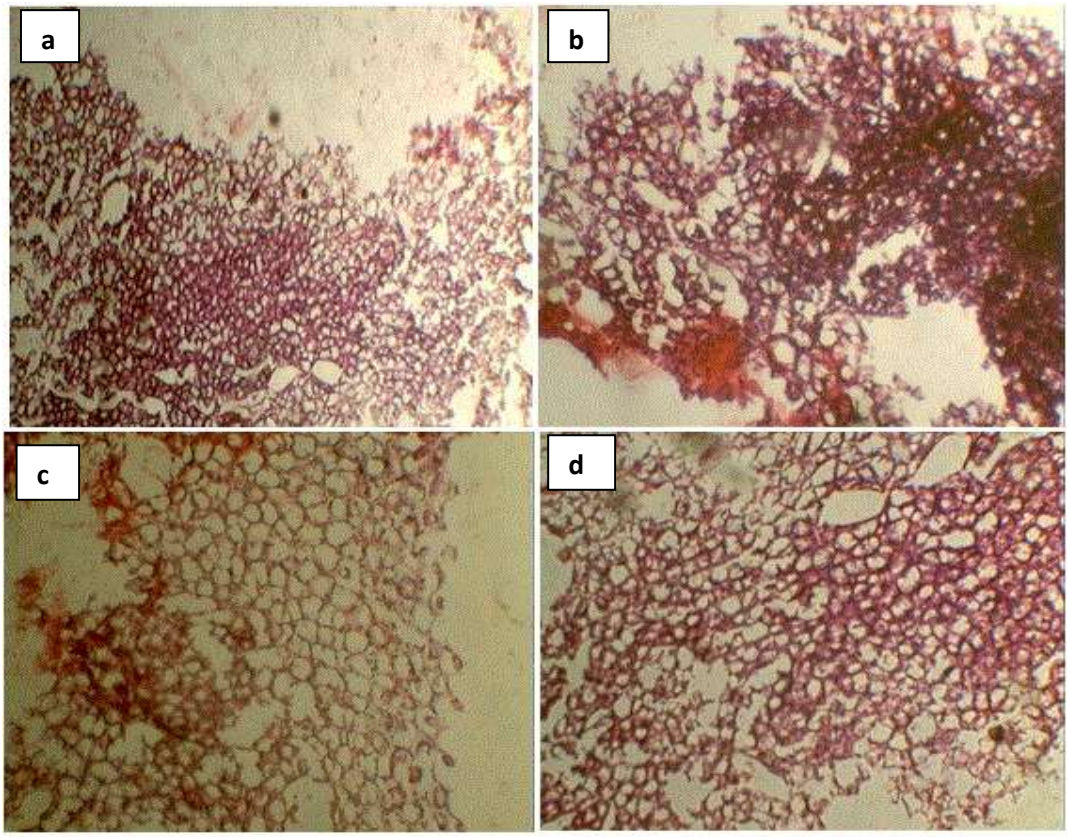

Figure 7. Coupes histologiques du l'estomac (x4). [a] : groupe témion, [b] : groupe de l'ulcère, [c] : groupe traité par l'association de l'agent ulcèrogène/extrait BE de la plante, [d] : groupe traité par l'extrait de la plante tout seul.

L'observation microscopique de la structure cellulaire de l'estomac des rats traités par l'éthanol/acide montre la présence de dommages plus ou moins graves, on a noté la présence des signes d'une gastrite avec infiltration des éléments inflammatoires et des taches d'hémorragie. D'autre part l'histologie des estomacs des rats témoins et traités par l'extrait BE de la plante montre un aspect normal de la muqueuse avec la présence d'une légère ulcération. Ce qui concerne l'analyse histologique des estomacs des rats traités par l'association de l'éthanol/acide et l'extrait de la plante, on a noté la présence d'une inflammation discrète, avec un aspect normal de la muqueuse dans les autres endroits tissulaires.

Les dommages gastriques induits par l'éthanol/acide sont généralement induits par des œdèmes de la muqueuse, des hémorragies subépithéliales et une infiltration des cellules inflammatoire. Il a été démontré que ces dommages ont été appariaient au niveau de la muqueuse via l'activation des médiateurs inflammatoire qui induisent une vasoconstriction/ischémie et puis la mort cellulaire. (Szabo, 1991).

La solution éthanol/acide induite de l'ulcération gastrique, l'acide chlorhydrique a un effet synergique sur la fonction de l'alcool et provoque des dommages graves à la muqueuse gastrique

ainsi que l'éthanol endommage la muqueuse gastrique topique en perturbant sa barrière et de provoque des changements microvasculaires.

Différents médiateurs sont directement et indirectement impliqué dans la détoxication d'éthanol tel que la lipoxygénase, des cytokines et de l'oxygène dérivé les radicaux libres conduisant à une peroxydation lipidique accrue, ce qui provoque des dommages à la membrane cellulaire. Bien que l'étiologie de l'ulcère soit inconnue dans la plupart des cas, il est généralement admis qu'un déséquilibre entre l'acide et pepsine et la couche de muqueuse serait facteur agissant par l'intermédiaire des mécanismes de défense endogène (Farzaei et al., 2013 ; Haule et al., 2012 ; Bujanda et al., 2000). Cette étude montre que l'extrait éthanolique de la plante a permis de protéger la muqueuse gastrique contre les lésion induites par le mélange EthOH/HCl.

II.3. Evaluation biochimique du stress oxydatif gastrique induit par l'éthanol

a. Dosage du glutathion total (GSH)

Le glutathion est un antioxydant cellulaire majeur qui protège les thiols protéique et inhibe les dommages cellulaire dus aux radicaux libres oxygénés (Meister, 1983), Sa diminution significative dans les tissus gastrique après un traitement par l'éthanol contribue au stress oxydatif qui joue un rôle clé dans la pathogénie de plusieurs maladies (Almoutaery et al., 2012). Le glutathion est abondement distribué dans les cellules du tractus gastro-intestinal des humains et des animaux (Loguercio *et al*., 1999 ; Szabo, 1991). Il n'a été reporté que l'administration de l'éthanol chez l'homme réduit le glutathion gastrique et induit des dommages sur cet organe (Emre *et al*., 2007).

Les résultats de variation des taux de GSH après traitement par EthOH/Hcl, EthOH/Hcl + l'extrait BE de la plante et par l'extrait BE tout seul à la dose 100mg/ml, sont représentés dans la figure 8.

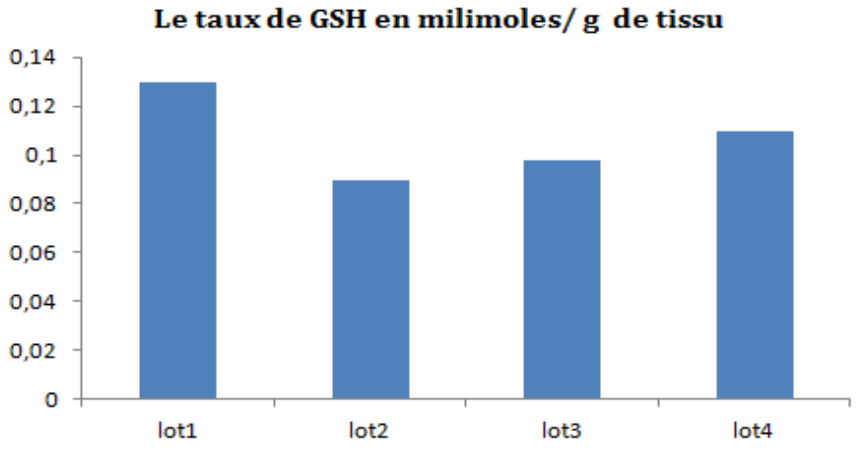

Figure 8 : Variation des taux de GSH après traitement par EthOH/Hcl, EthOH/Hcl + l'extrait BE de la plante et par l'extrait BE tout seul à la dose 100mg/ml

Les résultats obtenus représentent une diminution au niveau du taux de GSH dans le tissu (rats de lot 2) à cause de l'effet éthanolique quand on comparer avec le tissu normal (lot 1), ainsi une augmentation remarquable du glutathion, après le traitement par l'extrait BE de la plante RRL.

L'augmentation du taux du GSH chez les rats traités par la plante par apport aux rats intoxiqués est due aux propriétés antioxidante de cet extrait.

Cette démunissions au taux du GSH est due aux stresse oxidants induit par l'ethanol , ensuit l'augmentation du taux de GSH après traitement pars l'extrait BE de RRL explique le role protectif de cet extraits.

b. Dosage de la catalase (CAT)

Les catalases sont parmi les enzymes qui sont présentes dans un grand nombre de tissus. Elles catabolisent le peroxyde d'hydrogène en molécules d'eau pour prévenir la formation de radicaux hydroxyles (Matés ; 1999).

Les résultats de Variation de l'activité enzymatique de la CAT après traitement par EthOH/Hcl, EthOH/Hcl + l'extrait BE de la plante et par l'extrait BE tout seul à la dose 100mg/ml, sont représentés dans la figure 9.

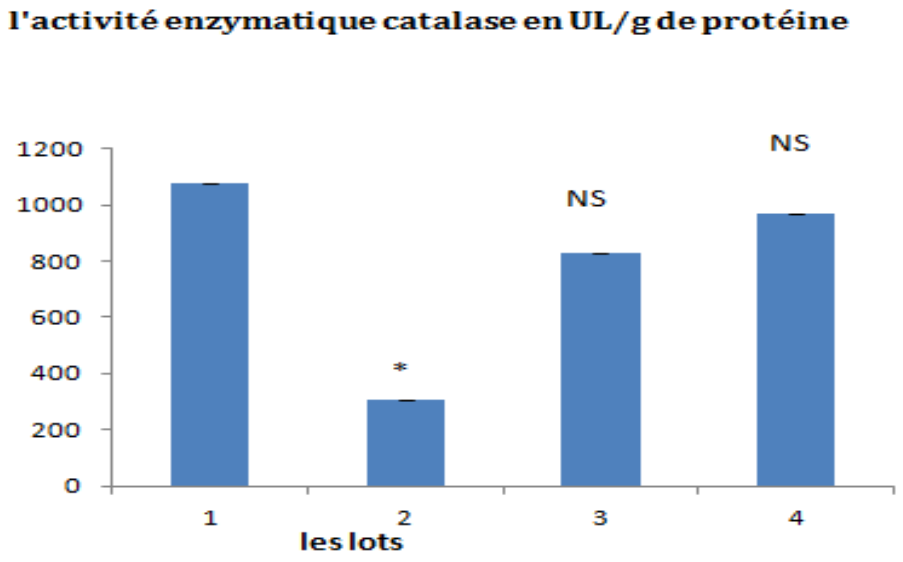

Figure 9 : Variation de l'activité enzymatique de la CAT après traitement par EthOH/Hcl, EthOH/Hcl + l'extrait BE de la plante et par l'extrait BE tout seul à la dose 100mg/ml

Dans notre travail on remarque que le taux de l'activité enzymatique du catalase dans l'estomac des rats traités par l'éthanol 60% est significativement réduit ($p=0.04<0.05$), ce qui démontre que l'administration de l'alcool aux rats provoque une diminution de l'activité de catalase (Li *et al.*, 2008). Le traitement par 100 mg/ml de l'extrait BE de la plante RRL augmente le taux de l'activité de cette enzyme ($p=0.16>0.05$) ce qui démontre la capacité de cet extrait à empêcher la formation des radicaux libres à travers les composés phénoliques et flavonoiques et que cette plante n'a pas un effet inhibiteur sur la CAT.

c. Dosage du glutathion-s-transférase

Le glutathion-S-transférase est une enzyme qui participe dans le processus de détoxification cellulaire par la conjugaison des produits chimiques et des espèces électrophiles avec le glutathion (Aleksumes et Manautou, 2007).

Les résultats de Variation des taux de GST après traitement par EthOH/Hcl, EthOH/Hcl + l'extrait BE de la plante et par l'extrait BE tout seul à la dose 100mg/ml

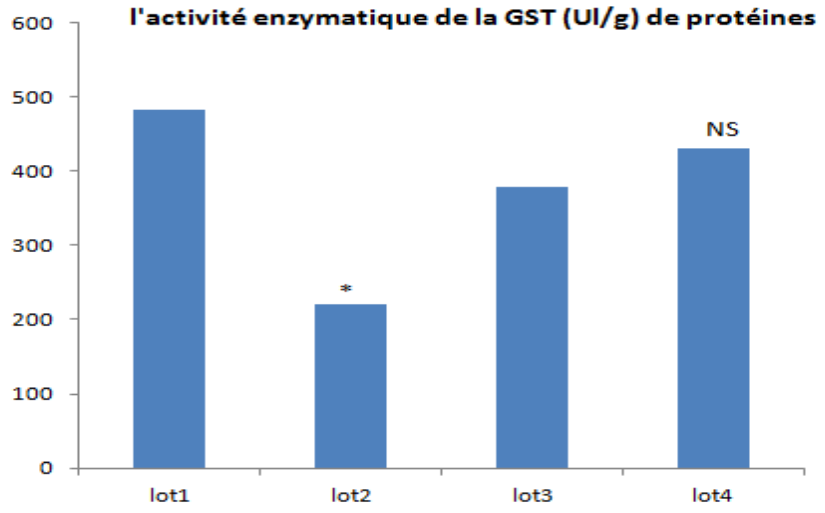

Figure 10 : Variation des taux de GST après traitement par EthOH/Hcl, EthOH/Hcl + l'extrait BE de la plante et par l'extrait BE tout seul à la dose 100mg/ml

L'administration de l'éthanol provoque des dommages au niveau du taux du GST dans les tissus gastriques des rats (Cadirci *et al*., 2007). Une diminution significative a été remarquée dans l'activité enzymatique de la GST (p=0.04) chez les rats traités par l'EthOH/Hcl (Lot 2) par apport aux témoins (Lot 1) alors qu'une dose de 100 mg de l'extrait BE de la plante RRL augmente le taux de cette enzyme dans les tissus gastrique (Lot 3). Nos résultats montrent que l'extrait éthanolique de la plante RRL à réduit de manière significative l'ulcère à la dose de 100 mg /ml par rapport au contrôle ainsi que notre plante a un pouvoir curatif plus important à cette dose.

Les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires et ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations (Gonzàlez-Gallego *et al*., 2007).

Les résultats de l'activité enzymatique de CAT, GST et des taux de GSH montrent clairement l'effet cytotoxique de l'éthanol *in vivo* comme inducteur du stress gastrique, en revanche la plante a un effet protecteur contre les lésions provoquées par le mélange Acide/Alcool.

Conclusion
et
perspectives

L'utilisation des plantes médicinales est aujourd'hui l'approche thérapeutique la plus répandue à travers le monde. Le recours au traitement par les plantes ainsi que la recherche de nouvelles substances à activités biologiques constituent une des plus grandes préoccupations scientifiques.

Notre travail avait pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante et gastroprotectetrice de l'extrait éthnolique de la plante RRL à une dose de 100 mg/kg par voie orale. L'étude phytochimique de la plante a montré sa richesse en composés phénoliques et en flavonoïdes avec une activité antiradicalaire importante.

Concernant l'analyse histologique des estomacs des rats traités par l'extrait de la plante, nous avons noté la présence d'une inflammation discrète, avec un aspect normal de la muqueuse, ces résultats sont traduits par la présence d'un effet gastroprotecteur significatif de cet extrait contre les dommages gastriques induits par l'agent ulcèrogène.

Nos résultats ont démontré que l'administration par voie orale de l'extrait de RRL à une dose a entrainé une amélioration du statut antioxydant en augmentant l'activité de Glutathion (GSH), Glutathion S-transférase (GST) et de la catalase (CAT).

En conclusion, les résultats obtenus suggéreraient que les composés polyphénoliques de la plantes RRL auraient un effet protecteur et antioxydant efficace sur l'ulcère gastrique.

Partant de ces résultats préliminaires, l'activité gastroprotectetrice de la plante RRL est très considérable, raison pour laquelle nous recommandons d'approfondir l'étude phytochimique par l'utilisation des techniques plus performantes qui devraient nous permettre d'identifier clairement les molécules impliqués dans l'effet gastroprotecteur voir même hépatoprotecteur et antioxydant d'RRL et d'avancer vers des meilleures connaissances des mécanismes moléculaires intervenant dans les effets pharmacologiques observés, aussi d'établir plusieurs tests sur d'autres modèles de toxicité avec un nombre de rats suffisants.

Références bibliographiques

Abbas A K ; Lichtman A H ; & Pillai S. (2014). Cellular and molecular immunology. Elsevier Health Sciences.

Aebi. (1984). Catalase .In : L. Packer (Ed), methods in enzymology, Academic pres, Orlando, 105, 121-126.

Aleksunes L M ; & Manautou J E. (2007). Emerging role of Nrf2 in protecting against hepatic and gastrointestinal disease. Toxicologic pathology, 35(4), 459-473.

Alex J.F. 2001. Ontario weeds – Description, illustration and keys to their identification.Ontario ministry of agriculture, Food and rural affaires. Guelph-Ontario. Canada.

Al Moutaery M ; Al Rayes H ; Al Swailam R ; Elfaki I ; Khan H A ; Arshaduddin M ; & Tariq M. (2012). Protective effect of a cysteine prodrug and antioxidant, L-2-oxothiazolidine-4-carboxylate, against ethanol-induced gastric lesions in rats. Experimental and toxicologic pathology, 64(3), 233-237.

Ammar R B ; Bhouri W ; Sghaier M B ; Boubaker J; Skandrani I ; Neffati A ; Bouhlel I; Kilani S ; Mariotte A M ; Chekir-Ghedira L ; Dijoux-Franca M G Ð; and Ghedira K. Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of Rhamnusalaternus L. (Rhamnaceae) : A structure-activity relationship study. Food Chem. 2009; 116: 258-264.

Apfelbaum M ; Roman M. (2009). Diététique et nutrition. Edition Marian, Paris, 251.

Ardestani A ; Yazdanparast R. (2007). Flavonoids as potential therapeutic agents for type 1 diabetes. Medicalhypotheses ; 69(4):955

Bartosz, G. (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems. Comments on Toxicology, 9(1), 5-21.

Bi W P; Man H B ; & Man M Q. (2014). Efficacy and safety of herbal medicines in treating gastric ulcer: A review. World Journal of Gastroenterology, 20(45), 17020.

Boligon A A ; Freitas R B ; Brum T F; Waczuk ; E P ; Klimaczewski C V ; de Ávila DS ; & de Freitas Bauermann, L. (2014). Antiulcerogenic activity of Scutiabuxifolia on gastric ulcers induced by ethanol in rats. ActaPharmaceuticaSinica , 4(5), 358-367.

Bradford M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochemistry, 72:248–54. doi:10.1016/0003-2697(76)90527-3

Brown LF ; Wilson DE (1999) Gastroduodenalulcers: causes, diagnosis, prevention and treatment. Comprehensive Therapy 25: 30–38.

Bujanda L. (2000). The effects of alcohol consumption upon the gastrointestinal tract. The American journal of gastroenterology, 95(12), 3374-3382.

Cadirci E ; Suleyman H ; Aksoy H ; Halici Z ; Ozgen U; Koc A ; & Ozturk N. (2007). Effects of Onosma armeniacum root extract on ethanol-induced oxidative stress in stomach tissue of rats. Chemico-Biological Interactions,170(1), 40-48.

CecilianiF A ; Giordano and V Spagnolo. (2002). "The systemic reaction during inflammation: the acute-phase proteins." ProteinPeptLett 9: 211-223.

Correa P. (1992). Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process—first American Cancer Society award lecture on cancer epidemiology and prevention. Cancer research, 52(24), 6735-6740.

Delattre J. (2005). Radicaux libres et stress oxydant ed : Londres-paris-new york. P :620. De Souza Almeida E S. ; Cechinel Filho V ; Niero R. ; Clasen B K. ;Balogun S O ; de Oliveira Martins D T. (2011). Pharmacological mechanisms underlying the anti-ulcer activity of methanol extract and canthin-6-one of Simabaferruginea A. St-Hil. in animal models. Journal of ethnopharmacology,134(3), 630-636.

Dinarello C A. (2010). Anti-inflammatory agents: present and future. Cell,140(6), 935-950.

Elesevier M. (2014). Les Fondamentaux de la Pathologie Digestif. Editions Elesevier-Masson - Octobre 2014 : 1-23.

Emre M H ; Polat G A A ; & Vardt N. (2007). Effects of benzo (a) pyrene and ethanol on oxidative stress of brain, lung tissues and lung morphology in rats. Chinese Journal of Physiology, 50(3), 143.148.

Evans W. (2000). Vitamin E, vitamin C, and exercise. Am J Clin Nutr 72. 647-652.

Everett SM ; Axon AT. (1997) . Cancer gastrique précoce en Europe Gut 1997; 41:... 142-150.

Farzaei M H ; Khazaei M ; Abbasabadei Z; Feyzmahdavi M ; & Mohseni G R. (2013). Protective Effect of Tragopogon Graminifolius DC Against Ethanol Induced Gastric Ulcer. Iranian Red Crescent Medical Journal, 15(9), 813-6.

Favier A 2003. Le stress oxydant.l'actualité chimique, 108-115.

Galati E M ; Monforte M T ; Tripodo M M ; d'Aquino A ;Mondello M R ; (2001).Antiulcer activity of opuntia ficus indica (L.) Mill. (Cactaceae) : ultrastructural study. Journal of Ethnopharmacology 76 (2001) : 1-9.

Garait B. (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la Glisodin. Thése pour obtenir le grade de docteur de l'université Joseph Fourie-Grenoble.

Garg G P ; Nigam S K ; Ogle C W.(1993).The gastric antiulcer effects of the leaves of the neem tree. Planta Medica 59, 215-217.

Gerard D ; Camille T ; 2003. Les plantes bio-indicatrices : guide de diagnostic des sols, édition promoteur, Paris, 200.

Gómez-Caravaca A M ; Gómez-Romero M ; Arráez-Román D ; Segura-Carretero A ; & Fernández-Gutiérrez A. (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 41(4), 1220-1234.

González-Gallego J ; Sánchez-Campos S ; & Tunon M J. (2007). Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids. Nutricion Hospitalaria, 22(3).

Gordon M H. (2001). Measuring antioxidant activity. Antioxidant in food: Practical applications Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, 71-84

Gruys E M J ; Toussaint T A ; Niewold. (2005). "Acute phase reaction and acute phase proteins." J Zhejiang UnivSci B 6: 1045-1056.

Gutteridg J and Halliwell B.(1992). Comments on review of Free Radicals in Biology and Medcine, second edition, by Barry Halliwell and John M.C.Gutteridge, Free Radic Biol Med. 12: 93-95.

Habig W H; Pabst M J ; Jacobi W B.(1974). The first enzymatic step in mercapturic acid formation. J.Biol. Chem. 249, 7130-7139.

Hackett P H; & Roach R C. (2001). High-altitude illness. New England Journal of Medicine, 345(2), 107-114.

Hansson L E. (2000). Risk of stomach cancer in patients with peptic ulcer disease. World journal of surgery, 24(3), 315-320.

Hara and Okabe S. (1985). Effect of gefernate on acute lesions in rats Folia Pharmacologica Japonica (85), 443-448.

Hartmann G; Tschöp M ; Fischer R; Bidlingmaier C; Riepl R ; Tschöp K.& Toepfer, M. (2000). High altitude increases circulating interleukin-6, interleukin-1 receptor antagonist and C-reactive protein. Cytokine, 12(3), 246-252.

Haule E E ; Moshi M J ; Nondo R S; Mwangomo D T; & Mahunnah R L. (2012). A study of antimicrobial activity, acute toxicity and cytoprotective effect of a polyherbal extract in a rat ethanol-HCl gastric ulcer model. Biomed central research notes, 5(1), 1.

Holm L., Doll J., Holm E., Pancho J. H., 1997. World weeds – Natural Histories and description. John Wiley and sons, Inc. Toronto. Canada. pp.58-87.

Hoogerwerf W, Pasricha P (2001) Agents used for control of gastric acidity and treatment of peptic ulcers and gastroesophageal reflux disease. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th ed Mc Graw-Hill, New York: 1005–1019.

Jacob C; Knieght I; Winyard PG. (2006). Aspect of the biological redox chemistry of cysteine: from simple redox responses to sophisticated signaling pathways. Biol . Chm. 387: 1385-97.

Jemal A; Siegel R ; Xu J; & Ward E. (2010). Cancer statistics, 2010. CA: a cancer journal for clinicians, 60(5), 277-300.

Joyce D C ; Albanese J ; Steer.. (2001). "NF-kappaB and cell-cycle regulation: the cyclin connection." Cytokine Growth Factor Rev 12: 73-90.

Kamina, P., & Di Marino, V. (1993). Anatomie: Introduccion a la clinique. Abdomen. Appareil digestif et rein. Maloine.

Kebièche M ; Lakroun Z ; Mraïhi Z ; & Soulimani R. (2011). Effet antidiabétogène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de Ranunculus repens L. et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique.Phytothérapie, 9(5), 274-282.

Kierszenbaum, A. L. (2006). Histologie et biologie cellulaire: Une introduction à l'anatomie pathologique. De Boeck Supérieur.

Krzystek-Korpacka M; Patryn E; Kustrzeba-Wojcicka J; Gamian A; Noczynska A. (2011). The effet of a one –year weight reduction program on serum uric acid in overweigth/obese children and adolescents. Clinical chemistery and Laboratory Medcine. 49:915-21.

Li C Y Xu H D ; Zhao B T ; Chang H I ; & Rhee H I. (2008). Gastroprotective effect of cyanidin 3-glucoside on ethanol-induced gastric lesions in rats. Alcohol, 42(8), 683-687.

Lindau-sehpard B; ShafferJ.(1993). Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxidative damage, Free rad Med. 15:581-8.

Loguercio C ; Vecchio Blanco F ; Girolamo V ; Disalvo D ; Nardi G ; Parente A ; & Vecchio Blanco C. (1999). Ethanol consumption, amino acid and glutathione blood levels in patients with and without chronic liver disease.Alcoholism: Clinical and Experimental Research, 23(11), 1780-1784.

Macheix J J ; Fleuriet A & Sarni-Manchado P. (2006). Composés phénoliques dans la plante-Structure, biosynthèse, répartition et rôles. Les polyphénols en agroalimentaire. Coordonnatrices Sarni-Manchado P et Cheynier V, TEC et DOC.(Eds), Lavoisier, Paris, 390-399.

Makris, D. P., Boskou, G., & Andrikopoulos, N. K. (2007). Recovery of antioxidant phenolics from white vinification solid by-products employing water/ethanol mixtures. Bioresource technology, 98(15), 2963-2967.

Marfak A. (2003). Radiolyse gamma des flavonoides, etude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools : formation de depsides.Thése pour obtenir le grade de docteur de l'université de Limoges.

Markham K R. (1982). Techniques of flavonoid identification (Vol. 31). London: Academic press.

Marrelli D; Roviello F; De Stefano A ; Farnetani M; Garosi L ; Messano A; & Pinto E. (1999). Prognostic significance of CEA, CA 19-9 and CA 72-4 preoperative serum levels in gastric carcinoma. Oncology, 57(1), 55-62.

Marston A; Hostettmann K. (2006). Separation and quantification of flavonoids. In Oyvind M.A, Markham K.R Chemistry, biochemistry and application. Ed. Crc .Press. Taylor.175pp.

MatÉs J M ; Pérez-Gómez C & De Castro I N. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. Clinical biochemistry, 32(8), 595-603.

Meister A. (1983). Selective modification of glutathione metabolism. Science,220(4596), 472-477.

Menon S; Goswami P. (2007). A redox cycle within the cell cycle: ring in the old with the new.Oncogene.26: 1101-9.

Moshage H. (1997). "Cytokines and the hepatic acute phase response." J Pathol 181: 257-266.

Niki L; Reynaert S; McGovern; Amy Brown; Emiel F; Wouters; Charles G; Irvin Yvonne M; Janssen-Heininger . (2007). Catalase Overexpression Fails to Attenuate Allergic Airways Disease in the Mouse. The Journal of Immunology. 178: 3814-3821.

Packer L; Tritschler H and Wessel K . (1997).Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. Free Radic Biol Med. 22:359-378.

Pierre L. (2000). Le savoir des plantes, Ellipses édition. Marketing, Paris cedex 15, p. 44.

Pincemail J ; Defraigne J. (2004).Les antioxidants un vaste réseau de defenses pour latter contre les effets toxiques de l'oxygène. Service de Chirurgie Cardio-vasculaire, pro biox SA. Sart Tilman 4000 Liège, Belgique.

Ponvert C. (1997). Immunopathogénie de l'allergie immédiate et des réactions anaphylactiques et anaphylactoides (Pt. I). J Eur Urg, 4, 176-183.

Rahman F Z D J; Marks B H ; Hayee. (2008). "Phagocyte dysfunction and inflammatory bowel disease." Inflamm Bowel Dis 14: 1443-1452.

Ren G ; Cai R ; Zhang W J ; Ou J M ; Jin Y N ; & Li W H. (2013). Prediction of risk factors for lymph node metastasis in early gastric cancer.World J Gastroenterol, 19(20), 3096-3107.

Ribéreau-Gayon P ; & Ribéreau-Gayon, P. (1972). Plant phenolics (No. 04; QK898. P57, R5.).

Rice-evans C A ; Miller N J ; Bolwell P G ; Bramley P M ; & Pridham J B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. Free radical research, 22(4), 375-383.

Rock E. (2003). Stress oxidant, micronutriments et santé. Inra-CRNH, unité des maladies métaboliqiues et micronutriments 63122 St Genès Champanelle. Université d'été de nutrition-Clemont-fenand 37-42.

Roitt I J; Brostoff and D Male (2002). "Immunologie."d. B. Université Bruxelles. de Boeck Université. 480.

Samsong W. (1980). Physiologie appliqué à la médicine. Médecine-science. Edition Flammarion, Paris, 475, 479-480.

Sarukhan J., 1976. On relative pressures and energy allocation in population of Ranunculus repens, R.bulbosus and R. acris, Ann. Missouri Bot. Garden 62: 7-20.

Serhan C N & Savill J. (2005). Resolution of inflammation: the beginning programs the end. Nature immunology, 6(12), 1191-1197.

Sherwood. (2006). Physiologie humaines : 2ème édition. De Boeck, Paris, 452-462.

Szabo S. (1991). Mechanisms of gastric mucosal injury and protection.Journal of clinical gastroenterology, 13, S35.

Szczecińska M ; Sawicki J. (2015). Genomic Resources of Three Pulsatilla Species Reveal Evolutionary Hotspots, Species-Specific Sites and Variable Plastid Structure in the Family Ranunculaceae. International journal of molecular sciences, 16(9), 22258-22279.

Viana A F S C; Fernandes H B ; Silva F V; Oliveira I S ; Freitas F F B P; Machado F D F ;Oliveira R C M. (2013). Gastroprotective activity of CenostigmamacrophyllumTul. var. acuminataTeles Freire leaves on experimental ulcer models. Journal of ethnopharmacology, 150(1), 316-323.

Vignolini S ; Thomas M M ; Kolle M; Wenzel T; Rowland A; Rudall P ; Steiner U. (2012). Directional scattering from the glossy flower of Ranunculus: how the buttercup lights up your chin. Journal of The Royal Society Interface, 9(71), 1295-1301.

1. Gamme d'étalonnage de l'acide gallique

Tableau III. Absorbance de la gamme de concentration d'acide gallique

AG [µg/ml]	6.25	12.5	25	50	100	200
Absorbance	0.130	0.155	0.230	0.360	0.589	1.072

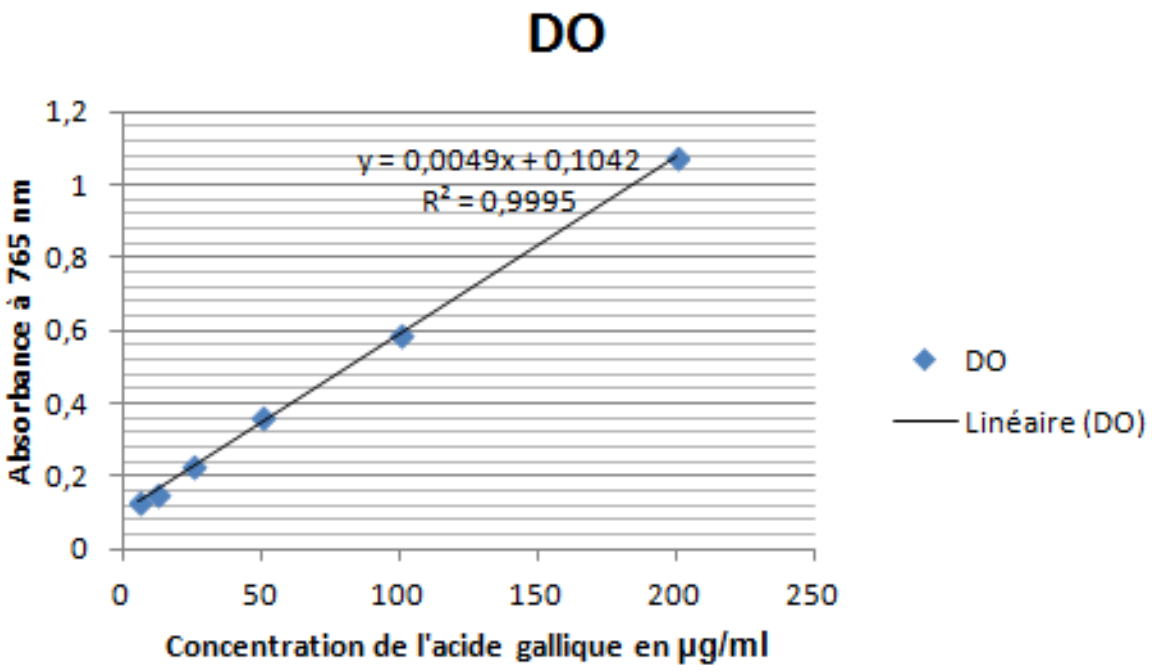

Figure 11. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

2. Gamme d'étalonnage de la quercitine

Tableau IV : Absorbance de la gamme de concentration de la quercitine

Quercitine [µg/ml]	1.25	2.5	5	10	20	40
Absorbance	0.265	0.293	0.392	0.560	0.892	1.568

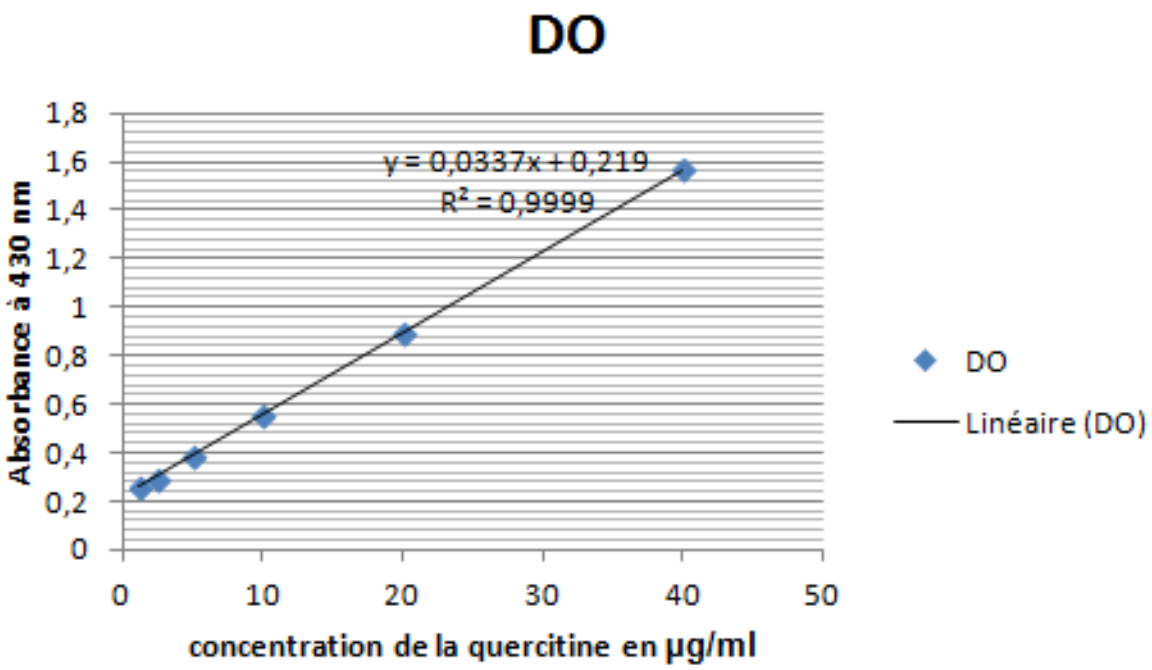

Figure 12. Courbe d'étalonnage de la quercitine

Tableau V: Absorbance de la gamme de concentration du BSA

Concentration BSA en ug/ml	0	0.2	0.4	0.6	1
DO	0	0.131	0.241	0.353	0.584

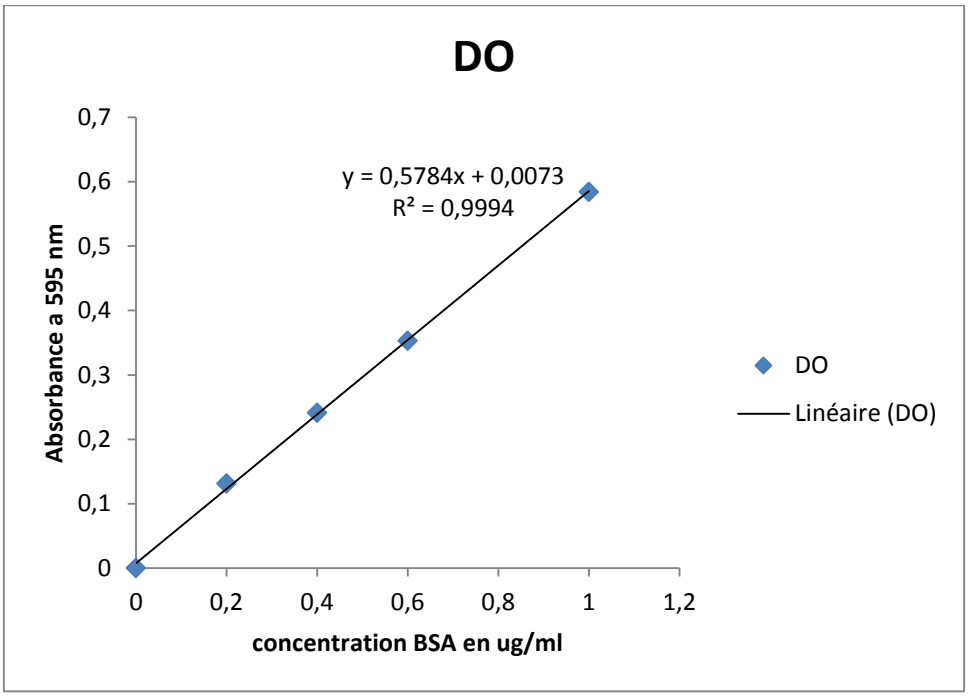

Figure 13 : Courbe d'étalonnage du BSA

Annexes

Résumé

Diverses plantes médicinales présentent un réservoir immense de molécules primaires qui constituent des précurseurs potentiels aux métabolites secondaires. Notre travail a porté sur l'étude des propriétés biologiques de l'extrait éthanolique de la plante *Ranunculus repens L*. L'analyse phytochimique a illustré que notre extrait est riche en composés phénoliques et en flavonoïdes avec une activité antiradicalaire importante. L'autre potentiel étudié pour cette plante, est l'activité antiulcéreuse. L'étude in vivo, menée sur des rats a révélé la présence d'un effet gastroprotecteur significatif contre les dommages gastriques induits par l'agent ulcèrogène. Nos résultats ont démontré que l'administration par voie orale de l'extrait de RRL à une dose de 100 mg/kg a entrainé une amélioration du statut antioxydant en augmentant l'activité de Glutathion (GSH), Glutathion S-transférase (GST) et de la catalase (CAT).

Mots clés : *Ranunculus repense L* , polyphénoliques, flavonoïdes, gastrique, ulcérogène

Abstract

Various herbs have a huge stock of primary molecules that are potential precursors to secondary metabolites. Our work has focused on the study of the biological properties of *Ranunculus repens L* ethanolic extract. Phytochemical analysis has shown that our extract is rich in phenolic compounds and flavonoids with significant anti-radical activity. The other potential studied for this plant, is the antiulcer activity. The *in vivo* study, conducted on rats showed the presence of a significant gastroprotective effect against gastric damage induced by the ulcerogenic agent. Our results have shown that oral administration of the RRL extract at a dose of 100 mg / kg improved antioxidant status by increasing the activity of Glutathione (GSH), glutathione-s-transferase (GST) and catalase (CAT).

Key works: *Rnunculus repens L*, phenolic, flavonoids, gastric, ulcerogenic

الملخص

تحتوي مختلف النباتات الطبية علي مخزون كبير من المركبات الأولية التي هي مصدر المركبات الثانوية, وقد ركز عملنا على دراسة الخصائص البيولوجية لمستخلص الإيثانول النبتة *Ranunculus repens L* حيث بين التحليل أن هذا المستخلص غني بالمركبات الفينولية ومتعددات الفينول مع نشاط كبير مضاد للأكسدة. من جهة أخري أجرينا دراسة النشاط المضاد للقرحة للنبتة . حيث أظهرت الدراسة الحية ، التي أجريت على الفئران وجود تأثير كبير حامي للمعدة ضد الأضرار التي يسببها عامل القرحة المعدية وقد أظهرت النتائج التي توصلنا إليها أن مستخلص RRL بجرعة 100ملغ / كلغ أدى إلي تحسين النشاط المضادة للأكسدة من خلال زيادة نشاط الجلوتاثيون (GSH)، الجلوتاثيون S-ترانسفيراز (GST) و الكاتلاز (CAT).

الكلمات المفتاحية : *Ranunculus repens L* , الفينولية ,الفلافونيدات ,المعدة, القرحة المعدية